

ADENOCARCINOMA PULMONAR OVINO (adenomatosis)

RESUMEN

El adenocarcinoma pulmonar ovino (APO) se conoce también como adenomatosis pulmonar ovina o como jaagsiekte, y es un tumor contagioso de las ovejas y, en raras ocasiones, de las cabras. Es una enfermedad respiratoria progresiva que afecta sobre todo a animales adultos y que se presenta en muchas regiones del mundo. Se ha demostrado que el causante de la enfermedad es un beta-retrovirus (el retrovirus jaagsiekte de las ovejas: RVJO), distinto de los lentivirus no oncogénicos de las ovejas.

Identificación del agente: *El RVJO todavía no puede propagarse in vitro, por lo que no hay métodos rutinarios de diagnóstico disponibles basados en el aislamiento del virus. En la actualidad el diagnóstico se basa en los antecedentes y en la exploración física del animal, así como en los hallazgos de las necropsias, en la histopatología y en la inmunohistoquímica. Mediante la reacción en cadena de la polimerasa se puede detectar ADN o ARN vírico en el tumor, en los ganglios linfáticos drenantes, y en las células mononucleares de la sangre periférica. Los corderos se infectan de forma persistente a edad temprana, y, en el caso de la manada afectada por APO, la mayor parte de las ovejas están infectadas.*

Pruebas serológicas: *No se han detectado anticuerpos contra el retrovirus en las ovejas infectadas y, en consecuencia, no se dispone de pruebas serológicas para el diagnóstico.*

Requisitos para las vacunas: *No existen vacunas.*

A. INTRODUCCIÓN

El adenocarcinoma pulmonar ovino (APO), también conocido como adenomatosis pulmonar ovina, jaagsiekte (Afrikaans = enfermedad poderosa) o carcinoma pulmonar ovino (CPO), es un tumor pulmonar contagioso de las ovejas y, con menos frecuencia, de las cabras. Es el tumor pulmonar más corriente en las ovejas y se presenta en muchos países del mundo. Está ausente de Australia y Nueva Zelanda y se ha erradicado de Islandia.

Se han relacionado etiológicamente con el APO varios virus diferentes, incluyendo un herpesvirus y un lentivirus, que se han logrado propagar a partir de tejido tumoral. Sin embargo, el primero no tiene ningún papel etiológico en el APO y el segundo presenta características de los lentivirus no oncogénicos. Se ha observado claramente que el APO está causado por un betaretrovirus que aún no puede cultivarse *in vitro*, pero que ha sido clonado y secuenciado. Para referirse a este virus, se utiliza el término retrovirus de la jaagsiekte ovina (RVJO).

B. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

En la actualidad, el diagnóstico del APO se basa en los signos clínicos y en la anatomopatología, aunque la reacción en cadena de la polimerasa puede resultar de utilidad como método ante-mortem de aplicación al rebaño para el diagnóstico del APO. En poblaciones donde se sospecha la enfermedad, su presencia debe confirmarse, al menos una vez, mediante el examen histopatológico del tejido pulmonar afectado. Para tal examen es necesario tomar muestras de varios sitios afectados y, si es posible, de más de un animal. Esto se debe a que una neumonía bacteriana secundaria, que puede ser la causa inmediata de la muerte, enmascara a menudo las lesiones de la enfermedad primaria (tanto macro como microscópicas). En ausencia de pruebas serológicas específicas que puedan utilizarse para el diagnóstico del APO en animales vivos, el control de la enfermedad se basa en una bioseguridad estricta que prevenga la introducción de la enfermedad en países y

parvadas libres de APO; cuando la enfermedad ya esté instaurada, el control debe basarse en inspecciones regulares de los rebaños y en el rápido sacrificio de los casos sospechosos, y de sus crías en el caso de las hembras. Sin embargo, el examen clínico ha demostrado ser poco fiables para la detección de casos de APO primeros (Cousens *et al.*, 2008). No se conoce riesgo de infección en el ser humano por el RVJO. Las medidas de biocontención deben determinarse en función de un análisis del riesgo, como se describe en el Capítulo 1.1.4 *Bioseguridad y bioprotección: norma para la gestión del riesgo biológico en el laboratorio veterinario y en las instalaciones de los animales.*

