

REDVET Rev. electrón. vet. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> -<http://revista.veterinaria.org>
Vol. 11, Nº 12 Diciembre/2010– <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n121210.html>

Síndrome de Mala Absorción en aves - Malabsorption syndrome in poultry)

Bustamante García, Daymara: Instituto de Ciencia Animal (ICA). Carretera Central km 47½, Apartado 24, San José de las Lajas, La Habana, Cuba. dbgarcia@ica.co.cu | **Chavez Colas, Manuel:** Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Aviar (LIDA). Código Postal: 19920. Ciudad de la Habana. Cuba.e-mail: genetica.avicolas@sih.cu

Resumen

La industria avícola sufre pérdidas económicas anuales por Síndrome de Mala Absorción en casi todos los países del mundo. Es una entidad multifactorial, típica de aves jóvenes, ocasionada por diferentes agentes infecciosos (virus, bacterias, protozoarios), micotoxinas y otros factores ambientales. El reovirus es el microorganismo que se reporta con mayor frecuencia asociado a este. Desde el punto de vista clínico se caracteriza por: postración, cojeras, diarreas, baja ganancia de peso vivo, emplume deficiente y retraso del crecimiento. Dentro de las principales lesiones anatomopatológicas macroscópicas se encuentran, la necrosis de la epífisis superior de la cabeza del fémur, fragilidad ósea, enteritis, atrofia del páncreas, proventriculitis, atrofia del timo y de la bolsa de Fabricio y microscópicamente se observan alteraciones en el disco epifisiario y en la metáfisis proximal del fémur con infiltración linfocitaria perivascular, la cual está presente en otros órganos de interés; además se caracteriza por la presencia de atrofia de las vellosidades del intestino delgado y necrosis focal hepática. El diagnóstico está dado por las manifestaciones clínicas, lesiones anatomopatológicas y los elementos epidemiológicos, también se apoya en el uso de técnicas moleculares y convencionales para demostrar los agentes infecciosos asociados. En diferentes países, existen varias vacunas para el control de los reovirus, sin embargo estas no confieren una protección total a la población de aves, no obstante existen prácticas de manejo y medidas de bioseguridad, encaminadas a minimizar las pérdidas por este síndrome.

Palabras claves: mala absorción | síndrome | reovirus aviar

Abstract

Objetivo is to provide current scientific information on malabsorption syndrome. Poultry industry suffers significant economic losses annually for malabsorption syndrome in many countries. Multifactorial disease, typical of young birds, caused by different infectious agents such as viruses, bacteria, mycotoxins and other environmental factors. Reovirus is the organism that is reported more frequently associated with this. From the clinical point of view is characterized by prostration, lameness, diarrhea, poor weight gain, poor feathering and growth retardation. Among the main gross pathological lesions were found, necrosis of the upper epiphysis of the femoral head, bone fragility, enteritis, pancreatic atrophy, proventriculitis, atrophy of the thymus and bursa of Fabricius and microscopic changes are seen on the disk epiphyseal and metaphyseal proximal femur with perivascular lymphocytic infiltration, which is present in other organs of interest, further characterized by the presence of atrophy of the villi of the small intestine and focal hepatic necrosis. The diagnosis is made on clinical, pathological lesions and epidemiological factors, also relies on the use of molecular and conventional techniques to demonstrate the associated infectious agents. In different countries, there are several vaccines for the control of reovirus, but these do not confer complete protection to the bird population, however there are management practices and biosecurity measures, designed to minimize losses by this syndrome.

Keywords: malabsorption | syndrome | avian reovirus

Introducción

Una de las enfermedades, que da lugar a una variedad de condiciones agravantes en pollos afectados, es la denominada Síndrome de Mala Absorción (SMA) (Songserm *et al.* 2000). Este síndrome se reportó por primera vez en 1940 (Robertson *et al.* 1949), pero fue en 1970 donde hubo un mayor número de casos reportados (Kouwenhoven *et al.* 1986). En los últimos años se han realizado varios estudios de campo que demuestran la frecuencia de aislados de cepas de reovirus en diferentes países: Europa, EE.UU, Argentina, Emiratos Árabe, África del Sur, Filipinas e Indonesia (Van De Zande y Lin, 2005). En Cuba, Moreno y Ruiz (1983) reportaron el síndrome en líneas pesadas, mientras que Rodríguez *et al.* (1988) realizaron el estudio de un brote en aves de reemplazo ponedoras de la raza *White Leghorn*. Otros autores también refieren importantes resultados epidemiológicos hasta moleculares (Fraga *et al.* 1982, Ibañez *et al.* 1983, Boado *et al.* 1991 y Alfonso *et al.* 2000).

Según Márquez (2007) este síndrome ha sido descrito, teniendo en consideración los signos clínicos y hallazgos patológicos con otras sinonimias, tales como: Enfermedad del "Pollo Helicóptero", "Enanismo Infeccioso", "Síndrome de los Pollos Pálidos", "Proventriculitis Infecciosa", "Pancreatitis Infecciosa", "Necrosis de la Cabeza del Fémur", Enfermedad del "Hueso Quebradizo" y Osteoporosis.

Dentro de los principales factores que influyen en el SMA se encuentran: los genéticos, los nutricionales, el manejo inadecuado, el estrés ambiental, la presencia de micotoxinas y los agentes microbianos. El microorganismo que ha sido aislado con más frecuencia es el reovirus (Rebel *et al.* 2004).

Históricamente, el reovirus ha sido relacionado directamente con problemas locomotores (Artritis viral o Tendosinovitis) y esta relacionado en forma secundaria o directa con problemas de mala absorción de los nutrientes (Anon, 2006 y Ríos, 2009).

Rosales (1999), reafirma que el factor genético es fundamental, ya que aves de las líneas pesadas, el reovirus juega un papel importante cuando se multiplica a nivel del tracto intestinal provocando lesiones en el epitelio de la mucosa intestinal y resultando con problemas de mala absorción o mala digestión de los nutrientes, asociados a problemas de "tránsito rápido", así como los trastornos locomotores. Sin embargo, en las aves de la línea ligera el comportamiento es diferente, debido a que fenotípicamente se caracterizan por baja talla y peso vivo; por lo tanto, el efecto sobre las articulaciones y el tracto intestinal es mínimo.

