

# HEPATITIS CON CORPÚSCULOS DE INCLUSIÓN DE LOS POLLOS

M.V.Z., M.P.V.M. A. MOSQUEDA TAYLOR

*Departamento de Producción Animal Aves.  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.  
Universidad Nacional Autónoma de México.*

<b>I. Introducción</b>	340
<b>II. Distribución geográfica</b>	341
<b>III. Etiología</b>	341
1. Clasificación	341
2. Tamaño y ultraestructura	341
3. Propiedades biológicas	342
4. Multiplicación	342
5. Propiedades fisicoquímicas	342
<b>IV. Epidemiología y patogénesis</b>	342
1. Susceptibilidad	342
a) Especie	342
b) Raza	342
c) Edad	342
d) Estación del año	342
e) Tipo de casetas	343
f) Inmunidad	343
g) Transmisión	343
h) Periodo de incubación	344
i) Signos y curso de la enfermedad	344
j) Lesiones macroscópicas	345
k) Lesiones microscópicas	346
l) Alteraciones hemáticas y pruebas bioquímicas	346
<b>V. Diagnóstico</b>	
1. Técnicas de aislamiento y cultivo del virus	346
2. Serología	347

a) Pruebas de virus-neutralización	347
b) Pruebas de precipitación en agar	347
3. Diagnóstico diferencial	347
VI. Control	347
Referencias	348

## I. Introducción

La hepatitis con corpúsculos de inclusión de los pollos (HCIP) es una enfermedad de reciente aparición, cuya principal característica es la de producir inclusiones intranucleares en las células del parénquima hepático. Fue descrita por primera ocasión en 1963 (1) en el Estado de Connecticut, EUA, cuando se presentó en dos parvadas de pollo de engorda de 7 semanas de edad. Los animales afectados mostraron cambios degenerativos en hígado y otros órganos. La lesión más típica fue la presencia de cuerpos de inclusión intranucleares de Cowdry tipo A en los hepatocitos. Todos los intentos de aislamiento del agente causal fallaron, permaneciendo durante varios años en la literatura como una "curiosidad médica" de etiología y significado desconocidos. A partir de la segunda mitad de los años 1960 la enfermedad se ha diagnosticado cada vez con mayor frecuencia en varias partes del mundo, incluyendo México, lo que ha despertado interés y fomentado la investigación.

Su presentación ha estado, la mayor parte de las veces, asociada a otras enfermedades, lo que posiblemente ha dificultado el esclarecimiento de la signología, etiología y posiblemente, también de su distribución geográfica. Es bien sabido que existen otras enfermedades que semejan en alguna de sus formas a la HCIP, como por ejemplo el síndrome anémico-hemorrágico y la infección de la bolsa de Fabricio. Por otro lado, la presencia de cuerpos de inclusión en tejidos aviares ha sido reconocida en varias ocasiones.

Así tenemos que el virus de la laringotraqueítis infecciosa produce cuerpos de inclusión intranucleares en epitelios respiratorios de la gallina doméstica (2); una cepa del agente de la ornitosis aislada de pavos, al inocularse a pollos Leghorn blancos, produjo cuerpos de inclusión en epitelios respiratorios, corazón y cerebro (3); en la hepatitis y esplenitis viral con cuerpos de inclusión de los búhos se han encontrado cuerpos intranucleares de Cowdry tipo A en hígado, bazo

y médula ósea (4); en hígados de palomas afectadas con un virus Herpes ha sido descubierta la presencia de cuerpos de inclusión intranucleares basofílicos (5). Se han reconocido varios virus capaces de producir hepatitis en pavos, patos y otras aves. Sin embargo, la HCIP es la primera hepatitis viral específica de los pollos que se conoce en la actualidad (6).

## II. Distribución geográfica

Después de la primera descripción en 1963, la HCIP se ha observado, además de en los Estados Unidos de América, en Canadá en 1970 (7), en Italia en 1972 (9), en Inglaterra en 1972 (8), en México en 1973 (10), en Australia en 1974 (11), en Austria en 1974 (12) y en Alemania en 1974 (13). Es interesante subrayar que todos los informes, con excepción del primero, han ocurrido en un periodo no mayor de 5 años, si bien en algunos de ellos se hace hincapié de que el problema se había presentado con anterioridad.