Tabla 1. Métodos analíticos de los que se dispone para el diagnóstico del adenocarcinoma pulmonar ovino y su propósito

Método	Propósito					
	Demostrar ausencia de infección en la población	Demostrar ausencia de infección en animales individuales antes de los desplazamientos	Contribuir a las políticas de erradicación	Confirmar casos clínicos	Determinar la prevalencia de la infección – vigilancia	Determinar el estado inmunitario en animales o poblaciones tras la vacunación
Identificación del agente*¹						
PCR	+	+	+	++	++	n/a
Histopatología	–	+	+	+++	+	n/a

Clave: +++ = método recomendado; ++ = método idóneo; + = puede utilizarse en algunas situaciones, pero el coste, la fiabilidad y otros factores limitan mucho su aplicación; – = no adecuado para este propósito; n/a = no es aplicable. Aunque no todas las pruebas clasificadas como +++ o ++ han sido validadas formalmente, su uso sistemático y hecho de que se hayan utilizado ampliamente sin resultados dudosos las hace aceptables.
*Esto incluye la identificación por PCR en muestras de sangre o de tumor.

1. Identificación del agente

Aunque el herpesvirus ovino 1 (HVOv-1) se ha aislado exclusivamente de tumores de APO, los estudios epidemiológicos y las infecciones experimentales realizadas con posterioridad no han arrojado pruebas de que desempeñe un papel etiológico en el APO. El herpesvirus ovino 2 (HVOv-2) es el herpesvirus asociado a la fiebre catarral maligna de las ovejas y nunca se ha relacionado con el APO.

La asociación de los retrovirus al APO se ha reconocido durante años. En varias ocasiones se han aislado lentivirus ovinos, pero estos virus no tienen un papel etiológico en el APO.

El RVJO se considera un betaretrovirus por su organización genética y sus proteínas estructurales. Aunque el genoma ovino contiene unas 20 copias de betaretrovirus endógenos que están altamente relacionados con el RVJO (Spencer & Palmarini, 2012), el RVJO es claramente exógeno y se ha asociado exclusivamente al APO (Palmarini *et al.*, 1996). El RVJO se detecta constantemente en el líquido pulmonar, en el tumor, en las células mononucleares de la sangre periférica y en los tejidos linfoides de las ovejas afectadas por el APO o en las cabezas del rebaño no afectadas pero en contacto con las afectadas, y nunca se encuentra en ovejas de rebaños no afectados y sin antecedentes del tumor. Se han obtenido clones completos del provirus del RVJO a partir del ADN de un tumor de APO. Las partículas víricas de RVJO preparadas de estos clones mediante transfección de una línea celular se utilizaron después para la inoculación intratraqueal de corderos neonatos. En los corderos se indujo un tumor de APO, lo que demostró que el RVJO es el agente causal del APO (DeMartini *et al.*, 2001; Palmarini *et al.*, 1999).

Aunque los betaretrovirus endógenos que están altamente relacionados con el RVJO no están involucrados en la etiología del APO, su expresión en los tejidos útero-placentarios parece resultar ventajosa (Dunlap *et al.*, 2006) y la expresión en el feto puede explicar la aparente falta de respuesta inmunitaria frente al RVJO exógeno en los animales adultos debido a una inducción de la tolerancia (Palmarini *et al.*, 2004).

No existe ningún sistema de cultivo que permita la propagación del RVJO, pero algunos cultivos celulares preparados a partir de los tumores que tienen lugar en los corderos de corta edad permiten la replicación del virus durante un corto periodo de tiempo (Jassim, 1988; Sharp *et al.*, 1985).

