

# ESTUDIO HISTOPATÓLOGICO EN ÓRGANOS LINFOIDES DE POLLOS CON ANTICUERPOS SÉRICOS A LA ANEMIA INFECCIOSA AVIAR

**Histopathologic study in lymphoid organs of chickens with serum antibodies to Avian Infection Anemia**

**Saulo Urdaneta Vargas, Luis F. Andrade, Elvira Díaz Z. y Germán Rucsón**

*Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia, Apartado 15252. Maracaibo 4005-A, Edo. Zulia, Venezuela*

## RESUMEN

Un estudio histopatológico de órganos linfoides, fue realizado en 149 pollos de engorde jóvenes con edades comprendidas entre 6 y 31 días, provenientes de granjas comerciales del estado Zulia, Venezuela; de los cuales 68,5% (102) resultaron serológicamente positivos a la Anemia Infecciosa Aviar (A.I.A), encontrándose lesiones características de esta enfermedad en médula ósea (49,7%), timo (6,7%), bolsa de Fabricio (54,4%), bazo (16,8%) y tonsilas cecales (10,7%). Las lesiones observadas consistieron en: aplasia y atrofia de médula ósea, caracterizada por depleción leve a severa del tejido hematopoyetico con proliferación de tejido adiposo (Panmieloptisis), atrofia en timo, bolsa de Fabricio, bazo y en tonsilas cecales, caracterizada por depleción linfóide leve a severa e hiperplasia de células reticulares. En algunos casos de atrofia severa en la médula ósea, se observaron pequeños cuerpos de inclusión intranucleares eosinófilos en células hematopoyéticas inmaduras de la médula ósea, en timocitos y células reticulares del timo. Hubo una correlación significativa entre la presencia de anticuerpos y las lesiones de la médula ósea ( $r=0,5411$ ;  $P=0,0001$ ), lo que permitió establecer la posibilidad de infección por el agente de la A.I.A y la aparición de la forma clínica de la enfermedad en el 9,40% (14/149) de las aves examinadas, las que mostraron anemia. La ausencia de lesiones histopatológicas en algunas aves seropositivas, sugieren la presencia de anticuerpos maternos en estos pollos, indicando indirectamente una infección latente de sus progenitoras. Los resultados de este estudio permiten inferir la probabilidad de que el virus de la A.I.A esté presente tanto en la región como en el país, a nivel de granjas reproductoras y de pollos de engorde, produciendo por ende formas clínicas y subclínicas de la en-

fermedad, las cuales pueden ser la causa de los problemas sanitarios y de pérdidas económicas de nuestra industria avícola. Sin embargo, la confirmación definitiva de esta enfermedad, sólo será posible con el aislamiento e identificación del virus de A.I.A.

**Palabras clave:** Pollo, anemia, órgano linfóide, atrofia, anemia infecciosa aviar.

## ABSTRACT

A histopathologic study were realized in lymphoids organs (thymus, bursa of Fabricius, spleen, caecal tonsil and bone marrow) of wese realized 149 chickens between six to thirty one days age from commercial farms of Zulia State, Venezuela 68.5% (102) were positive by serology to Avian Infectious Anemia (A.I.A) showing characteristic lesions of this disease in bone marrow (49.66%), thymus (6.71%), bursa (54.36%), spleen (16.78%) and caecal tonsils (10.74%). The microscopy lesions consisted in aplasia and atrophy of bone marrow, characterized by mild to severe depletion of haematopoietic cells with proliferation of adipose tissue (Panmyelophthisis), atrophy of thymus, bursa of fabricius, spleen, and caecal tonsils, occasioned by mild to severe lymphoid depletion with hyperplasia of reticular cells. In some cases of severe atrophy in bone marrow and thymus, small eosinophilic intranuclear inclusion bodies were observed in immature haematopoietic bone marrow cells, in thymocytes and reticular cells of thymus. The detection of a significant correlation between the presence of antibodies and the lesions of the bone marrow ( $r=0.5411$ ;  $P=0.0001$ ), suggest the presence of infections by the AIA agent and the 9.40% (14/149) with clinical signs of the disease in examined birds, which showed anemia, haematopoietic tissue lesions and serum antibodies. The absence of histopathologic lesions in some seropositive chickens, suggests the presence of mater-

nal antibodies in these chickens, which indicates the evident infection of their progenitors. The results of this study permit infer the probability AIA virus could be presented not only region but in the country in the breeder of chickens farms, with clinical and subclínical forms of the disease. This could be the cause of the sanitary problems and economical losses in the poultry industry. However, the definitive confirmation of this disease, will be possible only isolation and identification the AIA virus.

**Key words:** Chicken, anemia, lymphoids organs, atrophy, avian infections anemia.

## INTRODUCCIÓN

La Anemia Infecciosa Aviar (A.I.A) también denominada Anemia Infecciosa de los Pollos, es una enfermedad infecto-contagiosa de origen viral que afecta a los pollos de engorde. Fue descrita inicialmente en Japón por Yuasa [37] durante una investigación de campo, donde reportó el aislamiento de un agente filtrable y transmisible, que en aves libres de patógenos específicos de un día de edad, produjo cuadros anémicos severos, asociados con valores de hematocritos por debajo del 20%, marcada atrofia de médula ósea, timo y bolsa de Fabricio. Otras lesiones reportadas fueron hepatomegalia y hemorragias subcutáneas e intramusculares [1, 5, 12, 20, 28, 36, 37].

El aislamiento y la detección de anticuerpos séricos contra este agente, utilizando las técnicas de anticuerpos fluorescentes (AF), seroneutralización (SN) e inmunoadsorción ligada a enzima (ELISA), han sido reportados por investigadores en: Japón [24, 37], China [36], Alemania Occidental [35], Suecia [3, 4], Estados Unidos de Norteamérica [5, 12, 17, 18, 28], Gran Bretaña [16, 20], Brasil [1] y Argentina [2], por lo tanto, la enfermedad se considera actualmente de incidencia mundial [23, 33].

