



GUMBORO Y MICOTOXINAS : SINERGISMOS

Agosto 2007



La enfermedad de Gumboro :

Enfermedad aguda, altamente contagiosa que afecta a pollos jóvenes y que ataca al tejido linfoide especialmente a la bolsa de Fabricio.



Características generales

Familia *Birnaviridae*

Género *Avibirnavirus*

Virus no envuelto.

2 serotipos principales de acuerdo con pruebas de neutralización y de electroforesis del ARN vírico:

1.- Existe variabilidad antigénica en diferentes países y de virulencia.

Estándar o clásico y variantes del serotipo 1

2.- No parece causar problemas en pollos.



Características generales

Familia *Birnaviridae*

Género *Avibirnavirus*

Virus no envuelto.

2 serotipos principales de acuerdo con pruebas de neutralización y de electroforesis del ARN vírico:

1.- Existe variabilidad antigénica en diferentes países así como de virulencia. A diferencia del tipo 2 este grupo tiene tropismo por precursores de los linfocitos de la bolsa y causa reducción del tamaño de la misma.

Estándar o clásico y variantes del serotipo 1 (anticuerpos maternos contra estándar no protegen contra las variantes y tienen también propiedades biológicas distintas)

2.- No parece causar problemas en pollos.



Hay 3 protectotipos (clásico, variantes y serotipo 2).

Los 2 serotipos son indiferenciables por ELISA o pruebas de fluorescencia para anticuerpos.

En la actualidad se emplean también técnicas de genética molecular para estudios de diagnóstico y epidemiológicos.
RT- PCR y PCR-RFLP en el gen VP2.

No existe transmisión vertical.



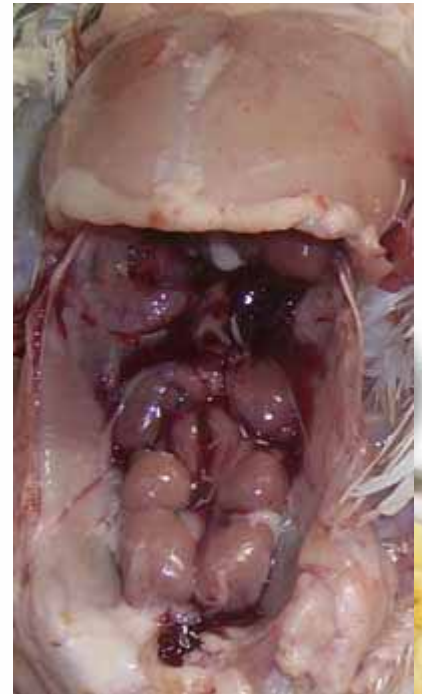
Patogénesis

El virus afecta al tejido linfoide causando destrucción de los linfocitos B de la bolsa, del páncreas y las tonsilas de los ciegos. Los linfocitos T no están normalmente afectados.

La vía de entrada más importante es la oral aunque la conjuntival y respiratoria pueden ser importantes también.

Se ve lesiones renales. *También con Ochratoxinas*
Hemorragias musculares (¿Formación de complejos antígeno – anticuerpo-complemento?).

Se ven con aflatoxinas.



Patogénesis

El virus afecta al tejido linfoide causando destrucción de los linfocitos B de la Bolsa, del páncreas y las tonsilas de los ciegos.

Los linfocitos T no están normalmente afectados.

La vía de entrada más importante es la oral aunque la conjuntival y respiratoria pueden ser importantes también.

Los riñones pueden aparecer hinchados y con depósitos de uratos y restos celulares probablemente debido al bloqueo mecánico de los uréteres por el aumento de tamaño de la bolsa. *Lesiones renales también con Ochratoxonas*

No se sabe la razón de las hemorragias musculares (parece ser que son debidas a la formación de complejos antígeno – anticuerpo-complemento).

Se ven con aflatoxinas.



