

---

## Situación actual del adenovirus aviar

R.DOLZ<sup>1</sup>, S. OLIVER<sup>1</sup>, A. RAMIS<sup>1,2</sup>, R. RIVAS<sup>1</sup>, R. M. VALLE<sup>1</sup>, C.CALDERON<sup>2</sup>, M. BIARNÉS<sup>3</sup>, A. BLANCO<sup>3</sup>, N. BUSQUETS<sup>1</sup>, N. MAJÓ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), UAB-IRTA, Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona, España; <sup>2</sup>Departament de Sanitat i Anatomia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona, España; <sup>3</sup>Centre de Sanitat Avícola de Catalunya i Aragó (CESAC), Avda. Castellvell, 32, 43206 Reus, Tarragona, España.

\* Autor de contacto : [rosier.dolz@cresa.uab.cat](mailto:rosier.dolz@cresa.uab.cat)

---

La hepatitis por cuerpos de inclusión es una enfermedad vírica, causada por adenovirus del grupo 1, familia Adenoviridae. En España, se observaban casos aislados de esta enfermedad de forma esporádica. Pero desde el brote de 2011 que afectó a broilers y reproductoras pesadas, esta enfermedad se presenta de forma endémica en nuestro país. En el presente estudio se resume la caracterización molecular y patológica de las cepas involucradas en los casos entre 2011 y 2013.

---

**Palabras clave:** hepatitis por cuerpos de inclusión, adenovirus, genotipo

### Introducción

En la primavera de 2011 se inició un brote de hepatitis por cuerpos de inclusión (IBH) en España. Los casos afectaron mayoritariamente a granjas de pollos broiler, aunque también se observaron algunos casos en pollitas de recría pesadas. Desde entonces, la aparición de casos de IBH se ha sucedido de forma continuada, de manera que actualmente la enfermedad se presenta de forma endémica en nuestro país. Por ello, se consideró necesario determinar qué serotipos de adenovirus aviarios (FAdV) estaban involucrados en los casos de IBH, así como caracterizar el potencial patógeno de éstos. Para ello, se diseñó un trabajo conjunto del CRESA, Centre de Recerca en Sanitat Animal, y el CESAC, Centre de Sanitat Avícola de Catalunya. En primer lugar se caracterizaron molecularmente los adenovirus detectados los casos de IBH confirmados bien mediante histología o PCR. Posteriormente, se realizó una infección experimental con los dos serotipos de virus detectados en pollitos libres de patógenos específicos (SPF).

### Caracterización molecular de los adenovirus detectados en los casos de IBH

Desde el inicio del brote en la primavera de 2011, un total de 85 casos remitidos al CReSA y/o al CESAC han sido diagnosticados como IBH, bien mediante histología o PCR. A partir de los casos confirmados y de los cuales se tenía tejido hepático congelado, se llevó a cabo la PCR para la amplificación parcial del gen hexón. Un total de 39 casos resultaron positivos con esta PCR y se realizó la secuenciación del fragmento amplificado de 500pb. El análisis filogenético y de las secuencias demostró que 11 aislados (28,2%) pertenecían al FAdV-11 (genotipo D) mientras que 27 aislados (69,2%) se agruparon en el FAdV-8b (genotipo E). Un aislado se agrupó de forma aislada con la cepa de referencia del FAdV-8a (2,6%) dentro del genotipo E (Figura 1).

Aunque el análisis de los datos epidemiológicos de los casos no ha permitido observar ninguna relación epidemiológica clara entre los casos causados por un mismo serotipo, la mayoría de los casos de pollitas reproductoras pesadas (3/4) incluidos en el estudio se asociaron al serotipo 11.

