

IDENTIFICACIÓN DE INFECCIONES POR EL VIRUS DEL ADENOCARCINOMA PULMONAR OVINO EN REBAÑOS MIXTOS DE OVEJAS Y CABRAS

BENITO, A.A.^{1,2}; ORTIN, A.²; FERRER, L.M.²; GARCIA DE JALON, J.A.²; CUARTIELLES, I.³
Y. DE LAS HERAS, M.²

¹ Laboratorio de Microbiología. Facultad de Veterinaria. Universidad Mayor de San Marcos. Perú.

² Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. España.

³ Carne Aragón.

RESUMEN:

El Adenocarcinoma Pulmonar Ovino (APO, Adenomatosis Pulmonar Ovina) es una neoplasia pulmonar contagiosa de los ovinos causada por un retrovirus tipo B denominado Jaagsiekte Sheep Retrovirus (JSRV). Con el fin de evaluar la presencia de infecciones por JSRV en caprinos procedentes de granjas con crianza mixta de ovinos y caprinos, un total de 29 cabras fueron clasificadas dependiendo de su exposición a ovinos de rebaños positivos o negativos a APO; adicionalmente se determinó la presencia de Tumor Nasal Enzoótico (ENT) en cabras de ambos rebaños. La identificación del JSRV fue realizada en leucocitos de sangre periférica, utilizando una prueba de heminested PCR específica para cada virus. Los resultados demuestran la presencia de infecciones por JSRV en cabras en contacto con ovejas de rebaños APO positivos, mientras que ninguna muestra de las cabras expuestas a rebaños APO negativos resultó positiva. Los resultados también demuestran la existencia de coinfección de ambos virus en caprinos y brindan información a considerar en las estrategias de control de esta enfermedad.

Palabras Clave: Adenocarcinoma Pulmonar Ovino, JSRV, caprinos, heminested PCR.

INTRODUCCION

El Adenocarcinoma Pulmonar Ovino (APO) es una neoplasia contagiosa del pulmón de los ovinos la cual ha sido reconocida en muchos países en el mundo incluido España. El agente causal del APO es un retrovirus tipo B conocido como Jaagsiekte Sheep Retrovirus (JSRV) y que afecta los neumocitos tipo II y las células CLARA (Hecht et al, 1996). A pesar de que esta enfermedad es una afección particular de los ovinos, existen reportes previos de APO en cabras, los cuales proceden principalmente de estudios realizados en mataderos o de hallazgos incidentales post-mortem (Sharma et al., 1975); Asimismo, otras investigaciones han demostrando la susceptibilidad de las cabras a las infecciones experimentales por el JSRV, logrando desarrollar lesiones tumorales en estos animales pero sin llegar a presentar manifestaciones clínicas de esta enfermedad (Tustin et al. 1988 y Sharp et al. 1986). La presencia de la crianza mixta de ovinos y caprinos en nuestro medio y los datos anteriormente mencionados nos han llevado a realizar el presente estudio para tratar de demostrar la existencia de infecciones por JSRV en caprinos pero en condiciones de campo, cuyos resultados podrían tener cierta relevancia al momento de desarrollar estrategias de control para esta enfermedad.

MATERIAL Y METODOS

Un total de 29 cabras fueron clasificadas en dos grupos dependiendo del contacto con ovejas provenientes de rebaños APO positivos (grupo en contacto = 13) o de rebaños donde no se ha reportado la enfermedad en un periodo de al menos 10 años (grupo control = 15); adicionalmente la presencia de del ENT fue confirmada por examinación macroscópica e histopatológica en cabras de ambos grupos. La Sangre periférica de todos los animales fue colectada en tubos conteniendo EDTA, para obtener leucocitos de sangre periférica (PBLs) a los cuales se les extrajo posteriormente su DNA. La detección del JSRV fue realizada en su forma de Provirus utilizando un PCR heminested, específico para la región U3 del JSRV como describen previamente Palmarini et al. (1996). Brevemente, 500 ng de ADN de la muestra o 1 ul de del producto del PCR de la primera amplificación del hemi-nested fueron adicionados a 25 ul de reacción (10 mM Tris-HCL, 50 mM KCL, pH 8.3), conteniendo 6 pmol de cada primer, 1.25 U de Taq gold, 1X de Buffer PCR, 2,5mM de MgCl₂ y 200 uM de cada dNTP. Los ciclos a emplear fueron de 94°C por 10 minutos, 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 59°C por 1 minuto y 72°C por 1 minuto, y un ciclo final

de extensión de 72⁰C por 3 minutos. Cada muestra fue evaluada por triplicado. Los primers PI y PIII fueron utilizados en una primera ronda de PCR para obtener un producto de 176 bp y los primer PI y PVI en una segunda ronda con las mismas condiciones que el anterior excepto la temperatura de annealing que fue de 57⁰C amplificando una secuencia de 133 bp. Los productos del PCR fueron visualizados por gel electroforesis usando geles de Agarosa y Ethidium Bromide.