El SMA en pollos de ceba se caracteriza por retardo del crecimiento (Rebel *et al.* 2006). Otras de las principales manifestaciones clínicas son: la falta de pigmentación en los tarsos, plumas roídas y piensos sin digerir en las heces. La diarrea es común durante las fases iniciales (Merck, 2008). Songserm *et al.* (2000) señalan que las principales lesiones se encuentran en la mucosa del intestino delgado y se caracterizan por la formación de quistes en las criptas de Lieberkühn y atrofia de las vellosidades intestinales. En casos de campo, se han reportado lesiones pancreáticas y proventriculares (Sinclair *et al.* 1984), sin embargo, estas lesiones rara vez son detectadas en forma experimental (Songserm *et al.* 2002).

El diagnóstico se realiza basado en el estudio epidemiológico de la unidad, manifestaciones clínicas y lesiones anatomopatológicas de las aves afectadas, evaluación serológica. Actualmente las técnicas moleculares tienen gran importancia en el diagnóstico confirmativo de los reovirus (Van Loon, 2005)

Para el control de la enfermedad se deben cumplir las medidas de bioseguridad, el correcto manejo de las aves para evitar los episodios recurrentes (McMullin, 2004).

Objetivo

El objetivo de esta revisión bibliográfica es ofrecer información científica actualizada sobre el Síndrome de Mala Absorción.

Etiología

El reovirus aviar es un virus perteneciente a la familia *Reoviridae*, género *Orthoreovirus* (Benavente y Martínez-Costas, 2007). Estos son de tamaño mediano (75-76 nm de diámetro) y carecen de envoltura. El virión posee dos cápsides concéntricas icosaédrico que contienen 92 capsómeros huecos. Tiene una composición de 15% de ARN y 85% de proteína. El genoma de doble cadena de ARN está formado por 12 segmentos discontinuos y 9 proteínas estructurales (Gouvea y Schnitzer, 1982).

Durante la replicación viral, la hemaglutinina del virus es la proteína responsable de la adhesión a los receptores específicos. Posterior a la adhesión el virus pierde su cubierta. Luego activa la ARN transcriptasa. Por último el virus transcribe, corona y expulsa el ARNm, para dar lugar a la formación de cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos (Van der Heide, 2000).

El virus es resistente al cloroformo, pH ácido, la tripsina y desoxicolato de sodio. Además es relativamente resistente a la inactivación por calor y a los desinfectantes, aunque autores plantean que pueden ser inactivados por soluciones yodadas y etanol al 70%. A diferencia de los reovirus que afectan a los mamíferos, las cepas aviares no son hemaglutinantes (Mathews, 1982).

Epidemiología

El comportamiento de la morbilidad por el SMA puede alcanzar hasta el 20 por ciento, aunque generalmente es menor, pero el inconveniente está en que es constante. La mortalidad es baja y ocurre como consecuencia de estrés tales como: competencia por el agua, alimento y espacio vital (Márquez, 2007).

Este síndrome ha sido calificado como una enfermedad multifactorial debido a que síndromes idénticos no pudieron ser reproducidos satisfactoriamente,

utilizando solamente un factor o agente procedente de pollos afectados (Rebel *et al.* 2006).

Algunos investigadores, señalan que el síndrome no es específico para una enfermedad en especial. Mientras otros autores destacan que es una enfermedad infecciosa, debido a que tiene una naturaleza transmisible. La causa del SMA está asociada principalmente con desordenes metabólicos en el intestino. A pesar de muchos esfuerzos para determinar la causa de este síndrome, no está todavía esclarecida, ya que algunos virus (adenovirus, enterovirus, rotavirus, parvovirus y togavirus) y determinadas bacterias (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus cohnii*, *Clostridium perfringens*, *Bacteroides fragilis* y *Bacillus licheniformis*) fueron involucrados (Shirai *et al.* 1990 y Songserm *et al.* 2003). La virulencia de estos virus puede ser altamente variable, especialmente los reovirus que tienen diferentes cadenas y serotipos (Kant *et al.* 2003).

Montgomery *et al.* (1997) señala que la neutralización de los reovirus a partir de homogenizados infecciosos o la aplicación de vacunas a las reproductoras, no reducen la severidad del SMA.

En estudio serológico realizados reciente por Urdaneta-Vargas *et al.* (2007), con el fin de conocer los anticuerpos contra reovirus transferidos a la progenie (maternales), en diferentes edades (1, 7 y 14 días potvacunación), de reproductoras que recibieron 4 inmunizaciones con dos vacunas vivas y dos inactivadas. Revelaron anticuerpos maternales en el 100% de los pollitos al día de edad (título promedio: 3.648); 97,7% a los 7 días de edad (título promedio: 2.540) y un 77,7% a los 14 días de edad (título promedio: 1.502). Detectándose anticuerpos séricos promedio en estas edades, de 2.382 contra reovirus en un 82,4% (244/295) del total de las aves analizadas.

Transmisión

El reovirus aviar ha sido considerado como un patógeno entérico fundamentalmente. La principal vía de transmisión es la oral, mediante el consumo de alimentos contaminados con heces fecales (Ríos, 2009). En general, se ha declarado que las cepas no son sensibles a la tripsina y por lo tanto, son capaces de resistir las condiciones del intestino. Sin embargo, recientemente se reveló que algunas de estas cepas son sensibles a la tripsina y que la supervivencia entérica es muy corta (Al-Muffarej *et al.* 1996). La transmisión transovárica se produce a un ritmo bajo (2%). En un estudio realizado por Savage y Jones, (1996), reveló que siete de las 21 cepas estudiadas (incluidas las cepas vacunales comunes) resultaron ser sensibles a esta enzima. Otros de los resultados fueron: 1) la sensibilidad a la tripsina se

vincula a la de la amilasa, 2) la transmisión transovárica de una cepa sensible se produjo a un ritmo mucho menor que el de una cepa resistente y 3) después de la inoculación oral en pollos libres de patógenos, con altas dosis de virus sensible, el virus resistente a la tripsina se excretó durante 7 días. El fenómeno de la sensibilidad a la tripsina, implica diferente patogénesis de la infección, por lo que es tema de estudio continuado.

