

VIRUS DE LA BRONQUITIS INFECCIOSA AVIAR «Un enemigo cambiante»

Tesa Panisello y Alberto Giner

Pfizer Salud Avícola

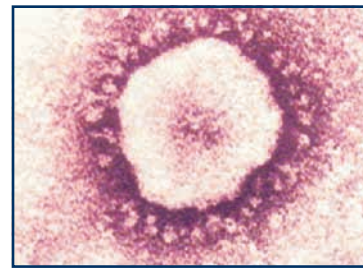
La Bronquitis Infecciosa Aviar —BIA—, fue descrita por vez primera en Dakota del Norte, EE.UU. en 1931, por Shalk y Hawn de un problema de campo en 1930, describiéndola como una enfermedad respiratoria desconocida en pollos muy jóvenes, con mortalidad elevada y altamente contagiosa. La llamaron "Bronquitis Infecciosa de Pollitos Jóvenes". Beach & Schalm en 1936 demostraron que la enfermedad era causada por un virus específico, que es conocido actualmente como virus de la bronquitis infecciosa —VBIA—. Actualmente se considera que está distribuido a nivel mundial. El órgano blanco primario es el tracto respiratorio, donde ocurre la infección inicial y la enfermedad. A pesar de su nombre, el VBIA replica en muchas superficies epiteliales, como el tracto alimentario, riñones y tracto reproductivo. La infección del tracto alimentario no se asocia usualmente a patología, aunque existen informes de proventriculitis atribuidas a cepas de VBIA. Se ha informado desde hace muchos años sobre cepas con características nefropatogénicas que provocan fallas renales y cálculos renales. A nivel del tracto reproductivo provocan bajadas en la producción de huevos, en la calidad interna y externa de estos y problemas de "falsas ponedoras", si la infección ha sido antes de los 21 días de edad, así como en machos reproductores, problemas de fertilidad.

La prevalencia e importancia económica de la enfermedad en aves de puesta han originado esfuerzos para tratar de prevenir la infección por la BIA, controlando la exposición al virus durante la etapa de crecimiento de las aves. Esto fue hecho por Van Roekel y colaboradores en 1941, lo que pudo considerarse como el paso inicial hacia el desarrollo de los programas de inmunización usados en la actualidad.

Conociendo al virus

El VBIA es un coronavirus que pertenece al Grupo 3 de los *Coronaviridae*. Debe su nombre a las proyecciones en su superficie, que le dan un aspecto de corona —ver foto—, estas proyecciones son llamadas espículas. Es un

virus pleomórfico, aunque generalmente es redondeado, es envuelto y presenta una cadena simple de ARN.



El virus de la bronquitis infecciosa aviar

El VBIA tiene 4 proteínas estructurales: una proyección en la superficie, la espícula —S de «spike» o espícula en inglés—, la proteína de la nucleocápside —N—, la de la membrana —M— y la de la envoltura —E—, habiéndose identificado las regiones que codifican esas proteínas a nivel del genoma (Fig. 1).

La glicoproteína de la espícula —S—, es la responsable de la unión y fusión de la membrana del virus a la membrana de la célula hospedadora, permitiendo la entrada de su genoma en la misma, así como es la principal responsable de la inducción de la respuesta inmune protectora y de la determinación del serotipo.

La espícula (S)

Está conformada por dos subunidades, la S1 que es la parte más externa en forma de bulbo, responsable de la unión del virus a la célula y está conformada por unos 500 aminoácidos, y la subunidad S2 que une a la subunidad S1 con la superficie del virus, que es responsable de la fusión de la membrana del virus con la célula hospedadora y está formada por unos 600 aminoácidos.

La subunidad S1 de la espícula confiere al virus su identidad antigénica. Cuando se comparan los aminoácidos de distintos serotipos, las variaciones pueden llegar a ser de hasta un 50%, pero se considera

que variaciones tan pequeñas como 2 a 3% en los residuos aminoácidos (10 a 15 residuos), puede originar un cambio en el serotipo.

Los cambios en la secuencia del ácido nucleico del gen de la espícula y los consiguientes cambios en la configuración de los aminoácidos de la espícula son los responsables de las variaciones de serotipo del virus.

