

# Pronalazak specifičnih porotutijela protiv maedi-visna virusa u Dalmaciji

## Investigation of maedi-visna virus in Dalmatia, using the agar-gel immuno-diffusion test



Vidić, Z.\*, Lukačević, D., S. Katić, E. Listeš, V. Stevanović, M. Benić, Lj. Barbić

### Sažetak

U Dalmaciji je tijekom 2013. godine provedeno pretraživanje uzoraka seruma ovaca metodom gel-difuzijskog precipitacijskog testa radi utvrđivanja pojavnosti virusa maedi-visna. Pretraženo je 408 uzoraka krvnih seruma ovaca i ovnova s područja Dubrovačko-neretvanske, Splitsko-dalmatinske, Šibensko-kninske i Zadarske županije. Cilj je ovoga istraživanja bio po prvi put istražiti seroprevalenciju infekcije virusom maedi-visna u ovaca u Dalmaciji. Infekcija virusom maedi-visna serološki je potvrđena u 66 od 408 pretraženih životinja (16,18 %). Broj pozitivnih životinja u Splitsko-dalmatinskoj županiji iznosio je 24 (20,16 %), u Šibensko-kninskoj županiji 26 (21,5 %), u Zadarskoj županiji 16 (9,6 %). U Dubrovačko-neretvanskoj županiji nisu pronađeni pozitivni uzorci. Rezultati pretraživanja ujedno su prvi objektivni dokaz o prisutnosti protutijela za virus maedi-visna u ovaca u Republici Hrvatskoj. S obzirom na gospodarske štete koje maedi-visna nanosi ovčarstvu, rezultati ovih istraživanja upućuju na potrebu primjene djelotvornih, a prije svega upravnoveterinarskih mjera s ciljem sprečavanja i suzbijanja ove infekcije.

**Ključne riječi:** maedi-visna, seroprevalencija, ovce, Dalmacija

### Abstract

In this study we investigated the prevalence of the maedi-visna virus for the first time in Croatia. During 2013 a total of 408 randomly selected sheep and rams blood serum samples were collected from flocks located in four counties in the Dalmatia region, on the eastern coast of the Adriatic Sea. All sera samples were tested using the gel diffusion precipitation test. The presence of maedi-visna virus infection was serologically confirmed in 66 out of 408 tested animals (16.18%). The highest seroprevalence was confirmed in central Dalmatian counties - with seroprevalence of 21.5% in Sibenik-Knin and 20.16% in the Split-Dalmatia County. In the Dubrovnik-Neretva County, in the southernmost part of Dalmatia, no positive samples were found. These results represent the first evidence of maedi-visna virus circulation in sheep in the Republic of Croatia. Given the economic losses that maedi-visna inflicts upon sheepherding, the study results indicate a need for immediate implementation of effective administrative veterinary measures, aimed at preventing and controlling this infection in the Adriatic part of Croatia.

**Key words:** maedi-visna, seroprevalence, sheep, Dalmatia

*Dr. sc. Zdravka VIDIĆ, dr. med. vet., stručna suradnica, postdoktorand, dr. sc. Damir LUKAČEVIĆ, dr. med. vet., postdoktorand, Sanda KATIĆ, dr. med. vet. univ. mag. spec., stručna suradnica, dr. sc. Eddy LISTEŠ, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, Hrvatski veterinarski institut Zagreb – Veterinarski zavod Split, dr. sc. Miroslav Benić, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, dr. sc. Vladimir STEVANOVIĆ, dr. med. vet., docent, dr. sc. Ljubo BARBIĆ, dr. med. vet., izvanredni profesor, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu \*e-mail: z.romac.vz5@veinst.hr*