## **Caracterización patológica de los adenovirus FAdV-8b y FAdV11**

Teniendo en cuenta que la mayoría de los adenovirus detectados se clasificaron en los serotipos 8b y 11, se decidió determinar el potencial patógeno en pollitos SPF de estos dos serotipos. Para ello se seleccionaron dos casos clínicos, causados por cada uno de los dos serotipos de virus, 8b y 11. A partir del homogeneizado de hígados congelados procedentes de los casos, se aisló el virus en cultivos primarios de hepatocitos de embrión SPF (CELIC) y se obtuvieron los stocks víricos para cada uno de los serotipos de FAdV que se alicuotaron y congelaron a -80C. Una alícuota de cada aislado vírico se tituló en CELIC.

Se infectaron dos grupos de pollos SPF de 5 días de vida con cada uno de los serotipos: FAdV-8b (8b en adelante) y FAdV-11 (11 en adelante). Los grupos 8b y 11 se infectaron vía intramuscular con una dosis de  $10^4$  TCID<sub>50</sub>/ml y animal, mientras que los grupos 8b+ y 11+ se infectaron vía intramuscular con una dosis de  $10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub>/ml y animal. Cada grupo incluía 8 pollos SPF infectados y 4 pollos SPF no infectados y referidos en adelante como contactos. Un quinto grupo que incluía 6 pollos SPF infectados con PBS se utilizó como control negativo. Diariamente se evaluaron los signos clínicos y mortalidad. Se tomaron hisopos cloacales para evaluar la excreción vírica a 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12 y 15 días post infección (dpi). A los 5, 8, y 15 dpi se realizaron necropsias de 3 animales infectados de cada uno de los grupos. A los 15 dpi todos los animales supervivientes, así como todos los contactos se eutanasiaron y se realizó necropsia. Previamente a la eutanasia, se tomaron muestras de sangre para realizar serología.

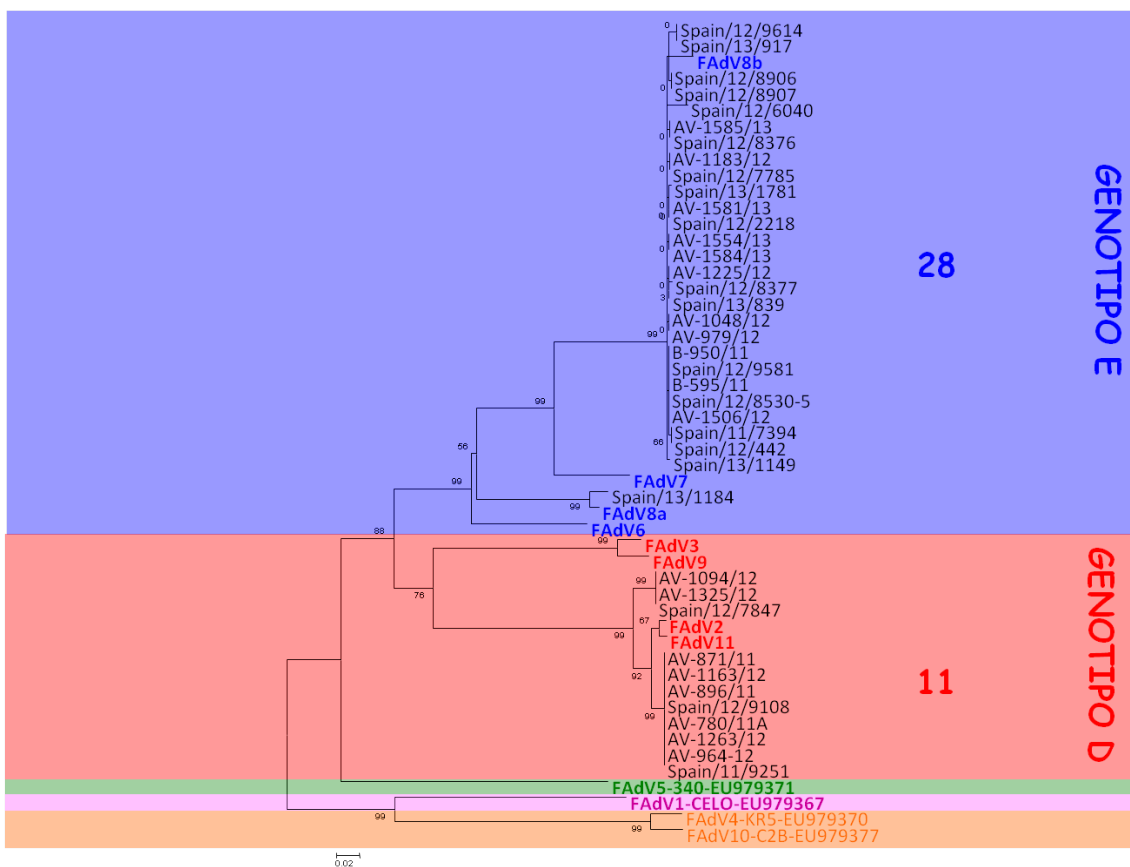
No se observó mortalidad en ninguno de los grupos infectados, y solamente un animal del grupo 8b+ mostró signos clínicos inespecíficos (inactividad, plumas erizadas). En los grupos 8b+ y 11+ se observaron áreas focales o difusas de palidez hepática en los animales sacrificados a los 5 y 8 dpi. Histológicamente, en estos animales se observó hepatitis y pancreatitis necrotizante multifocal con cuerpos de inclusión intranucleares. En los grupos infectados con una menor dosis, 8b y 11, las lesiones observadas fueron similares pero en menor extensión y gravedad, y en un número menor de animales. No se observaron signos clínicos ni lesiones macro ni microscópicas en los contactos, ni en el grupo control negativo.

