

DETECCIÓN DE ANEMIA Y ANTICUERPOS SÉRICOS A ANEMIA INFECCIOSA AVIAR EN POLLOS DE ENGORDE EN LOS MUNICIPIOS MARA Y LA CAÑADA DE URDANETA DEL ESTADO ZULIA

Seric Antibody and Anemia Detection in Broiler to AIA in Mara and La Cañada de Urdaneta Farms of the Zulia State

Saulo H. Urdaneta V.

Luis F. Andrade V.

Omaira Parra

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia
Apartado 15252, Maracaibo 4005-A, Estado Zulia, Venezuela

RESUMEN

Fueron examinados 149 pollos de engorde provenientes de granjas comerciales de los Municipios Mara y La Cañada de Urdaneta del Estado Zulia, con la finalidad de detectar la presencia de anticuerpos séricos frente al agente de la Anemia Infecciosa Aviar (A.I.A) y anemia como signo clínico de la enfermedad. El 68.5% (102/149) de los sueros probados por ELISA, mostraron anticuerpos con títulos mayores o iguales a 4 (Título ≥ 4) en dilución 1:16 considerados positivos para esta prueba. Donde el 87.2% de los sueros positivos pertenecen a pollos cuyas edades oscilaron entre 6 y 14 días de edad. La Técnica del Microhematocrito, reveló que sólo el 13.4% (20/149) de las aves examinadas presentaron anemia con hematocritos inferiores a 27%, de las cuales, el 90% (18/20) mostraron anticuerpos y edades entre 6 y 14 días, situación que permite suponer la presencia en estas aves de la forma clínica de la enfermedad. La existencia de una correlación negativa altamente significativa ($r > 0.5$; $P \leq 0.05$) entre la edad y la presencia de anticuerpos frente a la A.I.A, demuestran la susceptibilidad de las aves jóvenes a contraer y padecer la enfermedad y/o la persistencia de los anticuerpos maternos en la progenie hasta la tercera semana de edad. Los resultados de esta investigación realizada por primera vez, demuestran evidencias serológicas de la A.I.A en la región analizada y permiten suponer que la forma subclínica de esta enfermedad puede estar afectando un alto porcentaje de nuestra población avícola.

Palabras clave: Anemia infecciosa aviar, anticuerpos, hematocritos.

ABSTRACT

Seric Antibody and Anemia detection in broiler to AIA in Mara and La Cañada de Urdaneta Farms of the Zulia State. One hundred and forty nine broiler from Mara and La Cañada de Urdaneta commercial farms of the Zulia State were tested for presence of avian anemia infection (A.I.A) serum antibodies and anemia as a clinical sign of disease. From these serums, 68,5% (102/149) showed a antibodies title ≥ 4 (1:16 dilution) to ELISA test which is considered positive for it. The 87.2% positive sera belong to chickens between 6 and 14 days of age. Microhematocrit technique showed that only 13.4% (20/149) of tested birds had anemia (hematocrits $< 27\%$). From these 90% (18/20) had antibodies against A.I.A and 6 to 14 days of age. All these factors permit to think of clinical disease is present in the birds. A highly significant negative correlation ($r < 0.5$; $P \leq 0.05$) between age and presence of antibodies against A.I.A was found in the birds under testing which shows chicken sensitivity to contract and suffer from the disease and/or persistence of maternal antibodies until they are three weeks old. The results shows serologic evidence of A.I.A by first time in the region analyzed and suggesting that the subclinical form of the disease may be affecting a large percentage of the country's poultry farms.

Key words: Avian infections anemia, antibodies, hematocrit.