## Uvod

Maedi-visna (MV) je virusna kronična kontagiozna bolest ovaca čiji uzročnik pripada rodu *Lentivirus*, porodici Retroviridae. Zbog veoma slične genomske organizacije, patogenosti i epidemiologije s virusom zaraznog artritisa-encefalitisa koza zajedno su svrstani u skupinu lentivirusa malih preživača (SRLV) (Blacklaws, 2012.). Dokazan je prijenos virusa maedi-visna (MVV) na koze, kao i virusnog artritisa-encefalitisa koza na ovce (Shah i sur., 2004.; Pisoni i sur., 2005.). Klinički znakovi infekcije su dispneja, mršavljenje, mastitis i artritis (Pepin i sur., 1998.). Virus može inficirati ovce bilo koje dobi, a klinički znakovi bolesti obično nisu uočljivi prije druge ili treće godine života (Berriatua i sur., 2003.). Mnoge ovce ostaju asimptomatski nositelji virusa tijekom cijelog života, dok samo 25 – 30 % serološki pozitivnih životinja pokazuje kliničke znakove bolesti (Christodouloupoulos, 2006.).

Vime i pluća, uz ciljne organe djelovanja virusa, dva su glavna izvora izlučivanja virusa, iako se moraju uzeti u obzir i drugi načini izlučivanja (Brodie, 1998.). Glavni putevi prijenosa uzročnika jesu ingestija zaraženog kolostruma i/ili mlijeka (vertikalni prijenos) ili udisanje respiratornih izlučevina (horizontalni prijenos) (Blacklaws i sur., 2004.; Peterhans i sur., 2004.).

Maedi-visna inficira monocite i makrofage u kojima se održava doživotno. Nadalje, virus ima izrazitu sklonost mutacijama sa znatnim antigenskim i genskim izmjenama. Tako nastali različiti sojevi virusa mogu se povezati i s različitim kliničkim oblicima bolesti (Belknap, 2002.). Stvaranje specifičnih protutijela i serokonverzija obično se ustanovi 6 mjeseci nakon infekcije (Christodouloupoulos, 2006.).

Bolest ima za posljedicu gospodarski gubitak koji proizlazi iz visoke proširenosti, a na njegovu razinu utječu pasmina, tip proizvodnje (mlijeko ili meso), način proizvodnje (ekstenzivni ili intenzivni uzgoj) te dob ovaca koje se uklanjaju iz uzgoja (Pepin i sur., 1998.; Belknap, 2002.; Peterhans i sur., 2004.). Dokazano je da u stadima za proizvodnju janjetine MVV može povećati stopu mortaliteta, smanjiti porođajnu masu janjadi (Dohoo i sur., 1987.; Keen i sur., 1997.), smanjiti proizvodnju mlijeka (Ploumi i sur., 2001.) i posljedično negativno utjecati na prirast janjadi u razdoblju od janjenja do odbića.

S obzirom na to da bolest ne možemo liječiti i ne postoji učinkovita vakcina, njezina se kontrola temelji na uspješnom dijagnosticiranju i eliminaciji pozitivnih životinja te sprečavanju unosa infekcije u stado.

Maedi-visna se može dokazati mikrobiološki, izdvajanjem virusa, molekularnim tehnikama detekcije nukleinske kiseline, i to metodom lančanom

reakcijom polimeraze (PCR), *Southern blottingom*, hibridizacijom *in situ*. Glavno su uporište za detekciju MVV inficiranih životinja serološke metode, za koje je razvijeno nekoliko antigena i različitih formata testova (de Andres i sur., 2005.). Od seroloških metoda agar-gel imunodifuzijski test (AGID) i imunoenzimni test (ELISA) jesu propisane službene metode dijagnosticiranja (OIE Terrestrial Manual 2008). Testovi ELISA prikladni su za pretraživanje velikog broja uzoraka, međutim zbog nedovoljne prije svega specifičnosti, a i osjetljivosti, služe kao orijentacijske metode. Stoga se u serološkoj dijagnostici MV-a kao referentna metoda upotrebljava agar-gel imunodifuzijski test (Herrmann-Hoesin, 2010.). S obzirom na to da serološki pozitivan nalaz, kao i sam dokaz virusa, nisu ujedno i dokaz da je životinja oboljela, dijagnoza se postavlja kombinacijom seroloških metoda, temeljem kliničke slike te patohistološkom pretragom.

