Estudio Serologico de la Neumonia Progresiva Ovina en el Distrito Federal

TESIS PRESENTADA ANTE LA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DE LA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

POR

RAMON MIGUEL MOLINA BARRIOS

ASESORES: M. V. Z. FRANCISCO J. TRIGO TAVERA
M. V. Z. JESUS ROMERO MARTINEZ

MEXICO, D. F. 1986

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis padres:

Dolores Barrios Angeles

José Ramón Molina Gortárez

Por el apoyo moral y económico, por la confianza sin límites depositada en mí.

Para:

Lucila Martínez Peña

Gracias por todo, mujer.

Este trabajo fue desarrollado en el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (U.N.A.M.).

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	6
RESULTADOS	7
CUADRO	8
DISCUSION	9
LITERATURA CITADA	12

RESUMEN

La Neumonía progresiva ovina(NPO), es una infección viral lenta que se desarrolla insidiosamente después de un período de incubación largo(meses o años). Esta enfermedad producida por un retrovirus; por lo general, se manifiesta clínicamente en animales de tres o más años de edad. Debido a las frecuentes importaciones de ovinos de los Estados Unidos de Norte América, donde se han encontrado altos porcentajes de seroprevalencia de la NPO, se decidió realizar un estudio para determinar la seroprevalencia de esta enfermedad en los hatos nacionales.En este estudio, se recolectaron 1,000 muestras de sueros de ovinos criollos del Distrito Federal, los cuales fueron examinados por medio de la prueba de inmunodifusión en gel agar(IDGA), para detectar el porcentaje de seroprevalencia de anticuerpos precipitantes contra el virus de la NPO; clasificando las muestras procedentes de cuatro zonas geográficas. De los 1,000 ovinos muestreados, 82 animales resultaron positivos, lo que arroja un porcentaje del 8.2%; con un rango de 7.6 a 9.4%. Estos porcentajes encontrados, están muy por debajo de los detectados en un estudio preliminar realizado en México en 1983 en otra zona geográfica; así como de los informados por investigaciones realizadas en los Estados Unidos de Norte América, Inglaterra y Canadá. Se concluye que la NPO se encuentra presente, aunque en baja prevalencia, en los hatos de ovinos criollos del Distrito Federal. Sin embargo, los niveles de infección pueden verse elevados en el futuro, si se importan ovinos infectados, que pueden difundir la infección en los hatos de ovinos criollos mexicanos.

INTRODUCCION

La neumonía progresiva ovina(NPO), también conocida como Maedi-Visna, Zwogerziekte, La Bouhite y Graff-Reinet, es una infección viral lenta que se desarrolla insidiosamente después de un período de incubación extraordinariamente largo(13,16,17). Esta infección debido a su largo período de incubación, es desarrollada clínicamente por los ovinos adultos de tres o más años de edad; por esto, son los animales reproductores los que resultan más afectados(11,20).

La NPO, se caracteriza por una infección viral persistente, conversión serológica y ocasionalmente por la presentación clínica de la enfermedad; la cual se manifiesta como una neumonía intersticial progresiva, aunque también se puede presentar meningo-encefalitis, artritis; o bién combinaciones de las diferentes presentaciones en el mismo animal(2,5,11,13). La infección es producida por un virus clasificado en la familia Retroviridae, en la subfamilia Lentiviridae, el cual tiene propiedades físicas, químicas y biológicas semejantes a los virus ARN tumorales. Este virus se caracteriza por ser envuelto, tener un genoma constituido por un ARN de cadena sencilla y por replicarse a través de un ADN intermedio asociado a una enzima transcriptasa de reversa(4,12,15,16).

Maedi(NPO) y Visna fueron inicialmente reconocidos como dos síndromes clínicamente distintos, involucrando el pulmón y al cerebro, respectivamente. Sin embargo, a través de estudios comparativos utilizando morfogénesis viral, serología y técnicas de hibridación molecular, se ha demostrado que ambas enfermedades son causadas por el mismo virus, considerando a Visna como una variante de Maedi(3,6). Así mismo, se ha demostrado que el virus productor de la Artritis-encefalitis caprina(AEC) solo es parcialmente homólogo al virus productor de Maedi, aunque produce reac---

ción cruzada serológicamente comprobada. Actualmente, se considera a la - AEC y a la NPO(Maedi) como dos entidades patológicas distintas(19).

La presentación de la NPO en un país es similar a la AEC, es decir, frecuentemente relacionada con la importación de animales y al contacto - de éstos con los animales nativos, tal como lo informan los estudios realizados en Islandia, Hungría, Francia y Canadá, entre otros(6,14).