INTRODUCCIÓN

Anemia Infecciosa Aviar (A.I.A) o Anemia Infecciosa de los Pollos (A.I.P), fue descrita inicialmente en Japón por Yuasa [26]. Caracterizada por producir anemia severa asociada con

valores de hematocritos bajos (< 20 %), marcada aplasia de médula ósea, atrofia de timo y bolsa de Fabricio, hepatomegalia y hemorragias intramusculares y subcutáneas [3, 4, 16, 20, 22, 26]. Es causada por un pequeño virus ADN de cadena simple, icosaédrico y genoma circular con un tamaño de 19-26 nm, carente de envoltura y altamente resistente a tratamientos físicos y químicos, parecido a un parvovirus pero hasta ahora no clasificado taxonómicamente [1, 9, 14, 16, 23, 26, 31]. El carácter inmunosupresor de este virus, provoca en las aves afectadas por esta enfermedad, mayor susceptibilidad a contraer infecciones secundarias bacterianas y fungales, incrementando los índices de mortalidad, en especial cuando actúa en infecciones duales con otros virus inmunosupresores como son: el virus de la enfermedad de Marek (MDV), el virus de la enfermedad Infecciosa de la Bursa (IBDV) y de los Reovirus aviares.

Actualmente esta enfermedad es de incidencia mundial, ya que la detección de anticuerpos séricos por las técnicas de Seroneutralización, Inmunofluorescencia indirecta, Elisa y el aislamiento del agente causal, han sido reportados en varios países, en diferentes explotaciones avícolas: Japón (Yuasa, N y Otaki, Y), Alemania Occidental (Vielitz, E y Landgraf, H), Suecia (Engstrom, B.E), Estados Unidos (Rosemberger & Cloud, Goodwin, M.A, McNulty, M.S, Lucio, B), Gran Bretaña, Australia, Holanda (McNulty, M.S) y en Brasil (Brentano, L)[1, 7, 12, 13, 14, 16, 19, 21, 22, 24, 25, 26].

En Venezuela, se presumía la existencia de esta enfermedad, debido a que algunos de los países donde se ha reportado la enfermedad, han sido sus proveedores por mucho tiempo, tanto de huevos (fértiles y libres de patógenos para la industria), como de aves (abuelas y/o reproductores) y de biológicos en general, específicamente vacunas. Es la importación por parte de la industria, de estos insumos infectados o contaminados, la vía o la forma como pudo haber ingresado la enfermedad a nuestro territorio [12, 15, 16]. Sin embargo hasta los momentos no se había realizado ningún reporte o estudio sobre la misma en el estado Zulia ni en Venezuela. Muchos de los problemas sanitarios y productivos que se están presentando en las explotaciones avícolas, pudieran estar asociadas a la presencia de esta enfermedad en combinación con otras enfermedades vírales y bacterianas. Entre los problemas más comunes se puede citar: El aumento de la mortalidad en aves jóvenes, bajas ganancias de peso, alta conversión alimenticia, cuadros de inmunosupresión que aumentan las infecciones secundarias y los costos de tratamientos por lote; lo cual trae como consecuencias pérdidas económicas significativas a la industria, como han sido reportado en la forma clínica y subclínica de la enfermedad [11, 15].

Debido a limitantes en la región para lograr el aislamiento e identificación virológica del agente causal, el presente estudio se abocó a la detección de anticuerpos séricos mediante la prueba de ELISA [8, 24], y de anemia como signo clínico de la enfermedad midiendo valores de hematocritos [5, 6, 20, 23, 26], con la finalidad de aportar evidencias serológicas de la en-

fermedad y detectar sí puede estar afectando en forma clínica o subclínica a la población avícola regional.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en granjas avícolas destinadas a la cría de pollos de engorde, ubicadas en los municipios Mara y La Cañada de Urdaneta del estado Zulia.

Se utilizaron 149 pollos de diferentes razas, de ambos sexos y con edades que oscilaban entre 6 y 31 días, sometidos a similar programa sanitario y de alimentación, acordes con la zona y el tipo de explotación.

La producción de pollos de estos Municipios para el año 1994 era desconocida, siendo la población para el año anterior de 2.000.000 a 2.300.000, según el censo oficial realizado en 1993 por el Departamento de Ganadería y Estadísticas del Ministerio de Agricultura y Cría del estado Zulia [10].