Prvi su put MVV u ovaca dokazali Sigurdsson i suradnici na Islandu ranih pedesetih godina dvadesetog stoljeća, iako su simptomi te bolesti opisani i ranije, i to u južnoj Africi, Sjedinjenim Američkim Državama, Francuskoj i Islandu (Sigurdsson i sur., 1952.; Sigurdsson i sur., 1957.). Bolest je proširena po cijelom svijetu, uz izuzetak Australije i Novog Zelanda (Brodie i sur., 1998.; Reina i sur., 2009.), također je utvrđena i u većini europskih zemalja iako podaci o seroprevalenciji iz mnogih regija nisu dostupni (Christodouloupoulos, 2006.). Prema provedenom istraživanju u Vojvodini seroprevalencija za MVV u ovaca iznosila je 21,33 % (Savić i sur., 2008.), a u Sloveniji seroprevalencija za lentiviruse malih preživača iznosila je 25,9 % (Zadnik i sur., 2012.). Tijekom serološkog nadzora nad 203 stada u Italiji ustanovljena prevalencija među stadima iznosila je 71,4 % (Salvatori i sur., 2002.), u sjeverozapadnoj Španjolskoj 24,8 % (Lago i sur., 2012.), u sjevernoistočnoj Španjolskoj 52,88 % (Perez i sur., 2010.). Prema podacima iz istraživanja provedenog u Turskoj, ustanovljena seroprevalencija je iznosila 15,3 % (Preziuso i sur., 2010.), u Mecklenburgu (sjevernoj Njemačkoj) iznosila je 28,8 % (Hüttner, 2010.), u Švicarskoj seroprevalencija je 9 % (Schaller, 2000.).

Prema nama dostupnim podacima do sada nisu provedena istraživanja s ciljem utvrđivanja prisutnosti infekcije virusom maedi-visna i prevalencije u R. Hrvatskoj. Zbog prethodno navedenih ekonomskih šteta koje MVV nanosi ovčarstvu populaciju ovaca južne Hrvatske odabrali smo kao izvor uzoraka za pretraživanje s obzirom na to da je na tom području ovčarstvo najzastupljenija grana stočarstva.

U ovom je radu opisan prvi serološki dokaz prisutnosti MVV-a u ovaca u južnoj Hrvatskoj.

## Materijal i metode

U istraživanju je pretraženo ukupno 408 uzoraka krvi ovaca i ovnova podrijetlom iz 401 stada na području Dalmacije. Uzorci su odabrani nasumičnim odabirom od uzoraka pune krvi podrijetlom od klinički zdravih životinja dostavljenih u VZS radi pretraživanja u sklopu provođenja programa kontrole *Brucellae melitensis*. Pretraživani su uzorci podrijetlom iz uzgoja ovaca u četiri županije južne Hrvatske. Broj uzoraka po županijama bio je relativno ujednačen za sve županije s izuzetkom Dubrovačko-neretvanske, iz kojih je pretraženo samo pet uzoraka. Nakon zaprimanja uzorci pune krvi centrifugirani su na 2000 okr/min tijekom 5 minuta nakon čega su odvojeni serumi koji su korišteni za serološku pretragu. Serološka pretraga načinjena je komercijalnim gel-difuzijskim precipitacijskim testom (Maeditect 1000, Veterinary Laboratories Agency, Weybridge) usklađenim s propisanim zahtjevima za dijagnostiku maedi-visna od strane OIE-a. Ispitujući su serumi pretraženi na agaroznom gelu načinjenom od 1 %-tne agaroze u 0,05 M Tris pufera, pH 7,2 i 8 % NaCl u Petrijevim pliticama. Kontrola ispravnosti načinjenih pretraga provodila se uporabom precipitacijskog antiseruma za glikozilirani polipeptid (135 gp) maedi-visna virusa sadržanog u komercijalnom testu, koji se na način opisan od proizvođača koristio pri postavljanju svake pretrage. Ploče s postavljenim pretragama inkubirane su tijekom 24 h u vlažnoj komori pri sobnoj temperaturi. Nakon inkubacije rezultati su očitavani

vizualno pri reflektirajućim zrakama svjetlosti tako da se pozitivnim uzorkom smatrao onaj gdje je nastala linija precipitacije između ispitujućeg seruma i komercijalnog maedi-visna antigena sadržanog u dijagnostičkom kompletu.