1 Se recomienda una combinación de métodos de identificación del agente en la misma muestra clínica.

1.1. Métodos de reconocimiento de los ácidos nucleicos

Se han desarrollado PCR específicas del RVJO de uno paso y semi-anidadas, basadas en cebadores derivados de la región U3 de la LTR (región terminal larga) del RVJO (Tabla 2) (Palmarini *et al.*, 1997). Estas PCR permiten detectar el RVJO en varios tejidos, como células mononucleares de sangre periférica de ovejas no afectadas que hayan estado en contacto con rebaños con APO, así como de corderos infectados experimentalmente (De las Heras *et al.*, 2005; Gonzalez *et al.*, 2001; Holland *et al.*, 1999; Lewis *et al.*, 2011), y en muestras de lavado broncoalveolar de ovejas no afectadas que hayan estado en contacto con rebaños afectados (Voigt *et al.*, 2007). Estas PCR tienen una especificidad diagnóstica alta, pero la sensibilidad es baja cuando se aplica a animales sueltos, debido a las bajas concentraciones del ADN diana en la sangre de los animales clínicamente sanos (De las Heras *et al.*, 2005; Lewis *et al.*, 2011). En estudios longitudinales realizados en rebaños afectados por PAO se ha observado que los corderos se infectan a muy corta edad. Una proporción alta de animales de estos rebaños resultan infectados, aunque solo una minoría desarrolla PAO (Caporale *et al.*, 2005; Salvatori, 2005). Se ha hallado el RVJO en el calostro y la leche de ovejas de rebaños afectados por PAO, y también puede detectarse el RVJO en unos meses en la sangre de corderos alimentados artificialmente con calostro y leche (Grego *et al.*, 2008).

Tabla 2. Cebadores utilizados en las PCR específicas del RVJO

	Cebador	Secuencia (5'→3')
PCR de un solo paso	P1	TGG-GAG-CTC-TTT-GGC-AAA-AGC-C
	P111	CAC-CGG-ATT-TTT-ACA-CAA-TCA-CCG-G
PCR semi-anidadada (utiliza el producto de la PCR de un solo paso)	P1	TGG-GAG-CTC-TTT-GGC-AAA-AGC-C
	PVI	TGA-TAT-TTC-TGT-GAA-GCA-GTG-CC

2. Signos clínicos y anatomopatología

2.1. Signos clínicos

Como en la actualidad no existe un método de laboratorio fiable para el diagnóstico ante-mórtem del APO en animales sueltos, los antecedentes del rebaño, los signos clínicos y las lesiones post mórtem son el método principal para establecer el diagnóstico de la enfermedad. Debido a que el APO tiene un largo período de incubación, la enfermedad clínica aparece con mayor frecuencia en las ovejas de más de 2 años de edad, con un máximo de casos a los 3–4 años. En casos excepcionales la enfermedad se presenta en animales de 2–3 meses. Los signos más importantes son la dificultad respiratoria progresiva, en particular después del ejercicio; la gravedad de los signos refleja la extensión del desarrollo tumoral en los pulmones. Una característica distintiva del APO es la acumulación de líquido en el tracto respiratorio, que da lugar a estertores húmedos que son fácilmente detectados por auscultación. La elevación de los cuartos traseros y el descenso de la cabeza de las ovejas afectadas pueden ocasionar rinorreas de líquido mucoso espumoso. La tos y la falta de apetito no son comunes pero, una vez que se evidencian los signos clínicos, la pérdida de peso es progresiva y la enfermedad es mortal en semanas o meses. La muerte se acelera a menudo por la superposición de una neumonía bacteriana, debida en particular a *Mannheimia* (anteriormente de nominada *Pasteurella*) *haemolytica*. En los animales con afecciones clínicas, puede servir de ayuda para el diagnóstico la detección de una linfopenia caracterizada por una reducción de los linfocitos T de tipo CD4+ y la neutrofilia correspondiente, pero estas alteraciones no son patognomónicas y no se detectan al principio de la infección experimental (Summers *et al.*, 2002).

En algunos países tiene lugar otra forma de APO (APO atípica), que generalmente constituye un hallazgo accidental en la necropsia o en el matadero (De las Heras *et al.*, 2003).