El tamaño de la muestra fue calculada mediante la ecuación que permite determinar el tamaño óptimo de la muestra, cuando se desconoce la población y la prevalencia de la enfermedad de la zona y utilizando un nivel de confianza de 95% y un error de muestreo del 8%. La ecuación es la siguiente:

$$n = \frac{Z_{\alpha} / 2^2}{4 d^2}$$

El tamaño de la muestra (n) para la investigación fue tomada de 42 granjas de ambos municipios, utilizando un Muestreo por Conglomerado, siendo el conglomerado el galpón, muestreando 370 galpones con una población total de 1.844.000 pollos de engorde.

Detección de anticuerpos séricos

Las muestras de sangre para la obtención de los sueros, fueron obtenidas sin anticoagulante, mediante punción cardíaca, oscilando su volumen entre 2 y 3 ml.

Los anticuerpos se detectaron por la prueba de ELISA para la A.I.A [8,24]. Títulos ≥ 4 dilución (1:16) se consideraron positivos y sueros con valores < 4 negativos, ya que estos niveles pueden aparecer por reacciones inespecíficas.

Valores de hematocrito

El valor del hematocrito utilizado para la determinación de anemia, se midió por el Método del Microhematocrito, para ello se tomó la muestra de sangre mediante la punción de la vena alar, utilizándose lancetas y llenando tubos capilares heparinizados. Las aves se reportaron anémicas cuando revelaron valores de hematocritos inferiores a 27% [5, 6, 20, 23, 26, 28].

Método Estadístico

Para el procesamiento estadístico de los resultados se utilizó el paquete computarizado de procesamiento estadístico

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

Títulos de anticuerpos*	Nº de aves (n = 149)	Porcentaje
< 4	47	31.5
4	22	14.8
5	11	7.4
6	05	3.4
7	31	20.8
8	11	7.4
9	20	13.4
10	02	1.3

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

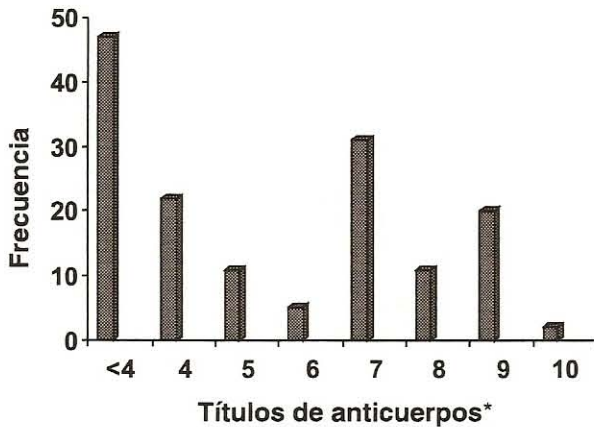


FIGURA 1. DISTRIBUCIÓN DE TÍTULOS DE ANTICUERPOS CONTRA LA A.I.A OBTENIDOS POR ELISA EN POLLOS DE

TABLA II
DISTRIBUCIÓN POR EDAD DE LOS POLLOS DE ENGORDE EXAMINADOS

Edad (días)	Nº de aves (n = 149)	Porcentaje
06	10	6.7
07	23	15.4
08	10	6.7
10	14	9.4
11	02	1.3
12	16	10.7
13	12	8.1
14	18	12.1
15	04	2.7
16	07	4.7
17	04	2.7
18	01	0.7
19	02	1.3
25	10	6.7
29	07	4.7
30	05	3.4
31	04	2.7

SAS. La relaciones entre la presencia de anticuerpos, edad y valores de hematocritos se verificó utilizando el Análisis de Correlación de Pearson. Los resultados se presentaron en Tablas y Figuras.

RESULTADOS

Detección de Anticuerpos Séricos

Anticuerpos contra el virus de la A.I.A fueron detectados por la prueba de ELISA en 102 de 149 sueros examinados para un total de 68.5%, los cuales mostraron títulos ≥ 4 (Dilución 1:16), con un rango de 4-10 y un título promedio de 5.51 TABLA I, FIG. 1.

Edad

La edad de las aves examinadas oscilaron entre 6 y 31 días, con promedio de 14 y una desviación estándar de 7.25. El 70.47% (105/149) de las aves, presentaron edades entre 6 y 14 días y un 29.53% (44/149), entre 15 y 31, TABLA II.