## III. Etiología

*1. Clasificación.* A pesar de que esta enfermedad se conoce desde 1963, la búsqueda del agente etiológico se prolongó hasta años recientes.

De esta forma ha sido posible recuperar en varias ocasiones un agente viral, tanto en cultivos de células como en embriones de pollo (9, 10, 11, 14, 15, 16, 17).

Algunos autores sugirieron que se podía tratar de un reovirus (9, 14), o un virus herpes (18), pero estudios recientes han demostrado sin lugar a duda la presencia de un adenovirus (11, 12, 17, 23).

*2. Tamaño y ultraestructura.* El tamaño del virus de la HCIP ha sido estimado en 67-80 mm (14, 18). Con la ayuda de la microscopia electrónica se han observado partículas virales tanto en el citoplasma de las células destruidas como en los espacios intercelulares y en los núcleos. Los viriones tienen una forma circular o hexagonal y consisten en un centro denso a los electrones. Generalmente los viriones en las células intactas se encuentran sólo en el núcleo (18). En ningún caso se observó relación entre las partículas virales y la membrana celular. Los viriones constan de una cápside y capsómeros de forma cilíndrica, y contienen ácido desoxi-ribonucleico (19).

*3. Propiedades biológicas.* Algunos adenovirus aviares poseen la capacidad de aglutinar glóbulos rojos de rata (20).

4. *Multiplificación.* La multiplificación y maduración de las partículas víricas ocurre en el núcleo de las células invadidas (9).

5. *Propiedades fisicoquímicas.* Se sabe que los adenovirus son éter-resistentes (19). El virus de la HCIP es capaz de resistir durante 6 horas o más a un pH de 3.0. La exposición a una temperatura de 56 grados centígrados durante 60 minutos tampoco lo inactiva. Las propiedades fisicoquímicas fueron idénticas en 3 cepas ensayadas (14).

#### IV. Epidemiología y patogénesis

##### 1. *Susceptibilidad*

a) *Especie.* Hasta ahora, la HCIP. sólo ha sido diagnosticada y reproducida en pollos.

b) *Raza.* La HCIP ha ocurrido tanto en pollos de engorda (1, 7, 10, 15) como en aves para postura (16-21) de las razas Leghorn y White Rock, lo que parece indicar que no existen diferencias de susceptibilidad entre las aves pesadas y las ligeras. No se han llevado a cabo estudios para cuantificar el número de brotes ocurridos en ambos tipos de aves, pero parece ser que las proporciones son muy similares.

c) *Edad.* La HCIP es una enfermedad de aves en desarrollo, siendo más común observarlas en pollos de 5-7 semanas de edad, aunque puede atacar entre las 2 y las 15 semanas (6, 13).

d) *Estación del año.* Aparentemente, la época de mayor incidencia es la primavera y verano (6), aunque esto parece no ser tan estricto.

e) *Tipo de casetas.* Casi todos los brotes han ocurrido en aves en piso (6). Esto, sin embargo, puede explicarse quizá por el hecho de que la mayor parte de las parvadas de aves jóvenes son criadas en piso.

f) *Inmunidad.* Experimentalmente se ha podido observar que pollos libres de patógenos específicos (LPE) son susceptibles a los 6 días y 4 semanas de edad, produciéndose mayor mortalidad en los primeros (16). Empero, los pollos comerciales y LPE procedentes de madres expuestas al virus son refractarios. De la misma forma, cuando se inocularon embriones de pollo de diferentes procedencias con el virus de la HCIP vía saco vitelino, se encontró que la mortalidad embrionaria fue muy variable, habiendo algunos lotes 100% susceptibles y otros 100% inmunes. El suero de pollos colectado

34 días postinoculación (PI) puede mostrar un título de  $10^3$  dosis neutralizantes para el embrión de pollo/ml. Por lo tanto, es evidente que la inmunidad materna juega un papel importante en la presentación de la enfermedad. Según algunos autores (14), hay cierta evidencia de que existen diferencias antigénicas entre las cepas virales.