Solamente se observó seroconversión en los grupos infectados con una dosis alta: 5 animales infectados del grupo 8b+ y 4 animales (2 infectados y 2 contacto) del grupo 11+.

Se detectó excreción vírica en todos los animales de los grupos 8b, 8b+, 11 y 11+, tanto infectados como contactos (Figura 2). En las aves infectadas con una dosis más alta, se alcanzaron niveles altos de excreción vírica más rápidamente. Cuando comparamos las aves infectadas y los contactos, la curva de excreción vírica en las aves contacto se retrasó respecto las aves infectadas del mismo grupo.

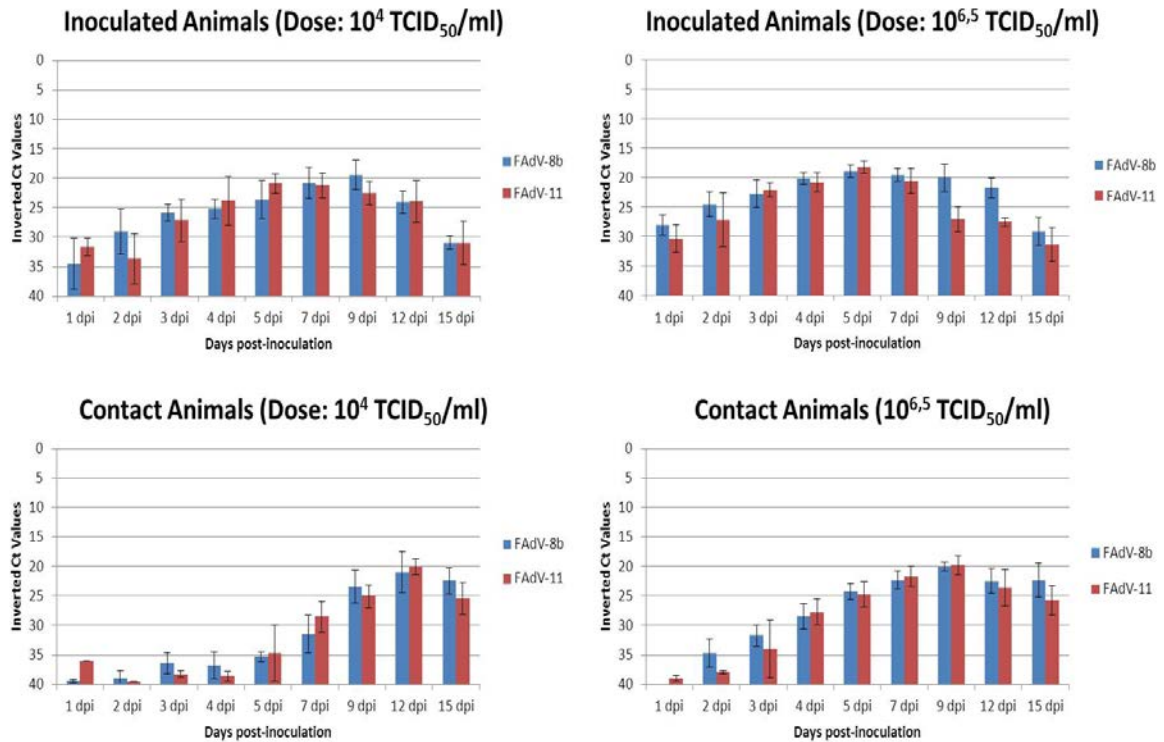
Estos resultados demuestran que ambos serotipos, FAdV-8b y FAdV-11, son capaces de infectar aves SPF e inducir altos niveles de excreción fecal. Además, en ambos serotipos, las aves contacto excretaron de forma consistente los virus, demostrando la capacidad de las aves infectadas de infectar las aves contacto. Sorprendentemente, la infección experimental con ambos serotipos, no causó prácticamente mortalidad en las aves SPF. Teniendo en cuenta el efecto del incremento de la dosis en las lesiones observadas, es probable que se necesitaran dosis más elevadas de ambos virus para inducir mortalidad. Pero no se puede descartar la necesidad de otros factores ambientales o infecciosos para inducir una mayor virulencia de los FAdV inoculados. A pesar de la ausencia de mortalidad, se demostró la capacidad de ambos serotipos para inducir lesiones en el hígado y páncreas.

