

DETECCIÓN DE TÍTULOS DE ANTICUERPOS CONTRA ANEMIA INFECCIOSA AVIAR Y SU RELACIÓN CON OTROS VIRUS INMUNOSUPRESORES EN POLLOS DE ENGORDE. ESTADO ZULIA. VENEZUELA.

Detection of Chicken Infectious Anemia Antibodies and Their Relationship With Other Immunosuppressor Virus in Broilers Chicken. Zulia State, Venezuela.

Saulo H. Urdaneta-Vargas¹, Claudia A. Narváez-Bravo¹, Ana María Arzalluz-Fischer¹, William Mejía¹, Ana Oviedo² y Elita García²

¹Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad del Zulia,

²Laboratorio Biolab, Maracaibo, estado Zulia. E-mail: saulourdaneta@cantv.net

RESUMEN

En Venezuela, la incidencia de enfermedades respiratorias virales e inmunosupresoras son dos de los mayores problemas en la industria avícola nacional, y hasta el momento no se cuenta con suficiente información epidemiológica al respecto que ayude a establecer medidas de control, por lo que el objetivo de esta investigación fue determinar serológicamente la presencia de anemia infecciosa aviar, reovirus y gumboro, y su relación entre ellas, así como determinar el nivel de anemia en las aves evaluadas. Se tomaron muestras de aproximadamente 14 a 15 aves, de forma semanal a diferentes edades (1, 7, 14, 21, 28, 35 y 42 días), en tres granjas comerciales, tomándose un total de 295 aves. Los títulos de anticuerpos se midieron a través de la prueba ELISA, y el nivel de anemia, por la técnica de microhematocrito. Se detectaron porcentajes de anticuerpos séricos: 90,8% (268/295) para anemia infecciosa aviar; 82,4% (244/295) para reovirus y 97% (286/295) para la enfermedad infecciosa de la bursa. En cuanto a los valores de hematocrito se encontró en forma general que, el 19,6% (58/295) de las aves evaluadas presentaron anemia, mostrando valores de hematocrito entre 20 y 27%. Se observó una correlación positiva altamente significativa entre la anemia infecciosa aviar y los otros virus inmunosupresores estudiados, con gumboro ($r=0,437$; $P<0,0001$) y reovirus ($r=0,312$; $P<0,0001$). Los resultados obtenidos en este trabajo permiten demostrar la presencia del virus de la anemia infecciosa aviar en pollos de engorde en la región, de manera aislada o asociada con reovirus y gumboro, que pudiesen estar afectando en forma subclínica o clínica las granjas avícolas zulianas.

Palabras clave: Anemia infecciosa aviar, gumboro, reovirus, pollos de engorde, ELISA.

ABSTRACT

The incidence of viral respiratory and immunosuppressant diseases are two of the biggest problems in the Venezuelan poultry industry, however in the country, there is not enough epidemiological information that helps to establish control measures. The aim of this research was to determine the presence of serological chicken anemia virus, reovirus and gumboro, and it's correlation between them as well as to determine the level of anemia in the evaluated birds. In this research, approximately fourteen or fifteen (14 or 15) birds were tested weekly and at different ages (1; 7; 14; 21; 28; 35 y 42 days), in three commercial farms. The samples were taken from a total of 295 birds. The viral antibodies were determined by ELISA test and the anemia levels by microhematocrit. The presence of seropositivity was 90.8% (268/295) for the chicken anemia virus, 82.4% (244/295) for reovirus and 97% (286/295) for gumboro. Of the total, 9.6% (58/295) of the evaluated birds presented anemia, showing values of hematocrits between 20% and 27%. A positive correlation was found between chicken anemia virus and the other immunosuppressor viruses studied, gumboro ($r=0.437$; $P<0.0001$) and reovirus ($r=0.312$; $P<0.0001$). The obtained results in this research demonstrated the presence of viral anemia, in broilers, in the Zulia Region, with or without the presence of reovirus and/or gumboro. That could have an effect, in either sub-clinical or clinical forms.

Key words: Chicken anemia virus, gumboro, reovirus, broilers chicken, ELISA.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la incidencia de enfermedades virales respiratorias e inmunosupresoras es uno de los mayores problemas de la industria avícola nacional y mundial [8]. La anemia infecciosa aviar (AIA), también conocida como anemia infecciosa de los pollos, se encuentra entre las enfermedades inmunosupresoras. Desde su aislamiento por Yuasa y col. [19], se ha puesto mucha atención a este virus como causante de pérdidas económicas substanciales en la industria avícola, debido a que esta enfermedad, tanto clínica como subclínica, en combinación con otros virus causantes de cuadros respiratorios, bacterianos y parasitarios, da origen a muchos de los problemas sanitarios y productivos en las explotaciones avícolas, lo que puede traer como consecuencia el aumento de la mortalidad, bajas ganancias de peso, altas conversiones alimenticias y cuadros de inmunosupresión [5, 8, 11].

El virus de la AIA es un virus pequeño, del género *Gyrovirinae* perteneciente a la familia *Circoviridae*, y puede causar un síndrome clínico de enfermedad caracterizado por anorexia, letargia, depresión, anemia, atrofia o hipoplasia de órganos linfoides, hemorragias cutáneas, subcutáneas o intramusculares, e incremento de la mortalidad en pollos jóvenes [10]. La enfermedad clínica actualmente es rara, debido a la práctica extendida de vacunar a las reproductoras, sin embargo, la forma subclínica es común, por otro lado los anticuerpos maternos previenen los signos clínicos pero no previenen la infección, la transmisión del virus o la inmunodepresión [15].