Las aves seronegativas son susceptibles a la infección a cualquier edad, sin embargo, la reproducción exitosa de cuadro clínico - patológico requiere de inoculación de aves muy jóvenes. Las infecciones recurrentes permiten la diseminación del virus. La infección natural en aves adultas a menudo ocurre a través de heridas en las patas, por lo que es importante mantener condiciones de tenencia adecuadas (cama/yacija). La madurez de los órganos del sistema inmune, juegan un rol en la severidad de los signos clínicos, de manera que mientras más joven sea el ave, mayores serán los daños ocasionados (Ríos, 2009).

El período de incubación depende de la cepa viral y de la edad de los pollos. En pollitos de 1 día ocurre rápido, debido a la pobre respuesta de anticuerpos. Sin embargo, cuando se inocula por el cojinete plantar en aves de dos semanas de edad, dura alrededor de 24 horas, en cambio cuando es inoculado por vía intramuscular o endovenosa transcurre durante 11 días (Van der Heide, 2000).

Patogénesis

La actual patogénesis de SMA relacionado con los daños de la mucosa intestinal no está dilucidada. Algunos autores sugieren que la necrosis del epitelio de la cripta se debe a la asociación de virus y bacterias (Frazier y Reece, 1990).

Songserm *et al.* (2000) plantea que el yeyuno es la porción media del intestino delgado más afectada. Los pollos afectados en la fase aguda presentan enteritis con dilatación y deformación quística de las criptas de Lieberkhum, atrofia de las vellosidades intestinales e hipertrofia de las células caliciformes. En la fase crónica, se observa degeneración y decamación de las células de las criptas, resultando en aplanamiento del epitelio de las mismas y formación de grandes quistes. La atrofia de las vellosidades es más pronunciada cuando los quistes son más grandes.

La atrofia de las vellosidades puede deberse a un aumento en la apoptosis de las células del epitelio intestinal o la inhibición de la proliferación celular. Fisiológicamente, la mucosa intestinal se mantiene gracias a la renovación

periódica de la superficie del epitelio por la proliferación de las células madre en la base de las criptas, la migración de estas células de la punta de las vellosidades, y luego se produce la apoptosis fisiológica (Mayhew *et al.* 1999). El desorden en el mantenimiento de la integridad del intestino juega un papel importante en la patogénesis de las lesiones de la mucosa del intestino delgado en el SMA.

Zekarias *et al.* (2005) observaron degeneración vacuolar y apoptosis de las células epiteliales de las vellosidades en pollos al primer día post inoculación con reovirus, acompañada de hiperplasia de las criptas e infiltración de heterófilos. Además, se observó dilatación quística de las criptas y atrofia de las vellosidades. La infiltración de heterófilos puede ser beneficiosa en la respuesta inmune del ave, aunque la acumulación de estas células en los tejidos puede inducir lesiones en los mismos (Madara *et al.* 1991 y Harmon, 1998). El papel exacto de los heterófilos en la patogénesis de la apoptosis epitelial, no es esta clara. La severidad del SMA fue correlacionada con la gravedad de las lesiones en el yeyuno y el nivel de infiltración por heterófilos.

Varios autores señalan alteraciones en la digestión enzimática del intestino delgado, debido a disturbios en la función exocrina del páncreas, como factor primario en la patogénesis del SMA (Sinclair *et al.* 1984, Szabo *et al.* 1989). La reducción en la actividad enzimática de la lipasa, tripsina, glutamiltransferasa, amilasa, quimotripsina y otras enzimas, fueron reportadas en pollos afectados por el SMA (Mazurkiewicz *et al.* 1993). Está demostrado que un aumento en la fosfatasa alcalina plasmática fue considerado como característica clínico - patológica temprano en este síndrome. Las alteraciones de las enzimas digestivas puede ser un efecto secundario de las lesiones intestinales, más que un factor primario en la patogénesis. No obstante, se considera que la patogénesis del SMA varía entre los brotes, dependiendo de los agentes infecciosos involucrados (Kouwenhoven *et al.* 1988).

Manifestaciones clínicas

Generalmente se presentan en aves de tres a cuatro semanas de edad, entre un 5-10% de la población, presentando diversos grados de cojera (figura 1B). Las aves afectadas presentan inflamación de la articulación del corvejón, parálisis de las extremidades y adoptan la posición de "bailarina" cuando esta es bilateral (Kouwenhoven *et al.* 1978).

En todos los casos se observa un retardo del crecimiento, postración (figura 1A), palidez de las mucosas y apéndices de la cabeza (figura 1B), deficiencias en la pigmentación de los tarsos, emplume anormal (pollos helicópteros), diarrea (figura 1C), coprofagia y distensión abdominal (McMullin, 2004).



Figura 1. Pollitas de reemplazo de ponedoras. A. Postración. B. Retardo del crecimiento, cojera y plumas erizadas. C. Diarreas. Cortesía de Laboratorio de Investigaciones y Diagnóstico Aviar. Instituto de Investigaciones Avícolas.

Lesiones anatomopatológicas

Macroscópicas

Márquez (2007) refiere que las principales lesiones macroscópicas evidenciadas en casos con SMA, son: la fragilidad ósea, el desprendimiento y la necrosis de la epífisis superior del fémur (figura 2) y en ocasiones se acompañan de raquitismo y encefalomalacia.

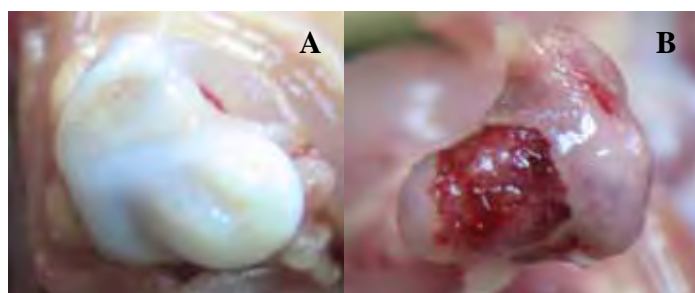


Figura 2. Epífisis superior del fémur en reemplazo de ponedora. **A.** Sin alteraciones aparentes. **B.** Desprendimiento y Necrosis. Cortesía de Laboratorio de Investigaciones y Diagnóstico Aviar. Instituto de Investigaciones Avícolas.