Los signos clínicos de la NPO, se presentan solo en ovinos adultos, siendo los primeros signos pérdida de peso acompañada por una respíración acelerada durante el ejercicio. Estos signos se agravan progresivamente - hasta provocar la muerte del animal en un lapso de 3 a 12 meses; sin embargo, la muerte puede sobrevenir a consecuencia de una neumonía bacteriana secundaria(4,11).

A la necropsia, los pulmones se encuentran grandes, densos, pesados, no colapsados, de coloración café grisacea y firmes a la palpación. Los - linfonódulos mediastínicos y traqueobronquiales se encuentran aumentados de volumen y blandos, con una superficie de corte blanquecina y homogénea (9,16).

Histopatológicamente estos cambios corresponden a un incremento linfoide extensivo, arreglado en folículos, en muchos casos muy pronunciados. Además, se aprecia una hiperplasia de la musculatura lisa a nivel de ductos aéreos y extendiéndose al septo interalveolar adyacente. El epitelio alveolar se transforma parcialmente en epitelio cuboidal. También se presenta una fibrosis que varía de ligera a moderada(4,9,16,20,21). En México existe un informe preliminar sobre la presencia de la NPO en pulmones de ovinos decomisados en rastro(7). Sin embargo, debido a que las lesiones no son patognomónicas y a que no se realizaron estudios serológicos, no puede concluirse categóricamente que se encontró la enfermedad. Además, dichas muestras pudieron haber provenido de animales importados de los Es

tados Unidos de Norte América(7).

La prueba de inmunodifusión en gel agar(IDGA), fue adaptada para determinar anticuerpos precipitantes contra el virus de la NPO. Esta prueba fue modificada del procedimiento descrito para probar sueros de bovinos contra el virus de la Leucemia bovina(3).

En estudios realizados en los Estados Unidos de Norte América, la IDGA ha demostrado ser la prueba más satisfactoria para detectar la seroprevalencia de la NPO, debido a su facilidad de realización, porque después de la inoculación experimental aparecen primero los anticuerpos precipitantes que los anticuerpos neutralizantes. También porque sus resultados son reproducibles, no así, las pruebas de hemoaglutinación y fijación de complemento, las cuales proporcionan resultados inconsistentes(3,4,).

Esta prueba ha sido utilizada en los Estados Unidos de Norte América para realizar los estudios seroepizootiológicos sobre la NPO, así también como auxiliar en el diagnóstico de esta enfermedad. Su importancia en diagnóstico se debe a que la NPO es fácil de ser encubierta por infecciones bacterianas como Mycoplasmosis y Pasteurelosis, lo que dificulta su diagnóstico; además, la detección de anticuerpos específicos puede ser tomada como prueba de infección viral(6,10,15).

Estudios realizados en Inglaterra y Canadá informan de porcentajes de seroprevalencia entre 32.5 y 39.3% para el primero, y 35.7 para el segundo(11,17).

Después del primer informe de la enfermedad en los Estados Unidos de Norte América en 1923, se han realizados varios estudios seroepizootiológicos de la NPO en varios estados, los cuales informan de una seroprevalencia del 58 al 90%. Esta seroprevalencia se incrementa con la edad de los animales(4,8,18).

En 1983, se realizó en México un estudio preliminar sobre la sero--

prevalencia de la NPO, encontrándose porcentajes de seroprevalencia que fluctuaban entre 14 y 25%, de un total de 200 ovinos muestreados, Estos porcentajes de seroprevalencia se encuentran muy por debajo de los encontrados en los Estados Unidos de Norte América, pero debido a las frecuentes importaciones se podrían esperar porcentajes más elevados de seroprevalencia(18).

HIPOTESIS

Debido a las frecuentes importaciones de ovinos, principalmente de los Estados Unidos de Norte América, donde los porcentajes de seroprevalencia de la NPO son elevados, se espera encontrar en los hatos de ovinos criollos mexicanos un porcentaje de seroprevalencia considerable.

OBJETIVO

Determinar la seroprevalencia de anticuerpos precipitantes contra el virus de la NPO en ciertas poblaciones de ovinos criollos de México.