En Venezuela en 1995 [34], cuadros frecuentes de inmunosupresión reportados en la población avícola y la posible presencia de la A.I.A, justificaron la realización de un estudio serológico por la técnica de ELISA, en pollos de engorde comerciales de los municipios Mara y La Cañada de Urdaneta, estado Zulia, donde se reporta por primera vez, la detección de anticuerpos séricos y anemia como signo clínico de la misma [34]. En ese estudio la demostración de anticuerpos séricos y anemia en el 12,0% de los pollos examinados, permitieron suponer que éstos padecían la forma clínica de la enfermedad, el resto de las aves seropositivas (56,4%), presentaban una forma subclínica o anticuerpos maternos, por ser animales jóvenes con edades comprendidas entre 1 y 3 semanas, serológicamente positivas; los mismos no mostraban anemia.

Sin embargo, a pesar de que no se confirmó la presencia de la infección ni el origen de los anticuerpos en ellas, en primer lugar por la edad de las aves (6 - 31 días), las que podrían mantener títulos altos de anticuerpos maternos y en segundo lugar, a limitantes para realizar una nueva detección de

anticuerpos a las 6 semanas de edad, con el objeto de observar la caída o persistencia de los mismos [12, 16, 17, 18, 38]. El estudio sugirió que infecciones por el virus de la AIA, podían estar presentes tanto en granjas reproductoras como de pollos de engorde, ya que las reproductoras de los pollos examinados, fueron importadas libres de esta enfermedad y debido a su transmisión vertical-horizontal, ambas formas clínicas pueden estar afectando a la población avícola del país [11, 34], causando problemas sanitarios y pérdidas económicas significativas a la industria [15, 20, 22]. La confirmación de dicha enfermedad es necesaria, pues durante muchos años sólo se han unido esfuerzos para el diagnóstico, control y prevención de otras patologías virales presentes en el país, sin tomar en cuenta o desestimando hasta los momentos a la A.I.A, la cual predispone a contraer otras infecciones virales tales como: Marek, Newcastle, Bronquitis Infecciosa, Rotavirus, Reovirus y Gumboro [3, 4, 11, 17, 23, 28, 29, 39], ya que deprime las respuestas inmunes a vacunas [14, 23, 24, 25] y al actuar en sinergismo con ellas, podrían ocurrir severas patologías donde la mortalidad es muy alta y su lesión puede estar enmascarada por otros agentes causales [3, 23, 29, 39].

El presente trabajo tuvo como objetivo, describir las lesiones histopatológicas características de la A.I.A en órganos linfoides de un grupo de 149 pollos de engorde, de los cuales el 68,5% presentaron anticuerpos séricos y el 13,3% anemia [34]. Se demostró la presencia y posible efecto del virus en tejidos linfoides y el presunto padecimiento de la enfermedad en las aves anémicas, utilizando para ello, la correlación entre la presencia de anticuerpos, anemia y las lesiones histológicas observadas en los órganos linfoides.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales

Se utilizaron 149 pollos de engorde de diferentes razas (Cobb, Avian Farm, Ross, y Arbor Acres), de ambos sexos, con edades comprendidas entre 6 y 31 días. Todos procedieron de aves reproductoras importadas libre de AIA, obtenidas mediante un muestreo de 42 granjas avícolas comerciales pertenecientes a los municipios Mara y La Cañada de Urdaneta; sometidos a típicas condiciones de explotación acordes con la zona.

### Detección de anticuerpos séricos

Las muestras de sangre para la obtención de los sueros, se obtuvieron sin anticoagulante, mediante punción cardíaca, oscilando su volumen entre 2 y 3 mL. Los anticuerpos se detectaron por la prueba de ELISA para la AIA (Testcode 035-135), realizado por el Laboratorio Intervet (Holanda). Títulos  $\geq 4$  dilución (1:16) se consideraron positivos y sueros con valores  $< 4$  negativos, ya que estos niveles pueden aparecer por reacciones inespecíficas [9, 25].

### Valores de hematocritos

El valor del hematocrito utilizado para la determinación de anemia, fue medido por el Método del Microhematocrito [30], para ello se tomó la muestra de sangre mediante la punción de la vena alar, llenando tubos capilares heparinizados. El valor del hematocrito fue leído posterior a la centrifugación a 12.000 rpm durante 5 min. Las aves se reportaron anémicas cuando revelaron valores de hematocritos inferiores a 27% [2, 6, 28, 37].

### Histopatología

Posterior a la toma de sangre para la detección de anticuerpos séricos y valores de hematocritos, se le practicó la necropsia a cada una de ellas, con la finalidad de realizar el estudio macroscópico e histopatológico y obtener así, las muestra de los tejidos linfoides y hematopoyético tales como timo, bolsa de Fabricio, bazo, tonsilas cecales y médula ósea femoral. Se fijaron en formalina buffer al 10%, procesaron por la técnica rutinaria de inclusión en parafina, tinción con hematoxilina-eosina (HE) y examinaron con el microscopio de luz [13].

### Método estadístico

Para el procesamiento estadístico de los resultados, se utilizó el paquete computarizado de procesamiento estadístico SAS [31]. La relación cualitativa de la presencia de anticuerpos y las lesiones histopatológicas se verificó utilizando el Análisis de Correlación de Spearman. SAS (1996).

## RESULTADOS

### Detección de anticuerpos séricos

Se detectaron anticuerpos contra el virus de la A.I.A por la prueba de ELISA en 102 sueros de los 149 examinados para un total de (68,5%), los mismos mostraron títulos  $\geq 4$  (dilución 1:16), con un rango de 4-10 y un título promedio de 5,51, TABLA I.

### Valores de hematocritos

Los valores de hematocritos oscilaron entre 23 y 39%, el hematocrito promedio fue de 30,46% y la desviación estandar de 3,22. Se detectaron 20 aves con valores de hematocritos  $< 27\%$ , las que se reportaron anémicas representando el 13,4% del total de muestras examinadas y el restante es decir 129 aves (86,6%), mostraron valores de hematocritos normales ( $\geq 27\%$ ), TABLA II.

### Lesiones macroscópicas

Macroscópicamente, las lesiones encontradas en los órganos linfoides consistieron en una leve a severa atrofia de timo, bolsa de Fabricio y tonsilas cecales presentes en 16,1; 9,4 y 6,7% respectivamente de las aves seropositivas y 4,0, 6,7 y 0% de las negativas, caracterizándose las lesiones por disminución del tamaño del órgano. Hemorragias petequiales

TABLA I  
TÍTULOS DE ANTICUERPOS SÉRICOS CONTRA A.I.A  
OBTENIDOS POR ELISA EN POLLOS DE ENGORDE

Títulos de anticuerpos*	No. de aves (n = 149)	Porcentaje
<4	47	31,5
4	22	14,8
5	11	7,4
6	05	3,4
7	31	20,8
8	11	7,4
9	20	13,4
10	02	1,3

\* Sueros con Títulos < 4 Dilución (1:16) Negativos. \* Sueros con Títulos > 4 Dilución (1:16) Positivos.

