

ANEMIA INFECCIOSA DE LAS GALLINAS

Interacciones Anemia Infecciosa – Enfermedad de Gumboro

Oscar Morales, DMV, MSc. ACPV y Beatriz Cardoso, DMV, MSc –
Servicio Técnico América Latina

–
Lohmann Animal Health International

Introducción	Patogenicidad	Lesiones microscópicas	Control
El virus	<i>Forma clínica</i>		Interacción
Biología Molecular	<i>Forma subclínica</i>	Patogénesis	Anemia - Gumboro
Epidemiología	Lesiones macroscópicas	Diagnóstico	Bibliografía Consultada
		Serología	

Introducción

La descripción de la anemia infecciosa de las gallinas es relativamente nueva. Fue descrita por Yuasa en 1979 y desde entonces es el “circovirus” más estudiado de todo el grupo. El virus está diseminado en todo el mundo y aunque se conozca bien la patogénesis de la enfermedad clínica, la enfermedad subclínica y algunas de las interacciones con otros agentes aún no están totalmente descritas. El impacto económico de la presencia de este virus puede variar desde muy elevado (presentación clínica) hasta mediano (infección subclínica interactuando con otras entidades), o hasta imperceptible (Infección a edades en que las aves ya son resistentes).

Esta presentación tiene como objetivos hacer un resumen descriptivo del virus de la anemia infecciosa, cómo funciona, porqué y cómo causa determinadas lesiones, explicando las consecuencias para el ave, y finalmente analizar la interacción entre el virus de anemia con el virus de la enfermedad infecciosa de la bursa.

El virus

El virus de la anemia infecciosa de las gallinas (o de las aves), conocido también por CAA (del Inglés Chicken Anemia Agent) o CAV (del Inglés Chicken Anemia Virus)

Volver al índice

pertenece a la familia Circoviridae y desde 1999 al género Gyrovirus, siendo hasta ahora el único agente en el grupo. Antes estaba clasificado dentro del género Circovirus.

Es un virus sin envoltura, estable y muy resistente al ambiente y a los desinfectantes (70°C por 15'). Posee una cadena circular simple de ADN. Todos los virus de anemia que se conocen hasta ahora pertenecen a un mismo serotipo, lo que significa que no hay diferencias antigénicas mayores, aunque puedan existir diferencias en el genoma del virus.

Biología Molecular

El conocimiento de la biología molecular del virus nos ayuda a comprender algunos de los mecanismos de la patogénesis de la enfermedad. El virus por tener un genoma muy pequeño, depende en alto grado de la maquinaria de replicación del ADN de la célula hospedadora. Por eso, el virus replica mucho más y mejor en células de multiplicación rápida. El virus de anemia tiene un genoma de dirección negativa porque transcribe la dirección opuesta de otros virus ADN. Contiene 3 proteínas denominadas VP1, VP2 y VP3: la VP1 – de la cápside, la VP2 que actúa como una plataforma de conformación para la VP1 formando una estructura para la formación de la cápside. La VP1 y la VP2 están involucradas en la respuesta inmune. La VP3 causa la apoptosis de las células del timo.

Epidemiología

El único huésped para el virus de anemia son las gallinas. Está diseminado en todo el mundo, principalmente en los países de producción industrial. El virus ha sido aislado en muchos países, como Japón, Estados Unidos, Brasil, Alemania, Dinamarca, Inglaterra, México, Argentina, Chile, entre otros. En otros países se ha reportado la seroconversión sin aislamiento del virus, como en Colombia, Australia, Nueva Zelanda, Malasia. La seroconversión para anemia es un evento relativamente común, y ha sido encontrada hasta en lotes de aves SPF.

No hay resistencia a la infección, todas las aves y edades son susceptibles, pero la susceptibilidad a la enfermedad disminuye con la edad. Sin embargo las coinfecciones con Marek, Reovirus o Gumboro prolongan el tiempo de la susceptibilidad además de la morbilidad y mortalidad.