MATERIAL Y METODOS

Se recolectaron 1,000 muestras de sangre de la vena yugular de ovinos criollos, adultos, del Distrito Federal. Una vez removido el coágulo se procedió a centrifugar el suero, para congelarlo posteriormente a -20 C, hasta el momento de la determinación de la presencia de anticuerpos precipitantes contra el virus de la NPO. La prueba de Inmunodifusión en gel agar(IDGA), según la técnica descrita por Cutlip y Jackson, se realizó en cajas de Petri de plástico de 70 mm de diámetro, conteniendo 16 ml. de agar purificado al 1% en 0.05 M buffer Tris(pH 7.2), con 8% de cloruro de sodio agregado a la mezcla final. En estas cajas se perforaron pozos de 8 mm de diámetro siguiendo un patrón hexagonal con un pozo central, con una separación de 3 mm entre pozo y pozo. En los pozos periféricos se colocaron los sueros a probar en forma alternada con sueros positivos conocidos; el antígeno* fue colocado en el pozo central. Después se incubaron los sueros durante un período de 48 horas a temperatura ambiente, al final del cual se interpretaron los resultados como positivos cuando, apareció una linea de precipitación y hubo identidad con el suero positivo de referencia(3). El antígeno fue preparado a partir de cultivos celulares de pulmón fetal ovino persistentemente infectado con virus WLC-1 de la NPO, dializando el medio de cultivo con polietilen glicol de 15,000 a 20,000 de peso molecular e igualándolo con un antisuero conocido por medio de diluciones dobles, después se le agregó merthiolate en una proporción de 1:10,000. Los resultados de las pruebas se ordenaron de acuerdo a su reacción negativa o positiva obteniéndose el número total de animales seropositivos.

* Donado por el Dr. Randall Cutlip. National Animal Disease Center, U.S.D.A. Ames. Iowa. E.U.A.

RESULTADOS

Las 1,000 muestras de sueros de ovinos adultos procedentes del Distrito Federal, fueron clasificados en cuatro zonas geográficas de distribución: Ajusco, Parres, Topilejo y Zapotitlán. Los sueros fueron obtenidos de animales criollos procedentes de explotaciones extensivas(96%) y de exploatciones intensivas(4%), los cuales no tenían contacto directo con animales importados. Los resultados obtenidos en este estudio serologico se resumen en el Cuadro 1, el cual muestra los resultados totales por número de animales y por zona. De los 1,000 ovinos muestreados, 82 animales resultaron positivos, lo cual arroja un porcentaje de seroprevalencia del 8.2%, en promedio. El rango de seroprevalencia fue desde 7.6 hasta 9.4% que correspondieron a las zonas con menor cantidad de animales muestreados(78 y 170 respectivamente). Al analisis estadístico por X^2, no se encontraron diferencias significativas($P > 0.05$) entre los niveles de prevalencia de las diferentes zonas. Es necesario señalar que el número de animales muestreados por zona no fue premeditado, ni correspondió a la cantidad de animales totales de cada zona.

Cuadro 1

SEROPREVALENCIA DE LA NEUMONIA PROGRESIVA EN OVINOS CRIOLLOS DEL DISTRITO FEDERAL

ZONA DE PROCEDENCIA	No. de animales seropositivos / No. de animales muestreados	Porcentaje de animales positivos
AJUSCO	24/317	7.6%
PARRES	16/170	9.4%
TOPILEJO	36/435	8.3%
ZAPOTITLAN	6/78	7.7%
TOTAL	82/1000	8.2%

DISCUSION

En la población muestreada, el porcentaje de animales seropositivos a la NPO fue del 8.2 %, en promedio, con rangos de 7.6 a 9.4%, muy por debajo de los porcentajes de seroprevalencia informados en el estudio preliminar realizado en el Estado de México y en el Distrito Federal en 1983, con 23% de seroprevalencia en promedio y rangos de 14 a 25%(18).

La comparación de los resultados obtenidos en el presente estudio con los informados en las investigaciones realizadas en los Estados Unidos de Norte América(58 a 90%), en Inglaterra(32.5 a 39.3%) y en Canadá(35.7%), muestra que los porcentajes de seroprevalencia son aún menores para este estudio(6,11,17).

También se observó que no existieron diferencias significativas entre las diversas zonas examinadas. Esto puede ser consecuencia de las pocas variantes observadas en el manejo de las explotaciones que en su mayoria fueron extensivas(96%). Este tipo de explotaciones, en la región analizada, están poco tecnificadas y tienen poca inversión de capital, por lo que es poco probable la adquisición de animales reproductores importados, reduciendo la posibilidad del contacto de éstos con los animales nativos. Aunque, el manejo de estas explotaciones implica el confinamiento nocturno de los animales, probablemente la transmisión de la infección sea menor que en las explotaciones intensivas donde el contacto entre los animales es permanente, compartiendo agua y alimento.