Postignuti su rezultati statistički obrađeni osnovnim statističkim metodama, a značajnost razlika seroprevalencije u županijama s dostatnim brojem uzoraka načinjena je hi-kvadratnim testom.

## Rezultati

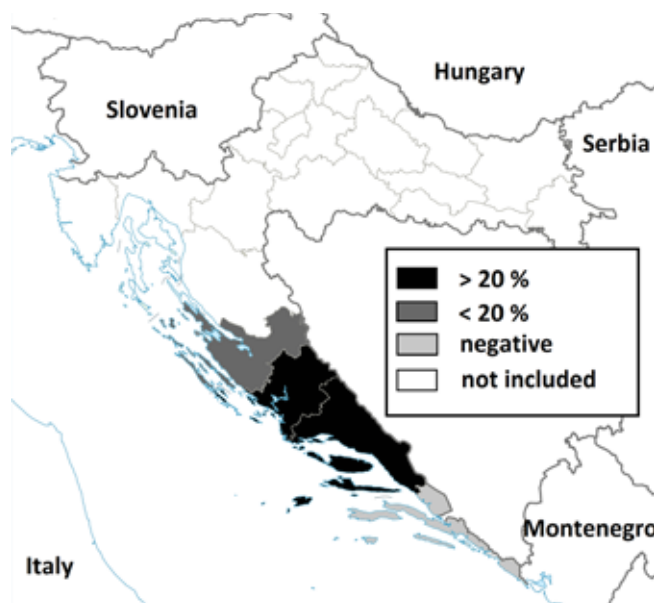
Od ukupno 408 pretraženih uzoraka krvnih seruma ovaca 66 uzoraka dalo je pozitivan rezultat (16,18 %). Od pretraženih 317 muških rasplodnjaka 62 su bila serološki pozitivna (19,56 %), a od pretražene 91 ženske životinje 4 su bile pozitivne (4,4 %). Razlika u ustanovljenoj seroprevalenciji između spolova bila je statistički značajna ( $p < 0,0001$ ). Istraživanjem su obuhvaćeni uzorci podrijetlom iz 401 stada, a u 64 različita stada pronađeni su pozitivni uzorci te je seroprevalencija na razini stada iznosila 15,9 %. Na razini županija najviša je seroprevalencija zabilježena u Šibensko-kninskoj županiji (21,5 %). Gotovo je istovjetna seroprevalencija ustanovljena u Splitsko-dalmatinskoj županiji (20,69 %), dok je u Zadarskoj županiji iznosila 9,6 %. Opažene razlike u udjelima pozitivnih rezultata između pojedinih županija statistički su značajne ( $p = 0,014$ ). Iz Dubrovačko-neretvanske županije pretraženo je samo 5 uzoraka te su svi bili negativni.

Tablica 1. Rezultati seroloških pretraga na maedi-visna virus u Dalmaciji.

	Br. grla	Br. stada	Br. ovnova	Br. ovaca
Br. uzoraka	408	401	317	91
Br. pozitivnih uzoraka	66	64	62	4
% pozitivno	16,18 %	15,9 %	19,56 %	4,4 %

Tablica 2. Rezultati seroloških pretraga na maedi-visna virus po županijama.

	Dubrovačko - neretvanska	Splitsko - dalmatinska	Šibensko - kninska	Zadarska
Br. uzoraka	5	116	121	166
Br. pozitivnih uzoraka	0	24	26	16
% pozitivno	0 %	20,69 %	21,5 %	9,6 %



Slika 1. Geografski prikaz seroprevalencije po županijama.