*g) Transmisión.* Aunque hacen falta estudios confirmativos, existe una fuerte evidencia de que la HCIP se puede transmitir en forma vertical a la progenie (16). En efecto, se ha observado que pollitos nacidos, hermanos de embriones que mostraron ser refractarios a la inoculación, no mostraban signos durante las tres semanas que duraba un experimento. Sin embargo, la progenie de la misma parvada de reproductoras mostraba signos y lesiones característicos del HCIP después de las 4 semanas de edad. El virus se aisló de estos animales a partir del hígado y bolsa de Fabricio. Las vías naturales que se han utilizado con éxito para reproducir la enfermedad son la oral (22) y la ocular (16, 22), y la cantidad mínima de virus necesaria para causar índices neutralizantes séricos significativos fue alrededor de la dilución  $10^{3.6}$  /ml, vía gota en el ojo (22). La infección puede propagarse de ave a ave por contacto directo (22), y de granja a granja por fomites (21). Se ha descubierto la presencia de adenovirus patógenos como contaminantes de vacunas comerciales para pollos, hecho que ha ocasionado serias pérdidas económicas (20).

*h) Periodo de incubación.* Los pollos LPE de 7 días de edad, inoculados por vía intravenosa o intraperitoneal mostraron signos desde las 50 horas postinoculación (PI) (11).

*i) Signos y curso de la enfermedad.* Generalmente la primera evidencia de la enfermedad es un aumento súbito y drástico de la mortalidad, comúnmente en ausencia de otros signos. Durante los primeros 2 días del problema la mortalidad puede aumentar de 3 a 10 veces, mientras que el resto de la parvada puede permanecer aparentemente sano. Este patrón de aumento de la mortalidad dura entre 3-5 días, y disminuye a niveles normales en los 3-5 días posteriores (6). Durante la etapa crítica el número de aves muertas puede representar el 0.5-1 % diario, pudiendo sucumbir finalmente hasta un 2-10% o más (13) en total. Algunas aves llegan a presentar diarrea y desnutrición (12), palidez de cresta, barbillas y piel facial con o sin ictericia, disnea leve (11) y depresión severa unas cuantas horas antes de la muerte (6, 7). Con frecuencia es necesario mover la parvada para poder detectar los pollos afectados,

los que permanecerán postrados. Si se aíslan, se verá que estos animales mueren en 24 horas aproximadamente. La morbilidad es sumamente baja, de un 10% o menos (12).

El curso individual de la enfermedad es sumamente rápido (24 horas o menos), como lo indica el bajo índice de morbilidad. Es por eso que entre las aves que se escojan para el diagnóstico de laboratorio deben incluirse algunas recién muertas, aves en varios estados de la enfermedad y pocas aves aparentemente sanas, ya que frecuentemente las enfermas mueren en el tránsito al laboratorio (6). El curso de la HCIP en la parvada es de 9-15 días (6, 21), aunque la mayor parte de las veces está complicada con otras enfermedades (especialmente digestivas o respiratorias) por lo que el curso podría ser difícil de precisar.

La mortalidad comienza a las 72 horas PI y las aves que no mueren muestran signos de recuperación a los 6 días PI. Se piensa que las lesiones son reparadas, quedando solamente unos cuantos focos de infiltración de células mononucleadas en el parénquima hepático a los 8 días PI (11).

*j) Lesiones macroscópicas.* El virus de la HCIP es capaz de inducir lesiones en una gran cantidad de los tejidos corporales de los pollos (1,6,7, 10, 12,13, 14,15, 16, 17, 18,21). El órgano más afectado es el hígado el cual se encuentra hinchado, de un color amarillento con diferentes grados de palidez, friable y con hemorragias petequiales. Con frecuencia se ha encontrado retracción y turgidez de la bolsa de Fabricio. El bazo puede estar congestionado o hemorrágico y mostrar una disminución de su volumen. El hallazgo de hemorragias en piel, músculos, grasas corporales, corazón, mucosa del proventrículo (especialmente en su unión con la molleja) y otros órganos ha sido frecuente. La médula ósea (principalmente la femoral) se encuentra pálida debido a la falta de actividad hematopoyética (anemia aplástica), aunque a veces puede estar congestionada, de un color rojo oscuro. En algunas ocasiones se ha encontrado duodenitis catarral, congestión del tracto respiratorio, edema pulmonar e hidropericardio. Experimentalmente se ha visto que las lesiones son más prominentes en pollos entre las 78-96 horas PI (11).