Infecciones en parvadas de aves por AIA han sido descritas, en la mayoría de los países que poseen explotaciones avícolas desarrolladas, tanto en aves comerciales como en parvadas libres de patógenos específicos (SPF) [2, 8]. En Venezuela se presume la presencia de la AIA debido a que en estudios realizados en el año 1998 por Urdaneta y col. [17], en el estado Zulia, se reportaron evidencias serológicas de la presencia de AIA en la región. Estudios posteriores realizados por Noguera y col. [12], lograron el aislamiento del virus de AIA en muestras obtenidas de la región central del país. Sin embargo, a pesar de estos reportes científicos, hasta los momentos la presencia de esta enfermedad, aún no ha sido registrada oficialmente en Venezuela, y son muy pocos los reportes en la región zuliana que

suminstren información sobre la presencia y comportamiento de este virus en la zona, así como de las relaciones que pudiese tener con la otras enfermedades virales, tales como reovirus y gumboro. En base a lo anteriormente expuesto, esta investigación tuvo como objetivo, la determinación de la enfermedad de anemia infecciosa aviar en la región y estudiar su relación con los otros factores inmunosupresores intervinientes en la explotación avícola de pollos de engorde, como son los virus de gumboro y reovirus.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población y Muestreo

Se seleccionaron pollos de engorde de 3 granjas (A, B y C) comerciales con capacidad de albergar 217.000 aves (Granja A: 75.000, Granja B: 73.000 y Granja C: 69.000). Cada granja cuenta con 6 galpones, para un total de 18 galpones. Estas unidades de producción están localizadas en el municipio La Cañada de Urdaneta del estado Zulia, esta zona corresponde a bosque seco tropical, con temperatura promedio de 28,4°C, una precipitación promedio de 800 mm/anales, humedad relativa media de 77% y una velocidad de viento a 2,5 mts/suelo de 5,2 Km/hora.

La toma de las muestras fue realizada de forma aleatoria, tomando 15 aves de cada granja, para un total de 45 aves por semana. Para ello, se seleccionó al azar un galpón de cada granja, obteniéndose para la Granja A = 6, Granja B = 2, Granja C = 6. Los pollos fueron muestreados semanalmente desde el 1er día hasta los 42 días de edad, utilizando el siguiente esquema 1; 7; 14; 21; 28; 35; 42 días. Se registraron los datos de mortalidad, consumo y conversión alimentaria semanal de los galpones objeto de estudio en cada granja, y posteriormente se procedió a seleccionar al azar las aves del galpón. Una vez seleccionadas, las aves fueron colocadas en una jaula y transportadas al laboratorio para los análisis respectivos.

Programa sanitario de las granjas estudiadas

Recepción: Los pollitos al día de edad son recibidos de la incubadora con electrolitos (Hidrasevet) por tres días, y medidas de bioseguridad. Luego reciben el siguientes Programas:

Programa de vacunación:

Vacuna	Vía	Edad (días)	Laboratorio
New Castle + Broquitis	Aerosol	1	Lab. Winco
New Castle (Gallimune)	Subcutanea	1	Lab. Merial
Marek (Bursell – HVT)	Subcutanea	1	Lab. Merial
Gumboro (Bursine 2)	Aerosol	7	Lab. Ford Dodge
New Castle (La Sota)	Aerosol	7	Lab. Merial
Gumboro (Bursavac 3)	Aerosol	14	Lab. Shering Ploung
New Castle (La Sota)	Aerosol	14	Lab. Intervet

Determinación de anticuerpos séricos para anemia infecciosa aviar, gumboro y reovirus

Obtención de las muestras de suero de las aves

Aves de 1 día de edad

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante corte de vena yugular. Para la obtención de los sueros se utilizaron tubos sin anticoagulante. Una vez que el suero se separó, el mismo fue extraído y vertido en tubos estériles, para ser posteriormente congelados a -20°C hasta su procesamiento.

Aves de 7 a 42 días de edad

Las muestras de sangre fueron obtenidas por punción cardiaca, la obtención de los sueros se realizó de la misma forma que para las aves de 1 día de edad, descrito en la sección anterior.

Detección de anticuerpos

Se utilizó la prueba de Inmunoensayo con Enzimas Asociadas (ELISA) para detección de anticuerpos contra AIA, gumboro y reovirus de las aves muestreadas durante toda su vida, hasta los 42 días. Fueron utilizados kits de ELISA comerciales de la marca Sinbiotic-KPL®, y se utilizó un lector de ELISA automático (Bio-Tek Instruments, EUA®). Durante el procesamiento de las muestras con los kits de ELISA se siguieron las recomendaciones de la casa comercial. Las pruebas fueron realizadas en el laboratorio Biolab y en el laboratorio de la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia (LUZ).

Valores de Hematocrito

Se utilizó el método del microhematocrito para determinar el hematocrito de las aves muestreadas a lo largo de su vida (1 a 42 días). Las muestras de sangre fueron tomadas mediante la punción de la vena alar utilizando lancetas. Una vez realizada la punción fueron llenados 2 capilares heparinizados por cada ave. El porcentaje de eritrocitos (hematocrito)

fue registrado después de la centrifugación de la muestra a 12.000 rpm x 5 minutos, para el cálculo del hematocrito, se tomó el promedio de los dos tubos capilares. Las aves se reportaron anémicas cuando los valores del hematocrito fueron inferiores o iguales a 27% [14].