En casos leves, se ha demostrado, inflamación del gastrocnemio y del tendón flexor, mientras en estadios avanzados se presenta ruptura del gastrocnemio, y alteraciones del sistema digestivo tales como: proventriculitis, enteritis, pancreatitis y atrofia del páncreas. En los intestinos se observa alimento sin

digerir, o bien llenos de agua, decamación de la mucosa intestinal (Van der Heide, 1983).

Las lesiones en la mucosa del tracto gastrointestinal impiden la correcta absorción de vitaminas, calcio, fósforo y aminoácidos esenciales (Van der Heide, 1980).

Nili *et al.* (2007) refieren que en ocasiones se puede observar hipertrofia ventricular, atrofia del timo y de la bolsa de Fabricio.

Recientemente, se han reportado lesiones en el sistema nervioso central, en aves infectadas de forma experimental con el reovirus (Van De Zande y Kühn, 2007).

Microscópicas

Márquez (2007) señala que dentro de los principales daños microscópicos, la infiltración linfocitaria perivascular en proventrículo, páncreas y miocardio. En pollos afectados, se observan metaplasias del epitelio de las criptas de Lieberkühn de simple cúbico a simple-columnar, que se caracteriza además por infiltración fibroblastos y de las células inflamatorias mononucleares (monocitos y linfocitos), y restos celulares (heterófilos) y atrofia de las vellosidades, con pérdida de las criptas que existen entre ellas y fusión de las mismas. En la lámina propia y el tejido conectivo subepitelial se aprecia también una marcada infiltración de células inflamatorias mononucleares, macrófagos y células plasmáticas (Nili *et al.* 2007).

Es necesario tener en consideración, que en los desafíos por reovirus en condiciones de producción, la infiltración linfocitaria no debe considerarse como un signo patognomónico de SMA (Montgomery *et al.* 1997).

En las aves que presentan lesiones del sistema locomotor, se observan un gran número de linfocitos, heterófilos y algunas bacterias. Además se observa degeneración, vacuolización y formación de lagunas ósea en la zona de reposo de la placa de crecimiento (Anon, 2010).

Nili *et al.* (2007) en exámenes histológicos realizados en el proventrículo, observaron dilatación de los acinos glandulares. Mientras que en el páncreas los cambios se caracterizaron por: degeneración, vacuolización, pérdida de los gránulos de zimógeno de las células acinar y fibrosis. Además se apreció atrofia, depleción linfocitaria y dilatación quística del epitelio de la bolsa de Fabricio.

En estudios realizados recientemente por De Herdt *et al.* (2008) observaron poliserositis bacteriana, necrosis focal hepática y respuesta inflamatoria en hígado y músculo cardíaco, estas últimas se caracterizaron por la infiltración de linfocitos y heterófilos, respectivamente.

Diagnóstico

De Hert *et al.* (2008) plantean que para realizar un diagnóstico certero se tienen que utilizar técnicas apropiadas, como son: virológicas, moleculares, bacteriológicas e histopatológicas. Para el diagnóstico se tiene en consideración los siguientes aspectos:

a) Epidemiológico, clínico anatomopatológico.

Ibáñez *et al.* (1983) y Rodríguez *et al.* (1988) señalan que los indicadores epidemiológicos y los hallazgos clínico-patológicos permiten emitir un diagnóstico presuntivo.

b) Diagnóstico directo de los principales agentes asociados al SMA.

1. Aislamiento viral

Existen diferentes técnicas para el aislamiento de reovirus, que van desde técnicas convencionales (embrión de pollos y cultivos celulares) hasta las técnicas moleculares (Van Loon, 2005).

Van der Heide (1996) reporta el aislamiento viral, en huevos embrionados a partir de saco vitelino entre 5-7 días y en la membrana corioalantoidea de 9-11 días. Para la multiplicación viral, se utilizan cultivos primarios de células de embrión de pollo (fibroblastos, hígado y riñón) y el efecto citopático, se caracteriza por la formación de sincitios (24 - 48 horas post-infección) con prominentes inclusiones citoplasmáticas.

Van Loon (2005) describe los efectos citopáticos observados en cultivos celulares a partir de muestras individuales de intestino y/o hígado de pollos afectados. Primero se homogenizan los órganos individualmente en un homogeneizador usando perlas de vidrio (2 mm) y PBS con antibióticos, a velocidad máxima durante 20 min. A continuación, se centrifugan los tejidos homogeneizados. Se centrifuga el homogenado de intestino a 4000 rpm y el del hígado a 1200 rpm, ambos durante 15 min. Se filtran los sobrenadantes presando a través de filtros con un tamaño de poro decreciente (5, 1,2, 0,45, 0,2 μ M). Se añaden 100 μ L de suspensión que pasan a través del filtro de 0,2 μ M a células primarias de hígado de embrión de pollo (CHE) recién preparado,

presente en matraces de cultivo de tejidos. A los 4-8 días de incubación, se inspeccionan las monocapas para detectar la presencia del efecto citopático (ECP). Si no hay presencia de ECP, se congelan las monocapas a -20°C y se descongelan a las 24 h. A continuación, se añade 1 ml de esta suspensión descongelada a células CHE recién preparadas. Si nuevamente no es visible el ECP, luego de otros 4-8 días, el cultivo es considerado negativo para el crecimiento vírico en células CHE. En caso que después del primero o del segundo pase se observa ECP, entonces se procede a caracterizar el virus por otras técnicas de diagnóstico directo del virus tales como: ensayo de reducción de placas e inmunofluorescencia.

1.1. Ensayo de reducción de placas

Para este ensayo se debe disponer de antisuero de una calidad apropiada para la determinación de la relación antigénica entre los reovirus aviares pertenecientes a la nueva clase antigénica de los conocidos anteriormente.