Resulta interesante constractar los hallazgos serológicos del presente estudio de la NPO con los encontrados recientemente en otro estudio serológico realizado en cabras contra el virus de la Artritis encefalitis caprina(AEC). Los ovinos criollos del presente estudio mostraron eviden-

cia de la infección por el virus de la NPO; sin embargo, en el estudio - con cabras criollas no presentaron anticuerpos contra el virus de la AEC. Esta diferencia podría deberse a que la industria ovina mexicana ha recido un mayor impulso que la caprina, con lo cual se ha pretendido mejorar la calidad génética de los ovinos criollos mediante la adquisición de animales importados. Por lo tanto , los ovinos criollos tendrían una mayor - posibilidad de contraer la NPO que los caprinos criollos a adquirir la -- AEC (14).

Es necesario señalar que la principal forma de transmisión de la infección es a través del calostro y la leche, aunque también puede ocurrir infección a través de aerosoles, alimento, agua y secresiones corporales entre aniamles con signos clínicos(6,10). No se han realizado estudios sobre la transmisión a través del semen(10).

Una vez que la NPO, se establece en un hato, las posibilidades de - control inmediato son limitadas, debido a que no es posible la aplicación de vacunas o tratamientos(6). Sin embargo, el porcentajes de seroprevalencia en un hato infectado puede ser dramáticamente disminuido en pocas generaciones, para lo cual se requiere inicialmente de la identificación de las madres seropositivas y seronegativas a la NPO. Una vez realizado esto, se alimentará a los corderos solo con calostro y leche de borregas seronegativas; si esto no es posible, se puede utilizar calostro y leche de vaca, o bién calostro y leche de borregas positivas previamente calentado a 56 C por 30 min., con lo cual se inactiva el virus(1). En hatos de ovinos altamente infectados con el virus de la NPO, ha sido posible reducir el - porcentaje de infección hasta menos del 1%, siguiendo el esquema de con-- trol previamente descrito(10). Una vez que el porcentaje de animales seropositivos en el hato ha sido disminuido, es posible eliminar a los reactores positivos para evitar la difusión futura de la enfermedad(10).

Debido a su largo período de incubación, cuando se presenta en un hato el primer caso de la NPO, varios animales del mismo hato se encuentran ya infectados. Esto es importante para determinar el programa a seguir, considerando que la forma más factible de introducción de la NPO al hato, es mediante la adquisición de animales infectados; sobre todo animales importados, debido a que éstos provienen de paises como los Estados Unidos de Norte América, donde existe alta incidencia de esta enfermedad (6,10).

Como un medio de evitar la introducción de animales infectados al país, se recomienda el examen serológico de los animales que se pretendan importar. La prueba que ha demostrado ser la más satisfactoria para este examen, es la Inmunodifusión en gel agar(IDGA), debido a que posee una mayor sensibilidad que las pruebas de hemoaglutinación (HA) y Fijación del complemento(FC); además, sus resultados son reproducibles(3,4). En comparación con la IDGA, las pruebas de FC y HA, presentan grandes variaciones en sus resultados, pudiendo el animal variar de positivo a negativo y viceversa en pruebas seriadas. Además, la IDGA detecta anticuerpos específicos contra el virus de la NPO semanas antes que la prueba de FC(3,4,6,11).

La IDGA, no puede ser considerada de un valor absoluto para determinar que los animales se encuentran libres de la NPO debido a las siguientes razones: (a) El desarrollo de anticuerpos contra la NPO post-infección puede tardar meses o años; (b) No todos los animales infectados llegan a producir anticuerpos detectables por la prueba de INGA; (c) No todos los animales seropositivos llegarán a presentar el cuadro clínico de la enfermedad(4,6,18).

Aunque no se han realizado estudios sobre la transmisión de la NPO a través del semen, existen estudios que informan que no hay transmisión vertical, por lo que es posible que no haya transmisión a través del se--

men. Con base a esto, se sugiere que una alternativa para evitar la importación de animales enfermos, es la importación de semen, a reserva de estudios posteriores.

La forma más segura de evitar la introducción de animales infectados en un hato, es la importación de animales procedentes de hatos libres de la NPO por cinco años consecutivos; sin embargo, esto es poco factibles de encontrarse, por lo que se prefiere la prueba de la IDGA como útil alternativa(6).