Análisis estadístico

Para el procesamiento estadístico de los resultados se utilizó el paquete computarizado de procesamiento estadístico SAS [16]. Se realizó análisis de frecuencia para determinar la proporción de aves positivas a los virus determinados y aves con anemia. De igual forma, se estableció la relación entre la presencia de anemia infecciosa aviar, gumboro y reovirus, se verificó utilizando el análisis de correlación de Spearman [16].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Detección de anticuerpos séricos

Anemia Infecciosa Aviar (AIA)

Se detectaron anticuerpos séricos contra la AIA, en el 90,8% (268/295), de las muestras de pollos de engorde analizados, con un título promedio de 3.691 (TABLA I).

Al analizar los títulos de anticuerpos en las diferentes edades (TABLA I), se observó que el 100% de las aves de 1 día de edad (27/27) fueron seropositivas, con un título medio de 4.895. Se observó una ligera disminución de aves positivas a los 7 días de edad (93,2%), disminuyendo aún más, en aves de 14 (82,2%) y de 21 (73,3%) días. A partir de los 28 días (91,1%) de edad, ocurrió un aumento en el porcentaje de aves positivas, llegando nuevamente a un 100% en aves de 35 y 42 días, con títulos promedios de 4.670.

Los resultados observados en aves de 1 día de edad podrían deberse a una transferencia uniforme de anticuerpos maternos al 100% de las progenies. Esta transferencia pudo

TABLA I
SEROLOGÍA (ELISA) POR EDAD PARA ANEMIA INFECCIOSA AVIAR. (A.I.A)/
CHICKEN INFECTIOUS ANEMIA SEROLOGY BY AGE (ELISA)

Edad (días)	No. de aves n	No. de aves Positivas (%)	Título Promedio	CV	Títulos Min	Títulos Max
1	27	27 (100)	4.895	28,5	2.079	7.788
7	44	41 (93,2)	3.716	47,5	0	8.042
14	45	37 (82,2)	2.717	67,0	0	7.398
21	45	33 (73,3)	2.424	77,6	0	6.677
28	44	40 (91,1)	3.373	54,3	0	8.337
35	45	45 (100)	4.041	48,6	1.708	7.602
42	45	45 (100)	4.670	34,2	1.647	7.805
Total	295	268 (90,85)	3.691			

ser producto de una infección de campo de las aves de 1 día de edad, o debida a la vacunación de las reproductoras contra el virus de la AIA [1,6]. Sin embargo, la empresa no reportó haber realizado vacunaciones en las reproductoras, lo cual permite inferir que las aves reproductoras pudieron padecer una infección por AIA y posiblemente transmitieron sus anticuerpos o el virus verticalmente a su descendencia.

La detección de anticuerpos contra la anemia infecciosa aviar en pollos con edades entre 7 y 42 días, y su comportamiento durante las 6 semanas de edad, coincide con los descritos por Sommer y Cardona [15] y McNulty y col. [9], quienes señalan que los anticuerpos maternos van descendiendo en la progenie hasta la tercera semana de vida, y tienden a desaparecer, debido al catabolismo normal, por lo que los niveles bajan dramáticamente hasta desaparecer, si estas aves no son nuevamente infectadas o vacunadas a nivel de granja.

Los títulos de anticuerpos promedio (4.670) en aves de 35 y 42 días, se encontraron en la mayoría de los casos, muy por encima de los normales esperados para la edad, en aves no vacunadas, y en promedio duplican a los registrados a la 3 era semana de vida de muchas de las aves examinadas (FIG. 1), por lo cual se podría inferir, que las reproductoras, además de transferir anticuerpos contra AIA a su descendencia, es muy probable que también les hayan transferido dicho virus. Sin embargo, en las aves evaluadas no se observaron signos clínicos de la enfermedad, debido a que los anticuerpos maternos protegen contra la infección a las aves jóvenes [13], posteriormente, cuando los anticuerpos maternos decaen, alrededor de las 2da y 3era semanas, si se presenta la enfermedad en las aves, ésta es de tipo subclínico, es decir, que no se observan signos de anemia o hemorragia en las aves [8,15]. Las aves portadoras una vez en granjas, pueden diseminar el virus en el galpón y las aves susceptibles con anticuerpos o sin ellos, pueden ser infectadas por vía horizontal, mediante la ingestión de material excretado contaminado, como la cama reutilizada de los galpones, etc.

En un estudio similar realizado por Sommer y Cardona [15], se reportó una seropositividad del 100% en aves de un día de edad evaluadas, los cuales fueron atribuidos

a la vacunación de las reproductoras, sin embargo, se encontró un comportamiento similar a los obtenidos en este estudio, ya que se observó una disminución de los anticuerpos maternos a la tercera semana de edad, desapareciendo por completo en la semana 4, para luego aumentar a los días 32 y 42, llegando a un 100% a los 50 días de edad. Estos autores atribuyeron el aumento de anticuerpos a un desafío de campo, o a una transferencia vertical del virus de AIA por parte de las reproductoras [15].