Consecuencias de la inmunosupresion

- Menor resistencia a enfermedades.
 - Subóptima respuesta a vacunas.
 - Inmunosupresión más manifiesta cuanto más jóvenes.
- El efecto del IBD sobre la respuesta inmune celular es transitoria y menos obvia que la respuesta humoral.

Las glándulas de Harden.

IBD virus afecta más a células en proceso de maduración. Apoptosis (muerte celular programada) en varios órganos tiene como consecuencia inmunosupresión. También potenciado por micotoxinas.



Consecuencias de la inmunosupresión

- Menor resistencia a enfermedades, por tanto más problemas de dermatitis gangrenosa, hepatitis de cuerpos de inclusión, colibacilosis,...
- Subóptima respuesta a vacunas.

La inmunosupresión es más manifiesta cuanto más jóvenes son los animales cuando sufren de gumboro. Paradójicamente la respuesta inmunológica contra el Gumboro es normal.

El efecto del IBD sobre la respuesta inmune celular es transitoria y menos obvia que la respuesta humoral.

Las glándulas de Harder (asociadas con la respuesta inmunitaria local del sistema respiratorio) pueden sufrir un daño considerable.

IBD virus afecta más a células en proceso de maduración (precursores de linfocitos B) que a las ya maduras (linfocitos B).

Apoptosis (muerte celular programada) en varios órganos tiene como consecuencia inmunosupresión. También potenciado por micotoxinas.



Diagnóstico diferencial

- Coccidiosis
- Newcastle
- Avitaminosis
- Privación de agua
- Bronquitis infecciosa con variantes nefrotóxicas.
- Marek's
- Adenovirus (tipo 8)
- Síndromes hemorrágicos
- Síndrome del hígado y los riñones grasos.



Control

Imposible eliminarlo completamente del ambiente.

A pesar de ello **BIOSEGURIDAD** es importante para reducir el nivel de virus en el ambiente.

Vacunación. Consideraciones:

- Programa de vacunación de las reproductores. Nivel de anticuerpos maternos y CV.
- Vía de vacunación.
- Virulencia de la cepa vacunal.
- IBD en la zona geográfica.
- Factores de estrés.
- Manejo.

**MUY IMPORTANTE QUE SE VACUNE
CORRECTAMENTE(pastillas azules)**



Control

Debido a la estabilidad del virus y a la gran cantidad que se excreta después de la infección es imposible eliminarlo completamente del ambiente.

A pesar de ello **BIOSEGURIDAD** es importante (Limpieza y desinfección de las naves, fumigación, todo dentro- todo fuera) para reducir el nivel de virus en el ambiente.

Vacunación. Consideraciones:

- Programa de vacunación de las reproductores. Nivel de anticuerpos maternos y CV.
- Vía de vacunación.
- Virulencia de la cepa vacunal.
- IBD en la zona geográfica.
- Factores de estrés.
- Manejo.

MUY IMPORTANTE QUE SE VACUNE CORRECTAMENTE

(**pastillas azules**)

Vacunación In ovo a los 18 días de incubación.

Vacunación al día de edad con la vacuna de Marek's.

Vacunas recombinantes.





 Aviagen™



Títulos de anticuerpos a las 24 semanas

Enfermedad		Unacceptable	Acceptable	Óptimo
IBV	Titre %CV	<4000 >60	4000-6000 40-60	>6000 <40
ND	Titre %CV	<12000 >60	12000-17000 30-60	>17000 <30
IBD	Titre %CV	<6000 >50	6000-14000 40-50	>14000 <40
REO	Titre %CV	<6000 >60	6000-10000 40-60	>10000 <40
ART	Titre %CV	<4000 >60	4000-6000 50-60	>6000 <50

Respuesta a la vacunación a las 18 semanas

AE		<90% POS		90-100% POS
CAV		<90% POS		90-100% POS



Micotoxicosis

Enfermedades causada por la ingestión de un metabolito tóxico producido por un hongo o moho que ha crecido en el grano, el pienso o la cama.