TABLA II  
VALORES DE HEMATOCRITOS\*  
EN LOS POLLOS DE ENGORDE EXAMINADOS

Hematocrito (%)	No. de aves (n = 149)	Porcentaje	Porcentaje acumulado
23	1	0,7	0,7
24	1	0,7	1,3
25	2	1,3	2,7
26	16	10,7	13,4
27	4	2,7	16,1
28	14	9,4	25,5
29	23	15,4	40,9
30	23	15,4	56,4
31	17	11,4	67,8
32	14	9,4	77,2
33	7	4,7	81,9
34	7	4,7	86,6
35	8	5,4	91,9
36	5	3,4	95,3
37	3	2,0	97,3
38	2	1,3	98,7
39	2	1,3	100,0

\* Valor de Hematocritos  $< 27\%$  se considera anémico.

se observaron en timo 28,9 y 8,7% y en tonsilas cecales 21,5 y 20,1% en animales seropositivos y negativos, TABLA III.

En la médula ósea femoral se observó palidez y cambios blanco amarillentos en el 20,8% de los pollos seropositivos y sólo en el 6,7% de los negativos, decoloración y disminución del tamaño del bazo, fue detectado en 14,1 y 0,7%. Hemorragias petequiales intramusculares fueron observadas en el 10,0 y 6,7% de los casos, al igual que una palidez y friabilidad en 3,4% y 0% de los hígados examinados y edema de bolsa de Fabricio en 6,7 y 6,0%, respectivamente, TABLA III.

TABLA III

**LESIONES MACROSCÓPICAS DETECTADAS EN 149 POLLOS DE ENGORGES EXAMINADOS SEROLÓGICAMENTE POR ELISA A LA A.I.A.**

*Ac	Nº	Lesiones Macroscópicas										Palidez		Hemorragias Petequiales							
		M.O	%	T	%	BF	%	B	%	TC	%	Hígado	%	M	%	T	%	TC	%	BF	%
+	102	31	20,8	24	16,1	14	9,4	21	14,1	10	6,7	5	3,4	15	10,0	43	28,8	32	21,4	10	6,7
-	47	10	6,7	6	4,0	10	6,7	1	0,7	0	0,0	0	0	10	6,7	13	8,7	30	20,1	9	6,0
Total	149	41	27,5	30	20,1	24	16,1	22	14,7	10	6,7	5	3,35	25	16,7	56	37,5	62	41,5	19	6,7

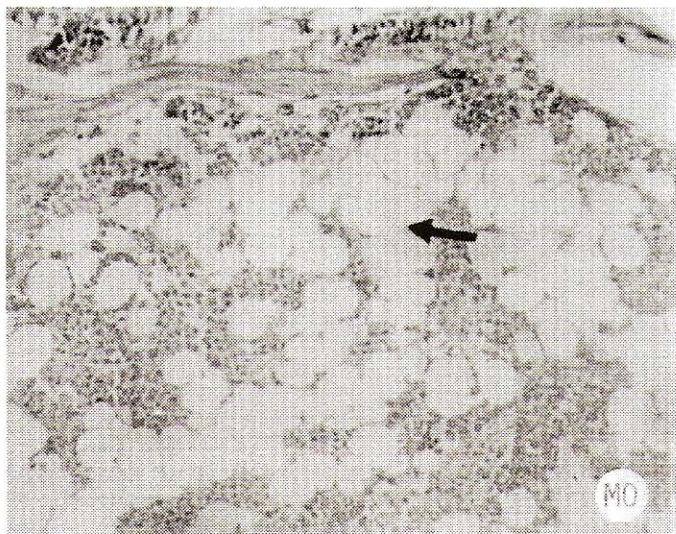
\* M.O: Médula ósea: Cambios blanco amarillento. Atrofia: Disminución de Tamaño.  
 B: Bazo. T: Timo. TC: Tonsilas cecales. BF: Bolsa de Fabricio. \* Ac: Presencia de Anticuerpos séricos. M: Músculo.

TABLA IV

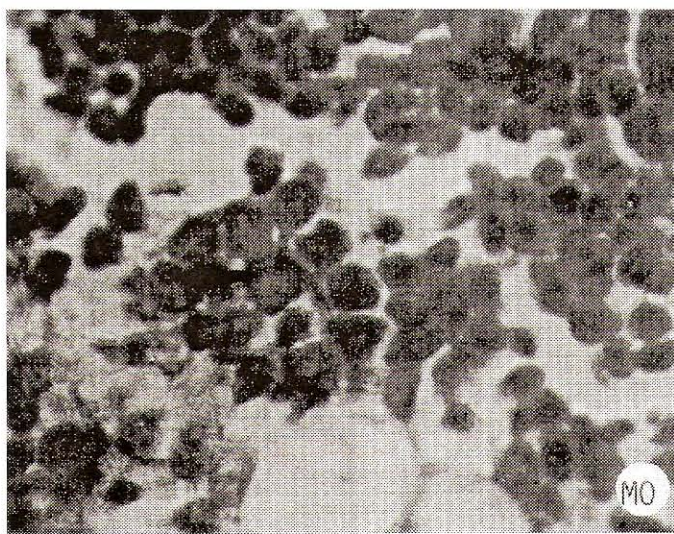
**LESIONES MICROSCÓPICAS DETECTADAS EN 149 POLLOS DE ENGORGES EXAMINADOS SEROLÓGICAMENTE POR ELISA A LA A.I.A.**

Presencia de Anticuerpos	No. de Aves	Lesiones Microscópicas									
		M.O	%	T	%	BF	%	B	%	TC	%
+	102	69	46,3	9	6,0	63	42,3	24	16,1	16	10,7
-	47	5	3,4	1	0,7	18	12,1	1	0,7	0	0
Total	149	74	49,7	10	6,7	81	54,4	25	16,8	16	10,7

\*M.O: Médula ósea, Timo. BF: Bolsa de Fabricio. B: Bazo. TC: Tonsilas cecales.