En otro estudio realizado por Mahzounieh y col. [7], en una población de 7.000 a 15.000 aves, utilizando Kits de ELISA, se reportó una positividad a AIA en todas las edades de las aves evaluadas (2 días a 9 semanas), la tasa de aves positivas varió entre 20 y 100%, y cerca del 87,2% de las aves mostró anticuerpos contra AIA. Estos mismos autores reportan que, los altos títulos de anticuerpos contra AIA en aves de 2 días de edad, fue debido a la presencia de anticuerpos maternos, lo que evidencia infección en las reproductoras. También reportaron una amplia distribución de este virus, y de una considerable alta incidencia de infección entre las parvadas de aves en Iran [7].

Valores de Hematocrito

En la TABLA II se muestran los valores de hematocrito según la edad, al analizar los valores de hematocrito de las aves muestreadas en este estudio, se encontró que en forma general estuvieron entre 20% Min y 39% Max, con un valor promedio de 30% y una desviación estándar de 3,24. Un 19,6% (58/295) de las aves evaluadas presentaron anemia, mostrando valores de hematocrito entre (20 y 27%). De las aves anémicas, el 89,7% (52/58) presentaron anticuerpos contra el virus de la AIA.

El porcentaje de aves con anemia más alto se presentó en las aves de 1 día y 28 días de edad con un 29,6 y 26,7%, respectivamente, el valor mínimo de hematocrito fue a los 7 días (6,8%). El resto de las aves mostraron entre un 13 y un 22%. Por lo tanto, estos resultados permiten inferir que, un alto porcentaje de las aves analizadas 80,6% (216/268), pueden estar padeciendo una forma subclínica de la enfermedad, ya

TABLA II
VALORES DE HEMATOCRITO POR EDAD/ HEMATOCRIT VALUE BY AGE

Edad	n (%)	Anémico (%)	Normal (%)	Hcto Media (%)	Valor Min	Valor Max
1	27	8 (29,6)	19 (70,4)	29,9	22	30
7	44	3 (6,8)	41 (93,2)	31,2	22	39
14	45	10 (22,2)	35 (77,8)	30,3	20	35
21	45	6 (13,3)	39 (86,7)	30,4	23	37
28	45	12 (26,7)	33 (73,3)	29,3	24	37
35	44	9 (20,5)	35 (79,5)	30	26	35
42	45	10 (22,2)	35 (77,8)	29,4	26	34
Total	295	58 (19,7)	237 (80,3)	30	20	39

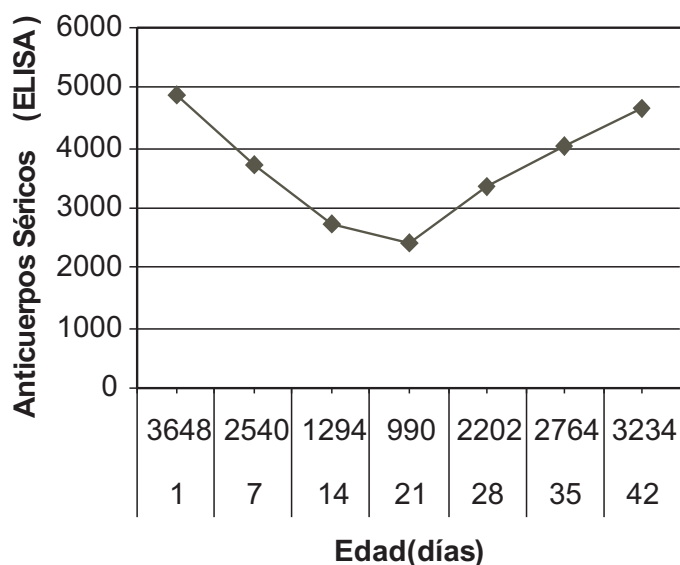


FIGURA 1. SEROLOGÍA ANEMIA INFECCIOSA AVIAR/ AVIAN INFECTIOUS AVIAN SEROLOGY.

que sólo se detectó anemia en el 19,6% (52/268) de aves seropositivas. El mayor porcentaje de aves con anemia y anticuerpos séricos se encontró en aves con edades superiores a los 28 días, lo cual coincide con lo reportado por Noguera y col. [12], en un estudio de campo, donde se reportó que la forma clínica de la AIA puede observarse hasta los 42 días de edad.

En un estudio previo realizado en el estado Zulia en el año 1998 por Urdaneta y col. [17] se reportó que el 90% de aves, con edades entre 7 y 21 días, en ese mismo Municipio, presentaron anticuerpos contra el virus de la AIA, lo que coincide con los resultados reportados en el presente trabajo, y muestra que el número de aves afectadas por esta enfermedad no ha disminuido, desde el año 1998 hasta el 2005, mostrando un comportamiento sostenido, el cual podría incrementarse con el tiempo.

La detección de un 19,6% (58/295) de aves con anemia (hcto < 27%) se encuentra por encima de lo reportado por Urdaneta y col. [17], donde se reportó un 13,4% de aves con anemia, debido posiblemente a que en el presente trabajo, la población en estudio fue mayor y con aves de mayor edad.

La detección de anemia en aves seronegativas, demuestra que este signo no puede ser utilizado solo, o aislado como un indicativo para un diagnóstico presuntivo de anemia infecciosa aviar en granja, ya que el 10,34% de las aves anémicas fueron seronegativas al virus de la AIA, coincidiendo con lo reportado por Goryo y col. [4].