U model logističke regresije uključili smo varijable županiju i spol, budući da su univarijatnom analizom obje povezane s ishodom testa. Kontrolirajući spol pretraženih životinja, županija podrijetla životinja više nije utjecala na izgled životinja za infekciju ( $OR = 1,12$ ,  $p = 0,506$ ). Nasuprot tomu, uz kontrolu županije podrijetla životinje, spol je značajno utjecao na izgled životinja za infekciju, odnosno ženske životinje imale su oko 5 puta manji izgled za infekciju od muških životinja ( $OR = 0,21$ ,  $p = 0,006$ ).

## Rasprava

U ovom smo istraživanju utvrdili ukupnu seroprevalenciju od 16,18 %, što potvrđuje dosadašnje navode kako se radi o zarazi proširenoj po cijelom svijetu. Usporedbom dostupnih podataka o seroprevalenciji MVV-a u ovaca iz zemalja u okruženju, vidljivo je da je utvrđena seroprevalencija u ovom istraživanju nešto niža nego u Vojvodini (21,33 %) (Savić i sur., 2008.) i Sloveniji (25,9 %) (Zadnik i sur., 2012.), no vrlo slični rezultati zabilježeni su u istraživanju provedenom u Turskoj (15,3 %) (Preziuso i sur., 2010.). Takvi su rezultati možebitno posljedica uporabe različitih dijagnostičkih testova u istraživanju. Naime, poznato je da je AGID nešto manje osjetljiv u usporedbi s ELISA-om. Nadalje, u dosadašnjim je istraživanjima uočena razlika u seroprevalenciji unutar regija pojedine države, a pogotovo se razlika uočava uspoređujući veće zemljopisne cjeline/države međusobno.

Nadalje, seroprevalencija u Splitsko-dalmatinskoj i Šibensko-kninskoj županiji gotovo je istovjetna, 20,69 % i 21,5 % kako slijedi, no u Zadarskoj je

županiji iznosila 9,6 %. Slični su podaci pronađeni i u drugim istraživanjima te je seroprevalencija varirala između regija pojedine države. U studiji provedenoj u Vojvodini ustanovljena seroprevalencija po regijama iznosila je od 14,6 % do 31 % (Savić i sur., 2008.), u sjeverozapadnoj Španjolskoj 24,8 % (Lago i sur., 2012.), u sjeveroistočnoj Španjolskoj 52,88 % (Perez i sur., 2010.). Uzrok uočene razlike u seroprevalenciji između Splitsko-dalmatinske i Zadarske županije te Šibensko-kninske i Zadarske može biti u načinu i svrsi ovčarenja. Naime, u ŠK i SD županiji vlasnici drže stada u svrhu proizvodnje janjetine, dok je u Zadarskoj županiji, a posebno na otoku Pagu, proizvodnja orijentirana na mlijeko i mliječene proizvode. Samim time u Zadarskoj su županiji stada izložena manjem broju izmjena jedinki u stadu, odnosno rjeđem uvođenju novih ovnova u svrhu prirodnog pripusta.

Utvrđena seroprevalencija među muškim rasplodnjacima iznosila je 19,56 %, a među ženskim životinjama 4,4 % te je razlika statistički značajna ( $p < 0,0001$ ), za razliku od rezultata objavljenih u istraživanju koje je proveo Arsenaut i suradnici (2003.) gdje su ženske životinje bile češće seropozitivne od muških rasplodnjaka. No, u istraživanju koje su proveli Seyoum i suradnici (2011.) ustanovljeno je da nije bilo značajne razlike u seroprevalenciji među spolovima. Naši se rezultati mogu objasniti učestalom zamjenom muških rasplodnjaka među stadima različitih vlasnika u svrhu izbjegavanja križanja u krvnom srodstvu. Stoga su muški rasplodnjaci više izloženi zarazi. Do sada se smatralo da su najvažniji putevi prijenosa bolesti mlijekom/kolostrumom i ae-