Valores de Hematocritos

Los valores de hematocritos oscilaron entre 23 y 39%, con promedio de 30.46% y una desviación estándar de 3.22. Se detectaron 20 aves con valores de hematocritos < 27%, las cuales se reportan anémicas y representan el 13.4% del total de muestras examinadas y el 86.6% restante (129 aves) mostraron hematocritos normales (≥ 27%), TABLA III.

Municipio

Del municipio Mara se muestrearon 96 aves, 54 de ellas presentaron anticuerpos, para un 56.25%. Del municipio La

TABLA III
VALORES DE HEMATOCRITOS* EN LOS POLLOS DE ENGORDE EXAMINADOS

Hematocrito (%)	Nº de aves (n = 149)	Porcentaje
23	1	0.7
24	1	0.7
25	2	1.3
26	16	10.7
27	4	2.7
28	14	9.4
29	23	15.4
30	23	15.4
31	17	11.4
32	14	9.4
33	7	4.7
34	7	4.7
35	8	5.4
36	5	3.4
37	3	2.0
38	2	1.3
39	2	1.3

*Valor de Hematocritos < 27% se considera Anémico.

TABLA IV
PRESENCIA DE ANTICUERPOS SÉRICOS CONTRA LA A.I.A EN POLLOS DE ENGORDE, DISTRIBUIDOS POR MUNICIPIO

Municipio	Nº de Aves Probadas	Porcentaje	Nº de Aves Positivas	Porcentaje Mcpio	Porcentaje Total
Mara	96	64.4	54	56.2	36.3
La Cañada de Urdaneta	53	35.6	48	90.0	32.2
Total	149	100.0	102		68.5

TABLA V
CORRELACIÓN ESTADÍSTICA* ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA LA A.I.A, EDAD Y VALORES DE HEMATOCRITOS

Variable	Coficiente	Significancia
Edad	-0.620	0.0001
Hematocritos	-0.180	0.027

* Análisis de Correlación de Pearson (SAS).

TABLA VI
CORRELACIÓN NEGATIVA ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS* A A.I.A Y LA EDAD DE LAS AVES

Número de Aves (n = 149)	Rango de Edad (Días)	Edad Promedio (Días)	Desviación Estándar	Títulos de Anticuerpos
47	07 - 31	20.85	7.87	<4
22	06 - 25	13.36	3.48	4
11	07 - 16	12.27	2.45	5
06	07 - 17	11.40	4.39	6
31	07 - 30	11.06	4.75	7
11	06 - 17	08.81	3.97	8
20	06 - 14	08.25	2.63	9
02	07 - 08	07.50	0.70	10

* Agrupados por niveles de anticuerpos.

Cañada de Urdaneta, se muestrearon 53 aves, resultando 48 positivas para un 90%. Sin embargo, el 52.9% del total de las aves positivas (54/102) son del municipio Mara y el 47.1% (48/102) del municipio La Cañada de Urdaneta, TABLA IV.

Análisis de correlación

La correlación entre la presencia de anticuerpos contra el virus de la A.I.A y la edad de las aves, dio como resultado un coeficiente de correlación $r = -0.620$ y una significancia $P = 0.0001$, demostrando la existencia de una relación negativa altamente significativa ($r > 0.5$), ($P \leq 0.05$) TABLAS V, VI y FIG. 2. Un alto porcentaje de las aves positivas 87.2% (89/102), mostró edades que oscilaron entre 6 y 14 días y sólo un 12.8% (13/102) entre 15 y 31. Por su parte, en las aves negativas la situación fue inversa 65.96% (31/47) tenían edades entre 15 y 31 días y un 34.04% (16/47) entre 6 y 14, TABLA VII.