Los hallazgos encontrados en este trabajo, muestran una amplia distribución del virus de la AIA en aves del municipio La Cañada de Urdaneta, producto de la presencia del virus en campo o de su transferencia vertical, observándose que a pesar de que las aves mostraron buenos niveles de anticuerpos maternos, esto no evitó una reinfección por el virus de AIA, lo cual coincide con lo reportado por Brentano y col. [1], y concuerda con otras investigaciones, donde se ha documentado que esto ocurre en la mayoría de los países productores de aves [2, 7].

Reovirus

Se detectaron anticuerpos séricos promedio contra reovirus en el 82,4% (244/295) de las aves analizadas con un título promedio de 2.382. En la TABLA III, se observan los títulos de anticuerpos de reovirus por edades, se pueden apreciar niveles de anticuerpos maternos en el 100% de las aves de 1 día de edad (título promedio: 3.648), 97,7% de las aves a los 7 días de edad (título promedio: 2.540), y del 77,7% de las aves a los 14 días de edad (título promedio: 1.502). Estos títulos son producto de una transferencia normal de anticuerpos maternos contra esta enfermedad, ya que la presencia de estos anticuerpos se puede esperar como una respuesta normal, resultado del programa de vacunaciones empleado en estas granjas, el cual consistió en la administración de 2 vacunas vivas y 2 vacunas inactivadas a las madres, en la etapa de cría y recría.

**TABLA III
SEROLOGIA PARA REOVIRUS (ELISA) POR EDAD/ REOVIRUS SEROLOGY (ELISA) BY AGE**

Edad (días)	No. de aves Muestreadas	No. de aves Seropositivas n (%)	Título Promedio	CV	Títulos Min	Títulos Max
1	27	27 (100)	3.648	30,9	1.585	4.551
7	44	43 (97,7)	2.540	53,3	0	5.488
14	45	35 (77,7)	1.502	67,0	0	5.576
21	45	24 (53,3)	990	60,5	0	4.477
28	44	28 (63,6)	1.265	72,2	0	5.603
35	45	41 (91,1)	2202	54,6	0	4.330
42	45	45 (100)	3234	75,8	0	4.740
Total	295	243 (82,4)	2.382			

Al evaluar el comportamiento de los títulos para reovirus, hasta el día 42, se encontró un comportamiento similar al observado para AIA. Los anticuerpos séricos de reovirus disminuyeron hasta la 3era semana, sin embargo, una vez que los títulos bajaron a los 21 días de edad (títulos de 990), comenzaron de nuevo a elevarse a los 28 días (títulos de 1265) llegando a un máximo de 3.234 a los 42 días de edad (FIG. 2). Estos resultados sugieren que existe un alto porcentaje de estas aves que pueden haber sido expuestas a un reovirus de campo, ya que los títulos de anticuerpos, al igual que el porcentaje de aves que se convierten en seropositivas, se incrementa a partir de las 3 semanas de edad, para concluir a los 42 días con títulos altos en ELISA (3.234) y con un 100% de las aves seropositivas. Esta conducta puede ser producto de un desafío de campo durante la 1era o 2da semana de edad, donde a pesar de contar con anticuerpos maternos, éstos no fueron completamente protectivos, posiblemente debido a un virus con serotipo diferente al de la vacuna utilizada en sus progenitores (reproducto-

ras), el cual pudo ser un virus de moderada a alta patogenicidad, También podría atribuirse al grado de inmunodepresión que produce la infección del virus de la anemia. Von Bulow y col. [18], así como De Boer y col. [3], reportan que pollos infectados parecen exhibir un incremento en la incidencia de infecciones bacterianas secundarias y evidencian una disminución de la respuesta a las vacunas. Es importante señalar que el virus de reovirus, al igual que el virus de la anemia infecciosa aviar, pueden causar deterioro del sistema inmunitario al provocar atrofia de órganos linfoides como el timo y la bolsa de Fabricio, y exacerbar o agravar aún más las enfermedades originadas por otros patógenos, como el virus de AIA y/o enfermedad infecciosa de la bursa, incrementando parámetros como mortalidad, crecimientos irregulares de las aves, diarreas, etc.

Enfermedad Infecciosa de la Bursa o Gumboro

Se detectaron anticuerpos séricos contra la enfermedad de la bursa o gumboro (IBD), en el 97% (286/295) del total de las aves analizadas, con un título promedio de 12.239.

En la TABLA IV se muestran los títulos de ELISA por edad para gumboro. Todas las aves de un día de edad, presentaron anticuerpos maternos con un título promedio de 21.848 (Min 17.813 – Max 25.492), luego experimentaron un descenso en los títulos a los 7 (17.253), 14 (10.483) y 21 (3.940) días de edad. Posteriormente ocurrió un incremento progresivo, a partir del día 28, hasta los 42 días (5.393, 11.427 y 15.329), debido a la aplicación de dos (2) vacunaciones colocadas de rutina en las granjas evaluadas como parte de su programa sanitario. Un bajo porcentaje de las aves analizadas 3% (9/296), no presentaron anticuerpos contra esta enfermedad, y en su mayoría contaban con 28 días de edad (3/ 21 días, 6/ 28 días).

