

Hepatitis por cuerpos de inclusión por Adenovirus. Estudio serológico mediante ELISA en reproductoras pesadas y pollos de engorde durante 2011 y primer semestre de 2012.

M. BIARNÉS ^{1*} y A. BLANCO ¹

¹ Centre de Sanitat Avícola de Catalunya i Aragó (CESAC), 43206 Reus, Tarragona, España.

* e-mail: mbiarnes@cesac.org

RESUMEN

Durante el año 2011 y primer semestre de 2012, hubo un incremento en el número de casos de Hepatitis por Cuerpos de Inclusión (HCI) por Aviadenovirus, tanto en pollos de engorde como en recría de reproductoras pesadas. Debido a ello, decidimos incluir en los programas de control sanitario, la determinación de anticuerpos frente FAV-I mediante la técnica de ELISA. El objetivo de este estudio fue conocer la seroprevalencia de FAV-I tanto en reproductoras como en pollos de engorde, el estado inmunitario de las aves desde su nacimiento (inmunidad maternal) hasta el final de su vida productiva, el momento en que se produce la seroconversión tras entrar en contacto con FAV-I y si hay diferencias entre los títulos ELISA de animales asintomáticos y de animales que presentan HCI. Para ello se realizaron un total de 197 análisis en reproductoras pesadas y 42 análisis en pollos a diferentes edades. El estudio serológico reveló que la mayoría de reproductoras pesadas y de pollos nacen con elevadas tasas de anticuerpos frente a FAV-I y que desaparecen aproximadamente a los 21 días de vida, que en pollos, la seroconversión se produce hacia los 35 días de vida y en reproductoras a las 15 semanas de vida y que el título aumenta en proporción a la edad. Existen diferencias significativas entre los títulos ELISA de los lotes de pollos asintomáticos y los que han padecido HCI.

ABSTRACT

During 2011 and the first half of 2012, an increasing number of cases of inclusion body hepatitis (IBH) by Aviadenovirus was seen both in broilers and broiler breeder rearing. As a result, the determination of FAV-I antibodies by ELISA was included in the health control programs. The aim of this study was to determine the seroprevalence of FAV-I, both in broiler breeder rearing and in broilers, the immune status of the birds from birth (maternal immunity) to the end of their productive life, the moment at which seroconversion occurs after FAV-I contact and whether there were differences between ELISA titers from asymptomatic animals and animals with IBH. To this end, we performed a total of 197 analyses in broiler breeders and 42 analyses in broiler chickens of different ages. The serological study revealed that most of the broiler chickens are born with high levels of antibodies against FAV-I, which disappear at about 21 days of age. For chickens seroconversion was found to occur at 35 days of age and for breeders, it occurred at 15 weeks of life with a title increase proportional to age. Finally, there were significant differences in ELISA titers between asymptomatic broiler flocks and those who had suffered IBH.

Palabras clave: Adenovirus aviaries, hepatitis por cuerpos de inclusión, ELISA.

Introducción

La Hepatitis por Cuerpos de Inclusión (HCI) es una enfermedad vírica, de curso agudo, causada por virus pertenecientes al Grupo I de Adenovirus aviares (FAV-I) que pertenecen al género *Aviadenovirus* de la familia Adenoviridae. Se han descrito los siguientes serotipos: FAdV-1, FAdV -2, FAdV-3, FAdV-4, FAdV-5, FAdV-6, FAdV-7, FAdV-8a, FAdV-8b, FAdV-9, FAdV-10 y FAdV-11 agrupados según criterios moleculares en 5 especies: A,B,C,D y E. En los brotes reportados de HCI, varios de estos serotipos se han visto involucrados en solitario, con otros serotipos o en asociación con otros agentes infecciosos como el virus de Gumboro o el Virus de la anemia infecciosa.

Los FAV-I están asociados a diferentes entidades clínicas, sin embargo, también pueden ser aislados de animales sanos, hecho que dificulta el diagnóstico ya que podemos detectar el virus o anticuerpos circulantes tras una exposición, sin apreciar el más mínimo problema.

El diagnóstico definitivo de un brote de HCI debe hacerse, no sólo en base a los signos y lesiones macroscópicas, sino con la ayuda del diagnóstico laboratorial, ya sea mediante estudio histopatológico, evidenciando las lesiones patognomónicas provocadas en los hígados afectados y/o mediante la detección del virus causante por métodos de aislamiento o bien técnicas basadas en biología molecular, como la PCR. La posterior caracterización mediante virusneutralización, secuenciación, etc del virus, nos llevará a conocer el serotipo implicado.