Aspergillus mould



Fusarium mould



El crecimiento del hongo en el grano es necesario para la producción de micotoxinas , aunque el crecimiento del hongo no tiene que ser necesariamente obvio a la vista.

El hongo puede crecer en el grano antes o después de la cosecha, durante el Almacenamiento, durante el tratamiento en la fábrica de piensos.

Existen miles de micotoxinas.

Muy importante a la hora de considerar un posible problema de micotoxinas son:

- Temperatura.
- Humedad.
- Tipo de grano: substrato adecuado, grano roto
- El nivel de “estres” al que la planta ha sido sometido (insectos, sequias, nutrición deficiente, retrasos en la recogida del grano).

Todo ello va a determinar si el hongo va a producir micotoxinas y en qué cantidad.



El crecimiento del hongo en el grano es necesario para la producción de micotoxinas, aunque este crecimiento no tiene que ser necesariamente obvio a la vista.

El hongo puede crecer en el grano antes o después de la cosecha, durante el almacenamiento o durante el tratamiento en la fábrica de piensos.

Existen miles de micotoxinas.



Muy importante a la hora de considerar un posible problema de micotoxinas son:

- Temperatura.
- Humedad.
- Tipo de grano: substrato adecuado, grano roto
- El nivel de “estres” al que la planta ha sido sometido (insectos, sequias, nutrición deficiente, retrasos en la recogida del grano).

Todo ello va a determinar si el hongo va a producir micotoxinas y en qué cantidad.



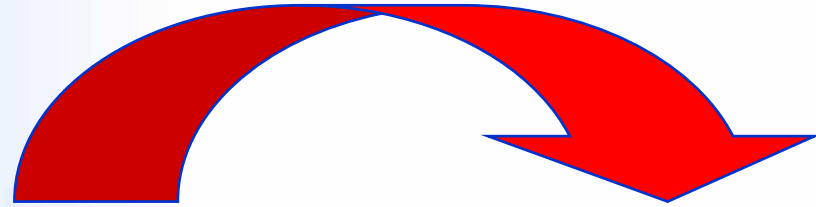
HR >60%, Temperatura >20 oC, insectos y roedores,
factores de estrés (congelación, calor, cambios de pH)

O₂ → Hongo

+

Grano roto (carbohidratos y grasas)

(>12% de humedad)



Ácido carbónico

+

H₂O

+

Calor

+

MICOTOXINAS



A tener en cuenta :

- El cambio climático ha generado cambios en las condiciones medioambientales de las distintas zonas geográficas.
- Ha aumentado la frecuencia de sequías, inundaciones y temperaturas extremas lo que ha aumentado la posibilidad de contaminación por micotoxinas en granos.
- El incremento del comercio mundial de grano ha traído como consecuencia el aumento de mezclas de grano de distinto origen lo que potencialmente aumenta las posibilidades de contaminación por micotoxinas de la mezcla final de pienso.



Además:

- Toxicidades inesperadas pueden ocurrir debidos a análisis incompletos de las toxinas.
- o a sinergismos entre micotoxinas como por ejemplo entre el ácido fusárico y la vomitoxina.



Principios generales de diagnóstico

- El efecto en animales de las micotoxinas puede ser agudo o crónico.
- No existe correlación entre la cantidad de mohos en el pienso y su contenido en toxinas.
- Las toxinas persistirán incluso cuando el hongo ha desaparecido.
- Las micotoxinas son muy estables y por tanto sobreviven altas temperaturas.
- Un hongo puede producir más de una toxina.
- La acción sinérgica entre diferente micotoxinas es común.



De importancia crítica :

LA TOMA DE MUESTRAS para micotoxinas.