RESULTADOS Y DISCUSION

El JSRV fue detectado en 4/13 (30.8%) cabras del grupo en contacto, mientras que no se obtuvo resultados positivos a la prueba de PCR en todos los animales del grupo control. Ninguno de los animales positivos a JSRV demostró manifestaciones clínicas de APO. Estos resultados demuestran la posibilidad de infección en forma natural de caprinos por el JSRV en crianzas mixtas de ovinos y caprinos. La disminuida susceptibilidad de los caprinos a la infección y a presentar la enfermedad clínica de APO ha sido sugerida en los estudios realizados por Sharp et al. (1986); si el principal modo de transmisión del APO es a través de las secreciones nasales de los animales enfermos, la ausencia de manifestaciones clínicas descritas hasta el momento limitarían de cierto modo el potencial de transmisión de APO por esta especie; sin embargo es necesario realizar estudios adicionales para determinar el rol exacto de estas infecciones naturales de caprinos por el JSRV en la epidemiología de esta enfermedad. Adicionalmente, la presencia de ENT fue determinada en 2 y 3 cabras del grupo en contacto y el grupo en control respectivamente, resultando además uno de estos animales con ENT positivo a JSRV. Estos hallazgos demuestran la existencia de una coinfección de ambos retrovirus en este hospedador. Debido a que ambos retrovirus causan transformación neoplásica de células epiteliales del tracto respiratorio, están genéticamente relacionados y presentan el mismo tipo de receptor celular (Ortin et al., 2003), las relaciones de la coinfección del JSRV y el ENT sobre los mecanismos de infección y producción de enfermedad por estos virus, necesitan posterior investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- HECHT, S.J.; SHARP, J.M.; DE MARTINI, J.C. 1996. Retroviral aetiopathogenesis of ovine pulmonary carcinoma: a critical appraisal. *Br. Vet. J.* 152, 395-407.
- ORTIN, A.; COUSENS, C.; MINGUIJON, E.; PASCUAL, Z.; PEREZ DE VILLAREAL, M.; SHARP, J.M.; DE LAS HERAS, M. 2003. Characterization of enzootic nasal tumour virus of goats: complete sequence and tissue distribution. 84, 2245-2252.
- PALMARINI, M.; HOLLAND, M.J.; COUSENS, C.; DALZIEL, R.G.; SHARP, J.M. 1966. Jaagsiekte retrovirus establishes a disseminated infection of the lymphoid tissues of sheep affected by pulmonary adenomatosis. *J. Gen. Vir.* 77, 2991-2998.
- SHARP, J.M.; ANGUS, K.W.; JASSIM, F.A. Y SCOTT, F.M. 1986. Experimental transmission of sheep pulmonary adenomatosis to goats. *Vet. Rec.* 6, 245.
- TUSTIN, R.C.; YORK, D.F. Y VERWOERD, D.W. 1988. Experimental transmission of Jaagsiekte (Ovine Pulmonary Adenomatosis) to goats. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 55, 27-32.

SUMMARY

Ovine pulmonary adenocarcinoma (OPA, sheep pulmonary adenomatosis) is a worldwide transmissible lung cancer of the sheep caused by a β -retrovirus named Jaagsiekte sheep retrovirus (JSRV). The purpose of this study was to evaluate the presence of JSRV infections in goats coming from farms with mixed breeding of goats and sheep. A total of 29 goats was classified depending on their exposition to sheep from OPA-affected flocks ("in contact" n=13) or OPA-free flocks ("control" n=16). Peripheral blood leukocytes (PBLs) were examined for JSRV by heminested PCR. Additionally, ENT was confirmed by histology and gross pathology in 2 and 3 goats from "in contact" and "control" group respectively. JSRV was detected in 4/13 (30.8 %) goats from "in contact" group. None of the 11 goats from the "control" group were positive in any replication. The results also demonstrate the existence of coinfection of both retroviruses in goats. The relationship of the JSRV-ENTV coinfection needs further studies.

Key words: Ovine pulmonary adenocarcinoma, JSRV, goats, heminested PCR.