El virus puede ser transmitido vertical y horizontalmente y la vía común entrada es por ingestión o inhalación. La transmisión por vía vertical sucede durante 3 – 6 semanas aunque algunos investigadores reportan transmisión hasta 12 semanas. Las reproductoras infectadas en su edad adulta no presentan síntomas clínicos, ni tampoco se observan cambios en la incubabilidad o fertilidad. En estos casos, algunos de los pollitos

contaminados por vía vertical nacerán con pancitopenia y sufrirán la enfermedad clínica entre los 7 y 14 días.

La distribución generalizada del virus podría verse como una ventaja, ya que muchas reproductoras ya presentan anticuerpos antes de entrar en la fase de producción, disminuyendo así la ocurrencia de la forma clínica de la enfermedad. Pero desafortunadamente los anticuerpos maternos no protegen contra las formas subclínicas ni de los resultados de las interacciones con otros agentes.

El porcentaje de aves que transmiten la infección por vía vertical es pequeño, en aves SPF infectadas experimentalmente, el virus fue detectado en apenas 4 – 8% de los pollitos recién nacidos. En todos los experimentos se ha comprobado que la excreción del virus cesa cuando aparecen los anticuerpos circulantes. La transmisión vertical parece ocurrir cuando sucede la postura del huevo y eliminación inmediata o simultánea de heces, pero no parece haber contaminación del huevo ya puesto cuando las heces están ya presentes en el piso o nido. El virus también puede ser transmitido desde los machos a través del semen.

Patogenicidad

Forma clínica

La forma clínica o forma aguda de la enfermedad se presenta entre los 7 y 14 días de edad, los pollitos están deprimidos y la mortalidad puede ser más de 60%, más comúnmente entre 5 y 10%. El pico de mortalidad ocurre entre 17 – 24 días de edad. Puede haber un segundo pico de mortalidad a los 30m –34 días de edad probablemente debido a la transmisión horizontal.

Forma subclínica

La forma subclínica en aves mayores es mucho más común que la clínica. Los anticuerpos maternos permanecen por 2-3 semanas, luego de las cuales las aves se tornan susceptibles a la infección. La infección subclínica lleva a una disminución del rendimiento productivo con las consecuentes pérdidas económicas. Hay varias descripciones de lotes de aves que presentaban serología positiva al sacrificio comparados con lotes negativos. Los resultados de productividad/1000 aves, ganancia de peso y conversión en los lotes positivos muchas veces presentan valores inferiores a los negativos.

Las evidencias experimentales indican que la infección subclínica del CAV resulta en inmunosupresión. Las evidencias indirectas incluyen respuestas inadecuadas a la vacunación como Newcastle, Laringotraqueítis y Marek; mortalidad inicial alta y problemas de Marek en pollitas además de un incremento en la patogenicidad de varios agentes como Marek, Reovirus, Gumboro, Newcastle, Hepatitis por cuerpos de inclusión, *Staphylococcus aureus* y *Cryptosporidium spp.*

Lesiones macroscópicas

Anemia, médula ósea pálida (adiposa), atrofia y palidez variable del timo, bursa y del bazo que dependen de la presencia de otros patógenos. Con frecuencia se ha observado en aves afectadas que las lesiones cutáneas pueden resultar en infecciones bacterianas secundarias y desarrollo de dermatitis gangrenosa. Con esas características, la enfermedad muchas veces ha sido denominada de síndrome anemia-dermatitis, enfermedad de la ala azul, anemia infecciosa y síndrome hemorrágico.

La anemia se caracteriza por valores del hematocrito por debajo de 27. En infecciones experimentales en aves SPF las lesiones más consistentes de la enfermedad fueron el bajo valor del hematocrito, la médula pálida y la atrofia del timo. Otros síntomas como la mortalidad, las hemorragias y la atrofia de la bursa de Fabrícus no se presentaron consistentemente y las lesiones de piel no se presentaron nunca, sugiriendo que dependen de otros agentes patógenos presentes en los brotes de campo.

Lesiones microscópicas

Después de la inoculación experimental las lesiones más comunes son la atrofia de los elementos hematopoiéticos de la médula y depleción severa de los linfocitos en el timo, bazo, y tonsilas cecales, seguida de hiperplasia de las células reticulares. Se ha observado atrofia pasajera o no efecto sobre la bursa.