**FIGURA 1. MÉDULA ÓSEA FEMORAL ATRÓFICA DE AVE SEROPOSITIVA MOSTRANDO SEVERA DEPLESIÓN DE AMBAS CÉLULAS MIELOBLASTOS Y ERITROBLASTOS Y ABUNDANTE TEJIDO ADIPOSITO (FLECHA). HE. 200X.**



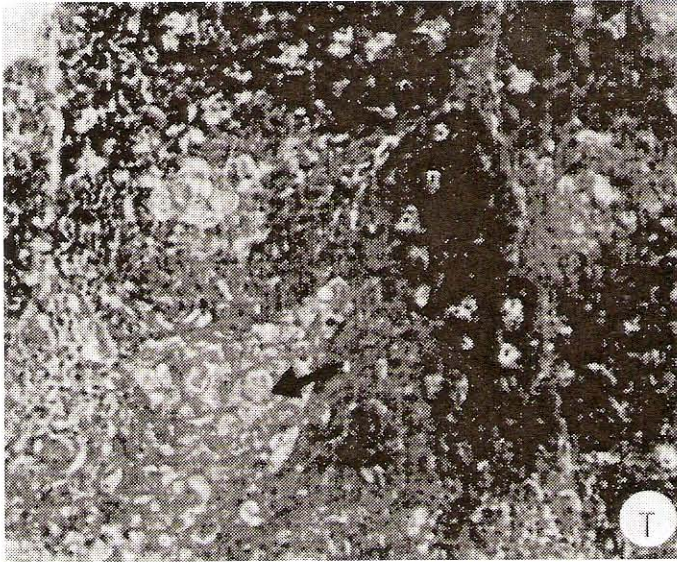
**FIGURA 2. IMAGEN AUMENTADA DE FIGURA 1. MÉDULA ÓSEA DE POLLO ANÉMICO, MOSTRANDO CÉLULAS HEMATOPÉTICAS CON GRANDES NÚCLEOS Y ABUNDANTE CITOPLASMA (FLECHA) QUE PRESENTAN UNOS CUERPOS DE INCLUSIÓN INTRANUCLEARES EOSINOFÍLICOS (FLECHA). HE. 1000X.**

**Lesiones microscópicas**

Microscópicamente se detectaron cambios histopatológicos en médula ósea, timo, bolsa de Fabricio, bazo y tonsilas cecales (49,7; 6,7; 54,4; 16,8 y 10,7%), TABLA IV. Las lesiones en médula ósea consistieron, en leve a severa depleción del tejido hematopoyético con disminución de ambas células eritrocitos y granulocitos, acompañada con una marcada proliferación de tejidos adiposo y conectivo entre los cono cartilagi-

nosos y la metafisis, FIG. 1. Se observan con frecuencia en casos de aplasia severa, focos de hiperplasia de células hematopoyéticas y cuerpos de inclusiones eosinofílicos intranucleares, FIG. 2.

Las lesiones encontradas en timo, bazo y tonsilas cecales, eran representadas por una leve a severa depleción de linfocitos con hiperplasia de células reticulares. En timo, la referi-



**FIGURA 3. TIMO DE POLLO SEROPOSITIVO CON SEVERA ATROFIA, MOSTRANDO SEVERA DEPLESIÓN DE LINFOCITOS CORTICALES CON HIPERPLASIA DE CÉLULAS RETICULARES (FLECHA). HE. 200X.**

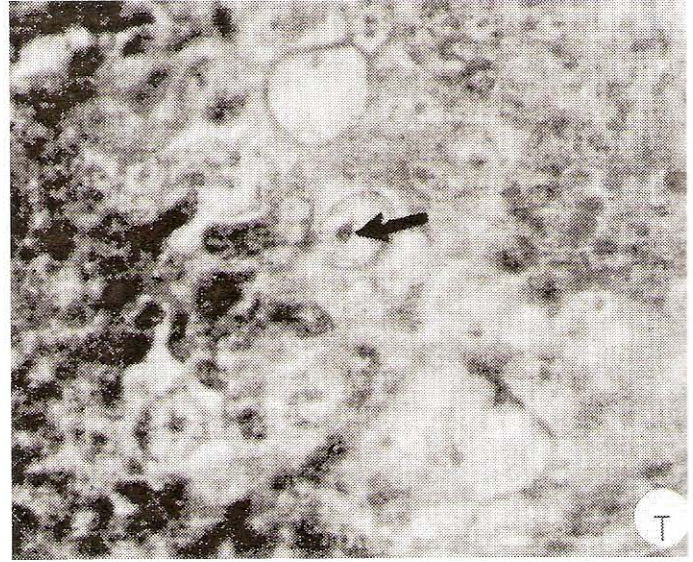
da disminución linfoide, ocurre con mayor frecuencia en la corteza del órgano, los linfocitos destruidos tanto en la corteza como en la médula, son reemplazados por células reticulares, FIG. 3. En casos severos de depleción, se pierde la distinción entre la zona medular de la cortical, alterándose de esta forma la arquitectura normal del órgano, y observándose con frecuencia, células linfoblásticas grandes con abundante citoplasma y cuerpos de inclusiones eosinofílicas intranucleares en linfocitos y en celular reticulares, FIG. 4.

En la bolsa de Fabricio, las lesiones encontradas consistieron en leve a moderada depleción de linfocitos en la zona medular de los folículos linfoides, donde en casos severos de depleción los linfocitos medulares destruidos fueron sustituidos por células reticulares, disminuyendo el número de los linfocitos corticales y el tamaño del folículo, con la eminente proliferación del tejido conectivo interfolicular, perdiendo en consecuencia, la arquitectura normal del órgano, FIG. 5. También se observaron con frecuencia linfocitos con vacuolas citoplasmáticas y núcleos picnóticos.