La subunidad S1 de la espícula juega un papel fundamental en la antigenicidad del virus debido a que induce la producción de anticuerpos neutralizantes, serotipo-específicos e inhibidores de la hemoaglutinación.

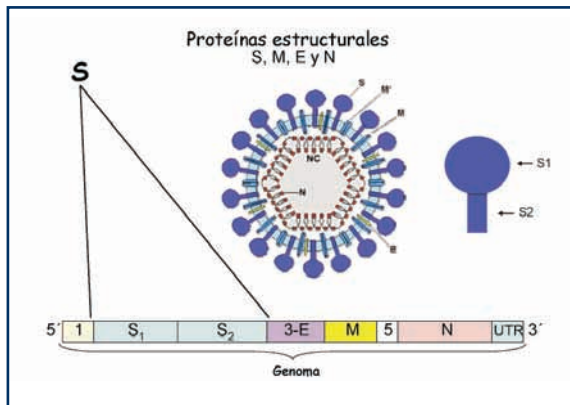


Fig. 1. Proteínas estructurales del VBIA

Causas de la variación genética del virus

Al igual que otros virus ARN, la polimerasa viral del VBI, no tiene función de "edición-reparación/corrección de lectura", siendo esta enzima la responsable de copiar el genoma viral durante la replicación. Pero si durante ésta se produce un error en la copia del genoma, la enzima no es capaz de repararlo, hecho que confiere a este virus una extremadamente alta capacidad de mutación, capacidad que le permite también una adaptación más rápida y cambio, como respuesta a la presión de selección o a la respuesta inmunitaria específica del hospedador. Esta característica se manifiesta especialmente en el gen responsable de la proteína S de la espícula.

Se han identificado algunos mecanismos como causas de la variación genética: mutaciones puntuales que incluyen sustituciones, inserciones, deleciones e inversiones de nucleótidos específicos, así como recombinaciones que se pueden producir al coincidir más de una cepa distinta del virus en una misma célula hospedadora, recombinándose el genoma de ambos virus.

Continuamente se están produciendo cambios en su genoma, pero se cree que la gran mayoría son letales para su supervivencia, o no le dan ninguna ventaja para su supervivencia con respecto a los genotipos ya establecidos.

Métodos de identificación de los virus de BIA

Virus Neutralización: muy costoso y largo en tiempo, permite clasificar los virus en serotipos. No siempre se correlaciona con protección.

ELISA: sólo da información sobre los niveles de anticuerpos frente a VBIA presentes en una muestra de una población, permitiendo deducir si podemos considerarlos normales o de exposición a una infección de campo, al correlacionarlos con la información sobre el plan vacunal, sin diferenciar ni identificar al virus de bronquitis.

Inhibición de la Hemoaglutinación —IHA—: permite comparar los sueros de la muestra de una población frente a varios antisueros de distintos serotipos, pero tienen poca especificidad por producirse muchas reacciones cruzadas que dificultan la interpretación de los resultados.

RT-PCR+Secuenciación: prueba con alta especificidad y sensibilidad que permite amplificar un segmento del genoma del virus y actualmente, debido a la disminución en sus costos, se ha convertido en la de referencia ya que permite identificar con exactitud el genotipo del virus a través de la secuenciación de porciones del genoma que codifica la subunidad S1 de la espícula.

Origen de la cepa vacunal H120

El primer informe de BIA en Holanda fue realizado en 1956 por Bijlenga, de un lote de broilers de 6 semanas de edad con problemas respiratorios y mortalidad elevada. La granja presentaba varios lotes con problemas respiratorios, siendo la mortalidad en este lote entre 30 y 40% y la morbilidad entre 90 y 100%. De este aislamiento se obtuvo por sucesivos pasajes en huevos embrionados, una cepa vacunal muy conocida, la cepa H, letra que se ha considerado erróneamente como la H de Holanda, cuando en realidad es por la inicial del nombre del dueño de la granja de broilers donde se aisló —Huyben—. El virus en su pasaje seriado N° 52 en huevos embrionados se probó como vacuna y se convirtió en la cepa vacunal H52, mientras que en el pasaje seriado N° 120 se obtuvo la cepa vacunal H120, actualmente en uso en todo el mundo como vacuna base para la protección contra el VBIA. La cepa vacunal H52, presenta virulencia en aves jóvenes, se utilizaba como vacuna en aves previamente vacunadas con una vacuna más suave, pero actualmente se usa cada vez menos. La cepa H es del serotipo Massachussets.