*k) Lesiones microscópicas.* La presencia de cuerpos de inclusión intranucleares en las células hepáticas es la única lesión patognomónica de la enfermedad. El parénquima hepático se encuentra en varias fases de degeneración y metamorfosis grasa, pudiendo llegar a la pérdida de su arquitectura y destrucción totales. Es común

observar hemorragias localizadas, focos de necrosis coagulativa, así como cúmulos de células redondas esparcidos uniformemente en el tejido hepático. Muchas células muestran núcleos con picnosis, cariorrhexis o cariólisis, o bien desaparición de los mismos. Algunos núcleos se ven hinchados y con marginación de la cromatina; hay proliferación de las células del sistema retículo endotelial alrededor de los vasos sanguíneos; los epitelios de los conductos biliares pueden sufrir una ligera hiperplasia (18) y a veces hay hiperactividad de las células de Kupffer (12). Los cuerpos de inclusión intranucleares aparecen desde las 48 horas PI. (16) y persisten hasta tres semanas PI en aves susceptibles. El número de células hepáticas con inclusiones es muy variable, pudiendo ser desde unas cuantas hasta un 33% del total de hepatocitos (13). Los cuerpos de inclusión de las células de alrededor de las áreas necróticas son basofílicos o neutrofilicos, mientras que en las células en estado de degeneración avanzada son eosinofílicos (18).

En el riñón suele verse nefrosis tubular (17), hiperplasia del epitelio renal (10), hinchazón del epitelio tubular y glomerulonefritis aguda (12), con los espacios glomerulares llenos por las células endoteliales hinchadas.

La médula ósea generalmente muestra poca o ninguna actividad hematopoyética, viéndose afectadas tanto la serie eritrocítica como la granulocítica (15), con aparición de tejido graso (1).

La bolsa de Fabricio sufre atrofia de los folículos linfáticos con proliferación del tejido conectivo intersticial (15). Puede también haber necrosis de la médula folicular. Las tonsilas cecales y el bazo muestran una disminución del tejido linfoide. En la médula del timo se ha notado hemorragias y una cantidad excesiva de cuerpos de Hassal. El miocardio puede estar infiltrado de células linfoides e histiocitos, y las fibras musculares pueden mostrar degeneración hialina (13).

1) Alteraciones hemáticas y pruebas bioquímicas. El cambio más notable de la sangre es una reducción en la cantidad de hematíes, que puede ser hasta un 50-90% (21). El número de glóbulos blancos puede verse también disminuido (12, 13). En el frotis sanguíneo se observan alteraciones eritrocíticas tales como anisocitosis y poiquilocitosis (12).

El contenido de grasa hepática de una ave afectada fue de 9.21% en comparación con 5.08 % del ave control (7). El tipo de grasa, no obstante, fue el mismo.

## V. Diagnóstico

### 1 . *Técnicas de aislamiento y cultivo del virus*

El virus de la HCIP es susceptible de ser aislado y cultivado tanto en embriones de pollo como el cultivo de tejidos. Se utilizan huevos embrionados de pollo libres de anticuerpos específicos y se inoculan, encontrándose lesiones 48 días PI. Éstas consisten en congestión y hemorragias en la piel, enanismo, necrosis focal y petequias en hígado, así como mortalidad embrionaria (11). Cuando se inocula en membrana corioalantoidea (MCA) se producen placas opacas 8 días PI, aunque éstas sólo se observan en un 25% de los embriones (16). Los cultivos utilizados han sido de células renales (11) y hepáticas (17) de pollo, y cultivos celulares a partir de embriones de pollo y pato (15). En las células renales se aprecia un efecto citolítico con destrucción completa del tejido al segundo pase. En las células hepáticas cultivadas se observan focos de células degeneradas al cuarto o quinto día PI. Al noveno día la degeneración es completa. En los cultivos celulares como en las células del parénquima hepático y MCA de los embriones de pollo se han observado los cuerpos de inclusión intranucleares, Es interesante hacer notar que el virus de la HCIP pudo ser pasado 30 veces en embriones de pollo sin que se alterara su patogenicidad, causando la muerte de los embriones 5-10 días PI (16).