Razones:

- El muestreo incorrecto es probablemente la causa más frecuente de la variabilidad en los análisis de micotoxinas.
- Una complicación adicional es la distribución desigual de las micotoxinas en materias primas, piensos,...
- Las micotoxinas se suelen concentrar en áreas con alta humedad y/o con alta concentración de oxígeno.
- Para minimizar variabilidad en los resultados es importante que la toma de muestras se realice en varios puntos (sometidos a condiciones distintas, apariencia diferente,...)
- En granja es crítico **tomar muestras de pienso de los comederos.**



Pruebas para micotoxinas:

- Principalmente se usan 2 tipos de pruebas:
- **1. ELISA (Enzyme-linked Immunosorbant Assays)**
- **2. HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución**
(High Performance Liquid Chromatography)



Pruebas de ELISA: ventajas y desventajas

- Son rápidas, baratas, específicas y sensibles.
- Usan anticuerpos para identificar las micotoxinas.
- Muy importante la repetibilidad de los resultados(experiencia de los técnicos de laboratorio).
- Pueden resultar demasiado específicas y existe la posibilidad de interferencias con otras sustancias.



Pruebas con HPLC : Ventajas y desventajas

- Lentas y caras pero son sensibles y pueden detectar múltiples micotoxinas y metabolitos.
- Se usa la cromatografía para la identificación de las micotoxinas.
- Hay menos posibilidad de error humano que con las pruebas de ELISA.
- Ofrecen un abanico más amplio para detectar distintas sustancias y es menos sensible a interferencias con otras sustancias.



Modo de acción de las micotoxinas: Equilibrio antioxidantes - prooxidantes

- Existe un delicado equilibrio entre antioxidantes y prooxidantes en el organismo/células que es responsable de la regulación de varias rutas metabólicas que incluye:
- Inmunocompetencia.
- Crecimiento y desarrollo.
- Reproducción.



Las micotoxinas que modifican la respuesta inmune en las aves tienen significancia económica debido a :

- Aumentan a susceptibilidad a enfermedades especialmente respiratorias y infecciones con E. coli. Como vimos el Gumboro afectaba a las glándulas de Harden.
- Aumentan la mortalidad y disminuyen la protección vacunal. Por lo que se puede producir un efecto multiplicados si existe IBD.
- Disminución del peso vivo y disminución de la uniformidad. Síndrome de mala absorción.
- Aumento del índice de conversión.



Micotoxinas que causan inmunosupresión:

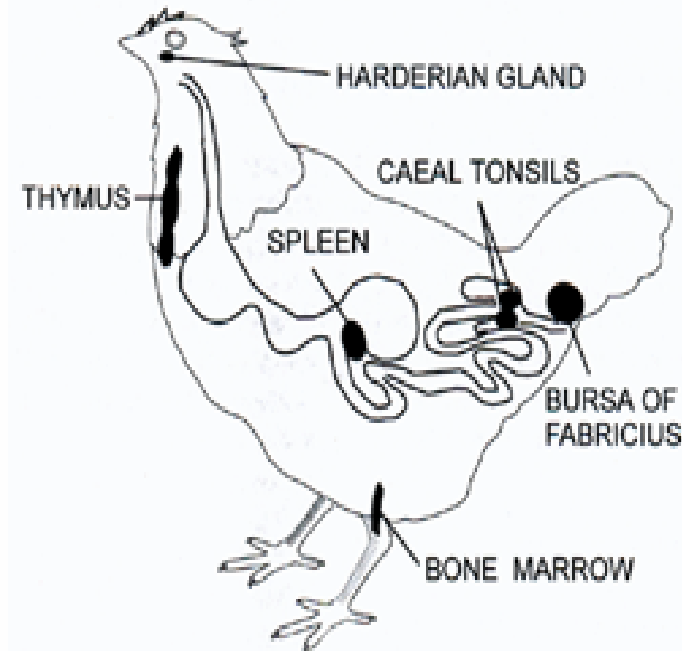
- **Aflatoxinas**
- **Ochratoxina A**
- **Vomitoxina, T-2, HT – 2.**
- **Fumonisin**