LITERATURA CITADA

1. Adams, D.S.; Anderson, P.K.; Carlson, J.L.; McGuire, T.C.; Gorham, J. R.: Transmission and control of Caprine arthritis-encephalitis virus. Am. J. Vet. Res., 44:1670-1675 (1983).
2. Cutlip, R.C. and Laird, G.A.: Isolation and characterization of a viruses associated with progressive pneumonia(Maedi) of sheep. Am. J. Vet. Res., 37:1377-1382 (1976).
3. Cutlip, R.C.; Jackson, T.A. and Laird, G.A.: Immunodiffusion test for Ovine progressive pneumonia. Am. J. Vet. Res., 38:1081-1084 (1978).
4. Cutlip, R.C.; Jackson, T.A. and Lehmkuhl, H.D.: Diagnostic features of Ovine progressive pneumonia. J. Am. Vet. Med. Ass.,173:1578-1579(1978).
5. Cutlip, R.C.; Lehmkuhl, H.D.; Wood, R.L.; Brogden, K.A.: Arthritis a-- ssociated with Ovine progressive pneumonia. Am. J. Vet. Res., 46:65-68 (1985).
6. Dawson, M.: Maedi/Visna: A review. Vet. Rec., 106:212-216 (1980).
7. Eguiluz, C. y Aluja, A.: Neumonía intersticial progresiva(Maedi) y Adenomatosis pulmonar en vísceras de óvidos decomisadas. Vet. Mex., 12: - 235-237 (1981).
8. Gates, N.L.; Winward, L.D.; Gorham, J.R. and Shen, D.T.: Serology survey of prevalence of Ovine progressive pneumonia in Idaho range sheep. J. Am. Vet. Med. Ass., 173:1575-1577(1978).
9. Georgson, G. and Pálsson, P.A.: The histopathology of Maedi. Vet. Pa-- thol., 8:63-80 (1971).
10. Houwers, D.J.; Köning, C.D.; Boer, G.F. and Schaake, J.Jr.: Maedi-Visna control in sheep; I. artificial rearing of colostrum-deprived lambs. Vet. Microbiol., 8:179-185 (1983).
11. Lamontagne, L.; Roy, R.; Girard, A. and Samagh, B.S.: Seroepidemiolo--

gical survey of Maedi-Visna virus infection in sheep and goat flocks in Quebec. Can. J. Comp. Med., 47:309-315 (1983).

12. Larsen, H.J.; Hyllseth, B. and Krugsrud, J.: Experimental Maedi virus infection in sheep; Cellular and humoral immune response during three years following intranasal inoculation. Am. J. Vet. Res., 43:384-389 - (1982).

13. Martin, W.B. and Stamp, J.T.: Slow virus infection in sheep. Br. Vet. J., 139:290-295 (1980).

14. Nazara, S.J.; Trigo, F.J.; Suberbie, E. and Madrigal, V.: Estudio serológico de la Artritis encefalitis caprina en México. Tec. Pec. Mex., - 48:99-101 (1985).

15. Oliver, R.E.; Gorham, J.R.; Parish, S.F.; Hadlow, W.J. and Narayan, O.: Ovine progressive pneumonia: Pathologic and virologic studies on the - naturally occurring disease. Am. J. Vet. Res., 42:1554-1559 (1981).

16. Perk, K.: Slow virus infections of ovine lung. Adv. Vet. Sci., 26:267-287 (1982).

17. Pritchard, G.C.; Spence, J.B.; Arthur, M.J. and Dawson, M.: Maedi-Visna infection in commercial flocks of indigenous sheep in Britain. Vet. Rec., 115:427-429 (1984).

18. Ramírez, C. y Trigo, F.J.: Informe preliminar sobre la seroprevalencia de la Neumonía progresiva ovina en México. Memorias de la Reunión A--- nual de la Investigación Pecuaria 1983. Facultad de Medicina, UNAM. - Ciudad Universitaria. D.F. Nov-Dic., 1983. p. 553-555, SARH-UNAM. Ciudad Universitaria. D.F., 1983.

19. Roberson, S.M.; McGuire, T.C.; Anderson, P.K.; Gorham, J.R. and Chee-- vers, W.P.: Caprine arthritis encephalitis virus is distinct from Visna and Progressive pneumonia viruses as measured by genome sequence homology. J. Virol., 44:755-758 (1982).

20. Snyder, S.P.; De Martin, J.C.; Ameghino, E. and Calleti, E.: Coexistence of pulmonary adenomatosis and progressive pneumonia in sheep in the central sierra of Perú. Am. J. Vet. Res., 44:1334-1338 (1983).

21. Stevenson, R.G.: Maedi-Visna infection in rams in NOva Scotia. Can. - Vet. J., 19:159-163 (1978).