La correlación entre la presencia de anticuerpos y los valores de hematocritos, arrojó un coeficiente de correlación $r = -0.180$ y una significancia $P = 0.027$, TABLA V. En esta rela-

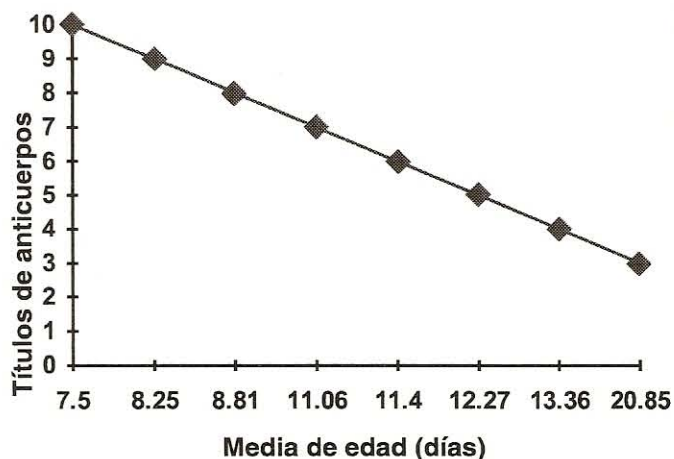


FIGURA 2. CORRELACIÓN NEGATIVA ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA A.I.A Y LA EDAD DE LAS AVES.

ción se observó que del total de aves examinadas, sólo un 12.08% (18) presentaron anticuerpos y anemia (Hctos < 27%), el 56.38% (84) eran positivas pero no anémicas (Hctos ≥ 27%),

TABLA VII
RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA A.I.A Y LA EDAD DE LAS AVES

Edad (días)	≥4	%	<4	%
6-14	89	87.2	16	34.1
15-31	13	12.8	31	65.9
Total	102	100.0	47	100.0

Tabla VIII
RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPO CONTRA A.I.A Y LOS VALORES DE HEMATOCRITOS*

Presencia de Anticuerpos	Valores de Hematocritos (%)		Hematocritos promedios (%)	Porcentaje
	< 27	≥ 27		
+	18	-	25.6	12.08
+	-	84	31.3	56.38
-	2	-	26.0	1.34
-	-	45	30.9	30.20

* Valores de Hematocritos inferiores a 27% (Anemia).

TABLA IX
RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA ANTICUERPOS CONTRA LA A.I.A, ANEMIA Y LA EDAD DE LAS AVES

Presencia de Anticuerpos	Edad (días)		Medias de Hematocrito (%)	Frecuencia	Porcentaje
	6-14	15-31			
+	18	-	25,4	18/20	90
-	1	1	26,0	2/20	10

el 30.20% (45) eran negativas sin anemia y sólo el 1.34% (2) fueron negativas con anemia, TABLA VIII.

Por otra parte, se detectó que el 90% de las aves anémicas (18/20) presentaron anticuerpos contra la A.I.A y edades que oscilaron entre 6 y 13 días, con promedio de 9, TABLA IX.

No se encontró correlación alguna entre la edad y los valores de hematocritos, obteniéndose un coeficiente de correlación $r = 0.120$ y una significancia $P = 0.143$.

DISCUSIÓN

Se detectaron anticuerpos séricos contra el agente de la A.I.A por la prueba de ELISA en 102 pollos de engordes, de un total de 149 examinados para un 68.5% de aves seropositivos. El 70.5 % de los sueros analizados (105/149) procedían de pollos con edades que oscilaron entre 6 y 14 días, debido a que el muestreo fue dirigido hacia este rango de edad, por ser ese periodo el de mayor susceptibilidad a contraer y padecer la forma clínica de la enfermedad [23]. El origen de estos anticuerpos es infeccioso, ya que el contacto con una cepa vacunal está descartado debido a que en el país no se ha reportado oficialmente la enfermedad y por ende, la vacunación de la misma no se lleva a cabo como una medida de control y prevención. Por lo tanto, la presencia de anticuerpos en estas aves jóvenes (1-4 semanas de edad) demuestra que existe en estos municipios un alto porcentaje (68.5%) que están infecta-

das con la A.I.A o que presentan anticuerpos maternos contra esta enfermedad, debido a que estos anticuerpos persisten en la progenie de reproductoras infectadas por lo menos hasta la tercera semana de edad [12,14,27,28]. Esta situación denota que la infección pudo haber ocurrido en estas aves examinadas, durante la primera o segunda semana de edad a nivel de campo (transmisión horizontal), o en su defecto, estuvo presente en sus progenitoras en la etapa de recría o producción, lo cual explicaría la presencia de los anticuerpos de origen maternal.

