

# HEPATITIS POR CUERPOS DE INCLUSIÓN: BROTE EN ESPAÑA 2011-2012

Roser Dolz, Taiana Costa, Abdulahi Alfonso Morales y Natàlia Majó

*Dirección de correspondencia: Campus de la UAB-CRESA, 08193, Bellaterra, Barcelona, España  
email: roser.dolz@cresa.uab.cat*

**Resumen.** La hepatitis por cuerpos de inclusión -IBH- es una enfermedad vírica causada por adenovirus aviáres del grupo 1, clasificados en 12 serotipos, caracterizándose por las principales lesiones observadas en el hígado. Afecta a pollos jóvenes, con morbilidad baja y una mortalidad que puede llegar hasta el 30 %.

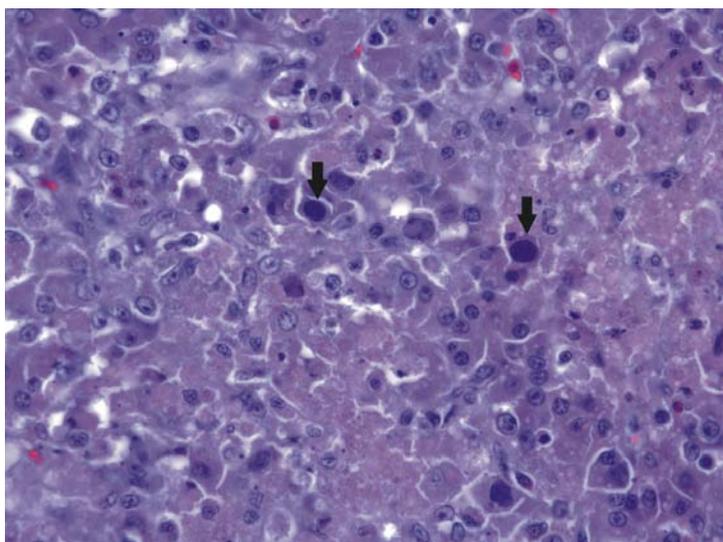
Hasta el 2011 en España sólo se habían producido casos de IBH de forma esporádica pero en la primavera del mismo se detectó un brote en varias regiones, afectando a lotes de broilers y pollitas hasta de 7 días de edad. En el CRESA se ha puesto a punto una técnica de genotipado que ha permitido identificar dos grupos de adenovirus involucrados en el brote.



Hepatitis por cuerpos de inclusión. Imagen macroscópica del hígado afectado.

La hepatitis por cuerpos de inclusión –IBH, siglas en inglés– se trata de una enfermedad vírica causada por adenovirus aviáres del grupo 1 –Familia *Adenoviridae*; género *Aviadenovirus*–. Clásicamente, los virus de este género se han clasificado en 12 serotipos mediante técnicas de seroneutralización en cultivos celulares primarios. Como los virus de referencia utilizados en estas técnicas en Europa y EE.UU. fueron distintos, se llegó a una clasificación distinta entre ambas regiones. Para evitar discrepancias, el comité de taxonomía vírica unificó ambas clasificaciones. A su vez, la incorporación de las técnicas moleculares ha permitido agrupar los 12 serotipos en 5 genotipos según su relación genética (Tabla 1).

Las principales lesiones se observan en el hígado. Macroscópicamente éste aparece pálido, friable, aumentado de tamaño y con petequias y hemorragias en el parénquima. Histopatológicamente, se observa hepatitis necrotizante multifocal de con la presencia de cuerpos de inclusión intranucleares en los hepatocitos, los cuales permiten el diagnóstico etiológico de la enfermedad. En general, la IBH afecta broilers de entre 3 y 7 semanas de vida, aunque se han descrito brotes tempranos en aves de siete días y tardíos en aves de veinte semanas. La morbilidad es baja y la mortalidad, que causa un pico a los 3–4 días, suele estar alrededor del 5%–10% aunque puede alcanzar el 30%. La transmisión vertical es una ruta importante de infección. Los pollitos infectados verticalmente pueden excretar virus en las heces desde el momento de nacer, pero lo más habitual es que la



Hepatitis por cuerpos de inclusión. Imagen microscópica de un corte histológico del hígado.