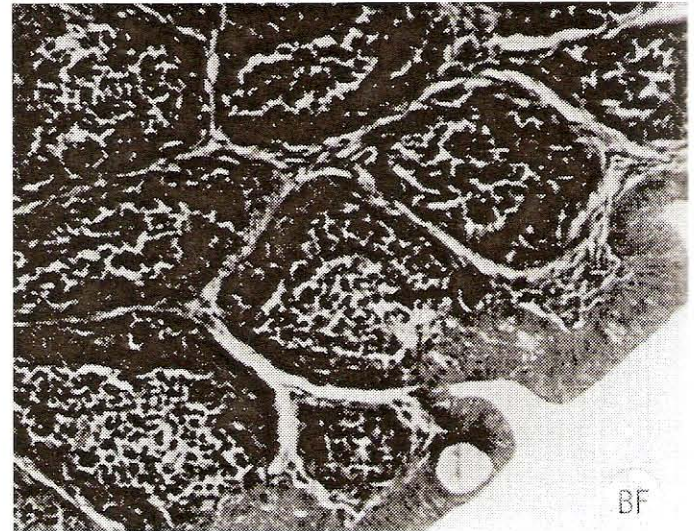
En bazo y tonsilas cecales, se aprecia depleción en ambos tejidos linfoide, folicular (Linf. B) y difuso (Linf. T) con hiperplasia de células reticulares, FIGS. 6 y 7.

#### **Análisis de correlación de Sperman**

La correlación entre la presencia de anticuerpos séricos contra la Anemia Infecciosa Aviary y de atrofia de médula ósea, reveló la existencia de una correlación positiva altamente significativa  $r=0,545$ ,  $P=0,0001$ , la cual demuestra que un alto porcentaje de las aves con anticuerpos séricos presentaron también lesiones atróficas de la médula ósea 93,2% (69/74) y sólo el 6,8% (5/74) de las aves con dichas lesiones resultaron ser negativas, TABLA III.



**FIGURA 4. IMAGEN AUMENTADA DE FIGURA 2. TIMO, MOSTRANDO CÉLULAS RETICULARES QUE PRESENTAN UNOS CUERPOS DE INCLUSIÓN INTRANUCLEARES EOSINOFÍLICOS (FLECHA). HE. 1000X.**



**FIGURA 5. BURSA DE AVE SEROPOSITIVA CON MODERADA ATROFIA, MOSTRANDO DEPLESIÓN PRIMARIA DE LINFOCITOS EN LA MEDULAR DEL FOLÍCULO CON PROLIFERACIÓN DEL TEJIDO CONECTIVO (FLECHA). HE. 200X.**

No se encontró correlación significativa entre la presencia de anticuerpos y la lesión atrófica de timo  $r=0,1275$ ;  $P=0,1212$ , posiblemente por el bajo porcentaje de aves con lesiones microscópicas de timo 6,7% (10/149), TABLA IV. La correlación entre la presencia de anticuerpos y las lesiones de bolsa de Fabricio, bazo y tonsilas cecales, resultó en unos índices de correlación bajos pero significativos ( $r=0,2333$ ;  $P=0,0042$ ;  $r =-0,2711$ ;  $P=0,0008$  y  $r=0,2391$ ;  $P=0,003$  respectivamente), no encontrándose relación alguna con estas variables, TABLA V. Sin embargo, es importante resaltar que el 77,9% (63/81) de las aves que mostraron lesiones atróficas de

la bolsa, eran seropositivas; de igual forma el 96% (24/25) de las aves que tenían lesiones de bazo y el 100% (16/16) de tonsilas cecales, resultaron ser positivas a la serología, TABLA IV.

Se observó, que el 67,7% (69/102) de las aves seropositivas, presentaron atrofia de médula ósea, el 61,8% (63/102) atrofia de bolsa de Fabricio, el 8,8 % (9/102) de timo, el 23,5% (24/102) de bazo y un 15,7% (16/102) de tonsilas cecales, TABLA IV. Aunque no se detectó correlación significativa entre la presencia de lesiones de órganos linfoides y la presencia de anemia, es importante resaltar que el 70,0% (14/20) de las aves seropositivas y anémicas presentaron lesiones histopatológicas típicas de la enfermedad, TABLA VI.

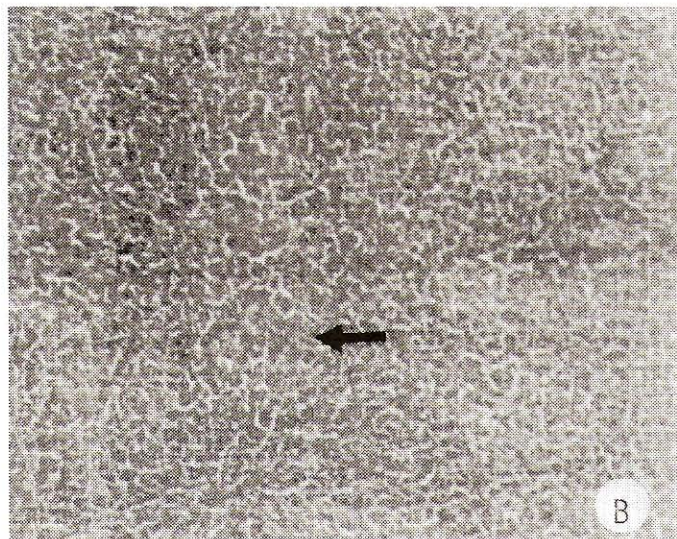


FIGURA 6. BAZO DE POLLO SEROPOSITIVO, MOSTRANDO DEPLESIÓN LINFOCÍTICA CON HIPERPLASIA DE CÉLULAS RETICULARES (FLECHA). HE. 200X.

**DISCUSIÓN**

La observación de lesiones histopatológicas típicas de la A.I.A en órganos linfoides y en la médula ósea de un alto porcentaje de pollos de engorde, con edades entre 6 y 31 días, serológicamente positivos a la enfermedad, sugieren la presencia y patogenicidad del virus de la anemia infecciosa aviar en estas aves.