La vacuna H120 ha sido usada con éxito como vacuna primaria en broilers, reproductoras y futuras

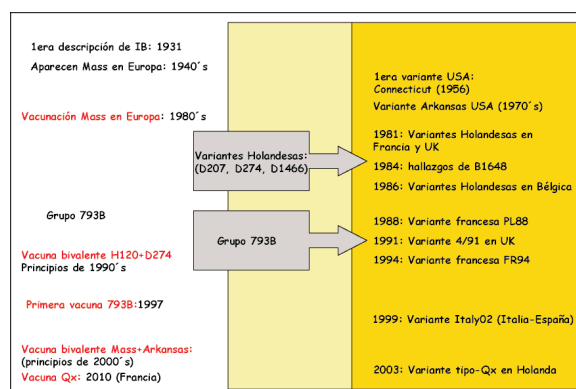
ponedoras desde hace casi 50 años en la mayor parte del mundo. Una de las razones para el éxito continuo de la cepa vacunal H, es el hecho que las cepas de campo del serotipo Massachussets han continuado causando enfermedad en muchas áreas del mundo, pero otra razón importante es la evidencia de que la cepa vacunal H provee protección cruzada contra otros tipos de VBIA, aunque esta protección cruzada decrece a medida que la cepa es más atenuada. Sin embargo, se ha determinado que la vacuna H120 aun induce cierta protección en el tracto respiratorio contra desafíos heterólogos con varios serotipos europeos diferentes (Tabla 1).

La BIA continúa siendo un reto para la industria avícola debido al surgimiento periódico de nuevas cepas, llamadas "variantes". Ya desde los años 50 el virus mostró una clara tendencia a producir cambios antigénicos continuos, informándose de una gran cantidad de nuevos serotipos y genotipos, sobre todo en las áreas de mayor intensidad de producción de aves, tanto en EE.UU. como en Europa y otras partes del mundo.

Tabla 1. Efecto de la vacunación de pollos de 1 día de vida con H120

Cepa de VBI de exposición	% de protección del tracto respiratorio	
	No vacunados	Vacunados
Massachusetts(M41)	1	100
Italian 710	3	50
Italian 2149	5	67
Belgian B1648	5	70

Tabla 2. Evolución de los VBIA y de las vacunas



Situación de campo en Europa

En un amplio estudio de identificación por técnicas moleculares, realizado por la Universidad de Liverpool y Fort Dodge Animal Health entre los años 2002 y 2006, se procesaron por RT-PCR 4103 muestras en distintos países europeos, encontrando positivas 2419 muestras –59%–, las cuales fueron secuenciadas para su identificación. En este estudio, las primeras identificaciones del nuevo genotipo tipo Qx se producen a principios del año 2004 en Francia, Holanda y Alemania. Hasta la finalización del estudio 2006, tanto en el Reino Unido como en España, no se habían hecho aislamientos del genotipo Qx. Actualmente el genotipo Qx está muy extendido en Alemania, Francia y Países Bajos.

Tabla 3. Cantidad de genotipos del virus de bronquitis infecciosa en países de Europa por RT-PCR entre 2002 y 2006

Países	R. Unido	Francia	Alemania	Holanda	Bélgica	España	Europa
Nº de análisis	1.580	896	655	564	259	149	4.103
Nº de análisis positivos	1.024	460	345	347	158	85	2.419
% positivos a VBI	64,8	51,3	52,7	61,5	61	57,0	59,0
Proporción de cada genotipo de bronquitis infecciosa, %							
793B	32,4	53,7	27,5	26,5	18,4	25,9	33,8
Massachussets	22,6	22,8	29,0	27,7	20,3	21,2	24,1
Italy 02	19,8	6,7	1,4	6,3	1,9	48,2	12,6
Tipo QX	0	12,0	23,8	20,2	22,8	0	10,0
D274	7,0	1,1	11,9	12,4	25,3	4,7	8,5
Arkansas	12,8	0	0	1,7	5,1	0	6,0
B1648	0	1,3	0,3	0	0	0	0,3
D1466 (a)	1,4	0,9	3,5	4,3	4,4	0	2,3
Otros (b)	4,1	1,5	2,6	0,9	1,9	0	2,5

Los genotipos predominantes en cada país, están en negrita.