La cantidad más grande del antígeno de CAV detectada por inmunohistoquímica fue encontrada en el timo, bazo, médula, proventrículo y duodeno ascendente. Estos hallazgos soportan la hipótesis que el virus tiene como sitio de replicación preferencial los hemocitoblastos de la médula y los precursores de los linfocitos en el timo. El resultado entonces es una anemia causada por el efecto citolítico del virus en las células precursoras eritroblásticas de la médula. La destrucción de los trombocitos resulta en alteraciones de la coagulación y en el desarrollo de cuadros hemorrágicos.

El ataque del virus sobre los precursores de las células T durante el desarrollo de la corteza del timo además de la depleción las subpoblaciones de células T ayudadoras (CD4) y citotóxicas (CD8) llevan a la inmunosupresión.

Patogénesis

Basado en inoculaciones de aves SPF de un día de edad sin anticuerpos maternos se observó que siempre hay una viremia rápida y gran afinidad del virus por casi todos los tejidos (timo, bursa, médula ósea, intestino, proventrículo, bazo, corazón, hígado, pulmón, molleja, mucosa nasal, páncreas, cerebro y piel). La distribución cambia con la

cepa del virus. Pueden observarse cuerpos de inclusión intranucleares en todos los tejidos, pero son más frecuentes en los tejidos linfoides. En ningún tejido se encontró virus después del día 26 post-inoculación.

Timo: hay una disminución linfocitaria de la corteza con núcleos cariomegálicos e inclusiones nucleares a los 5 a 6 días post-infección. A los 7-8 días la disminución de los linfocitos corticales es severa y después entre - 9 y 16 días - la corteza y la médula del timo se asemejan. A partir de los 18 a 20 días se observó la recuperación del timo. Algunos autores encontraron la disminución máxima de los linfocitos a las 2 semanas de edad al tiempo que se detectó una gran cantidad de VP3 usando anticuerpos monoclonales.

Médula ósea: a los 4 a 5 días hay alteración y inclusiones de los hemocitoblastos. A los 10 – 16 días una disminución severa de los eritrocitos y mielocitos. La recuperación se inicia a los 20-28 días con la aparición de muchas células inmaduras, continuando hasta la recuperación total a los 28-31 días.

Otros órganos como el bazo la disminución linfocitaria se presenta entre 10 y 14 días y la recuperación a los 16 días. En la bursa de Fabricius los virus estaban presentes entre 7 y 12 días. Entre 14 y 16 días los folículos se presentan pequeños con pocos linfocitos y gran cantidad de tejido ínter folicular, pero sin la presencia del virus.

El virus inoculado en aves de más de 6 semanas de edad puede ser encontrado en varios órganos. Es muy difícil el aislamiento del virus después de 2 semanas de infección. Después de la atrofia natural del timo es más difícil encontrar el virus o lesiones. Aves bursectomizadas pueden sufrir de la forma clínica por más tiempo.

La apoptina o VP3, la proteína que estimula la apoptosis en las células infectadas por CAV tiene una composición similar a los productos celulares que estimulan la muerte programada.

Otros efectos observados complementan los mecanismos inmunosupresores de la enfermedad:

- La muerte de células CD4. Estas células son necesarias para que el linfocito ayudador reconozca a un antígeno durante las fases iniciales de la respuesta inmune.
- El virus de anemia también tiene una actividad sobre los macrófagos disminuyendo la producción de IL-1, la expresión del receptor Fc, la capacidad fagocítica y se ha observado reducción la actividad antibacteriana.
- La infección con el virus de anemia resulta en la disminución de la producción de linfoquinas, reduciéndose la producción del factor de crecimiento de las células T, del interferón y de la transformación de los linfocitos.

- En las infecciones experimentales con CAV en aves de más edad se ha observado un efecto negativo en el factor de crecimiento de linfocitos T, en el interferón, la IL-1, la actividad antimicrobiana y fagocitosis de los macrófagos. Eso indica que las aves pueden infectarse y padecer inmunodepresión.