Aunque el ELISA no es la técnica de elección para realizar el diagnóstico definitivo, si que fue útil para el objetivo de este estudio, que fue conocer la seroprevalencia de FAV-I tanto en reproductoras como en pollos de engorde, el estado inmunitario de las aves desde su nacimiento (inmunidad materna) hasta el final de su vida productiva, el momento en que se produce la seroconversión tras entran en contacto con FAV-I y si existen diferencias entre los títulos ELISA de animales asintomáticos y de animales que presentan HCI. El ELISA utilizado es grupo específico (FAV-I) y detecta anticuerpos frente a cualquier serotipo del grupo, sin discernir entre ellos.

Materiales y métodos

Muestras

Los análisis se realizaron a partir de sueros de lotes de reproductoras y broilers que llegaron al CESAC provenientes de diversos puntos de España. Concretamente, se llevaron a cabo un total de 197 análisis en reproductoras pesadas y 42 análisis en pollos, analizando, aproximadamente, 12 sueros por referencia. El muestreo fue a diferentes edades.

Técnica

La técnica utilizada para la detección de anticuerpos frente a FAV-I fue ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) indirecto de la casa comercial BiocheK (Fowl Adenovirus Group I Antibody Test Kit, CK 132). La dilución final del suero fue 1/100. La técnica de ELISA se realizó siguiendo las indicaciones recomendadas por el fabricante del kit.

Interpretación de los resultados del kit de ELISA FAV-I

Las muestras que obtuvieron un cociente S/P menor o igual a 0,499, que corresponde a un título ELISA de 1070, se consideraron negativas y las muestras que obtuvieron un cociente S/P mayor o igual a 0,5, que corresponde a un título ELISA de 1070, se consideraron positivas.

Resultados y discusión

En las tablas 1 y 2 se detallan los resultados obtenidos, tanto en pollos como en reproductoras, agrupados por edad. En las columnas se especifica la edad de los animales en el muestreo, el número de lotes analizados, la Media Aritmética de los títulos ELISA, el título máximo y mínimo y la desviación estándar (SD).

En los gráficos 1 y 2 se refleja la evolución de los títulos ELISA en pollos y reproductoras en relación a la edad.

Tabla 1. Títulos ELISA FAV-I obtenidos en pollos.

Edad (d)	Lotes	Media Aritmética	Máximo	Mínimo	SD
1	15	17342	21243	9861	3256,8
7	5	6655	10255	3917	2431,6
20	5	698	1911	171	711,1
35	3	6447	14501	428	7253,7
46	9	4844	12853	1168	3730,7
53	5	5022	8164	3777	1780,6

Gráfico 1. Evolución con la edad de los títulos ELISA FAV-I en pollos.

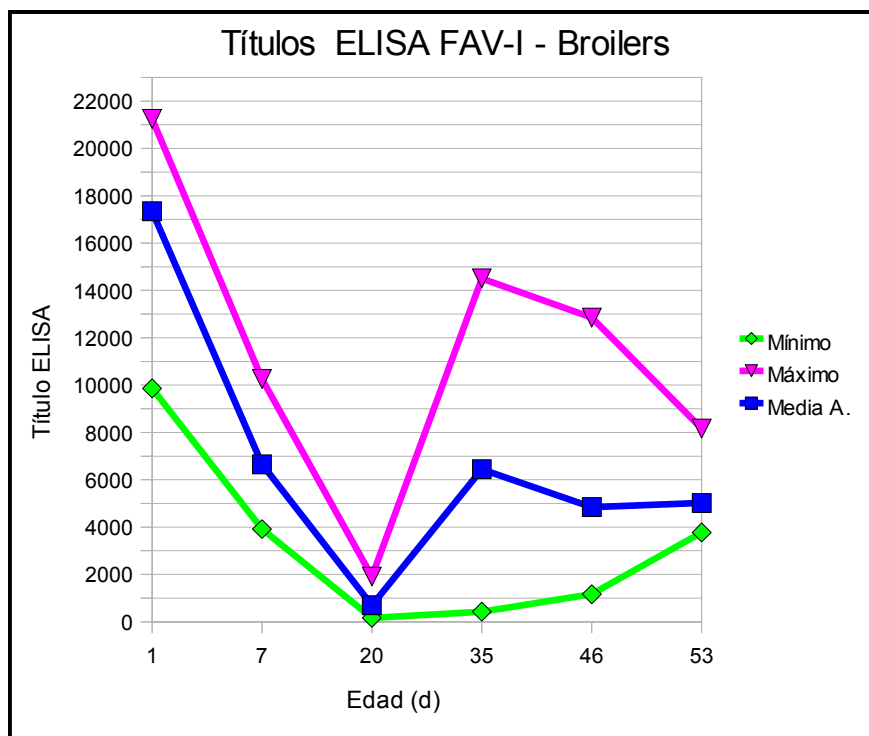
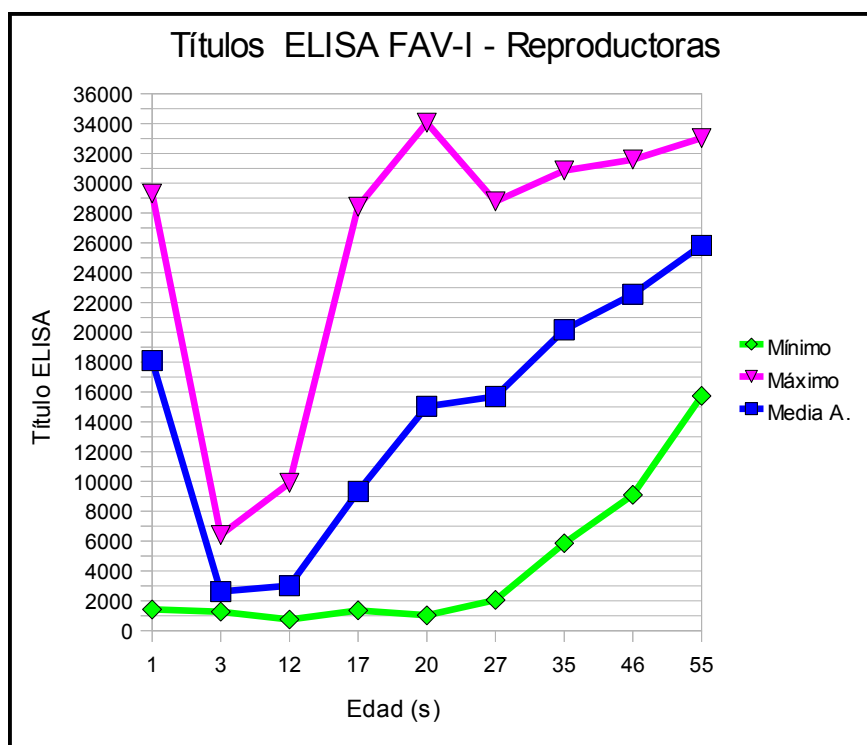