Tabla 1. Clasificación actual del género *Aviadenovirus*.

| GENOTIPO (ESPECIE) | SEROTIPO |           |      |
|--------------------|----------|-----------|------|
|                    | EUROPEO  | AMERICANO | ICTV |
| A                  | 1        | 1         | 1    |
| B                  | 5        | 8         | 5    |
| C                  | 4        | 4         | 4    |
|                    | 11       | 10        | 10   |
| D                  | 2        | 2         | 2    |
|                    | 3        | 3         | 3    |
|                    | 10       | 9         | 9    |
|                    | 12       | 12        | 11   |
| E                  | 6        | 5         | 6    |
|                    | 7        | 11        | 7    |
|                    | 8        | 6         | 8a   |
|                    | 9        | 7         | 8b   |

excreción se inicie a las 2–4 semanas de vida, cuando desaparece la inmunidad materna. La transmisión horizontal también es importante, siendo las heces la principal vía de excreción.

Recientemente, Australia experimentó un brote de IBH que se caracterizó por afectar aves de menos de 3 semanas de vida y mortalidades del 30%. A partir de las muestras clínicas de varios casos, se aislaron adenovirus de los serotipos 6, 7 y 8, pero todos ellos pertenecientes al genotipo E. De forma similar, en Nueva Zelanda se aislaron adenovirus de los serotipos 1, 8 y 12, también pertenecientes al genotipo E, pero diferentes a los aislados de Australia.

En España, hasta el 2011, se habían producido casos de IBH de forma esporádica y aislada. Así, en nuestro laboratorio, se diagnosticaba mediante histopatología de uno a 3 casos anuales –Figura 1–. Pero en la primavera de 2011, se inició un brote que afectó explotaciones de distintas zonas geográficas y empresas integradoras. Se produjeron casos en broilers, y también en pollitas de recria de reproductoras pesadas, y se observaron casos a edades tan tempranas como los 7 días de vida (Tabla 2).

Dada la evolución del brote, en el CRESA se decidió poner a punto una técnica de genotipado de estos virus. Esta técnica se

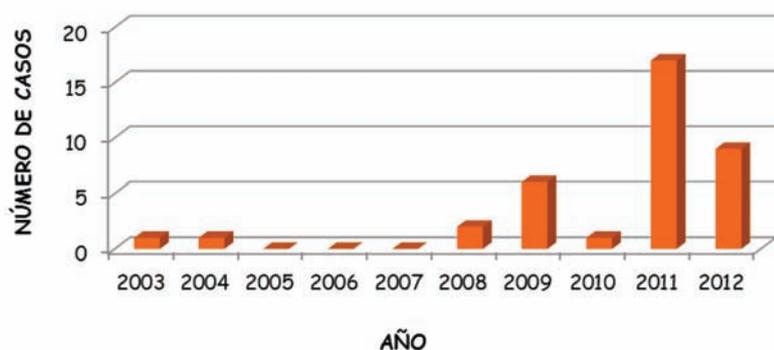


Fig. 1. Gráfico de la evolución de casos diagnosticados de hepatitis por cuerpos de inclusión entre 2003 y 2012 en el Servei de Diagnòstic Patològic Veterinari de la Universitat Autònoma de Barcelona.

basa en la amplificación y secuenciación parcial del gen que codifica las proteínas hexones de la cápside del adenovirus aviar. Mediante esta caracterización molecular es posible determinar el genotipo y también estimar el serotipo de los virus involucrados en los casos clínicos. Se incluyeron un total de 7 de los casos clínicos diagnosticados, dado que la amplificación a partir de tejidos en formol no fue posible en la mayoría de los casos y por lo tanto, sólo de aquellos en los se había guardado tejido

congelado se pudo llevar a cabo la técnica. Estos 7 casos incluían 5 casos de 2011 y 2 casos de 2012, así como 5 casos en broilers y 2 casos en reproductoras pesadas de diferentes localizaciones geográficas.

