

El CReSA estudia millorar la detecció de virus en aus

04/2007 - **Ciència Animal.** La *Influença Aviària* (IA) és una malaltia molt contagiosa, causada per un virus del gènere *Influenzavirus* tipus A, que pot arribar a causar elevada mortalitat en aus de producció. El Centre de Recerca en Sanitat Animal de la UAB estudia, entre altres aspectes, la detecció i prevalença d'aquest virus. Enguany treballa en la posada al punt d'una nova tècnica més fiable que la convencional.



Anas platyrhynchos

Des de l'any 2005, la Fundació CReSA col·labora amb el Departament d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural (DAR) i el Departament de Medi Ambient i Habitatge en el "Programa de Vigilància d'*Influença Aviària* (IA) en aus salvatges a Catalunya".

La IA és una malaltia vírica molt contagiosa, causada per un virus del gènere *Influenzavirus* tipus A, que pot arribar a causar elevada mortalitat en aus de producció.

Les mesures del DAR enfront aquesta malaltia de declaració obligatòria inclouen controls d'aus d'explotacions avícoles i d'aus salvatges. Les aus aquàtiques, sobretot les anàtides, en molts casos mostren infecció de forma subclínica i actuen com a portadores. De fet, aquest grup d'aus constitueixen els hosts naturals del virus.

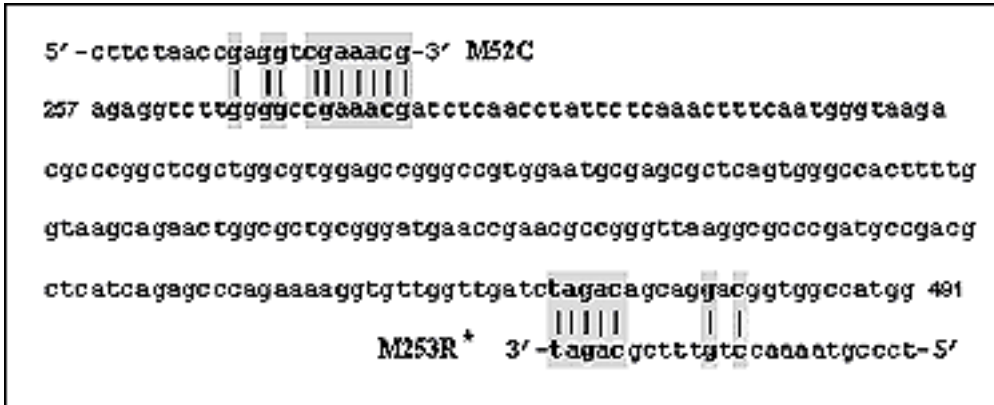
En termes generals, l'activitat del CReSA en el Pla de Vigilància en aus silvestres a Catalunya es basa en:

- Detectar i estimar la prevalença dels subtipus H5 i H7 (únics subtipus que poden ser altament virulents)
- Determinar els pics de mortalitat que puguin ser deguts a aquesta malaltia
- Conèixer la circulació d'altres subtipus

La detecció del virus es realitza mitjançant tècniques de biologia molecular, concretament la RT-PCR o, més recentment, la real time RT-PCR, cada vegada més utilitzades en el diagnòstic ràpid de malalties emergents.

Del gener de 2005 al febrer de 2006 es van analitzar al CReSA més de 650 mostres d'aus silvestres a Catalunya (provinents d'hisops de la cloaca i de la tràquea), que s'analitzaren de forma rutinària amb la tècnica de diagnòstic RT-PCR convencional descrita per Fouchier *et al.* (2000).

Al CReSA hem comprovat que aquesta tècnica pot donar falsos positius quan s'analitzen mostres d'algunes espècies d'aus salvatges. Així, una vegada realitzada la RT-PCR, la posterior seqüenciació de les amplificacions positives obtingudes va permetre confirmar que es tractava de falsos positius. Una comparació de les seqüències obtingudes amb la base de dades GenBank va indicar una elevada homologia amb seqüències del 28S ARN ribosomal de *Gallus gallus*, indicant que en alguns casos s'estava amplificant el 28S ARN ribosomal de l'au analitzada. Aquesta metodologia de seqüenciació dóna una fiabilitat del 100%, descartant així la inespecificitat. Aquests resultats han estat publicats recentment a una revista científica d'àmbit internacional (Busquets *et al.*, 2006).



Comparació de les seqüències dels primers utilitzats en la RT-PCR amb la seqüència del 28S ARN ribosomal de *Gallus gallus*. Els nucleòtids coincidents estan ombrejats.

L'any 2007, el CReSA continua portant a terme aquest Pla de Vigilància, per la qual cosa continua investigant i posant a punt noves tècniques. En concret, aquest any s'ha posat a punt la tècnica real time RT-PCR desenvolupada per Spackman *et al.* (2002) per a la detecció del genoma del virus *Influença* tipus A i els subtipus H5 and H7, que té com a avantatges una elevada sensibilitat i especificitat, i una major rapidesa que una RT-PCR convencional seguida d'una posterior seqüenciació.

Núria Busquets Martí
 Erika Serrano del Pozo
 Ana Alba Casals
 José Ignacio Núñez Garrote
 Natàlia Majó Masferrer

Centre de Recerca en Sanitat Animal

Fundació CReSA Universitat Autònoma de Barcelona

- Fouchier RA, Bestebroer TM, Herfst S, Van Der Kemp L, Rimmelzwaan GF, Osterhaus AD 2000. "Detection of influenza A viruses from different species by PCR amplification of conserved sequences in the matrix gene". *J. Clin. Microbiol.* 38:4096-4101.
- Busquets N, Serrano E, Alba A, Núñez JI, Majó N. 2006. "False-Positive Results Obtained by Following a Commonly Used Reverse Transcription-PCR Protocol for Detection of Influenza A Virus. Letters to the Editor". *J Clin Microbiol.* Oct; 44 (10):3845.
- Spackman E, Senne DA, Myers TJ, Bulaga LL, Garber LP, Perdue ML, Lohman K, Daum LT, Suarez DL. 2002. "Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes". *J Clin Microbiol.* Sep;40(9):3256-60.