**Figura 1. Árbol filogenético realizado mediante el método Neighbor-Joining y basado en las secuencias nucleotídicas parciales del gen hexon de FAdV. En color y negrita las cepas de referencia de los 12 serotipos de FAdV. En letras negras las cepas aisladas de casos de IBH en España.**



**Figura 2. Gráficos de excreción cloacal de FAdV-8b y FAdV-11. En cada gráfico se muestran ambos serotipos (8b en azul y 11 en rojo). Los dos gráficos superiores muestran la excreción en aves infectadas mientras que los gráficos inferiores muestran la excreción en las aves contacto.**

Los gráficos de la izquierda muestran la excreción de los grupos infectados con una dosis baja, mientras que los gráficos de la derecha muestran la excreción de los grupos infectados con una dosis alta.



Cloacal viral shedding confirmed effective transmission of inoculated to contact animals. Shedding was consistent and long-lasting further evidencing the capacity of both viral strains to replicate, but not causing clinical disease, in SPF chickens. These results are in accordance with others experimental infections previously reported (Ono et al., 2011; Grgic et al., 2011).

- GRGIC H., YANG D.H., NAGY É. (2011). Pathogenicity and complete genome sequence of a fowl adenovirus serotype 8 isolate. *Vir. Res.* Vol. 156, pp. 91-97.

- GÜNES A., MAREK A., GRAFL B., BERGER E., HESS M. (2012). Real-time PCR assay for universal detection and quantitation of all five species of fowl adenoviruses (FAdV-A to FAdV-E). *J. Vir. Met.* Vol. 183, pp. 147-153.

- ONO M., OKUDA Y., SHIBATA I., SATO S., OKADA K. (2007). Reproduction of Adenoviral Gizzard Erosion by the Horizontal Transmission of Fowl Adenovirus Serotype 1. *J. Vet. Med. Sci.* Vol. 69, pp. 1005-1008.