Los cambios macroscópicos observados en estos tejidos consistieron en: médula ósea blanco amarillenta, atrofia de timo y bolsa de Fabricio, decoloración de bazo y hemorragias petequiales intramusculares. Microscópicamente las lesiones detectadas se caracterizaron por atrofia de médula ósea y una severa depleción linfocítica de timo, bursa, bazo y tonsilas ceca-

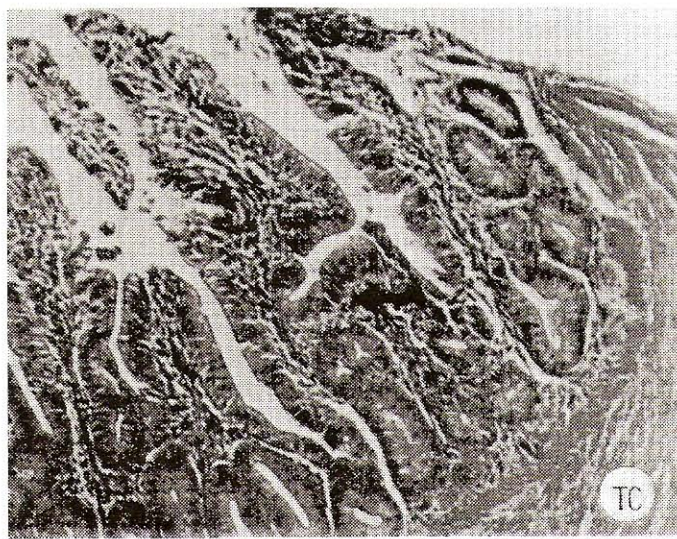


FIGURA 7. TONSILAS CECALES DE AVE SEROPOSITIVA, MOSTRANDO DEPLESIÓN LINFOCÍTICA A NIVEL DEL TEJIDO LINFÓIDE FOLICULAR Y DIFUSO (FLECHA). HE. 200X.

**TABLA V**  
**ANÁLISIS DE CORRELACIÓN DE SPEARMA**

	Lesiones histológicas de órganos hematopoyéticos				
	Médula ósea	Timo	Bursa	Bazo	Tonsilas cecales
Presencia de Anticuerpos	r = 0,54115* P = 0,0001	r = 0,12751 P = 0,1212	r = 0,23338 P = 0,0042	r = 0,27111 P = 0,0008	r = 0,23911 P = 0,0033
Hematocritos	r = 0,10819 P = 0,1890	r = 0,02855 P = 0,7296	r = 0,11538 P = 0,1611	r = 0,00967 P = 0,9069	r = 0,07151 P = 0,3861

\* Correlación positiva r > 0,5 altamente significativa P=0,05.

**TABLA VI**  
**RELACIÓN ENTRE VALORES DE HEMATOCRITOS Y PRESENCIA DE LESIONES EN MÉDULA ÓSEA**

Valores de Hematocritos (%)	No de aves con lesiones en M.O	%	No de aves sin lesiones en M.O	%	Total
≥27	60	46,5	69	53,48	129
<27	14	70,0	6	30,0	20
	74	49,66	75	50,34	149

les, acompañada de una hiperplasia de células reticulares. Estas lesiones coinciden con los hallazgos reportados por otros investigadores [1, 2, 3, 8, 9, 10, 12, 24, 25, 28, 36, 37, 41, 42], tanto en brotes de la enfermedad a nivel de campo, como en infecciones experimentales con el agente de la A.I.A.

La ausencia de lesiones en órganos hematopoyéticos en aves seropositivos, sugieren la existencia de una infección subclínica o la presencia de anticuerpos maternos en estos pollos jóvenes [20, 22]. Tal situación demuestra directamente la infección o la vacunación de sus progenitoras y/o la presencia del virus en las granjas reproductoras o la importación de reproductoras infectadas o vacunadas [18, 37, 42].

En el presente estudio, la detección en varias de las aves examinadas de anemia, anticuerpos séricos, lesiones histopatológicas típicas de esta enfermedad y la presencia de cuerpos de inclusión intranucleares eosinofílicos en células hematopoyéticas, timocitos y células reticulares, sugieren la exposición de las aves con el agente de la anemia de los pollos y también de sus progenitoras, debido a su forma de transmisión y a la presencia de anticuerpos maternos en aves asintomáticas, según algunos reportes [17, 23, 29, 35, 38].

La presencia de virus de la A.I.A en granjas reproductoras, puede originar cuadros clínicos o subclínicos de la enfermedad en su progenie, dependiendo en qué etapa de su vida son infectadas y transfieren el agente, ya que las formas subclínicas se presentan por lo general debido a infecciones laterales en aves con edades superiores a las dos semanas o a la infección de aves con anticuerpos maternos. La forma clínica ocurre por la transmisión vertical del agente o la infección de aves susceptibles al día de edad [11, 13, 24, 29].

La severidad de una infección por el agente de la anemia infecciosa aviar, está influenciada por la virulencia de la cepa del virus que interviene, la edad de infección, dosis viral, vía de transmisión, la presencia de anticuerpos maternos y por coinfección con otros agentes inmunosupresores [21, 23, 26, 29, 38, 40].

Por otra parte, la detección de lesiones en órganos hematopoyéticos en aves negativas a la serología, confirman lo reportado por Goodwin col. [6, 7], quienes señalan que este tipo de lesiones podrían ser producidas por otros microorganismos conocidos, por lo que el diagnóstico definitivo de la A.I.A, no se debe basar exclusivamente en la detección de anemia y lesiones en órganos hematopoyéticos, sino que debiera incluir tanto, la detección de anticuerpos séricos como el aislamiento e identificación del agente causal mediante microscopía electrónica.

Sin embargo las lesiones consistentemente encontradas en la médula ósea de las aves seropositivas es decir, el 67,7%, en el 70,0% de las aves anémicas y la correlación positiva  $r=0,5411$ ;  $P=0,0001$ , entre la lesiones de médula ósea y la presencia de anticuerpos, demuestran que la presencia de anemia y la atrofia de médula ósea, pueden utilizarse como

un indicador de una posible infección por el virus de la A.I.A, coincidiendo estos resultados con los reportados por Yuasa y col. [37].

Los resultados de la correlación entre la presencia de anticuerpos y las lesiones de bolsa de Fabricio, bazo y tonsilas cecales, indican la necesidad de obtener mayor cantidad de información para realizar la asociación de estas variables, ya que son lesiones que se presentan entre 12 y 16 días posteriores a la infección, algunas veces con poca frecuencia, ya que pueden ser producidas por otros agentes infecciosos o estar ausentes en casos de infecciones subclínicas [7, 8, 22, 23, 38].

## CONCLUSIONES

La observación de lesiones histopatológicas en órganos linfoides típicas de la A.I.A, los anticuerpos séricos y la anemia como signo clínico en un grupo de pollos de engordes, procedentes de reproductores importados libres y no vacunados contra esta enfermedad, permitieron sugerir que estas aves padecían la forma clínica de la enfermedad y que la infección, pudo haber ocurrido por transmisión vertical o lateral, sugiriéndose la presencia del virus en ambas explotaciones.