rosolom (Berriatua i sur., 2003.), a transplacentarni prijenos i prijenos spermom smatrali su se zanemarljivima (Blacklaws i sur., 2004.). Novija istraživanja (Ali Al Ahmad i sur., 2008., Peterson i sur., 2008.) dokazala su intermitentno izlučivanje provirusne DNA MVV-a u sjemenu, što uz bliski kontakt mužjaka i ženke može biti relevantan faktor rizika u prijenosu bolesti. U navedenim županijama tijekom kasne jeseni i zime ovce borave u stajama, a muški se rasplodnjaci ne izdvajaju iz stada. Dakle, mužjaci su izloženi horizontalnom putu prijenosa bolesti jednako kao i ženske jedinice. Nadalje, zaraženi muški rasplodnjaci mogu aerosolom i spolnim putem širiti infekciju, a u uvjetima česte razmjene/prodaje bitan su izvor infekcije u smislu unošenja bolesti u stada. Tomu ide u prilog opažanje Christodoulopoulosa (2006.) da su ovce kupljene iz stada slobodnih od MV-a serokonvertirale jednu godinu nakon uvođenja u MV pozitivna stada te da je u većini slučajeva kontaminacija stada uslijedila nakon uvođenja muških rasplodnjaka u svrhu poboljšanja genetike stada.

U ovom je radu prvi put istražena seroprevalencija u ovaca za MVV na području R. Hrvatske. Mišljenje smo da je dokazana visoka seroprevalencija koja zasigurno utječe na rezultate ovčarke proizvodnje. Nadalje, nužno je nastaviti istraživanja na istom, ali i drugim područjima R. Hrvatske kako bi se započelo sa sustavnim suzbijanjem bolesti.

## Literatura

- ALI AL AHMAD M. Z., FIENI F., PELLERIN J. L., GUIGUEN F., CHEREL Y., CHATAGNON G., BOUZAR A. B. & CHEBLOUNE Y. 2008. Detection of viral genomes of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) in semen and in genital tract tissues of male goat. *Theriogenology*, 69, 473-480.
- ARSENAULT J., DUBREUIL P., GIRARD C., SIMARD C. & BELANGER D. 2003. Maedi-visna impact on productivity in Quebec sheep flocks (Canada). *Preventive Vet Med*, 59, 125-137.
- BELKNAP E. B. 2002. Disease of the respiratory system. In: Pugh, D.G. (Ed), *Sheep and Goat Medicine*, Saunders, pp. 107-128.
- BERRIATUA E., ÁLVAREZ V., EXTRAMIANA B., GONZÁLEZ L., DALTABUIT M. & JUSTE R. 2003. Transmission and control implications of seroconversion to maedi-visna virus in Basque dairy-sheep flocks. *Preventive Vet Med*, 60(4):265-79.
- BLACKLAWS B. A. 2012. Small ruminant lentiviruses: Immunopathogenesis of visna-maedi and caprine arthritis and encephalitis virus. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 35, 259-269.
- BLACKLAWS B. A., BERRIATUA E., TORSTEINSDOTTIR S., WATT N. J., DEANDRES D., KLEIN D. & HARRKIS G. 2004. Transmission of small ruminant lentiviruses. *Vet Microbiol*, 101, 199-208.
- BRODIE S. J., DE LA CONCHA-BERMEJILLO A., SNOWDER G. D. & DEMARTINI J. C. 1998. Current concepts in the epizootiology, diagnosis, and economic importance of ovine progressive pneumonia in North America: a review. *Small Rumin Res*, 27, 1-17.
- CLEMENTS J. E., ZINK M. C. 1996. Molecular biology and pathogenesis of animal lentivirus infections. *Clin Microbiol Rev* 9, 100-117.
- CHRISTODOULOPOULOS G. 2006. Maedi-Visna: Clinical review and short reference on the disease status in Mediterranean countries. *Small Rumin Res*, 62, 47-53.
- DE ANDRES D., KLEIN D., WATT N. J., BERRIATUA E., TORSTEINSDOTTIR S., BLACKLAWS B. A. & HARRKIS G. D. 2005. Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses. *Vet Microbiol*, 107, 49-62.
- DOHOO I. R., HEANEY D. P., STEVENSON R. G., SAMAGH B. S. & RHODES C. S. 1987. The effects of maedi-visna virus infection on productivity in ewes. *Prev Vet Med*, 4, 471-484.
- EXTRAMIANA A. B., GONZALES L., CORTABARRIA N., GARCIA M. & JUSTE R. A. 2002. Evaluation of a PCR technique for the detection of Maedi-Visna proviral DNA in blood, milk and tissue samples of naturally infected sheep. *Small Rumin Res*, 44, 109-118.
- GUDNADOTTIR M. & KRISTINSDOTTIR K. 1967. Complement-fixing antibodies in sera of sheep affected with visna and maedi. *J Immunol*, 98, 663-667.
- HERRMANN-HOESING L. M. 2010. Diagnostic assays used to control small ruminant lentiviruses. *J Vet Diagn Invest*, 22, 843-855.
- HÜTTNER K., SEELMANN M. & FELDHUSEN F. 2010. Prevalence and risk factors for Maedi-Visna in sheep farms in Mecklenburg-Western-Pomerania. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 123, 10-14.
- KEEN J. E., HUNGERFORD L. L., LITLEDIKE E. T., WITTUM T. E. & KWANG J. 1997. Effect of ovine lentivirus infection on ewe and lamb productivity. *Prev vet med*, 30, pp. 155-169.
- KENNEDY-STOSKOPF S. & NARAYAN O. 1986. Neutralizing antibodies to visna lentivirus: mechanism of action and possible role in virus persistence. *J Virol*, 59, 37-44.
- LAGO N., LOPEZ C., PANADERO R., CIENFUEGOS R., PATO J., PRIETO A., DIAZ P., MOURAZOS N. & FER-