Modo de acción de las micotoxinas en el sistema inmune:

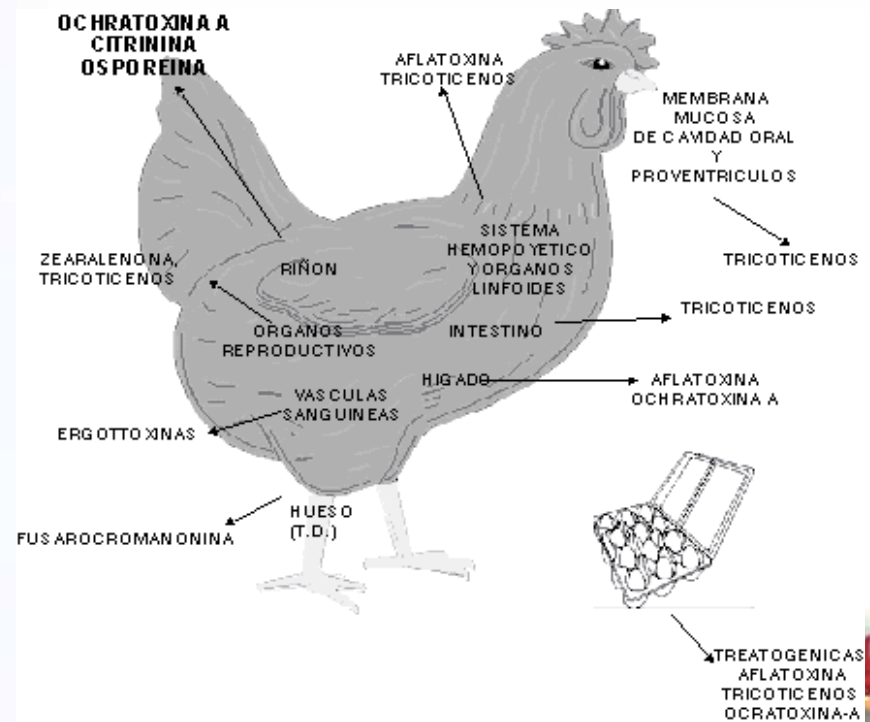
Reducen:

- El tamaño de la bolsa de Fabricio (sinergismo con Gumboro) y el timo.
- El conteo de linfocitos T y leucocitos.
- Proteínas del suero y globulinas.
- Títulos de anticuerpos. También en Gumboro.
- Concentración en el suero de antibióticos.



La inmunosupresión lleva a:

- ➔ Aumento de la sensibilidad a enfermedades.
- ➔ Fallos vacunales.
- ➔ Escasa respuesta a antibióticos.
- ➔ Aumento de la mortalidad.



Micotoxinas y mohos más comunes

Toxinas y hongos del almacenamiento

- Aspergillus -- aflatoxina
- Penicillium -- ochratoxina citrinina

Toxinas y hongos del campo

- Claviceps --ergot alkaloides
- Fusarium –Trichotecenes
DON
T2
DAS
Fumonisinias
Zearalenona



Toxinas y hongos del almacenamiento

Aflatoxinas B1,B2, G1,G2.

Hepatotoxicidad y carcinogenicidad

Disminución de la síntesis de proteínas (albumen bajo)

Reducción de la inmunocompetencia y la respuesta a vacunas.

Incremento de la fragilidad de los capilares/hemorragias

Bajada de la puesta.

Disminucion de la incubabilidad y la calidad del pollito.



Aflatoxinas – Niveles del efecto tóxico (ppm)

<u>Tipo de ave</u>	<u>ppm</u>	<u>Efecto</u>
Aves en puesta	2.5	↓ de la puesta.
	10	50% reducción
	20	100% reducción
Pollitos de Broiler	0.4	Sin efecto
	0.8	Empiezan cambios en hígado
	1.6	Lesiones en hígado y pérdida de peso Mortalidad
Broilers	0.625	Aumento de magulladuras
	2.5	Peso e índice de conversión Hepatomegalia y palidez Reducción de respuesta inmune



Toxinas y hongos del campo

Efectos de las toxinas del Fusarium

En general los tricotecenos son muy potentes en granos y en soja.