(a) Resultados disponibles sólo desde 2005.

(b) Otros se refiere a muestras con más de un genotipo o genotipos con secuencias nuevas no coincidentes con la base de datos.



Tabla 4. Proporción (%) de virus de bronquitis infecciosa por país después de retirar todas las detecciones 100 % vacunales.

Países	R. Unido	Francia	Alemania	Holanda	Bélgica	España	Europa
793B	27,7	42,1	28,4	25,1	17,4	14,9	28,5
Massachussets	5,9	12,0	17,0	26,8	14,1	12,2	21,2
Italy 02	34,8	14,4	2,3	9,5	3,3	55,4	21,7
Tipo QX	0	25,5	37,6	30,3	39,1	0	17,3
D274	7,0	0	10,0	6,9	22,8	17,6	6,6
B1648	0	3,2	0,5	0	0	0	0,5
Otros (a)	6,5	2,8	4,1	1,3	3,3	0	4,3

El genotipo predominante en cada país está en negrita.

(a) Otros se refiere a muestras con más de un genotipo, ó genotipos con secuencias nuevas que no coinciden con la base de datos

Situación de campo en España

El caso de España es distinto al resto de Europa, con la excepción del Reino Unido. Desde el inicio del estudio, realizado en la Universidad de Liverpool conjuntamente con Fort Dodge Animal Health, desde el año 2002 hasta el año 2006, el genotipo de campo preponderante ha sido la variante Italy 02. Desde el año 2007 se han diagnosticado algunos casos de la nueva variante tipo Qx —D388—, tanto en broilers como en ponedoras comerciales, pero afortunadamente siguen siendo escasos. El genotipo D1466 se aisló en 2007 pero no ha vuelto a aislarse.

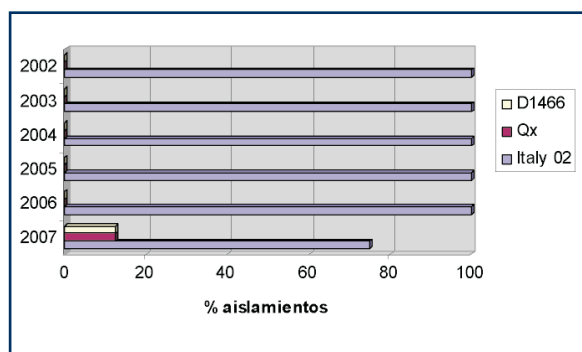


Fig. 1. Prevalencia en España de cepas de campo de VBIA 2002-2007

Variante Italy 02

Este virus fue aislado en Italia en 1999, en pollos entre 36 y 52 días de edad en 3 granjas distintas que presentaban signos respiratorios específicos de BI. Los análisis filogenéticos basados en la secuenciación parcial de los genes de S1 de los tres aislamientos, llamados Italy 02, 04 y 08, demostraron que formaban parte de un nuevo genotipo. El análisis de la secuencia de S1 de la cepa fue publicada en el Genbank y después de esto el nuevo genotipo fue descrito como uno de los más difun-



Daño en la cáscara por VBIA

didados en Europa Occidental, hallándose en Italia, Reino Unido, España, Francia, Holanda y Alemania. Una cepa aislada en España en 1997, dos años antes del primer informe de este genotipo, resultó estar muy relacionada con la cepa Italy 02.

El análisis filogenético del gen S1 de este genotipo sugiere que el Italy 02 tiene una secuencia "mosaico" —una parte del genoma que codifica a la S1 presenta elevada similitud con la cepa D274 y otra parte distinta con la cepa 4/91— y ha sufrido un proceso de recombinación.

Los signos clínicos asociados a esta cepa son básicamente respiratorios, pero también se pueden presentar a nivel renal y reproductivo.