- NANDEZ G. 2012. Seroprevalence and risk factors associated with Visna/Maedi virus in semi-intensive lamb-producing flocks in northwestern Spain. *Prev Vet Med*, 103, 163-169.
- NARAYAN O., CLEMENTS J. E., KENNEDY-STOSKOPF S., SHEFFER D. & ROYAL W. 1987. Mechanisms of escape of visna lentiviruses from immunological control. *Contrib Microbiol Immunol*, 8, 60-76.
  - PÉPIN M., VITU C., RUSSO P., MORNEX J. F. & PETERHANS E. 1998. Maedi-visna virus infection in sheep: a review. *Vet Res*, 29, 341-67.
  - PEREZ M., BIESCAS E., DE ANDRES X., LEGINAGOIKO I., SALAZAR E., BERRIATUA E., REINA R., BOLEA R., DE ANDRES D., JUSTE R. A., CANCER J., GRACIA J., AMORENA B., BADIOLA J. J. & LUJAN L. 2010. Visna/maedi virus serology in sheep: Survey, risk factors and implementation of a successful control programme in Aragon (Spain). *Vet J*, 186, 221-225.
  - PETERHANS E., GREENLAND T., BADIOLA J., HARKISS G., BERTONI G., AMORENA B., ELIASZEWICZ M., JUSTE R. A., KRASSNIG R., LAFONT J.P., LENIHAN P., PETURSSON G., PRITCHARD G., THORLEY J., VITU C., MORNEX J. F. & PEPIN M. 2004. Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. *Vet Res*, 35, 257-274.
  - PETERSON K., BRINKHOF J. & HOUWERS D. J. 2008. Presence of pro-lentiviral DNA in male sexual organs and ejaculates of small ruminants. *Theriogenology*, 69, 433-442.
  - PISONI G., QUASSO A. & MORONI P. 2005. Phylogenetic analysis of small – ruminant lentivirus subtype B1 in mixed flocks: evidence for natural transmission from goats to sheep. *Virology*, 339, 147-152.
  - PLOUMI K., CHRISTODOULOU V., VAINES E., LYMBEROPOULOS A., XIOUFIS A., GIOUZELJIANNIS A., PASCHALERI E. & APDEWI I. 2001. Effect of maedi-visna virus infection on milk production in dairy sheep in Greece. *Vet Rec*, 149, 526-527.
  - PREZIUSO S., OR M. E., GIAMMARIOLI M., KAYAR A., FELIZIANI F., GÖNÜL R., FARNETI S., PARKAN YARAMIŞ Ç., VALENTE C. & CUTERI V. 2010. Maedi-visna virus in Turkish sheep: a preliminary serological survey using ELISA tests. *Turk J Vet Anim Sci*, 34, 289-293.
  - RADOSTITS O. M., GAY C. C., BLOOD D. C. & HINCHCLIFF K. W. 2000. *Ovine Progressive Pneumonia (Maedi, Maedi-Visna) Veterinary Medicine*, 9th ed. W. B. Saunders Company Ltd., London, UK, 1186-1189.
  - REINA R., BERRIATUA E., LUJAN L., JUSTE R., SANCHEZ A., DE ANDERSON D. & AMORENA B. 2009. Prevention strategies against small ruminant lentiviruses: an update. *Vet J*, 182, 31-37.