- Inmunosupresión.
- Inhibición de síntesis proteica : hiperaminoacidemia.
- Necrosis por contacto – boca, intestino
- Rechazo del pienso, vómitos
- Pérdida de apetito,
- Reducción de la producción de huevos.
- Aumento de palidez del huevo y de huevos malformados.
- Bajo crecimiento, anemia, empeoramiento del índice de conversión.



Efectos tóxicos de los tricotecenos

T2 – 4ppm en broilers – Reducción del crecimiento y úlceras orales.
20ppn ponedoras - Cáscara más delgada y caída de la puesta

DAS – 1mg/kg durante 3 semanas en broilers causa úlceras orales,
disminución del rendimiento y plumaje pobre
0.5mg/Kg en reproductoras causa problemas de incubación
2.0 mg/Kg causa una caída severa de la puesta a partir de las 5 días.

DON (Vomitoxina) Aves más sensibles que porcino.
Parámetros inmunológicos afectados si >20mg/Kg

Zearalenona Aves refractarias hasta 40 ppm
Fumonisinás Inmunodepresión a partir de >40ppm



HIGH LEVELS

AFLATOXIN



OCHRATOXIN



T-2 / DAS



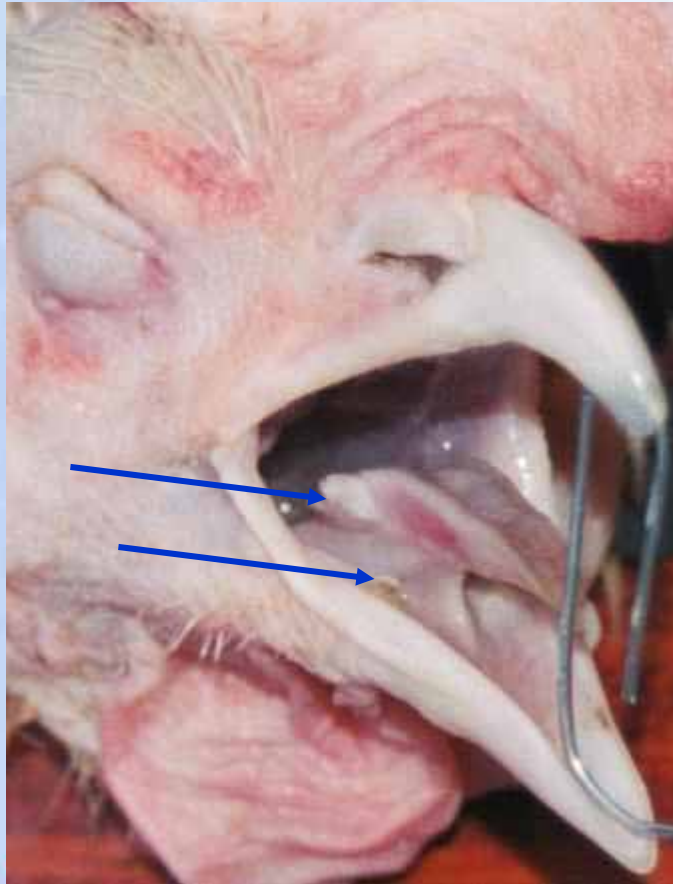
Broilers alimentados con pienso fino



Broilers a las 5 semanas alimentados con pienso fino



Ulceras laterales a la base de la lengua y adyacentes al pico



Control de micotoxinas

Materias primas

Comprar de acuerdo a unas especificaciones (humedad<12%, rechazar partidas con granos rotos y con crecimientos anormales)