2.2. Necropsia

En la mayoría de los casos las lesiones del APO se limitan a los pulmones, aunque puede ocurrir metástasis intra y extratorácica a los ganglios linfáticos y a otros tejidos. En los casos típicos, los pulmones están considerablemente agrandados y son más pesados de lo normal debido a las extensas lesiones nodulares coalescentes y grisáceas que afectan a la mayor parte del tejido pulmonar. Normalmente se presentan lesiones en ambos pulmones, aunque la extensión a cada lado

es variable. Los tumores son macizos, grisáceos o ligeramente violáceos con brillo traslúcido, y a menudo están separados del área pulmonar normal adyacente por una estrecha zona enfisematosa. La presencia de líquido espumoso blanco en el tracto respiratorio es una característica destacada incluso cuando las lesiones miden apenas unos milímetros. En casos avanzados, este líquido fluye de la tráquea cuando esta se corta o se cuelga. Durante la necropsia deben tomarse muestras para histopatología, inmunohistoquímica o PCR para RVJO.

Se puede observar pleuresía sobre la superficie del tumor y a menudo se presentan abscesos en el tejido adenomatoso.

En la APO atípica, los tumores constituyen nódulos blancos duros, que se presentan solitarios o formando agregados, con una superficie seca y con clara demarcación del tejido circundante. La presencia de líquido en exceso no es una característica notable.

En el caso de las ovejas adultas que en un examen post mórtem parezcan haber muerto de pasteurelisis aguda se deben examinar cuidadosamente los pulmones, ya que las lesiones de APO pueden estar enmascaradas por la coexistencia de una bronconeumonía, una neumonía verminosa, una neumonía crónica progresiva (maedi-visna) o una combinación de las mismas. En la necropsia se deben tomar muestras para histopatología.

2.3. Histopatología

Las lesiones se caracterizan histológicamente por la proliferación principalmente de neumocitos de tipo II, unas células secretoras epiteliales de los alvéolos pulmonares. Pueden estar implicadas también células sin cilios y epiteliales de los bronquiolos terminales. Las células tumorales cuboidales o columnares reemplazan a las células alveolares finas normales y, a veces, forman crecimientos papiliformes que se proyectan hacia el interior del alvéolo. Puede presentarse una proliferación intrabronquiolar. En los casos avanzados, puede aparecer una fibrosis extensa y, en ocasiones, pueden presentarse nódulos de tejido conjuntivo laxo en una sustancia mucopolisacárida.

Una característica destacable es la acumulación de un gran número de macrófagos alveolares en los alvéolos adyacentes a las lesiones neoplásicas (Summers *et al.*, 2005).

Cuando paralelamente tiene lugar maedi-visna, puede haber infiltrados linfoides perivascularares, peribronquiales e intersticiales destacados.

El aspecto histológico del APO atípico es esencialmente el mismo que el del APO clásico, pero con una respuesta inflamatoria exagerada (sobre todo con linfocitos y células plasmáticas) y con fibrosis (De las Heras *et al.*, 2003).

Para una descripción más detallada de los aspectos clínicos, post-mortem e histopatológicos del APO, el lector debe consultar otras fuentes (De las Heras *et al.*, 2003; Sharp & DeMartini, 2003; Summers *et al.*, 2012).

Parece existir una interacción sinérgica entre el APO y el maedi-visna. La transmisión lateral del virus maedi-visna parece aumentar en las ovejas infectadas por APO (Dawson *et al.*, 1985; Gonzalez *et al.*, 1993).

3. Pruebas serológicas

En la actualidad no hay pruebas de laboratorio que respalden el diagnóstico clínico del APO en animales vivos. El RVJO se ha asociado exclusivamente al APO, tanto en su forma típica como en la atípica, pero no se han detectado anticuerpos frente al virus en los sueros de ovejas afectadas, ni siquiera mediante pruebas muy sensibles como las de inmunotransferencia o enzimoimmunoanálisis (Ortin *et al.*, 1997; Summers *et al.*, 2002).

C. REQUISITOS PARA LAS VACUNAS

En la actualidad no se dispone de ninguna vacuna.

