

# Circulación de un nuevo genotipo de virus de Gumboro en España

R. DOLZ<sup>1\*</sup>, K. BERTRAN<sup>1</sup> y N. MAJÓ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), 08193, Bellaterra, España;

<sup>2</sup> Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra, España

\*Autor de contacto: [roser.dolz@cresa.uab.cat](mailto:roser.dolz@cresa.uab.cat)

---

## RESUMEN

Desde el 2002, se ha realizado en nuestro laboratorio de forma constante la caracterización molecular de los virus de IBD detectados a partir de muestras procedentes de casos clínicos sospechosos de Gumboro o de inmunosupresión. Para ello, se realiza la secuenciación parcial de un fragmento de 480pb del gen VP2 del IBDV. Durante todos estos años, las cepas víricas detectadas en casos clínicos de campo siempre se han clasificado en el subtipo vvIBDV. Además, es común la detección de las cepas víricas utilizadas en los programas vacunales de las explotaciones. En estos dos últimos años, además de las cepas vvIBDV y vacunales, también se han detectado de forma esporádica cepas que desde el punto de vista molecular no se clasifican en ninguno de los subtipos de IBDV conocidos hasta el momento y conforman un nuevo genotipo de IBDV.

---

**Palabras clave:** IBDV, epidemiología, molecular, variante, nuevo genotipo

## *Circulation of a new genotype of the Gumboro virus in Spain*

---

## SUMMARY

*Since 2002, our laboratory has been continuously genotyping IBD viruses from samples obtained from clinical cases suspect of Gumboro or immunosuppression. For that, partial sequencing of a 480pb region of the VP2 of IBDV is carried out. During this period, all viruses detected from clinical cases have belonged to the vvIBDV genotype. Moreover, it is very common to detect the vaccine strains included in the vaccine program. Surprisingly, in the last two years, together with the vvIBDV and vaccine strains, new strains that are not genetically related to the known IBDV genotypes have also been detected sporadically. These strains are proposed to be grouped as a new genotype.*

---

**Key words:** IBDV, epidemiology, molecular, variant, new genotype

## INTRODUCCIÓN

En los años 90 se describieron en España los primeros casos de la forma clínica aguda de bursitis infecciosa aviar (IBD) asociados a cepas altamente virulentas de IBD (vvIBD) (Majo *et al.*, 2002; Pagès *et al.*, 1991). Tras una década en la que los casos de Gumboro clínico aparecían de forma muy esporádica, en el año 2002 surgió de nuevo un brote de la forma clínica aguda de IBD.

Las cepas involucradas en este brote se caracterizaron molecularmente y se observó que se trataba de virus prácticamente idénticos a los de los años 90 (Dolz *et al.*, 2005). A partir de esta reaparición de los virus vvIBDV, la enfermedad se ha convertido en endémica en nuestro país, con la presencia constante y continuada de nuevos casos.

Desde el 2002, se ha realizado en nuestro laboratorio de forma constante la caracterización molecular de los virus de IBD detectados a partir de muestras procedentes de casos clínicos sospechosos de Gumboro o de inmunosupresión. Para ello, se realiza la secuenciación parcial de un fragmento de 480pb del gen VP2 del IBDV. Durante todos estos años, las cepas víricas detectadas en casos clínicos de campo siempre se han clasificado en el subtipo vvIBDV. Además, es común la detección de las cepas víricas utilizadas en los programas vacunales de las explotaciones.

En este estudio se presenta por primera vez la detección de un nuevo subtipo vírico de IBDV en España y se discute su relevancia clínica en las explotaciones de nuestro país.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Muestras clínicas.** Los estudios se realizaron a partir de muestras clínicas de procedentes bien de casos clínicos sospechosos de Gumboro, o bien de muestreos rutinarios para evaluar la eficacia de la vacunación frente a esta enfermedad, remitidas durante los años 2008 y 2009. Para cada caso se incluían 5 porciones de bolsas de Fabricio o 5 improntas de bolsas de Fabricio en tarjetas FTA.

**Secuenciación parcial del gen VP2 y análisis de las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos deducidas.** La extracción del ARN se realizó a partir del tejido o las tarjetas FTA con el kit Nucleospin ARN virus (Macherey-Nagel, Düren, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante. Para detectar la presencia de virus de Gumboro en las muestras se realizó una amplificación parcial del gen VP2 mediante una PCR previamente descrita por los autores (Dolz *et al.*, 2005). Los productos de RT-PCR de unos 480 pb aproximadamente se purificaron mediante el kit QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Inc., Valencia, CA) y posteriormente se secuenciaron doblemente con los mismos *primers* con el kit *ABI PRISM BigDye terminator cycle sequencing ready reaction kit* (PE Biosystems, Darmstadt, Alemania).