Así mismo, la ausencia de lesiones atróficas en órganos linfoides en un alto porcentaje de aves jóvenes seropositivos sin anemia, sugieren la presencia de anticuerpos maternos, ya que los mismos persisten en la progenie hasta la tercera semana de edad [18, 23, 38]. La presencia de estos anticuerpos maternos, indica una eminente exposición de sus progenitoras con un virus de campo de la A.I.A, el cual dependiendo a que edad infecta a las reproductoras, podría estar provocando formas clínicas y subclínicas de la enfermedad en sus progenies, diseminando el virus en las granjas de pollos de engorde, como ha sido reportado por algunos investigadores [11, 14, 15, 17, 22, 38].

Esta situación explicaría la presencia en el estudio, de aves seropositivas sin anemia con y sin lesiones atróficas de órganos linfoides, de aves seropositivas con anemia y lesiones macro y microscópicas en los órganos linfoides.

## RECOMENDACIONES

Con la finalidad de demostrar y confirmar la presencia del agente causal de la Anemia Infecciosa Aviar no sólo en la región objeto de estudio sino en otras regiones del país, se hace necesario continuar y profundizar las investigaciones sobre esta enfermedad a nivel nacional, tanto a nivel de granjas reproductoras como en explotaciones de pollos de engorde, lo cual permitirá aprobar la aplicación de medidas de control y prevención contra la misma, como sería la incorporación al programa de vacunación de las reproductoras, de una vacuna atenuada contra la A.I.A.

Sin embargo, hasta que esto no ocurra, es importante que la industria avícola, mantenga sus esfuerzos en el control y prevención de los otros agentes inmunosupresores presentes, tales como: el virus de la enfermedad de Marek, el de la enfermedad infecciosa de la bolsa de Fabricio y Reovirus, con la finalidad de evitar coinfecciones con el agente de la A.I.A.

Evaluar periódicamente los programas de vacunaciones y las respuestas post-vacunales, ya que el agente las deprime, tanto en infecciones individuales como duales.

El productor puede utilizar en aves con bajos rendimientos productivos, la detección de anemia y lesiones aplásicas de médula ósea, como un indicador de posible infección por A.I.A, o como una herramienta para su diagnóstico presuntivo, aunque la demostración del virus y su aislamiento es de ulterior relevancia.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BRENTANO, L.; MORES, N.; WENTZ, I.; CHAUDRATIL-LEKE, D.; SCHAT, K.A. Isolation and identification of chicken infectious anemia virus in Brazil. **Avian Diseases**, 35: 793- 800. 1991.
- [2] BUSCAGLIA, C.; CROSETTI, C.F.; NERVI, P. Identification of chicken infectious anaemia, isolation of the virus and reproduction of the disease in Argentina. **Avian Pathology**, 23: 297-304. 1994.
- [3] ENGSTRÖM, B.E. Blue wing disease of chickens: Isolation of avian reovirus and chicken anaemia agent. **Avian Pathology**, 17: 23 -32 . 1988.
- [4] ENGSTRÖM, B.E.; FOSSUM, O.; LUTHMAN, M. Blue wing disease of chickens: Experimental infection with dermatitis in broiler chicken anemia agent and avian reovirus. **Avian Pathology**, 17: 51-62. 1988.
- [5] GOODWIN, M.A.; BROWN, J.; MILLER, S.L.; SMELTZER, M.A.; STEFFENS, W.L.; WALTMAN, W.D. Infectious anemia caused by a parvovirus-like virus in Georgia broilers. **Avian Diseases**, 33: 438-445. 1989.
- [6] GOODWIN, M.A.; STEFFENS, W.L.; DAVIS, J.F.; BROWN, J.; LATIMER, K.S.; DISKSON, T.G. Diagnosis of infections by the so-called chick anemia: Anemia and direct transmission electron microscopic detection of virus. **Avian Diseases**, 35: 869-871. 1991.
- [7] GOODWIN, M.A.; BROWN, J. Inability of so-called chicken anemia agent (CAA) infections to be diagnosed by anemia and hematopoietic organ atrophy alone. **Avian Diseases**, 36: 353-355. 1992.
- [8] GORYO, M.; SUWA, T.; MATSUMOTO, S.; UMEMURA, T.; ITAKURA, C. Serial propagation and purification of chicks anemia agent in MDCC-MSB1 cell line. **Avian Pathology**, 16: 149-163. 1987.
- [9] GORYO, M.; SUWA, T.; UMEMURA, T.; ITAKURA.; YAMASHIRO, S. Histopathology of chicken inoculated with chicks anemia agent (MSB1-TK5803 strain). **Avian Pathology**, 18: 73 -89. 1989.
- [10] GORYO, M.; SUWA, T.; UMEMURA, T.; ITAKURA.; YAMASHIRO, S. Ultrastructure of bone marrow in chicks inoculated with chicken anemia agent (MSB1-TK5803 strain). **Avian Pathology**, 18: 329-343. 1989.
- [11] HOOP, R.K. Persistence and vertical transmission of chicken anemia agent in experimentally infected laying hens. **Avian Pathology**, 21: 493-501. 1992.
- [12] LUCIO, B.; SCHAT, K.A.; SHIVAPRASAD, H.L. Identification of the chicken anemia agent, reproduction of the disease and serological survey in the United States. **Avian Diseases**, 34: 146 -153. 1990.
- [13] LUNA, L.G. Chapter 1, Preparation of tissue; Chapter 2, Processing of tissue; Chapter 3, Preparation de sections; Chapter 4, Hematoxylin and Eosin stains. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**, 3rd. ed. McGraw-Hill, New York: 1-34. 1968.
- [14] McCONNELL, C.D.G.; ADAIR, B.M.; McNULTY, M.S. Effects of chicken anemia virus on cell-mediated immune function in chickens exposed to the virus by a natural route. **Avian Diseases**, 37: 366-374. 1993.
- [15] McILROY, S.G.; McNULTY, M.S.; BRUCE, D.W.; SMYTH, J.A.; GOODALL, E.A.; ALCORN, M.J. Economic effects of clinical chicken anemia agent infection on profitable broiler production. **Avian Diseases**, 36: 566 -574. 1992.
- [16] McNULTY, M.S.; CONNOR, T.J.; McNEILLY, F.; KIRKPATRICK, K.S.; McFERRAN, J.B. A serological survey of domestic poultry in the United Kingdom for antibody to chicken anemia agent. **Avian Pathology**, 17: 315 -324. 1988.
- [17] McNULTY, M.S.; CONNOR, T.J.; McNEILLY, F. A survey of specific pathogen-free chicken flocks for antibodies to chicken anemia agent, avian nephritis virus and group A rotavirus. **Avian Pathology**, 18: 215 -220. 1989.
- [18] McNULTY, M.S.; CONNOR, T.J.; McNEILLY, F.; SPACKMAN, D. Chicken anemia agent in the United States: Isolation of the virus and detection the antibody in broiler breeder flocks. **Avian Diseases**, 33: 691-694. 1989.
- [19] McNULTY, M.S.; CURRAN, W.L.; TODD, D.; MACKIE, D.P. Chicken anemia agent: An electron microscopy study. **Avian Diseases**, 34: 736-743. 1990.
- [20] McNULTY, M.S.; CONNOR, T.J.; McNEILLY, F.; McLOUGHLIN, M.F.; KIRKPATRICK, K.S. Preliminary