En todos los casos se obtuvo un fragmento de unos 600 nucleótidos para la comparación molecular. El análisis filogenético agrupó 4 -N-512/11; B-19/12; B-1118/11; N-235/12- de los 7 virus en el genotipo D

Tabla 2. Información epidemiológica de los casos diagnosticados de hepatitis por cuerpos de inclusión mediante histopatología en el Servei de Diagnòstic Patològic Veterinari de la Universitat Autònoma de Barcelona.

| REFERENCIA | AÑO  |     | TIPO AVE             | EDAD | REGIÓN GEOGRÁFICA  |
|------------|------|-----|----------------------|------|--------------------|
| B-00232-11 | 2011 | Mar | Broiler              | 28d  | Navarra            |
| B-00595-11 | 2011 | Jun | Broiler              | 16d  | Catalunya          |
| N-00259-11 | 2011 | Jun | Broiler              | 12d  | Catalunya          |
| B-00651-11 | 2011 | Jun | Broiler              | 19d  | Navarra            |
| B-00722-11 | 2011 | Jul |                      |      | Catalunya          |
| N-00325-11 | 2011 | Jul | Broiler              | 14d  | Castilla León      |
| B-00751-11 | 2011 | Jul | Machos reproductores | 9d   | Navarra            |
| B-00872-11 | 2011 | Sep | Broiler              |      | Valencia           |
| B-00899-11 | 2011 | Sep |                      |      | Catalunya          |
| B-00950-11 | 2011 | Oct | Broiler              |      | Valencia           |
| B-00978-11 | 2011 | Oct | Broiler              | 32d  | Castilla León      |
| N-00512-11 | 2011 | Nov | Reproductora pesada  | 8d   | Catalunya          |
| B-01030-11 | 2011 | Nov | Broiler              | 40d  | Catalunya          |
| B-01049-11 | 2011 | Nov | Broiler              |      | Catalunya          |
| B-01118-11 | 2011 | Nov | Broiler              | 14d  | Castilla la Mancha |
| B-01141-11 | 2011 | Dic | Broiler              | 14d  | Galicia            |
| B-01171-11 | 2011 | Dic | Broiler              | 7d   | Galicia            |
| B-00019-12 | 2012 | Ene | Machos reproductores |      |                    |
| B-00074-12 | 2012 | Ene | Broiler              | 22d  | Catalunya          |
| B-00097-12 | 2012 | Ene | Broiler              | 18d  | Aragón-Navarra     |
| B-00202-12 | 2012 | Feb | Broiler              | 4d   | Catalunya          |
| B-00235-12 | 2012 | Mar | Broiler              | 25d  | Catalunya          |
| B-00268-12 | 2012 | Mar | Broiler              | 18d  | Catalunya          |
| B-00286-12 | 2012 | Mar | Broiler              | 31d  | Navarra            |
| B-00332-12 | 2012 | Mar | Broiler              |      | Andalucía          |
| B-00325-12 | 2012 | Abr | Broiler              | 17d  |                    |