Las secuencias obtenidas se analizaron en el secuenciador automático ABI 3100 Avant (PE biosystems). El ensamblaje de las secuencias y la traducción de las secuencias de nucleótidos en secuencias aminoacídicas se realizaron usando el programa BIOEDIT 5.0.6. La comparación de las secuencias de nucleótidos y aminoácidos obtenidas con otras secuencias publicadas en el Genbank se llevó a cabo con el método ClustalX. El análisis filogenético de las secuencias de nucleótidos y aminoácidos se realizó mediante el método de *Neighbor-Joining* con un *bootstrap* de 1000 réplicas incluido en la aplicación informática Mega 4.0 (Kumar *et al.*, 2001). Para la comparación se incluyeron las principales cepas de referencia de Gumboro.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se analizaron un total de 146 casos clínicos, de los cuales se detectó virus de Gumboro en 105 casos. De éstos, los análisis de las secuencias y filogenéticos indicaron que en 52 casos (36%) se trataba de cepas vacunales, mientras que en 50 casos (34%) se observó la presencia de cepas vvIBDV.

El estudio de la secuencia de los vvIBDV de estos últimos años indica que las cepas prácticamente no han cambiado respecto los virus del año 2002, y se agrupan en el árbol filogenético junto con estas cepas (**Figura 1**).

Sorprendentemente, en 4 casos (2%) los virus detectados mostraron características genéticas únicas. La comparación de la secuencia parcial del gen VP2 de estas 4 cepas mostró que entre ellas compartían un 96,5% y 98,8% de similitudes nucleotídicas y aminoacídicas. Al compararlas con el resto de cepas de referencia mostraron porcentajes de similitud nucleotídica y aminoacídica menores del 92% y del 94% respectivamente (**Tabla 1**).

**Tabla 1. Similitudes nucleotídicas y aminoacídicas de las cepas del nuevo genotipo de IBDV con los principales genotipos de IBDV**

Genotipos de IBDV	Similitudes (%)	
	Nucleotídicas	Aminoacídicas
VvIBDV	91%	92,9%
Cepas clásicas	91,5%	93,0%
Cepas atenuadas	91,3%	92,0%
Cepas bajo grado atenuación	91,8%	94%
Cepas variantes americanas	92%	94,1%

El análisis de la secuencia mostró la presencia de dos sustituciones aminoacídicas únicas para este genotipo (posiciones 254 y 328). El estudio filogenético mostró que estas cepas formaban un grupo genético único, que a nivel nucleotídico se agrupaba de forma separada al resto de genotipos descritos hasta el momento (**Figura 1**).

Tres de estas cepas se detectaron en el año 2008 mientras que la cuarta se detectó durante el 2009. Todas ellas proceden de regiones geográficas distintas. En dos de los 3 casos, la sospecha clínica de los lotes a partir de los cuales se detectaron estos virus era de inmunosupresión. A pesar de ello, no tenemos información de la presencia de otros agentes infecciosos.

Por lo tanto, a día de hoy el genotipo vvIBDV sigue siendo el causante principal de los casos clínicos de IBD en campo. A pesar de ello, se ha detectado la circulación de cepas que presentan que tienen características genéticas únicas que las diferencian del resto de subtipos de iBDV descritos hasta el momento y las clasifican como un genotipo propio. Con los datos de que disponemos hasta el momento, no es posible determinar la importancia epidemiológica ni patológica de este nuevo subtipo vírico. Por lo tanto, es necesario realizar estudios epidemiológicos más amplios para determinar la relevancia a nivel de campo así como estudios patológicos que permitan determinar el potencial patógeno de este nuevo genotipo.

## REFERENCIAS

**DOLZ, R., MAJO, N., ORDONEZ, G. and PORTA, R. (2005).** Viral genotyping of infectious bursal disease viruses isolated from the 2002 acute outbreak in Spain and comparison with previous isolates. *Avian Dis*, **49**: 332-9.

**KUMAR, S., TAMURA, K., JAKOBSEN, I.B. and NEI, M. (2001).** MEGA2: molecular evolutionary genetics analysis software. *Bioinformatics*, **17**: 1244-5.

**MAJO, N., DOLZ, R., PONSÀ, F., ORDÓÑEZ, G., BIARNÈS, M., PORTA, R. and DOMINGO, M. (2002).** Acute Infectious Bursal Disease in broilers in Spain. In: *20th Meeting of the European Society of Veterinary Pathology*, pp. p. 233, Grugliasco, Italy.

**PAGÈS, A., PUJOL, P., DURÁN, D., FERNÁNDEZ, F. and HERNANDO, A. (1991).** Estudios clínicos y laboratoriales de una cepa de la enfermedad de Gumboro (IBD) aislada en Baleares. *Medicina Veterinaria*, **8**: 476-480.

**Figura 1. Árbol filogenético construido a partir de las secuencias de aminoácidos deducidas del gen VP2 de las cepas españolas de IBDV y de las principales cepas de referencia de IBDV. Se utilizó el método de *Neighbor-Joining* con un *bootstrap* de 1000 réplicas. La longitud de cada rama representa la distancia entre secuencias.**



