

04/2007

El CreSA estudia mejorar la detección de virus en aves



La *Influenza Aviar* (IA) es una enfermedad muy contagiosa, causada por un virus del género *Influenzavirus* tipo A, que puede llegar a causar elevada mortalidad en aves de producción. El Centre de Recerca en Sanitat Animal de la UAB estudia, entre otros aspectos, la detección y prevalencia de este virus. Este año trabaja en la puesta a punto de una nueva técnica más fiable que la convencional.

Desde el año 2005, la Fundación CReSA colabora con el Departamento de Agricultura, Alimentación y Acción Rural (DAR) y el Departamento de Medio ambiente y Vivienda en el "Programa de Vigilancia de *Influenza Aviar* (IA) en aves salvajes en Cataluña".

La IA es una enfermedad vírica muy contagiosa, causada por un virus del género *Influenza virus* tipo A, que puede llegar a causar elevada mortalidad en aves de producción.

Las medidas del DAR frente a esta enfermedad de declaración obligatoria incluyen controles de aves de explotaciones avícolas y de aves salvajes. Las aves acuáticas, sobre todo las anátidas, en muchos casos muestran infección de forma subclínica y actúan como portadoras. De hecho, este grupo de aves constituyen los huéspedes naturales del virus.

En términos generales, la actividad del CReSA en el Plan de Vigilancia en aves silvestres en Cataluña se basa en:

- Detectar y estimar la prevalencia de los subtipos H5 y H7 (únicos subtipos que pueden ser altamente virulentos)
- Determinar los picos de mortalidad que puedan ser debidos a esta enfermedad
- Conocer la circulación de otros subtipos

La detección del virus se realiza mediante técnicas de biología molecular, concretamente la RT-PCR o, más recientemente, la real time RT-PCR, cada vez más utilizadas en el diagnóstico rápido de enfermedades emergentes.

De enero de 2005 a febrero de 2006, se analizaron en el CReSA más de 650 muestras de aves silvestres en Cataluña (provenientes de hisopos de la cloaca y de la tráquea), que se analizaron de forma rutinaria con la técnica de diagnóstico RT-PCR convencional descrita por Fouchier *et al.* (2000).

En el CReSA hemos comprobado que esta técnica puede dar falsos positivos cuando se analizan muestras de algunas especies de aves salvajes. Así, una vez realizada la RT-PCR, la posterior secuenciación de las amplificaciones positivas obtenidas permitió confirmar que se trataba de falsos positivos. Una comparación de las secuencias obtenidas con la base de datos GenBank indicó una elevada homología con secuencias del 28S ARN ribosomal de *Gallus gallus*, indicando que en algunos casos se estaba amplificando el 28S ARN ribosomal de la ave analizada. Esta metodología de secuenciación da una fiabilidad del 100%, descartando así la inespecificidad. Estos resultados han sido publicados recientemente en una revista científica de ámbito internacional (Busquets *et al.*, 2006).

Comparación de las secuencias de los primeros utilizados en la RT-PCR con la secuencia del 28S ARN ribosomal de Gallus gallus. Los nucleótidos coincidentes están sombreados.

El año 2007, el CReSA continúa llevando a cabo este Plan de Vigilancia, investigando y poniendo a punto nuevas técnicas. En concreto, este año se ha puesto a punto la técnica real time RT-PCR desarrollada por Spackman *et al.* (2002) para la detección del genoma del virus influenza tipo A y los subtipos H5 y H7, que tiene como ventajas una elevada sensibilidad y especificidad, y una mayor rapidez que una RT-PCR convencional, seguida de una posterior secuenciación.

Núria Busquets Martí

Erika Serrano del Pozo

Ana Alba Casals

José Ignacio Núñez Garrote

Natàlia Majó Masferrer

Fundació CReSA Universitat Autònoma de Barcelona

natalia.majo@cresa.uab.es

Referencias

- 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.

[View low-bandwidth version](#)