El procedimiento es el siguiente; se suspenden las células CHE recién preparadas, en medio de cultivo de tejidos suplementado con 5% de suero de ternera fetal y antibióticos a una concentración final de 1×10^6 células/mL. Se llenan las placas de cultivo de 60 mm con 5 mL de suspensión celular y se incuban durante 24 h a 37°C . Al día siguiente, el virus se diluye en tubos plástico en un medio que contiene antibióticos. Se preparan las diluciones de 10^{-1} - 10^{-7} . A continuación, se mezclan 200 μL de cada dilución con 50 μL del suero de ensayo. La mezcla se incuba a 37°C durante 1 h. Como control negativo, se mezclan 200 μL de la dilución vírica con 50 μL del medio. Se elimina el medio que queda por encima de las monocapas. Luego, se añaden 100 μL de las mezclas de virus (con o sin suero) sobre una monocapa confluyente. Para cada mezcla de virus, se infectan dos monocapas y se incuban con las mismas condiciones. Posteriormente, se cubren las monocapas infectadas con 5 mL de solución de agar 3% que contiene medio suero fetal de ternero 2.5% y antibióticos. Se incuban las placas durante cuatro días a 37°C . A continuación, se añaden 2 mL de solución rojo neutro (0,02%), se incubación a 37°C . Se cuantifica el número de placas pasado 4 h. Sólo se tienen en cuenta las placas de cultivo de tejidos que contengan menos de 150 placas Van Loon (2005).

Para la interpretación de los resultados de la técnica, se establece el número de pozos de un determinado virus a una determinada dilución sin suero como el 100% y posterior se compara con el número de pozos a la misma dilución del virus, pero con suero.

1.2. Prueba de inmunofluorescencia

El objetivo de esta técnica es caracterizar las diferentes cepas de reovirus aviáres con diferentes anticuerpos monoclonales; para ello se cultivan células primarias en placas de microtitulación de poliestireno de 96 pocillos. Las células no infectadas se utilizan como controles. Se inoculan diferentes monocapas con la cepa reovírica 1133. Se añaden 100 µL de suero de pollo al primer pozo. Se realizan diluciones seriadas de a razón de tres. Después de las etapas de incubación y lavados, se revelan con anti-pollo de cabra marcado con isotiocianato fluorescencia, diluidos a 1:100 y se observa la presencia de fluorescencia con un microscopio fluorescente (Van Loon *et al.* 2001).

1.3. Prueba molecular

La reacción en cadena reversa de la transcripción polimerasa (RT-PCR) es un método de alta sensibilidad y especificidad para la detección del ARN viral (Spackman *et al.* 2005).

Pantin-Jackwood *et al.* (2008) analizaron muestras de pollos y pavos mediante la RT-PCR convencional, para confirmar la identidad de los amplicones por secuenciación de reovirus. Se testearon varios cebadores diseñados para amplificar diferentes segmentos de genes de reovirus, y como resultado eligieron un segmento del gen S4, ya que detecta los linajes más diversos de reovirus aviar (Spackman *et al.* 2005). La prueba se dirigió a la región 1120-nucleótidos (nt)-largo del gen S4. El kit OneStep RT-PCR (Qiagen, Valencia, CA) se utilizó con una reacción de 25 µL de la siguiente manera: 1 µL de kit suministrado enzima, 320 µM de cada dNTP, 0,2 µM de cada cebador y 5 µL de kits suministrados reacción buffer. Las condiciones térmicas cíclicas fueron: un ciclo de 50°C durante 30 min, 94°C durante 15 min, y luego 35 ciclos de 94°C por 30 seg, 53°C por 1 min y 72°C por 1 min. Se utilizó como control positivo el ARN de dos aislados de referencia (S1133 y NC/98).

Agentes bacterianos.

Songserm *et al.* (2000) aislaron bacteriófagos y bacterias (*E. coli* hemolítica, *Pasteurella hemolytica* y *Enterococcus durans*) en pollitos inoculados con homogenados obtenidos de casos del síndrome. En presencia de problemas locomotores, es frecuente el aislamiento bacteriológico en las muestras, donde se tiende a aislar *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva. Esta última característica es fundamental, pues es la que diferencia al *S. aureus* patógeno de los no patógenos.

Protozoarios.

En algunas ocasiones, se ha aislado coccidias asociadas al síndrome (Rodríguez *et al.* 1988).

c) Diagnóstico indirecto

Serológico

Una vez que se ha detectado la presencia de virus a través de su inoculación (cultivos celulares, embriones de pollo o animales susceptibles) es necesario determinar su identidad antigénica mediante pruebas serológicas que contienen antígenos o sueros estándares lo que permite identificar anticuerpos o antígenos virales, respectivamente. Los antisueros pueden ser preparados con anticuerpos específicos policlonales o monoclonales (Berríos, 2010).

La prueba de inmunodifusión doble en gel de agar, es cualitativa y se utiliza generalmente para monitorear las aves SPF. En esta prueba los antígenos son solubles y al combinarse con anticuerpos se forman complejos ag-ac insolubles que precipitan. La prueba de precipitación es específica aunque de baja sensibilidad. En la actualidad, se usa la nefelometría con rayos láser de helio y neón para medir con exactitud la cantidad de complejos inmunes presentes (Berríos, 2010).

La seroneutralización se desarrolla por el método β de microtitulación con 100 dosis infectivas del antígeno viral y se utilizan placas de fondo plano de 96 pocillos para cultivo de tejidos. Los sueros se inactivan a 56°C durante 30 min. y se evalúan puros y diluidos en medio de cultivo. La mezcla virus-suero (50 μ L: 50 μ L) se incuba durante 1h a 37°C en atmósfera de CO₂ y posteriormente se añaden 100 μ L de la suspensión de células (cultivo primario de fibroblastos de embrión de pollo) a una concentración de 10⁶ cél/ml. Las placas se incuban durante 72h a 37°C con 5% de CO₂. En cada placa se dejan controles de virus y células (Alfonso *et al.* 2000).