Diagnóstico

El diagnóstico presuntivo puede hacerse por los síntomas clínicos y lesiones. El diagnóstico definitivo involucra el aislamiento del virus o la demostración de la presencia de antígenos o de ácido nucleico del CAV. El aislamiento puede ser hecho en líneas celulares como MDCC o MSB1 o en aves SPF. La demostración de la presencia del virus puede hacerse a través de cortes histológicos y técnicas inmunohistoquímicas o PCR.

Serología

La serología es importante para garantizar la positividad de las reproductoras antes del inicio de la producción de huevos. La técnica más sencilla es la de ELISA y hay diversas pruebas comerciales disponibles. La interpretación entre ellos es distinta dependiendo de los detalles internos de la prueba. Es importante verificar la interpretación, pues en algunas pruebas (Idexx) la negatividad de la lectura significa presencia de anticuerpos ya que la prueba esta basada en un ensayo competitivo.

Es recomendable verificar el nivel de positividad de las aves a las 12 semanas de edad. Si el número de aves positivas estuviera cerca de los 90% o más, entonces podremos creer que los riesgos son bajos para la transmisión del CAV. Cuando el número de muestras positivas esté debajo de 90% la recomendación es de vacunar todo el lote para garantizar una buena uniformidad del mismo.

Control

- Desinfección – el desinfectante de elección es el hipoclorito y en menor medida las iodinas.
- El virus es completamente inactivado a 100°C por 10 minutos.
- Debe tenerse seguridad de que las parvadas de reproductoras sean seropositivas antes del inicio de postura para evitar la transmisión vertical y garantizar la protección durante las primeras 2 a 3 semanas de vida.
- La seroconversión puede ser conseguida por la infección natural o vacunación con vacunas vivas.
- Existen dos vacunas disponibles en el mercado, son: vacuna propagada en embriones de pollo aplicada vía agua de bebida entre 13 y 15 semanas de edad. La otra vacuna es una vacuna atenuada que debe ser aplicada por vía parenteral (IM, SC o pliegue del ala). No hay hasta el momento vacunas inactivadas en el mercado.

- No existen en el momento productos ni programas de vacunación para las aves comerciales (broilers y ponedoras).
- Incrementar manejo de higiene y control de otras enfermedades es fundamental para disminuir los factores de riesgo de la enfermedad subclínica.
- Debe tenerse especial control de otras enfermedades inmunosupresoras

Interacción Anemia - Gumboro

En el estudio de cualquier enfermedad, tanto en el desarrollo de pruebas controladas como en las observaciones de campo, con frecuencia se obtienen resultados conflictivos y hasta contradictorios. Esto es una indicación clara de que no todos los factores involucrados habían sido identificados. Este tipo de situación a sido notable en el caso de la anemia infecciosa. Uno de estos factores resulta ser la respuesta modificada del hospedero debido a la presencia de infecciones mixtas

Actualmente tenemos mejor conocimiento de la interacción de los virus de anemia y de Gumboro. En general, existe una potenciación del efecto de las dos enfermedades por separado, pudiendo causar muchas veces confusión en el diagnóstico, tanto de campo como de laboratorio.

Rosemberg et al. compararon la aparición de anemia (hematocrito y palidez de la médula ósea) en aves comerciales inoculadas con cada uno de los virus por separado, o con los dos virus. Se observó que el virus de Gumboro hace que las aves sean más susceptibles a la presentación de anemia, y que este signo persista por mayor tiempo. Aparentemente la infección con el virus de Gumboro disminuye la capacidad de las aves para montar una respuesta serológica que limite la presentación clínica de anemia. El resultado es que las aves son más susceptibles a desarrollar anemia infecciosa clínica a edades en que normales serían resistentes y aquellas aves que enferman tienen menor capacidad de recuperarse.

El resultado de la interacción se ve más profundo cuando se analiza el efecto que cada uno de los virus, o los dos en forma simultánea tienen sobre los elementos del sistema inmune. Cloud et al. Estudiaron compararon los efectos sobre las concentraciones de diferentes subpoblaciones de linfocitos y sobre los órganos linfoides. Según este reporte, el virus de anemia causó una severa reducción del tamaño del timo y aplasia de la médula ósea, a tiempo que el efecto sobre la bursa es leve y transitorio y sucede solamente durante la fase de anemia. El virus de Gumboro no causó depresión del tamaño del timo, pero si de la bursa. Las aves inoculadas con ambos virus mostraron reducción del timo y de la bursa.