- characterization of isolates of chicken anemia agent from the United Kingdom. **Avian Pathology**, 19: 67-73. 1990.
- [21] McNULTY, M.S.; CONNOR, T.J.; McNEILLY, F. Influence of virus dose on experimental anemia due to chicken anemia agent. **Avian Pathology**, 19: 167-171. 1990.
- [22] McNULTY, M.S.; McILROY, S.G.; BRUCE, D.W.; TODD, D. Economic effects of subclinical chicken anemia agent infection in broiler chickens. **Avian Diseases**, 35: 263-268. 1991.
- [23] McNULTY, M.S. Chicken anemia agent: A review. **Avian Pathology**, 20: 187-203. 1991.
- [24] OTAKI, Y.; NUNOYA, T.; TAJIMA, M.; TAMADA, H.; NOMURA, Y. Isolation of chicken anemia agent and Marek's disease virus from chickens vaccinated with turkey herpesvirus and lesions induced in chicks by inoculating both agents. **Avian Pathology**, 16: 291-306. 1987.
- [25] OTAKI, Y.; NUNOYA, T.; TAJIMA, M.; KATO, A.; NOMURA, Y. Depression of vaccinal immunity to Marek's Disease by infection with chicken anemia agent. **Avian Pathology**, 17: 333-347. 1988.
- [26] POPE, C.R. Chicken anemia agent. **Veterinary Immunology e inmunopatología**. 30: 51- 65. 1991.
- [27] RIDDELL, C. Chapter 1, Hemic system; Chapter 2, Lymphoid system. **Avian histopatología**. American Association of Avian Pathologists. Kennett Square, Pa: 3, 10 -12. 1987.
- [28] ROSENBERGER, J.K.; CLOUD, S.S. The isolation and characterization of chicken anemia agent (CAA) from broiler in the United States. **Avian Diseases**, 33: 707-713. 1989.
- [29] ROSENBERGER, J.K.; CLOUD, S.S. The effects of age, route of exposure, and coinfection with infectious bursal disease virus on the pathogenicity and transmissibility of chicken anemia agent (CAA). **Avian Diseases**, 37: 753-759. 1989.
- [30] SCHALM, O.W.; JAIN, N.C.; CARROLL, E.F. El Microhematocrito. **Veterinary Hematology**. 3rd. ed. Lea & Febiger, Philadelphia, E.U.A. Pa: 48-51. 1975.
- [31] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. Institute (SAS), Cary, NC. Version 6.12. 1996.
- [32] SMYTH, J.A.; MOFFERTT, D.A.; McNULTY, M.S.; TODD, D.; MACKIE, D.P. A sequential histopathologic and immunocytochemical study of the chicken anemia virus infection at one day of age. **Avian Diseases**, 37: 324-338. 1993.
- [33] TODD, D.; MACKIE, D.P.; MAWHINNEY, K.A.; CONNOR, T.J.; McNEILLY, F.; McNULTY, M.S. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect serum antibody to chicken anemia agent. **Avian Diseases**, 34: 359-363. 1990.
- [34] URDANETA, S. Estudio serológico y valores de hematocritos para la Anemia Infecciosa Aviar en pollos de engorde de los municipios Mara y La Cañada de Urdaneta de estado Zulia. Trabajo de Ascenso. FCV. LUZ. 1995.
- [35] VIELITZ, E. AND LANDGRAF, H. Anemia-dermatitis of broilers: Field observations on its occurrence, transmission and prevention. **Avian Pathology**, 17: 113-120. 1988.
- [36] WENPING, Z.; BING, S.; BING, Y.; SUPING, H.; LI, WEI.; BAOZHEN, X.; JIAO, Z. Isolation and Identification of Chicken Infectious Anemia Virus in China. **Avian Diseases**, 41: 361-364. 1997.
- [37] YUASA, N.; TANIGUCHI, T.; YOSHIDA, I. Isolation and some characteristics of an agent inducing anemia in chicks. **Avian Diseases**, 23: 336 -385. 1979.
- [38] YUASA, N.; NOGUCHI, T.; FURUTA, K.; YOSHIDA, I. Maternal Antibody and its effect on the susceptibility of chicks to chicken anemia agent. **Avian Diseases**, 24: 197-201. 1980.
- [39] YUASA, N.; TANIGUCHI, T.; NOGUCHI, Y.; YOSHIDA, I. Effects of infectious bursal disease virus infection on incidence of anemia by chicken anemia agent. **Avian Diseases**, 24: 202-209. 1980.
- [40] YUASA, N. AND IMAI, K. Pathogenicity & Antigenicity of eleven isolates of chicken anemia agent (CAA). **Avian Pathology**, 15: 639-645. 1986.
- [41] YUASA, N.; IMAI, K.; WATANABE, K.; SAITO, F.; ABE, M.; KOMI, K. Aetiological examination of an outbreak of haemorrhagic syndrome in a broiler flock in Japan. **Avian Pathology**, 16: 521-526. 1987.
- [42] YUASA, N.; IMAI, K.; NAKAMUR, K. Pathogenicity of chicken anemia agent in bursectomized chicken. **Avian Pathology**, 17: 363-369. 1988.
- [43] YUASA, N. Effect of chemicals on the infectivity of chicken anemia virus. **Avian Diseases**, 21: 315-319. 1992.