Análisis

Almacenamiento adecuado (60% HR, temperatura <20oC,control de roedores e insectos, evitar estreses como cambios bruscos de T, pH)

Control químico

Ácidos orgánicos (Fórmico/propiónico) en polvo/líquido

Tratamiento de los silos

Detoxificación

Lavado químico, amoniaco

Binders – arcillas, silicatos,charcoal

Polímeros orgánicos – glucomannan

Hay que asegurarse de que se está usando el binder adecuado al contaminante

Tratamiento para las aves

Antioxidantes (selenio, Vit E) en el pienso

Aumentar los niveles de metionina/cisteína

Vit C en Ochratoxicosis

Aumento de la EM, proteína,riboflavina y vitamina D con aflatoxinas.

MANEJO



Control de micotoxinas

- Materias primas
- Control químico
- Detoxificación
- Tratamiento para las aves

Aplicación de ARCPC



Control de micotoxinas

Materias primas

- ✓ Comprar de acuerdo a unas especificaciones (humedad<12%, rechazar partidas con granos rotos y con crecimientos anormales)
- ✓ Análisis
- ✓ Almacenamiento adecuado (60% HR, temperatura <20oC, control de roedores e insectos, evitar estreses como cambios bruscos de T, pH)



Control de micotoxinas

Control químico

- ✓ Ácidos orgánicos (Fórmico/propiónico) en polvo/líquido
- ✓ Tratamiento de los silos



Control de micotoxinas

Detoxificación

- ✓ Lavado químico, por ejemplo amoníaco
- ✓ Adsorbentes – arcillas, silicatos, charcoal
- ✓ Polímeros orgánicos – glucomannan
- ✓ Hay que asegurarse de que se está usando el adsorbente adecuado al contaminante



Control de micotoxinas

Tratamiento para las aves

- ✓ Antioxidantes (selenio, Vit E) en el pienso
- ✓ Aumentar los niveles de metionina/cisteína
- ✓ Vit C en Ochratoxicosis
- ✓ Aumento de la EM, proteína, riboflavina y vitamina D con aflatoxinas.
- ✓ MANEJO



Control de micotoxinas

Materias primas

Comprar de acuerdo a unas especificaciones (humedad<12%, rechazar partidas con granos rotos y con crecimientos anormales)

Análisis

Almacenamiento adecuado (60% HR, temperatura <20oC,control de roedores e insectos, evitar estreses como cambios bruscos de T, pH)

Control químico

Ácidos orgánicos (Fórmico/propiónico) en polvo/líquido

Tratamiento de los silos

Detoxificación

Lavado químico, amoniaco

Binders – arcillas, silicatos,charcoal

Polímeros orgánicos – glucomannan

Hay que asegurarse de que se está usando el binder adecuado al contaminante

Tratamiento para las aves

Antioxidantes (selenio, Vit E) en el pienso

Aumentar los niveles de metionina/cisteína

Vit C en Ochratoxicosis

Aumento de la EM, proteína,riboflavina y vitamina D con aflatoxinas.

MANEJO



Sumario

El virus de Gumboro y las micotoxinas cuando actúan conjuntamente a nivel de granja multiplican su efecto inmunosupresor en el pollo y los fallos vacunales con todas las consecuencias que ésto conlleva.

EL MANEJO



¡Gracias !



GROWTH.AVI



Mycotoxin testing

Complicated by uneven distribution, and limited test options
Multiple core samples needed.

- Bio Assay – Brine shrimp, Cell culture toxicity index
- Thin Layer Chromatography – Standards required
- Elisa – Limited range available
- High Performance Liquid Chromatography – Gold standard, but slow and expensive.



Es importante el tener en cuenta que las distintas micotoxinas cuando están presentes a la vez tiene un efecto perjudicial mas notorio que si solo estuviese una presente. Este sinergismo es importante a la hora de decidir sus niveles de toxicidad en piensos.