La inoculación de los dos virus resultó en reducción notable en las poblaciones de linfocitos T y de macrófagos en timo y bazo, siendo esta mayor que en las aves inoculadas solamente con virus de anemia. Las alteraciones de las subpoblaciones de linfocitos tienden a compensarse y recuperarse en las aves inoculadas con anemia en el

periodo de 21 a 35 días post infección, pero se retrasan por una o dos semanas más si las aves han sido también infectadas con Gumboro. Se sabe bien que tanto el virus de anemia como el virus de Gumboro estimulan la apoptosis de las células linfoides.

El mismo grupo de investigadores estudio la funcionalidad de varias de las poblaciones de linfocitos, encontrando que la infección dual resulta en una mayor reducción en la capacidad de respuesta de los linfocitos T . Para correlacionar estos cambios con la efectividad de las respuestas humoral y celular, grupos de aves fueron sometidos a vacunaciones y desafíos con virus de Newcastle, viruela y Laringotraqueítis.

Tabla 1. Evaluación de la respuesta inmune in vivo a los virus de Newcastle, viruela y Laringotraqueítis, a las dos semanas de edad en aves que fueron infectadas con anemia y/o Gumboro al día 1 de edad.						
Porcentaje de protección al desafío						
Grupo	Virus de desafío					
	Newcastle		Viruela Aviar		Laringotraqueítis	
	No vacunado	Vacunado	No Vacunado	Vacunado	No Vacunado	Vacunado (cultivo celular)
Control	0 %	100 %	0 %	100 %	0 %	53 %
Anemia	0	85	0	100	0	7
Gumboro	0	60	0	100	0	46
Anemia + Gumboro	0	33	0*	87*	0	71

* Lesión persistente de la vacuna de viruela

Tabla 2. Respuesta serológica a las 4 semanas de edad en aves vacunadas con virus de Newcastle a las 2 semanas de edad, luego de ser infectadas con anemia y / o Gumboro al día 1 de edad.		
Grupo	Promedio Geométrico	
	ELISA	HI
Control	9856	92
Anemia	7484	89
Gumboro	318	40
Anemia + Gumboro	285	20

Los resultados obtenidos indican un efecto sinérgico de los virus de anemia infecciosa y de Gumboro sobre la función del sistema inmune, correspondiendo con las observaciones in vitro sobre la funcionalidad alterada de las diferentes poblaciones de linfocitos. El reporte indica que el aumento en la resistencia a Laringotraqueítis no puede ser explicado claramente ya que los mecanismos de protección de esta enfermedad no se conocen claramente.