BIBLIOGRAFÍA

- CAPORALE M., CENTORAME P., GIOVANNINI A., SACCHINI F., DI VENTURA M., DE LAS HERAS M. & PALMARINI M. (2005). Infection of lung epithelial cells and induction of pulmonary adenocarcinoma is not the most common outcome of naturally occurring JSRV infection during the commercial lifespan of sheep. *Virology*, **338**, 144–153.
- COUSENS C., GRAHAM M., SALES J. & DAGLEISH M.P. (2008). Evaluation of the efficacy of clinical diagnosis of ovine pulmonary adenocarcinoma. *Vet. Rec.*, **162**, 88–90.
- DAWSON M., VENABLES C. & JENKINS C.E. (1985). Experimental infection of a natural case of sheep pulmonary adenomatosis with maedi-visna virus. *Vet. Rec.* **116**, 588–589.
- DE LAS HERAS M., GONZALEZ L.G. & SHARP J.M. (2003). Pathology of ovine pulmonary adenocarcinoma. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **275**, 25–54
- DE LAS HERAS M., ORTÍN A., SALVATORI D., PÉREZ DE VILLAREAL M., COUSENS C., FERRER L.M., GARCÍA DE JALÓN J.A., GONZALEZ L. & SHARP J.M. (2005). A PCR technique for the detection of Jaagsiekte retrovirus in the blood suitable for the screening of virus infection in sheep flocks. *Res. Vet. Sci.*, **79**, 259–264.
- DEMARTINI J.C., BISHOP J.V., ALLEN T.E., JASSIM F.A., SHARP J.M., DE LAS HERAS M., VOELKER D.R. & CARLSON J.O. (2001). Jaagsiekte sheep retrovirus proviral clone JSRVJS7, derived from the JS7 lung tumor cell line, induces ovine pulmonary carcinoma and is integrated into the surfactant protein A gene. *J. Virol.*, **75**, 4239–4246.
- DUNLAP K.A., PALMARINI M. & SPENCER T.E. (2006). Ovine endogenous betaretroviruses (enJSRVs) and placental morphogenesis. *Placenta*, **27**, Suppl. A:S135–S140.
- GONZALEZ L., GARCIA-GOTI M., COUSENS C., DEWAR P., CORTABARRIA N., EXTRAMIANA B., ORTIN A., DE LAS HERAS M. & SHARP J.M. (2001). Jaagsiekte sheep retrovirus can be detected in the peripheral blood during the preclinical period of sheep pulmonary adenomatosis. *J. Gen. Virol.*, **82**, 1355–1358.
- GONZALEZ L., JUSTE R.A., CUERVO L.A., IDIGORAS I. & SAEZ DE OCARIZ C. (1993). Pathological and epidemiological aspects of the coexistence of maedi-visna and sheep pulmonary adenomatosis. *Res. Vet. Sci.*, **54**, 140–146.
- GREGO E., DE MENEGHI D., ALVAREZ V., BENITO A.A., MINGUIJON E., ORTIN A., MATTONI M., MORENO B., PÉREZ DE VILLARREAL M., ALBERTI A., CAPUCCHIO M.T., CAPORALE M., JUSTE R., ROSATI S. & DE LAS HERAS M. (2008). Colostrum and milk can transmit jaagsiekte retrovirus to lambs. *Vet. Microbiol.*, **130** (3–4), 247–257.
- HOLLAND M.J., PALMARINI M., GARCIA-GOTI M., GONZALEZ L., DE LAS HERAS M. & SHARP J.M. (1999). Jaagsiekte retrovirus establishes a pantropic infection of lymphoid cells of sheep with naturally and experimentally acquired pulmonary adenomatosis. *J. Virol.*, **73**, 4004–4008.
- JASSIM F.A. (1988). Identification and characterisation of transformed cells in jaagsiekte, a contagious lung tumour of sheep. PhD thesis. University of Edinburgh, UK.
- LEWIS F.I., BRULISAUER F., COUSENS C., MCKENDRICK I.J. & GUNN G. (2011). Diagnostic accuracy of PCR for Jaagsiekte sheep retrovirus using field data from 125 Scottish sheep flocks. *Vet. J.*, **187**, 104–108.
- ORTIN A., MINGUIJON E., DEWAR P., GARCIA M., FERRER L.M., PALMARINI M., GONZALEZ L., SHARP J.M. & DE LAS HERAS M. (1997). Lack of a specific immune response against a recombinant capsid protein of Jaagsiekte sheep retrovirus in sheep and goats naturally affected by enzootic nasal tumour or sheep pulmonary adenomatosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **61**, 239–237.
- PALMARINI M., COUSENS C., DALZIEL R.G., BAI J., STEDMAN K, DEMARTINI J.C. & SHARP J.M. (1996). The exogenous form of Jaagsiekte retrovirus (JSRV) is specifically associated with a contagious lung cancer of sheep. *J. Virol.*, **70**, 1618–1623.
- PALMARINI M., HOLLAND M., COUSENS C., DALZIEL R.G. & SHARP J.M. (1997). Jaagsiekte sheep retrovirus establishes a disseminated infection of lymphoid tissues of sheep affected by pulmonary adenomatosis. *J. Gen. Virol.*, **77**, 2991–2998.
- PALMARINI M., MURA M. & SPENCER T. (2004). Endogenous betaretroviruses of sheep: teaching new lessons in retroviral interference and adaptation. *J. Gen. Virol.*, **85**, 1–13.