Las 3 toxinas mas importantes son:

- Aflatoxinas.
- Ochratoxinas.
- Micotoxinas de trichothecenes



Aflatoxinas

La de más alta prevalencia e importancia económica en aves.

Se encuentra en maíz, cacahuetes, sorgo, mijo, semilla de algodón y otros granos. *Aspergillus flavus* es el mas importante generador de esta toxina pero también *A. Parasiticus*.

Ambos son ubicuos.

Hay variedades productoras de toxinas y variedades que no.

Las toxinas que normalmente se encuentran son la B1,B2,G1 y G2.

B1 es generalmente la que se encuentra en mayor concentración y la mas toxica.

Animales jóvenes son más sensibles y también hay diferencias según especies (patos 10 veces mas sensibles, pavos en el medio)

Después de ingerida la B1 sufre biotransformación a diferentes metabolitos con diferentes efectos negativos en el metabolismo entre ellos la disminución de la respuesta celular inmunitaria y anemia.

No se acumula en el organismo lo que podría explicar la rápida recuperación de las animales y la producción (incurabilidad incluida) cuando se cambia de pienso.



Normalmente no causan mortalidad (Sí si la concentración es mayor de 10ppm)
El efecto mas importante tiene que ver con problemas de retardo del crecimiento,
bajo índice de conversión(>1ppm).

Se observa una marcada disminución a enfermedades y como consecuencia un
incremento de carcasas decomisadas en matadero (> 0.5)

Decoloraciones y magulladuras (>0.5)

Disminucion de produccion y de incubabilidad (>2ppm).

En machos problemas de fertilidad.

Las lesiones dependen de la edad del animal y la dosis.

Hepatomegalia y friable.

Aumento de tamaño de los riñones y el bazo.

Petequias o tendencia a hematomas debido a disminución de síntesis de factores de
la coagulación incremento de fragilidad de los capilares



Ochratoxicosis

Producido por distintos hongos *Aspergillus ochratous*, *Penicillium veridicatum*,...
Ochatoxina A y B.

Animales jóvenes son más sensibles.

Las condiciones favorables a ochatoxinas son las mismas que a aflatoxinas.

Produce lesiones severas en el riñón y como consecuencia depresión, deshidratación (>4ppm) y al final fallo renal.

Retrasos en el crecimiento, problemas de plumaje, aumento en el tiempo de Coagulación, anemia y inmunosupresión (> 0.6).

Perdida de pigmentación y disminución de ganancias de peso(>2ppm)

Retraso en maduración sexual.

Heces menos sólidas.

Disminución de la producción y incubabilidad (>2ppm)



Tricotecenes

Normalmente no existe mortalidad pero si disminución de la ingesta, del crecimiento y
Inmunosupresion.

Ocurre frecuentemente en grano.

Producido por varias especies de hongos : *Fusarium*, *Strachybotrys* ,...

Estos hongos crecen a varias temperaturas pero las toxinas la producen a temperaturas
templadas (> 20) especialmente cuando la cosecha se retrasa o granos se almacenas en
condiciones frías.

Toxinas más frecuentes : T₂, HT T₂



The concept of mycotoxin adsorbents



DIETARY TREATMENTS: MYCOTOXIN ADSORBENTS

- Adsorbents can be inorganic or organic polymers
- Inorganic polymers are silica-based
- Synthetic inorganic polymers offer increased specificity
- Natural inorganic polymers (clays) are less specific
- An example of a natural inorganic polymer is bentonite

DIETARY TREATMENTS: MYCOTOXIN ADSORBENTS

- Organic polymers are carbon-based
- An effective organic polymer is alfalfa fibre
- The most sophisticated organic polymer is glucomannan from yeast cell wall.

MYCOTOXIN ADSORBENTS: MODE OF ACTION

- **Adsorbents are non-digestible, high molecular weight polymers**
- **Adsorbents have multiple binding sites for toxin adsorption**
- **Broad adsorptive specificity assures that the significance of toxicological synergisms are minimized**