Es muy importante que tanto los embriones de pollo como los cultivos celulares provengan de aves LPE, ya que se requiere una alta susceptibilidad de los tejidos hospedadores para que pueda desarrollarse el virus (16, 20). Sin embargo, pueden utilizarse embriones de pollo comerciales de gallinas que no hayan sido expuestas al virus. El diagnóstico por inoculación en el embrión de pollo puede ser difícil debido a que algunas lesiones son similares a las que produce la bronquitis infecciosa (enanismo y encurvamiento del embrión) y la laringotraqueítis aviaria (placas y cuerpos de inclusión intranucleares en MCA). Experimentalmente se ha logrado reproducir la enfermedad por inoculación en pollos LPE de 1 día de edad (16). En estos animales se observaron lesiones y cuerpos de inclusión desde las 48 horas PI, prevaleciendo hasta las 3 semanas PI. Las rutas utilizadas fueron la intravenosa, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, y la ocular, El virus fue recuperado a los 6 días PI, pero no a los 11 o 21 días PI.

De esto se deduce que para el diagnóstico no deben enviarse aves en el estado tardío de la infección pues podría no aislarse el virus.

La concentración viral en el hígado puede alcanzar un título de  $10^7$  dosis infectantes/gramo para el cultivo de tejido (11).

## 2. Serología

a) Pruebas de virus-neutralización. Éstas se llevan a cabo por inoculación de huevos embrionados provenientes de parvadas sospechosas de haber sufrido la infección (16) o por obtención de suero de aves sospechosas, el cual es mezclado con el virus de la HCIP y se inocula en embriones de pollo de preferencia provenientes de aves LPE, como ya se ha mencionado (16, 22). Los índices neutralizantes/ml alcanzados por sueros de aves expuestas al virus varían de 2.3 a 3.8 o más (22). El título alcanzado en embriones de pollo susceptibles puede ser hasta de  $10^{6.6}$  (22).

b) Pruebas de precipitación en agar. Estas pruebas han sido de gran utilidad para la realización de escrutinios serológicos (23) en poblaciones avícolas, así como para la investigación de las variantes antigénicas.

## 3 Diagnóstico diferencial

Esta enfermedad debe de distinguirse de aquellas otras que produzcan un cuadro anémico o hemorrágico, o ambos en pollos jóvenes. Entre éstos se encuentran el síndrome anémico hemorrágico, la enfermedad de Marek y la infección de la bolsa de Fabricio. Es posible que algunas veces el diagnóstico se dificulte o la enfermedad pase desapercibida debido a la frecuente complicación con otros agentes patógenos. De igual forma no será raro diagnosticarla en forma accidental al hacer un estudio histopatológico de pollos con una signología mal definida.

## VI. Control

Por cuanto se ha dicho, la HCIP es una enfermedad con grandes posibilidades de propagación, siendo las formas principales el contacto directo, los fomites y muy probablemente, la transmisión vertical a la progenie. Ante esta situación, las medidas de control deberán enfocarse a evitar el contacto de aves enfermas con sus-

Ceptibles y a suprimir la entrada de personas, animales u objetos de dudosa procedencia a la granja. Se ha visto un cierto beneficio segregando huevos incubados y pollitos de parvadas sospechosas, para evitar la transmisión horizontal (6). Las vacunas de aves deben de ser probadas para la detección de adenovirus contaminantes. Asimismo, el suero de los pollos usados en la prueba de potencia debe de mostrar ser libre de anticuerpos contra adenovirus (20). Podría intentarse el desarrollo de una vacuna (6), la cual serviría para proteger a las madres contra la infección, y de esa forma a la descendencia. Sin embargo, no se encontraron estudios al respecto.