PALMARINI M., SHARP J.M., DE LAS HERAS M. & FAN H.Y. (1999). Jaagsiekte sheep retrovirus is necessary and sufficient to induce a contagious lung cancer in sheep. *J. Virol.*, **73**, 6964–6972.

SALVATORI D. (2005). Studies on the pathogenesis and epidemiology of ovine pulmonary adenomatosis (OPA). PhD thesis, University of Edinburgh, Scotland, UK.

SALVATORI D., COUSENS C., DEWAR P., ORTIN A., GONZALEZ L., DE LAS HERAS M., DALZIEL R.G. & SHARP J.M. (2004). Effect of age at inoculation on the development of ovine pulmonary adenocarcinoma. *J. Gen. Virol.*, **85**, 3319–3324.

SHARP J.M. & DEMARTINI J.C. (2003). Natural history of JSRV in sheep. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **275**, 55–79.

SHARP J.M., HERRING A.J., ANGUS K.W., SCOTT F.M.M. & JASSIM F.A. (1985). Isolation and *in vitro* propagation of a retrovirus from sheep pulmonary adenomatosis. *In: Slow Virus Diseases in Sheep, Goats and Cattle*. Sharp J.M. & Hoff-Jorgensen R., eds. CEC Report EUR 8076 EN, Luxembourg, 345–348.

SPENCER T.E. & PALMARINI M. (2012). Endogenous retroviruses of sheep: a model system for understanding physiological adaptation to an evolving ruminant genome. *J. Reprod. Dev.*, **58**, 33–37.

SUMMERS C., BENITO A., ORTIN A., GARCIA DE JALON J., GONZALEZ L., NORVAL M., SHARP J.M. & DE LAS HERAS M. (2012). The distribution of immune cells in the lungs of classical and atypical ovine pulmonary adenocarcinoma. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **146**, 1–7.

SUMMERS C., NEILL W., DEWAR P., GONZALEZ L., VAN DER MOLEN R., NORVAL M. & SHARP J.M. (2002). Systemic immune responses following infection with jaagsiekte sheep retrovirus and in the terminal stages of ovine pulmonary adenocarcinoma. *J. Gen. Virol.*, **83**, 1753–1757.

SUMMERS C., NORVAL M., DE LAS HERAS M., GONZALEZ L., SHARP J.M. & WOODS G.M. (2005). An influx of macrophages is the predominant local immune response in ovine pulmonary adenocarcinoma. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **106**, 285–294.

VOIGT K., BRÜGMANN M., HUBER K., DEWAR P., COUSENS C., HALL M., SHARP J.M. & GANTER M. (2007). PCR examination of bronchoalveolar lavage samples is a useful tool in pre-clinical diagnosis of ovine pulmonary adenocarcinoma (Jaagsiekte). *Res. Vet. Sci.*, **83**, 419–427.

*
* *

NB: ADOPTADO POR PRIMERA VEZ EN 1990; ÚLTIMAS ACTUALIZACIONES ADOPTADAS EN 2014.