Los niveles de anticuerpos al día de edad (25.848) se encontraron entre los parámetros de normalidad, debido a que las aves reproductoras son vacunadas con 2 vacunas de gumboro a virus vivo y 1 ó 2 a virus muerto o inactivado, observándose por consiguiente, títulos muy altos en los primeros días

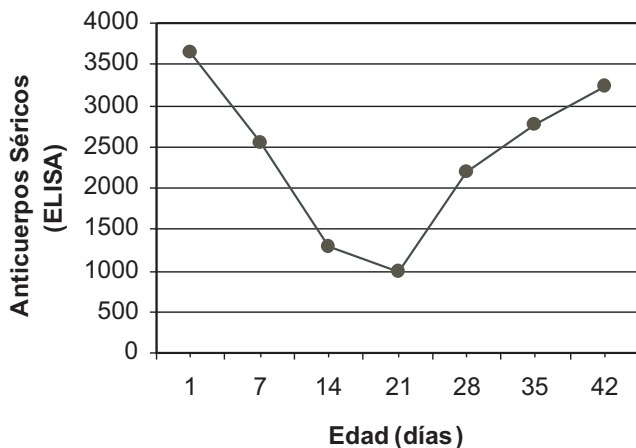


FIGURA 2. SEROLOGÍA REOVIRUS / REOVIRUS SEROLOGY.

TABLA IV
SEROLOGÍA (ELISA) PARA LA ENFERMEDAD INFECCIOSA DE LA BURSA (IBD) POR EDAD/
INFECTIOUS BURSAL DISEASE SEROLOGY (ELISA) BY AGE

Edad (días)	No. de aves	No. de aves Seropositivas n (%)	Título Promedio	CV	Títulos Min	Títulos Max.
1	27	27 (100)	21.848	9,0	17.813	25.492
7	44	44 (100)	17.254	15,8	11.686	22.842
14	45	45 (100)	10.484	32,9	2.803	18.303
21	45	42 (93,3)	3.940	60,5	0	9.474
28	44	38 (86,4)	5.393	89,2	0	18.087
35	45	45 (100)	11.427	30,4	3.881	18.422
42	45	45 (100)	15.329	22,9	9.046	24.876
Total	295	286 (97)	12.239			

de edad en las aves evaluadas. Estos títulos a los 42 días de edad deberían ubicarse en un rango entre unos 5.000 a 10.000 por ELISA, según experiencias y resultados de laboratorios de diagnóstico de la región zuliana y del centro del país, y por el contrario, en este estudio, los resultados se encuentran muy altos, lo cual demuestra un desafío de campo, posiblemente por cepas variantes o clásicas de gumboro (FIG. 3).

Se detectó que el 80% de las aves de la Granja A (12/15), muestran títulos de anticuerpos superiores a los 15.700 a su salida al matadero, a diferencia de las granjas B (53%) y C (13,0%), donde los porcentajes de aves con títulos elevados fueron menores.

Al analizar los resultados de la serología de la enfermedad de gumboro se observó que existe una buena transferencia de anticuerpos maternos, con unos títulos promedios muy altos (21.848 y 5.777), los cuales a medida que transcurre el tiempo disminuyen pero nuevamente se incrementan a partir del día 28 y terminan a los 42 días en una proporción que se consideran elevados para un programa de vacunación de dos vacunas vivas a nivel de granja para gumboro, lo cual demuestra un posible desafío en campo por cepas clásicas o por variantes del virus, que incrementa en ambos casos el número de aves seropositivas y los títulos a su salida a matadero. También pudo deberse a una disminución de la respuesta vacunal de las aves, por infección previa con AIA, como se señaló en el caso de reovirus.

Correlaciones entre AIA, Reovirus y Enfermedad Infecciosa de la Bursa o Gumboro

Se detectó una correlación positiva altamente significativa, entre la presencia de aves con títulos de anticuerpos séricos contra AIA, reovirus ($r = 0,312$; $P < 0,0001$), y gumboro ($r = 0,437$; $P < 0,0001$), lo cual indica que, a medida que bajan o

aumentan los niveles de anticuerpos séricos de anemia infecciosa aviar, los niveles de las otras enfermedades experimentan el mismo comportamiento, TABLA V.

A diferencia de las otras patologías, los resultados encontrados para reovirus y AIA son concluyentes en cuanto a la exposición de las aves a estas entidades virales, ya que estas aves no reciben vacunas contra AIA ni reovirus durante su cría en granja, por lo que cualquier incremento de los niveles de anticuerpos circulante de estas enfermedades, sugiere una infección vertical o de campo por cepas patógenas de estos virus. En la FIG. 4 se muestra el comportamiento de los anticuerpos séricos de AIA y reovirus.

La relación de anemia infecciosa aviar con la enfermedad infecciosa de la bursa, por el contrario, pudo ser producto de las dos o tres vacunaciones que se realizan en granja, contra estas patologías, dichas vacunaciones se realizan con el objetivo de mantener los títulos de anticuerpos neutralizantes elevados a nivel de campo, de manera de evitar problemas por cepas de campo. Sin embargo, los resultados obtenidos muestran un incremento de los títulos de anticuerpos séricos para gumboro, dicho incremento no es una respuesta inmunológica compatible o esperada, como respuesta a un programa de va-

TABLA V
ANÁLISIS DE CORRELACIÓN ENTRE ANTICUERPOS SÉRICOS PARA ANEMIA INFECCIOSA AVIAR CON TÍTULOS DE LA ENFERMEDAD INFECCIOSA DE LA BURSA Y REOVIRUS / CORRELATION BETWEEN AVIAR INFECTIOUS ANEMIA, REOVIRUS AND INFECTIOUS BURSAL DISEASE.