Los ensayos de ELISA son muy específicos, rápidos y confiables (Gilligham, 1991). Se utilizan para monitorear los rebaños de reproductores desde su llegada a la granja y luego cada cinco semanas hasta el final de su vida productiva. Para emplear esta técnica hay que tener en cuenta el tamaño de la población de aves y la prevalencia del síndrome; en sentido general se deben mostrar de 10 a 15 sueros por población, debido al costo elevado de los kits (Ríos, 2009).

Este ensayo está diseñado para medir la concentración relativa de anticuerpos en suero de pollos. Las placas de 96 pocillos recubiertas se tapizan con

antígeno viral. Después de la incubación de la muestra (30 min), se agrega un anticuerpo específico frente al reovirus, que forma un complejo con los antígenos virales. Posteriormente, se elimina el material no unido con agua destilada y luego se añade a los pocillos un conjugado que se une a los complejos de anticuerpos. Por último el conjugado no unido se elimina con agua destilada y se agrega un sustrato enzimático. El cambio de color resultante está directamente relacionado con la cantidad de anticuerpos anti-reovirus presentes en la muestra (IDEXX Laboratories, 2005).

d) Diferencial.

Márquez (2007) planteó que se debe realizar un diagnóstico diferencial con: Deficiencia de Vitamina E, Vitamina D₃, Calcio, Fósforo y Manganeseo (Mn).

La deficiencia de vitamina E en las aves, se caracteriza desde el punto de vista clínico – patológico por encefalomalacia, asociada con trastornos motores y flexión ventral de la cabeza, distrofia muscular de la región pectoral con estrías blancas (Martínez, 2000).

El raquitismo constituye el principal signo de deficiencias de vitamina D₃, calcio y fósforo. Cuando este es causado por la deficiencia de calcio o vitamina D₃ se distingue del ocasionado por la deficiencia en fósforo, ya que en el primer caso se produce una amplificación de la zona proliferativa del hueso, y en el segundo se observa una hipertrofia en el disco de crecimiento (Whitehead, 2002). Este además señala que la carencia de Mn, produce condrodistrofia y perosis, que se caracteriza por articulaciones engrosadas y malformadas.

En la Artritis viral, las aves se postran y evitan caminar, mientras que en el SMA, manifiestan cojera unilateral, que se debe a la fractura de la cabeza del fémur (Ibañez *et al.* 1983)

La discondroplasia tibial se caracteriza porque las aves se rehúsan al movimiento, claudican y presentan aumento de volumen de la articulación femoro-tibio-tarsiana con desviación de la epífisis proximal del tibiotarso. En raras ocasiones, también se ve afectada la epífisis proximal del metatarso o del fémur (Anon, 2010).

e) Radiológico

En granjas avícolas de producción de carne, se ha aplicado un método de estudio clínico-radiológico de apoyo para el diagnóstico de las osteoartropatías. Este método permite determinar lesiones esqueléticas en ausencia de una clínica específica (Rodríguez *et al.* 1988)

Control

El control del síndrome se debe centrar en tres áreas principales: Bioseguridad, manejo y vacunación (Dustan y Jones, 2008).

Silim y Venne (1989) plantearon que el control de la enfermedad se basa en la vacunación de las reproductoras. Según Van der Heide (1983) la protección vacunal con cepas atenuadas ha tenido éxito relativo. Ibáñez *et al.* (1983) refieren que el empleo de las vacunas anti-reovirus no siempre reduce la frecuencia de presentación del síndrome.

Durante los últimos años se han desarrollado vacunas inactivadas en vehículo oleoso, para aplicarse en las reproductoras (18-20 semanas de edad), con el objetivo de transmitir anticuerpos maternos, sin embargo los resultados aún no son claros (Márquez, 2007).

Las vacunas vivas contra reovirus pueden inducir protección en las aves jóvenes, solo cuando no hay anticuerpos maternos (AcM) presentes para neutralizar la vacuna. La protección más efectiva contra las infecciones tempranas, es la inducción de altos niveles de anticuerpos en las reproductoras para proteger a la progenie con los AcM. Las vacunas inactivadas contra reovirus con un contenido alto de antígeno, son las más efectivas porque inducen altos títulos en las reproductoras. La primovacunación en esta categoría, con una vacuna viva acentúa su efecto. Los títulos individuales y promedio son más altos y uniformes. La primovacunación con la vacuna viva en las reproductoras jóvenes puede realizarse cuando los AcM han disminuido (después de las 6 semanas de edad) (Lohman Animal Health, 2010).

En países de Europa occidental, las aves son vacunadas durante el período de inicio - desarrollo con las vacunas vivas e inactivadas disponibles en el mercado, que contienen cepas no-ERS. Los pollos de ceba no se vacunan contra reovirus (De Herdt *et al.* 2008). Sin embargo, Shane (2008) plantea que la vacunación en esta categoría puede ser efectiva alrededor del 50%.

Tratamiento

Según las manifestaciones clínicas y la intensidad del proceso, se recurre a un tratamiento sintomático por medio de la adición en el agua de bebida de niveles de vitaminas y aminoácidos en la dieta con el objetivo de mejorar paliativamente la condición clínica de este síndrome.

Conclusiones

Se evidencia en esta revisión que el Síndrome de Mala Absorción es una enfermedad multifactorial que se encuentra asociada con diferentes agentes infecciosos. Se ha reportado a nivel mundial y ocasiona importantes pérdidas económicas en la industria avícola. Se caracteriza por retraso en el crecimiento, diarrea con piensos sin digerir, la pérdida de pigmento y anomalías en los huesos. Las lesiones causan un deterioro de la digestión por insuficiencia de las secreciones digestivas y / o alteración de la absorción, debido a la capacidad de absorción insuficiente. Las lesiones principales se localizan en la mucosa intestinal y se caracterizan por la formación de quistes en las criptas de Lieberkühn y atrofia de las vellosidades. Las vacunas comerciales disponibles no suministran una protección completa.