  - SALVATORI D., LEPRI E., SFORNA M., NOCENTINI A., ROSA V., PELLICANO A. & VITELLOZZI G. 2002. Ricerca sull'infezione da virus maedivisna condotte in allevamenti ovini in alcune regioni italiane. *Large Animals Review* 8, 57-62.
  - SAVIĆ S., VIDIĆ B., BUGARSKI D., GRGIĆ Ž.: Findings of specific antibodies against Maedi-Visna virus in sheep population in the region of Vojvodina. Available from <http://semenarska.rs/UNS-PSU/radovi/2/22%20Findings%20109-114.pdf>
  - SCHALLER P., VOGT H. R., STRASSER M., NETTLETON P. F., PETERHANS E. & ZANONI R. 2000. Seroprevalence of maedi-visna and border disease in Switzerland. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde*, 142,145-153.
  - SHAH C., HUDER J. B., BONI J., SCHONMANN M., MUHLHERR J., LUTZ H. & SCHUPBACH J. 2004. Direct evidence for natural transmission of small-ruminant lentiviruses of subtype A4 from goats to sheep and vice versa. *Virology* 78, 7518-7522.
  - SIHVONEN L. 1981. Early immune responses in experimental maedi. *Res Vet Sci*, 30, 217-222.
  - SIHVONEN L., HIRVELA-KOSKI, NUOTIO L. & KOKKONEN U.-M. 1999. Serological survey and epidemiological investigation of maedi-visna in sheep in Finland. *Vet Microbiol*, 65, 265-270.
  - SIGURDSSON B., GRIMSSON H. & PALSSON P. A. 1952. Maedi, a chronic progressive infection of sheep lungs. *J Infect Dis*, 90, 233-241.
  - SIGURDSSON B., PALSSON P. A. & GRIMSSON H. 1957. Visna, a demyelinating transmissible disease of sheep. *J Neuropathol Exp Neurol*, 16, 389-403.
  - THORMAR H. 2005. Maedi visna virus and its relationship to Human Immunodeficiency Virus. *AIDS Reviews*, 7, 233-245.
  - World Organisation for animal health (OIE). Chapter 2.7.3./4. Caprine arthritis-encephalitis and Maedi-visna. In: *The OIE manual of diagnostic tests and Vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees)*. Paris: OIE; 2008. Accessed 15 December 2013. Available from:[http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.07.03-04\\_CAE\\_MV.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.07.03-04_CAE_MV.pdf)
  - ZADNIK, T., ADAMIĆ T., VALENČAK Z., KUCHAR U. 2011. Clinical incidence and seroprevalence with regard to infection with small ruminant lentivirus and corynebacterium pseudotuberculosis in some flocks in Slovenia. *Veterinarska Stanica* 42, Supplement 2 pp. 345-347.