Variable	N	Media	STD	Min.	Max.	r	P
Reovirus	295	11.639	6.502	0	5.603	0,312	<0,0001
Gumboro	295	2.800	2.367	0	25.492	0,437	<0,0001

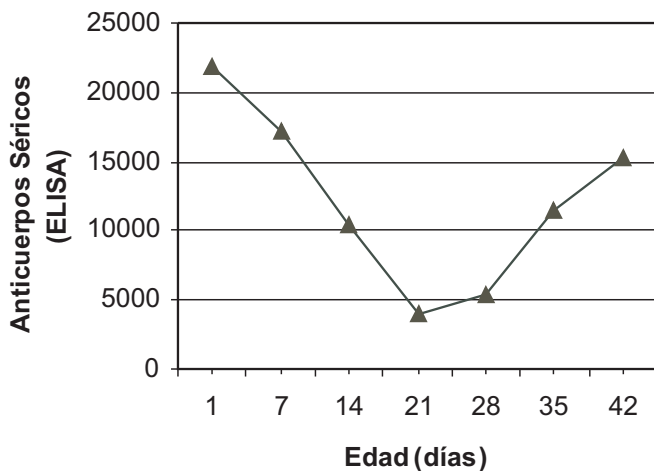


FIGURA 3. SEROLOGÍA DE LA ENFERMEDAD INFECCIOSA DE LA BURSA / INFECTIOUS BURSAL DISEASE SEROLOGY.

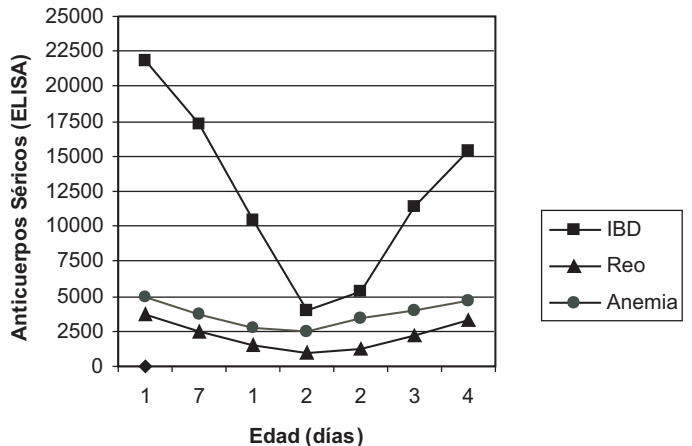


FIGURA 4. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN ENTRE DE TÍTULOS DE AIA - REOVIRUS- IBD/ CORRELATIONS BETWEEN SEROLOGY FOR AIA-REOVIRUS-IBD.

cunación, lo que podría ser indicio de desafíos de campo con cepas virulentas de gumboro. En la FIG. 4, se muestra la relación entre AIA y gumboro.

El efecto sinérgico de estos virus en los pollos puede estar originando, alteraciones en el estado sanitario de las parvadas, aumentando la mortalidad y causando un incremento en la conversión alimenticia. Esta situación puede estarse originando por la infección temprana y vertical del virus de la anemia de los pollos (AIA), la cual podría estar provocando la depresión de la respuesta inmunológica de las aves [3,18], disminuyendo de esta forma la resistencia y la capacidad de eliminar las infecciones del hospedador durante las dos primeras semanas de edad, por lo que las aves pueden ser más susceptibles a infecciones con virus de campo, pudiendo desarrollar enfermedades clínicas o subclínicas que se producen a pesar las vacunaciones preventivas aplicadas.

Los resultados obtenidos en este trabajo permiten demostrar en la zona, la presencia de AIA en pollos de engorde, así como una estrecha interacción entre esta enfermedad y otros virus inmunosupresores como gumboro y reovirus. Estas infecciones bajo cuadros de inmunosupresión, con otros virus en granjas, predisponen a formas clínicas de enfermedad que pueden ocurrir durante toda la etapa de producción y hasta la salida al mercado de las aves, como lo reportado por Noguera y col. [12], en el centro del país.

CONCLUSIONES

La detección de anticuerpos séricos contra la AIA en un 90% de aves examinadas con edades entre 7 y 42 días (242/269), o de un 97% (131/145) en aves con edades de 28 a 42 días, revelan una alta incidencia de anemia infecciosa aviar en granjas evaluadas.

La detección de anticuerpos maternos en el 100% de las pollos de engorde analizados, demuestra que sus madres o reproductores han sido vacunadas o infectadas con un virus de campo de la anemia infecciosa aviar.

Se detectó una incidencia del 90,8% de aves con títulos de anticuerpos elevados, lo que evidencia que las aves pueden estar padeciendo una forma subclínica o clínica de la enfermedad de anemia infecciosa aviar.

Se detectó una relación positiva altamente significativa, entre los niveles de anticuerpos séricos, para el virus de AIA, reovirus y enfermedad infecciosa de la bursa, lo cual demuestra un efecto sinérgico entre estos patógenos.

Se demostró que la anemia por sí sola, no es un signo que orienta a realizar un diagnóstico presuntivo de AIA, esto debido a que se observó, que puede presentarse en cualquier edad, desde los primeros días de nacidos hasta el final de su vida productiva y tanto en aves seropositivas como en aquellas que no tienen anticuerpos séricos detectables.

RECOMENDACIONES

Realizar estudios epidemiológicos adicionales con técnicas moleculares como Reacción en Cadena de la Polímera (PCR), Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos de Restricción (RFLP) y aislamiento viral, que permitan confirmar la presencia del virus de la anemia infecciosa aviar, a nivel estatal y nacional, así como también de cepas del virus de la enfermedad de la bursa y reovirus que pudiesen estar presentes en granja, causando enfermedad de forma clínica o subclínica.