Referencias

- Alfonso P, Cuello Sandra, Noda Julia, Perera Carmen. 2000. Comparación de diferentes técnicas en el diagnóstico serológico de reovirus aviar. *Rev. Cub. Cienc. Avíc.* 24(2):145-149.
- Al-Muffarej SI, Savage Carol, Jones RC. 1996. Egg transmission of avian reoviruses in chickens: Comparison of a trypsin-sensitive and a trypsin-resistant strain. *Avian Pathol.* 25(3):469-480.
- Anon. 2006. Reovirus aviar: un caso clínico. Disponible en: http://www.cuencarural.com/granja/avicultura/reovirus_aviar_un_caso_clinico/. Consulta: 6 Mar 2010.
- Anon. 2010. Aparato esquelético. Osteodisplasias. Disponible en: http://www.medvet.umontreal.ca/etudes/EnseignementLigne/patho_aviaire/Aparato_esqueletico/OsteodisAnomaMalform_%20DysplOss%20Malfor/index.asp. Consulta: 6 Mar 2010.
- Benavente J, Martínez-Costas J. 2007. Avian reovirus: structure and biology. *Virus Res.* 123:105–119.
- Berríos P. 2010. Virología Veterinaria. VII. Inmunidad antiviral. Disponible en: <http://virusberriostecheagaray.blogspot.com/2010/03/virologia-veterinaria-vii-inmunidad.html>. Consulta: 30 May 2010.
- Boado Encarnación, Zaldívar Leonor, López S, González Amada, Quintero Dalia. 1991. Diagnóstico y estudio patomorfológico de las enfermedades de la gallina Guinea. *Rev. Cub. Cienc. Avíc.* 18(2):156-161.
- De Herdt P, Paul G, Koopman R, Van De Zande S. 2008. Field experiences with ERS type reovirus infections in diseased broilers reared under Western European field circumstances. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift.* 78:171-175.

- Fraga Mirtza, Moreno A, Menéndez Irma, Moreno J, Ruiz R. 1982. Informe acerca del estudio de los problemas patológicos de las extremidades inferiores o abdominales de los pollos. CENSA. Habana.
- Frazier JA, Reece RL. 1990. Infectious stunting syndrome of chickens in Great Britain: intestinal ultra structural pathology. *Avian Pathol.*19:759–777.
- Gilligham S. 1991. Tecnología Avípecuaria. 4(36):6-11.
- Gouvea V, Schnitzer T. 1982. Polymorphism of the migration of double-stranded RNA genome segments of avian reoviruses. *J. Virol.* 43:465-471.
- Harmon BG. 1998. Avian heterophils in inflammation and disease resistance. *Poultry Sci.* 77: 972–977.
- Ibañez R, Ovies D, Gonzalez R, Fernández A. 1983. Síndrome de malabsorción. Una reseña. *Rev. Avic.* 27(4):89-112.
- IDEXX Laboratories. 2005. Kit para la detección de anticuerpos frente al reovirus aviar. One IDEXX Drive, Westbrook, Maine, USA.
- Kant A, Balk F, Born L, Van Roozelaar D, Heljmans J, Gielkens A, Ter Huurne A. 2003. Classification of Dutch and German avian reoviruses by sequencing the sigma C protein. *Veterinary Research.* 34: 203-212.
- Kouwenhoven B, Vertommen M, Goren E. 1986. Runting in broilers Acute virus infections of poultry. McNulty MS & McFerran JB. Dordrecht Martinus Nijhoff Publishers. p.165-178.
- Kouwenhoven B, Davelar FG, Van Walsum J. 1978. Infectious proventriculitis causing runting in broilers. *Avian Pathol.* 7:183–187.
- Kouwenhoven B, Vertommen M, Goren E. 1988. Investigations into the role of reovirus in the malabsorption syndrome. *Avian Pathol.* 17:879-892.
- Lohman Animal Health. 2010. Reovirus. Disponible en: <http://www.lah.de/Reovirus.276.0.html?&L=6> . Consulta: 30 May 2010.
- Madara JL, Nash S, Parkos C. 1991. Neutrophil-epithelial cell interactions in the intestine. *Advanced Experimental Medical Biology.* 314:329–334.
- Márquez MA. 2007. Enfermedades infecciosas que afectan el aparato gastrointestinal de las aves. *Avicultores.* 10(57):39-48.
- Martínez Luisa. 2000. Vitaminas. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos10/vita/vita.shtml>. Consulta: 3 May 2010.
- Mathews R. 1982. Classification and nomenclature of viruses. *Intervirology.* 17:1-200.
- Mayhew TM, Myklebust R, Whybrow A, Jenkins R. 1999. Epithelial integrity, cell death and cell loss in mammalian small intestine. *Histology Histopathology.*14:257-267.

- Mazurkiewicz M, Madej JA, Sobiech KA, Giebel O. 1993. Further studies on the etiopathology of malabsorption syndrome in broiler chickens. *Archives Veterinary Pol.* 33:177-188.
- Mc Mullin P. 2004. A Pocket Guide to: Poultry Health and Disease. p. 125.
- McNulty MS, Jones RC. 2001. Reoviridae: reoviruses. *In: Poultry Diseases.* Jordan F., Pattison M., Alexander D., Faragher T (editors). 5th ed. p. 338-342.
- Merck. 2008. Síndrome de malabsorción. *In: Merck Veterinary Manual.* Merck & Co., Inc. Whitehouse Station. NJ USA.
- Montgomery RD, Boyle CR, Maslin WR, Magee DL. 1997. Attempts to reproduce a runting/stunting-type syndrome using infectious agents isolated from affected Mississippi broilers. *Avian Dis.* 41:80-92.
- Moreno J, Ruíz R. 1983. Informe preliminar sobre la necrosis de la cabeza del fémur en pollos para engorde. D.P.A. Ministerio de Agricultura.
- Nili H, Jahantigh M, Nazifi S. 2007. Clinical observation, pathology, and serum biochemical changes in infectious stunting syndrome of broiler chickens. *Comparative Clinical Pathol.* 16(3):161-166.
- Olsen DE. 1977. Isolation of a reovirus-like agent from broiler chicks with diarrhoea and stunting. *Proceedings of the 26th Western Poultry Disease Conference.* Davis, California. p. 131-139.
- Pantin-Jackwood Mary J, Day JM, Jackwood MW, Spackman E. 2008. Enteric viruses detected by molecular methods in commercial chicken and turkey flocks in the United States between 2005 and 2006. *Avian Dis.* 52:235-244.
- Rebel JM, Balk FR, Post J, Van Hemert S, Zekarias B, Stockhofe N. 2006. Malabsorption syndrome in broilers. *World's Poultry Science Journal.* 62(1):17-30.
- Rebel JM, Van Dam JT, Zekarias B, Balk FR, Post J, Minambres Flores, Ter Huurne AA. 2004. Vitamin and trace mineral content in feed of breeders and then- progeny: effects of growth, feed conversion and severity of malabsorption syndrome of broilers. *British Poultry Sci.* 45:201-209.
- Ríos F. 2009. La Reovirus Aviar y su Control. Disponible en: <http://www.midiatecavipec.com/avicultura/avicultura090106.htm>. Consulta: 20 feb 2010.
- Robertson EI, Angstrom CI, Clark HC, Smith M. 1949. Field research on stunted chick disease. *Poultry Sci.* 28: 14-18.
- Rodríguez J, Sánchez A, Hidalgo L. 1988. Estudio de un brote de síndrome de malabsorción en aves de reemplazo White Leghorn. *Rev. Cub. Cienc. Avic.* 15(1):73-82.