Variante tipo Qx

El primer informe europeo se produjo en los Países Bajos en 2002-2003, asociado a casos de falsas ponedoras, procedentes de recrias de reproductoras pesadas que sufrieron una bronquitis infecciosa nefropatógena a las 2 semanas de edad. Los problemas de producción se caracterizaron por una baja tasa de puesta, con picos de puesta que solo alcanzaron de 30 a 55% en lotes de reproductoras con buen aspecto y saludables. En la

necropsia se evidenció en muchos casos presencia de oviductos císticos y de acumulación de fluidos en el istmo. Estudios genéticos posteriores demostraron que el aislado, llamado en Holanda D388, presentaba un 99% de semejanza con el aislamiento chino llamado Qx, el cual fue aislado en China por primera vez en 1996.

Los signos clínicos asociados a esta cepa en Europa son de tipo respiratorios y renales en broilers y aves jóvenes, habiendo también casos de falsas ponedoras en aves maduras debido a una infección en las primeras semanas de vida. También en gallinas adultas puede provocar caídas en la producción y en la calidad de los huevos, mientras que en China se indicó adicionalmente proventriculitis en broilers, la cual no ha sido observada en Europa.

Debido a la ausencia de una buena protección, incluso combinando vacunas de distintos serotipos disponibles comercialmente, recientemente se ha permitido la comercialización por un procedimiento de emergencia, de una vacuna con la cepa Qx, en Francia.

Control y Protectotipos

Debido incluso a pequeños cambios en la secuencia de los aminoácidos de la porción S1 de la espícula del virus, pueden aparecer nuevos serotipos, pero la gran mayoría del genoma del virus permanece inalterado, razón por la que se considera que las vacunas con cepas de un determinado serotipo protegen frente a uno distinto. Esto define el concepto de Protectotipos, el que una vacuna de un determinado serotipo proteja contra una exposición por un serotipo distinto. Adicionalmente el uso de distintos serotipos combinados en un mismo plan vacunal amplía aún más el espectro de protección.

Para poder determinar si una vacuna protege contra una nueva variante de VBIA, se deben realizar pruebas de desafío. Las mismas generalmente miden la protección conferida a las aves a nivel de la mucosa traqueal frente al virus desafío, debido a que es la vía de entrada de los virus de BIA. Por esto, frente al surgimiento de una nueva variante, no siempre es necesario el desarrollo de una nueva vacuna, en la medida que existan vacunas ya disponibles en el mercado con protección comprobada frente a ellas.

Planes vacunales

Broilers: si la exposición de campo es controlada con cepas del serotipo Massachussets no existe razón para adicionar otras cepas y, generalmente, con las vacunaciones aplicadas en las salas de incubación por spray de gota gruesa, es suficiente. Pero en caso de haberse detectado exposiciones de campo con virus variantes, si existen en el mercado vacunas que confieran protección cruzada —Protectotipo— contra esa variante, se pueden utilizar tanto en la sala de incubación como en el campo. La vacunación en las salas de incubación tiene la ventaja que la misma se hace en forma más controlada, pudiendo obtenerse mejores resultados que la aplicación en el campo, y además confiere una protección más temprana, pero para



Oviducto normal (izquierda) y cístico (derecha)

esto debemos asegurar que las cepas utilizadas sean poco reactivas, con experiencia en su uso al día de vida a fin de evitar posibles complicaciones por reacciones postvacunales. Debido a la dificultad, en algunas ocasiones, de aplicar estas vacunas en la sala de incubación, sobre todo por manejo y logística de cada empresa, al no vacunarse todos los pollitos contra la cepa variante, muchas veces se aplica en el campo, lo que se hace generalmente entre 14 y 18 días de vida.

Ponedoras y reproductoras: por ser aves de larga vida, si se sospecha de una posible exposición en la zona con cepas variantes, es recomendable incorporar al plan vacunal vacunas con protección comprobada contra estas cepas. En el caso de estas aves es aún más recomendable su utilización al día de vida, por spray en la incubadora, para cerrar lo máximo posible la posibilidad de una infección temprana —antes de los 21 días de vida—, que puede acarrear en un futuro un cuadro de "Falsas Ponedoras". La mayoría de las vacunas inactivadas aplicadas al final de la recría contienen solo el serotipo Massachussets, por lo que en el caso que se estén aplicando vacunas vivas contra cepas variantes es recomendable que se apliquen varias dosis, para alargar en el tiempo la protección conferida.

Referencias

(Se enviarán a quienes las soliciten)