El sector industrial y gubernamental debe informarse y hacer esfuerzos para adquirir reproductores, pollos y pollitas libre de AIA, con la finalidad de evitar la contaminación de las instalaciones avícolas, también se deben intensificar los programas de bioseguridad en estos planteles, para evitar la presencia de aves portadoras en las integraciones.

Alertar a las autoridades sanitarias (SASA), para que establezcan un plan de diagnóstico y vigilancia contra la anemia infecciosa aviar en granjas avícolas.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue posible gracias al apoyo del CONDES-LUZ, del laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias- LUZ y del laboratorio de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas - LUZ. Un especial agradecimiento, a todas las explotaciones avícolas que prestaron su invaluable colaboración durante la recolección de las muestras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BRENTANO, L.; LAZZARIN, S.; BASSI, S.S.; KLEIN, T.A.P.; SCHAT, K.A. Detection of chicken anemia virus in gonads and in the progeny of broiler breeder hens with high neutralizing antibody titers. **Vet. Microbiol.** 105: 65 - 72. 2005.
- [2] CARDONA, C.J.; WENDELIN, B.O.; SCHAT, K.A.; Distribution of chicken anemia virus in the reproductive tissues of specific-pathogen-free chickens. **J. Gen. Virol.** 81: 2067-2075. 2000
- [3] DE BOER, G.F.; VAN ROOZELAAR, D.J.; MOORMAN, R.J.; JEURISSEN, S.H.M.; VAN DER WIJNGAARD, J.C.; HILBINK, F.; KOCH G. Interaction between chicken anemia virus and live. Newcastle disease vaccine. **Avian Pathol.** 23:263-75. 1994.
- [4] GORYO, M.; SUWA, T.; MATSUMOTO, S.; UMEMURA, T.; ITAKURA, C. Serial propagation and purification of chicken anemia agent in MDCC - MSB1 cell line. **Avian Pathol.** 16: 149 - 163. 1987.
- [5] JORGENSEN, P.H.; OTTE, L.; NIELSEN, O.L.; BISSGAARD, M. Influence of subclinical virus infections and

- other factors on broiler flock performance. **British Poultry Sci.** 36:455-463. 1995
- [6] LUCIO, B.; SCHAT, K.A.; SHIVAPRASAD, H.L. Identification of the chicken anemia agent, reproduction of the disease and serological surveys in the United States. **Avian Dis.** 34: 146 - 153. 1990.
- [7] MAHZOUNIEH, M.; KARIMI, I.; ZAHRAEI, S.T. Serologic evidence of chicken infectious anemia in commercial chicken flocks in Shahrekord, Iran. **Int. J. Poultry Sci.** 4(7): 500-503. 2005
- [8] McNULTY, M.S. Chicken anemia agent: a review. **Avian Pathol.** 20:187-203.1991.
- [9] 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 Pathol**, 17: 315 - 324. 1988.
- [10] MURPHY, F.; GIBBS, E.P.; HORZINEK, M.; STUDERT, M. Circoviridae. **Veterinary Virology**. Chapter 22: 3th Ed. Academic Press. USA. 357-362. pp 1999.
- [11] MVILROY, 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 in broiler flocks. **Avian Dis.** 36: 566 - 574. 1992.
- [12] NOGUERA, C. de; ROLO, M.; INFANTE, D.; LEÓN, A.; MARÍN, C.; BERMÚDEZ, V.; NOGUERA, R.C.; HERRERA, A. First isolation of the chicken infectious anemia virus in Venezuela. **XII Internacional Congreso of Virology**. Paris – France. 388 pp. 2002.
- [13] OTAKI, Y.; NUNOYA, T.; TAJIMA, M.; TAMADA, H.; NOMURA, Y. Isolation of chicken anemia agent and Marek's disease virus from chicken vaccinated with turkey herpesvirus and lesions induced in chicks by inoculating both agents. **Avian Pathol**, 16: 291 - 306. 1987.
- [14] SCHALM, O.W.; JAIN, N.C.; CARROLL, E.F. **Microhematocrit. Veterinary Hematology**. 3rd Ed. Lea & Febiger, Philadelphia, E.U.A. 48 -51 pp. 1995.
- [15] SOMMER, F.; CARDONA, C. Chicken anemia virus in broilers: dynamics of the infection in two commercial broiler flocks. **Avian Dis.** 47 (4): 466- 673. 2003.
- [16] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS), Cary, NC. Version 6,12. 1996.
- [17] URDANETA, S.; ANDRADE, L.; PARRA, O. Detección de anemia y anticuerpos séricos a anemia infecciosa aviar en pollos de engorde de los Municipios Mara y La Cañada de Urdaneta de Estado Zulia. **Rev. Científ. FCV- LUZ**, VIII (3): 265 – 272.1998.
- [18] VON BULOW, V.; SCHAT, K.A. Chicken infectious anemia. In: **Diseases. of Poultry**. 10th Ed. B.W. Calnek, H.J.; Barnes, C.W.; Beard.; L.R. McDougald.; Y.M.Saif. (Eds) Ames, Iowa. USA: Iowa State University Press. 739-756 pp.1997.
- [19] YUASA, N.; TANIGUCHI, T.; YOSHIDA, I. Isolation and characteristics of an agent inducing anemia in chicken. **Avian Dis.** 23: 336 - 385.1979.