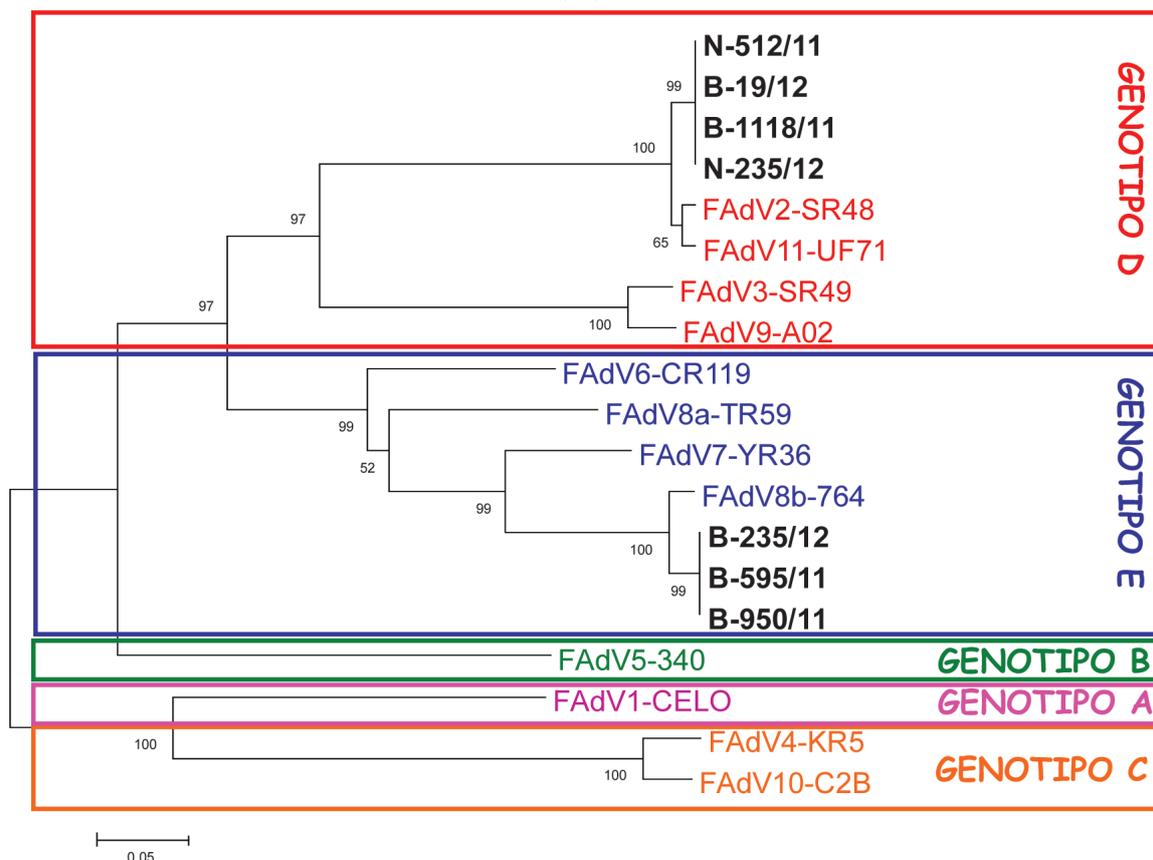


Fig. 2. Árbol filogenético realizado a partir de las secuencias nucleotídicas del gen hexón del adenovirus aviar. En negrita los virus involucrados en el brote de IBH en España. En colores, los serotipos de referencia pertenecientes a cada uno de los 5 genotipos de los adenovirus.

y en la misma rama que los serotipos 2 y 11. Los otros 3 virus españoles -B-595/11; B-950/11; B-235/12- se agruparon en el genotipo E, y en la misma rama que el serotipo 8b -Figura 2-. El análisis de las similitudes nucleotídicas y aminoacídicas mostró que los 3 virus agrupados en el genotipo E tenían un 100% de similitud nucleotídica y aminoacídica entre ellos, y la máxima similitud nucleotídica y aminoacídica con los adenovirus de referencia la mostraron con el adenovirus del serotipo 8b -96,9% y 96,8% respectivamente-. Las similitudes con el resto de serotipos de referencia fueron menores al 85%. A su vez, la similitud nucleotídica y aminoacídica con los 4 virus españoles agrupados en el genotipo D fue del 64,1% y 70,4% respectivamente. Por otro lado, estos 4 virus españoles del genotipo D también fueron 100% idénticos entre ellos. Al compararlos con los serotipos de referencia mostraron máxima similitud nucleotídica y aminoacídica con el serotipo 11 -97,5% y 95,6%- y el serotipo 2 -96,6% y 93,7%.

Por lo tanto, en este estudio se han identificado dos grupos de adenovirus involucrados en el brote de hepati-

tis por cuerpos de inclusión en España en 2011 y 2012: serotipo 8b -genotipo D- y serotipo 2 y 11 -genotipo E-. En este último caso, hay que tener en cuenta que los serotipos 2 y 11, dan reacciones cruzadas en las técnicas de serotipado clásicas, y teniendo en cuenta la elevada similitud genética entre ellos es probable que sean dos serotipos muy similares. Con lo cual lo más probable es que los virus pertenezcan al serotipo 11, con quien comparten más similitud, pero que debido a la relación entre ambos serotipos no nos permita diferenciarlos con seguridad del serotipo 2. Los resultados obtenidos no nos permiten observar ninguna relación epidemiológica entre el serotipo de virus identificado y las características del caso clínico, probablemente debido al pequeño número de casos incluidos en este estudio. Por ello, sería interesante incluir más casos clínicos en el estudio de caracterización molecular, y a su vez, realizar infecciones experimentales con virus de ambos serotipos, 8b y 11, para determinar si existen diferencias en la patogenicidad de las cepas de ambos serotipos. ■