- Rosales AG. 1999. Inmunosupresión causada por enfermedades virales, estrés, manejo y nutrición. III Encontro Internacional de Ciências Aviarias. Univ. Federal de Uberlandia, Brasil. p. 1-11.
- Savage Carol, Jones RC. 1996. Egg transmission of avian reoviruses in chickens: Comparison of a trypsin-sensitive and a trypsin-resistant strain. *Avian Pathol.* 25(3):469-480.
- Shane S. 2008. Latest advances in poultry health. Disponible en:
- <http://www.wattpoultry.com/PoultryInternational/Article.aspx?id=22434>. Consulta: 30 May 2010.
- Shirai J, Nakamura K, Furata K, Hihara H, Kawamura H. 1990. Experimental infection in specific-pathogen-free chicks with avian reovirus and avian nephritis virus isolated from broiler chicks showing runting syndrome. *Avian Dis.* 34:295-303.
- Silim A, Venne D. 1989. Comparison of egg-yolk and serum antibody titers to avian viruses by enzyme-linked immunosorbent assay using paired field samples. *Avian Dis.* 33: 643-648.
- Sinclair AJ, Embury DH, Smart IJ, Barr DA, Reece RL, Hooper PT, Gould JA. 1984. Pancreatic degeneration in broilers with runting and stunting syndrome. *Veterinary Records.* 10:485-488.
- Songserm T, Pol JM, van Roozelaar D, Kok GL, Wagenaar F, Ter Huurne A. 2000. A Comparative Study of the pathogenesis of Malabsorption syndrome in broilers. *Avian Dis.* 44(3):556-567.
- Songserm T, Zekarias B, Van Roozelaar DJ, Kok RS, Pol JM, Pljpers A, Ter Huurne A. 2002. Experimental reproduction of malabsorption syndrome with different combinations of reovirus, Escherichia coli, and treated homogenates obtained from broilers. *Avian Dis.* 46:87-94.
- Songserm T, Van Roozelaar D, Kant A, Pol J, Pljpers A, Ter Huurne A. 2003. Enteropathogenicity of Dutch and German avian reoviruses in SPF white leghorn chickens and broilers. *Veterinary Research.* 34:285–295.
- Spackman E, Kapczynski D, Sellers H. 2005. Multiplex real-time reverse transcription-polymerase chain reaction for the detection of three viruses associated with poult enteritis complex: turkey astrovirus, turkey coronavirus, and turkey reovirus. *Avian Dis.* 49:86–91.
- Szabo J, Salyi G, Rudas P. 1989. Effect of malabsorption syndrome on pancreatic function in broilers. *Poultry Sci.* 68:1553–1560.
- Urdaneta-Vargas SH, Narváez-Bravo Claudia, Arzalluz-Fischer Ana María, Mejía W, Oviedo Ana y García Elita. 2007. Detección de títulos de anticuerpos contra Anemia Infecciosa Aviar y su relación con otros virus inmunosupresores en pollos de engorde. Estado Zulia. Venezuela. *Rev. Cient.* 17(4):357-365.
- Van der Heiden L. 1980. Controlling leg problems in the Poultry meat industry. Proceeding of the New Hampshire. Poultry Health Conference.

- Van der Heide L. 1983. Síndrome de mala absorción en la industria del pollo asadero. *Rev. Ind. Avic. Woh. Publ.* p. 22.
- Van der Heide L. 1996. Introduction on avian reovirus. *Proc. Internacional Symposium on Adenovirus and Reovirus Infections in Poultry*. Rauschholzhausen, Germany. p.138-142.
- Van der Heide L. 2000. The history of avian reovirus. *Avian Dis.* 44:638-641.
- Van De Zande S, Lin F. 2005. Enteric reovirus strain (ERS) infections: how to control the disease? *Proceedings 14th World Veterinary Poultry Congress*. Istanbul, Turkey. p. 325.
- Van De Zande S, Kühn EM. 2007. Central nervous system signs in chickens caused by a new reovirus strain: a pathogenesis study. *Veterinary Microbiology* 120:42-49.
- Van Loon AA, Koopman HC, Kosman W, Mumczur J, Szeleszczuk O, Karpinska E, Kosowska G, Lutticken D. 2001. Isolation of a new serotype of avian reovirus associated with malabsorption syndrome in chickens. *Veterinary quarterly.* 23: 129-133.
- Van Loon AA. 2005. Nueva clase antigénica de reovirus aviar. Disponible en: http://www.espatentes.com/pdf/2240005_t3.pdf. Consulta: 16 feb 2010.
- Whitehead CC. 2002. Influencia de las vitaminas y minerales sobre la formación y calidad del hueso. *Selecciones Avícola.* p. 464-468.
- Zekarias B, Stockhofe-Zurwieden N, Post J, Balk F, Van Reenen K, Gruys E, Rebelj MJ. 2005. The pathogenesis of and susceptibility to malabsorption syndrome in broilers is associated with heterophil influx into the intestinal mucosa and epithelial apoptosis. *Avian Pathol.* In press.