Tabla 2. Títulos ELISA FAV-I obtenidos en reproductoras.

Edad (s)	Lotes	Media Aritmética	Máximo	Mínimo	SD
1	34	18096	29311	1418	5621,7
3	7	2618	6409	1263	17,83
12	11	3011	9906	741	2607,8
17	14	9332	28428	1354	8214,4
20	59	15041	34053	1024	8578,9
27	23	15698	28776	2052	7543,5
35	15	20169	30851	5861	5862,9
46	16	22552	31584	9097	7153,7
55	18	25829	33025	15739	6772,5

Gráfico 2. Evolución con la edad de los títulos ELISA FAV-I en reproductoras.



El estudio serológico reveló que:

La mayoría de reproductoras pesadas y de pollos nacen con elevadas tasas de anticuerpos frente a FAV-I. De los 15 lotes de broilers de un día analizados, 14 (93,33%) obtuvieron títulos ELISA superiores a 10.000 y sólo un lote obtuvo un título medio por debajo de 10.000, concretamente 9.861. En el caso de las reproductoras, 33 lotes (97,05%) de 34 obtuvieron títulos ELISA superiores a 10.000 mientras que el título del lote restante fue muy inferior, 1.418.

La tasa de anticuerpos maternos frente a FAV-I, decrece hasta prácticamente desaparecer

aproximadamente a los 21 días de vida, tal y como ocurre con el resto de anticuerpos maternos frente a otros antígenos.

La seroconversión por contacto natural con FAV-I, se produce hacia los 35 días de vida en pollos y a las 15 semanas en reproductoras. El título aumenta en proporción a la edad.

Existen diferencias significativas entre los títulos ELISA de los lotes de pollos asintomáticos de los que han padecido HCI. Los títulos máximos que se obtuvieron a los 35 y 46 días de vida, 14.501 y 12.853, pertenecen a dos lotes donde se diagnosticó un brote de HCI. El 70,59% de títulos entre los 35 y 53 días de vida fueron inferiores a 5.000.

Referencias

- ADAAIR, B.M. and FITZGERALD, S.D.** (2008). Group I Adenovirus Infections. *Diseases of Poultry*. 12th, Saif, Y.M. . Blackwell Publishing, Iowa, EEUU : 252-266.
- ALVARADO, I. R., VILLEGAS, P., EL-ATTRACHE, J. and JENSEN, E.** (2007). Genetic characterization, Pathogenicity, and Protection studies with an Avian Adenovirus Isolate Associated with Inclusion Body Hepatitis. *Avian Diseases* **51**:27-32
- CALNEK, B.W., SHEK, W.R., MENENDEZ, N.A., STIUBE, P.** (1982) Serological cross-reactivity of avian adenovirus serotypes in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Avian Diseases*, **26**:897-906.
- HESS, M.** (2000) Detection and differentiation of avian adenoviruses: a review. *Avian Pathology* **29**: 195-206.