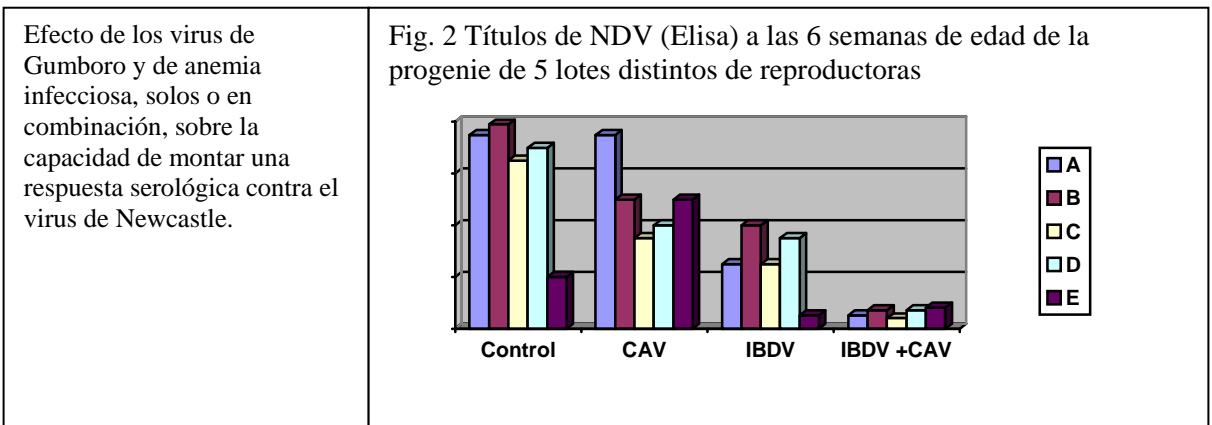
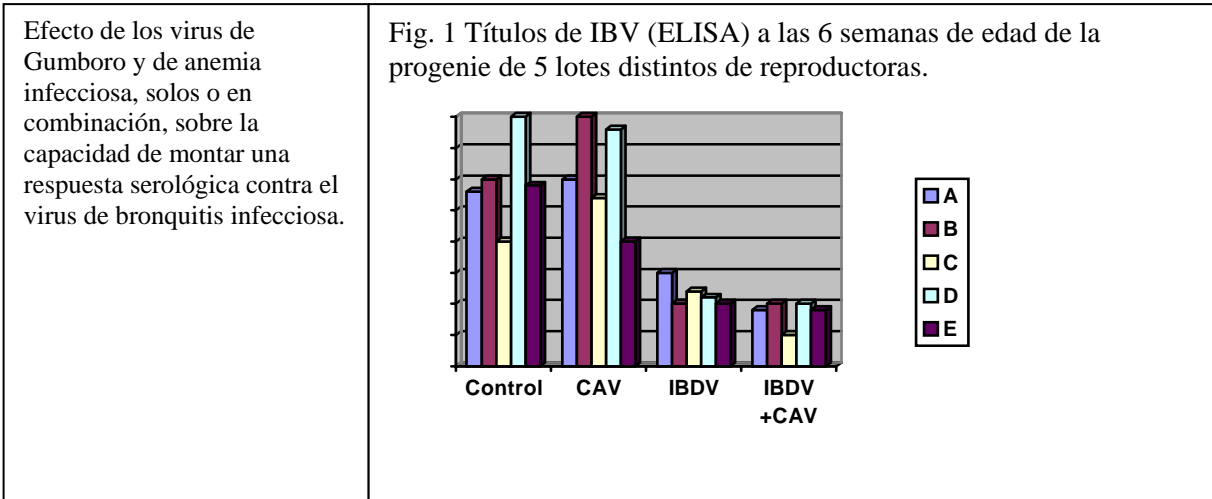
En condiciones normales, las aves que sufren la forma clínica de anemia infecciosa el valor normal del hematocrito entre 14 a 21 días post-infección. Sin embargo, la capacidad e integridad del sistema inmune tardará todavía más tiempo en recuperarse.

Bounous et al. estudiaron la composición de la población linfocitaria en aves infectadas durante el período de 6 semanas post-infección, encontrando que la disfunción linfoide se debe a una reducción constante desde el día 4 al día 18 post infección, y que se presenta

una disminución constante de los linfocitos T, tanto de células ayudadoras, citotóxicas y de las células asesinas naturales. Adicionalmente observaron que aunque los valores de hematocrito ya habían vuelto a la normalidad a los 18 días post infección, la distribución y funcionalidad de los linfocitos continuaba alterada aún más allá de los 25 días post-infección.

Es de esperarse entonces que cualquier otra enfermedad infecciosa a que las aves se vean expuestas será potenciada durante este periodo.

En condiciones ideales, las aves se hacen resistentes a la forma clínica de anemia luego de las 3-4 semanas de edad. Sin embargo, la coinfección con el virus de Gumboro resulta en aves inmunodeprimidas. Estas aves pueden presentar la forma clínica de la enfermedad de anemia hasta a una edad superior a las 4 semanas debido a un retraso en la inmunocompetencia al CAV que aparece con la edad.



La evidencia experimental indica que la infección mixta con virus de Gumboro y de anemia resulta en un aumento de mortalidad, de manera que al comportamiento de un virus de Gumboro aún de virulencia intermedia, podría ser interpretado como virus de

alta virulencia debido a la interacción. Algunos diagnósticos de Gumboro virulento pueden ser debidos a una coinfección con el CAV.