#### REFERENCIAS

1. Helmboldt, C. F. and Frazier, M. N. Avian hepatic inclusion bodies of unknown significance. *Avian Dis.* 7: 446-450, 1963.
2. Seifried, O. Histopathology of infectious laryngotracheitis in chickens. *J. Exp. Med.* 54: 817-826, 1931.
3. Bankowski, R. A., Gerlach, H. and Mikami, T. Histologic changes and inclusion bodies in chickens inoculated with an ornithosis agent. *Avian Dis.* 12: 217-226, 1968.
4. Burtscher, H. Viral inclusion body hepatitis and splenitis in owls. *Zenbl. allg. Path. Anat.* 107:96, 1965.
5. Cornwell, H. J. C., Weir, Arne, R., and Follett, E. A. C. A herpes virus infection of pigeons. *Vet. Rec.* 81 :267, 1967.
6. Bickford, A. A. Inclusion body hepatitis updated. *Poult. Dig.* 33: 28-30, 1974.
7. Howell, J. D., MacDonald, W., and Christian, R. G. Inclusion body hepatitis in chickens. *Call. Vet. J.* 11 :99-101, 1970.
8. Laursen-Jones, A. P. Inclusion body hepatitis. *Vet. Rec.* 90: 16G, 1972.
9. Giorgetti, G., Bertocchi, D., and Fabris, G. Study on inclusion body hepatitis in broilers". *Vet. it. Terano* 23: 237-240, 1972.
10. Antillón, A., and Lucio, B. Inclusion body hepatitis in Mexico. *Avian Dis.* 19: 195-197, 1975.
11. Wells, R. J. H., and Harrigan, K. A fatal adenovirus infection of broiler chickens: inclusion body hepatitis. *Vet. Rec.* 94:481-482, 1974.
12. Kohler, Von H. und Lore Hromatka-Vasicek. Einshlubkörper-Hepatitis bei Broilem in Osterreich (Vorläufige Mitteilung). *Wien. Tierärztl. Mschr.* 61 :90-95, 1974.
13. Hoffmann, R., Dorn, P., und Dangschat, H. Ein neues durch Panmyelopathie. Anämie und hämorrhagische Diathese gekennzeichnetes Syndrom beim Huhn. *Zbl. Vet. Med. B.* 20:741-746, 1973.
14. Ahne, Von W., Dorn, P., Hoffman, R., Wessling E., und Wiedemann, H. Zur Charakterisierung des Erregers der sogenannten Einshlubkörperchen hepatitis beim Huhn. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 81: 297-324, 1974.

15. Pettit, J. R., and Carlson, H. C. Inclusion body hepatitis in broiler chickens. *Avian Dis.* 16: 858-863, 1972.
16. Fadly, A. M., and Winterfield, R. W. Isolation and some characteristics of an agent associated with inclusion body hepatitis, hemorrhages, and aplastic anemia in chickens. *Avian Dis.* 17: 182-193, 1973.
17. Franco, E. D., G. Lussieri, L. Berthiaume, S. Cloutier et P. Marois. Hépatite à corps d'inclusion chez le poulet de grill isolément d'un agent viral. *Can. Vet.J.* 15: 144-147, 1974.
18. Bickford, A. A., Krasovich, M. A., and Fadly, A. M. Demonstration of virus particles in hepatic cells of chickens with inclusion body hepatitis. *Avian Dis.* 17:629-638, 1973.
19. Wilner, B. I. . *A classification of the major groups of human and other animal viruses.* 4th Ed. Burgess Publishing Co., p. 121, ) 967.
20. Luginbuhl, R. E. *Conferencia sobre adenovirus y reovirus de las aves*, sustentada para la ANECA en la FMVZ de la UNAM, México, D. F. el día 13 de diciembre de 1974.
21. Bickford, A. A. Inclusion body hepatitis in chickens. *Poult. Dig.* 31: 345-347, 1972.
22. Montgomery, R. D. Certain parameters of the virus-serum neutralization response of chickens exposed to an inclusion body hepatitis virus agent. *Avian Dis.* 18:623-626, 1974.
23. Macpherson, I., McDougall, J. S., and Laursen-Jones, A. P. Inclusion body hepatitis in a broiler integration. *Vet. Rec.* 95: 286-289, 1974.