El diagnóstico de la interacción se hace de importancia fundamental para no incurrir en errores de programas de control o falsas alarmas de la presencia de virus virulento. (Figuras 1 y 2 , tablas 1 y 2).

Otras enfermedades en las que se ha podido demostrar un papel importante de la interacción con la anemia infecciosa son: la enfermedad de Marek, reovirus, necrosis de la cabeza del fémur, complicaciones postvacunales por Newcastle y bronquitis.

En condiciones normales de campo las aves estarán expuestas a múltiples agentes infecciosos. En todos los casos la presentación de enfermedad y el impacto económico dependerán de las múltiples interacciones entre los agentes infecciosos y/o inmunosupresores. Debemos incorporar estos elementos en la aproximación a un diagnóstico. Todas las herramientas epidemiológicas de control tanto de Gumboro como de anemia infecciosa deben incluirse en el programa sanitario de una compañía avícola.

Bibliografía Consultada

- Brentano, L Anemia infecciosa das galinhas. In: Doenças das Aves, 1ª ed; A Berchieri; M. Macari., FACTA; 2000; p. 338 –350.
- Brentano, L. et alii. Isolation and Identification of Chicken Infectious Anaemia Virus in Brazil. Avian Diseases; 1991; 35:793-800
- Bounous, Denise et al. Immunosuppression and intracelular Calcium signaling in spenocytes from chickens infected with chicken anaemia virus, aislamiento CL-1. Avian Diseases 39 (1995): 135-140
- Bülow, V. Infectious Anaemia. LAH Scientific Information; 1998.
- Bülow, V. Schat K.A. Infectious anaemia. In: Diseases of Poultry, 10th ed. BW Calnek, HJ Barnes, CW Beard, WM Reid, HW Yoder editors; 1997; p. 690-699.
- Buscaglia, Celina et al. Identification of chicken anaemia, isolation of the virus and reproduction of the disease in Argentina. Avian Pathology 23 (1994), 297 – 304
- Cloud, S.S., J.J. Rosemberger and H.S. Lillehoj. Immune dysfunction following infection with chicken anaemia agent and infectious bursal disease virus. II Alterations of invitro lymphoproliferation and in vivo immune responses. Veterinary Immunology and Immunopathology. 34 (1992) 353-366
- Cloud, S.S., H.S. Lillehoj and J.J. Rosemberger. Immune dysfunction following infection with chicken anaemia agent and infectious bursal disease virus. I - Kinetic alterations of avian lymphocyte subpopulations. Veterinary Immunology and Immunopathology. 34 (1992) 337 – 352
- De Boer, G.F. et al. Interaction between Chicken anaemia virus and live newcastle disease vaccine. Avian Pathology 23 (1994): 263 – 275

- Hoerr, F J. Et al. Chicken Anemia Virus: Diagnostic Insights. In: Proceedings of a Poultry Health Seminar, International Poultry Exposition. Atlanta, Georgia, 2000.
- McConnel, C.D.G., et alii. Effects of Chicken Anemia Virus on Macrophage function in chickens. Avian Diseases. 1993; 37: 358-365
- McNamee, Perpeta et al. Development of an experimental model of bacterial chondronecrosis with osteomyelitis in broilers following exposure to Staphilococcus aureus by aerosol, and inoculation with CAA and IBDV, Avian Pathology 28 (1999), 26 – 35
- McNeilly, F et al. Synergism between CAV and avian reovirus following dual infection of 1 day old chicks by a natural route. Avian Diseases 39 (1995), 532 – 537
- Rosales, G. Infectious Chicken Anemia. Broiler Industry, November 1996.
- Rosenberger, J.K. Agente de la anemia infecciosa de los pollos (CAA), Vineland Update 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. 1989; 33:753-759
- Rosemberger, J. K. and Sandra Cloud. The isolation and Characterization of chicken anemia agent (CAA) from broilers in the United States. Avian Diseases, 33: 707 – 713
- Todd, D. Circoviruses: immunosuppressive threats to avian species: a review. Avian Pathology; 2000; 29: 373-394