La enfermedad en aves reproductoras y en general en pollos o pollas con más de dos semanas de edad es subclínica [7,11]. Durante la infección no manifiestan ningún signo clínico, ni hay efectos sobre la producción, ni la fertilidad. Seroconvierten a partir de la segunda semana postinfección y se mantienen seropositivas por lo menos hasta 6 meses, periodo en el cual, de estar las aves en producción, pueden transferir anticuerpos a sus progenies [7,9,21]. Sin embargo, es importante resaltar que de ocurrir la infección durante la etapa de producción o al inicio de la misma y no durante la etapa de recría, se produce una transferencia del virus a un bajo porcentaje de sus embriones (transmisión vertical) [7,9].

La incubación de los embriones de estas reproductoras, da lugar al nacimiento de pollitos no infectados (susceptibles) y de pollitos infectados que pueden padecer la forma clínica de la enfermedad a los 8-14 días de edad, con la posterior disseminación del virus a nivel de campo por medio de su excreción

fecal y el inicio de la transmisión horizontal en las aves susceptibles [7,9,18,21,22].

Luego de la seropositividad de estas reproductoras, los pollitos pueden nacer no infectados con anticuerpos maternos; pero, permanecen susceptibles a la infección lateral, no manifiestan signos clínicos (forma subclínica) y excretan rápidamente el virus cuando se infectan [12,18,23,26,29].

Ambos casos pueden estar ocurriendo en nuestra población avícola, donde aves reproductoras pueden estar infectándose con anemia infecciosa en la etapa de producción o cerca de ésta, con la consecuente transferencia vertical del virus a la progenie y posteriormente, de anticuerpos maternos, lo cual puede estar originando a nivel de campo cuadros clínicos y subclínicos de la enfermedad, que pasan desapercibidos pero que pueden estar causando pérdidas económicas significativas a la industria, los cuales han sido reportadas cuando se comparan parámetros productivos de aves afectada por esta enfermedad y lotes libres [11,15], pérdidas que pueden ser mayores de ocurrir infecciones duales con otros virus inmunosupresores tales como el de la enfermedad de Marek, el de la Enfermedad Infecciosa de la Bolsa de Fabricio y los Reovirus aviarios [2,3,19,20,21,23,25,28] donde los efectos protectores de la edad y los anticuerpos maternos son superados y hay un incremento en la severidad de la enfermedad [17,26,30].

El alto porcentaje de aves positivas con edades entre 6 y 14 días 87.2% (89/102) y de las negativas 65.9% (31/47) con edades entre 15 y 31, TABLA VII demostró una correlación negativa altamente significativa ($r > 0.5$; $P < 0.05$), donde a medida que la edad aumenta, los títulos de anticuerpo disminuyen hasta su negatividad, TABLA VI; permitiendo de esta manera confirmar la susceptibilidad de las aves jóvenes a contraer y padecer la enfermedad o la persistencia de los anticuerpos maternos hasta la tercera semana de edad. La correlación detectada entre la presencia de anticuerpos y los valores de hematocritos ($r > 0.5$; $P < 0.05$), permitió demostrar que un 56.38% (84/149) de las aves examinadas, presentaban anticuerpos maternos contra la A.I.A y / o sufrían la forma subclínica de la enfermedad, debido a que eran seropositivas pero no mostraban anemia como signo clínico, y que sólo un 12.08% (18/149) de ellas si podían estar infectadas y padeciendo la forma clínica de la enfermedad, ya que mostraban anticuerpos, anemia y edades que oscilaron entre 6 -14 días, periodo en el cual se pueden manifestar los primeros síntomas clínicos de la enfermedad [5,22,23,26] TABLAS VII y IX.

En consecuencia, los resultados de este estudio aportan evidencias serológicas de la Anemia Infecciosa Aviar en estas dos regiones analizadas, donde la presencia de la misma es de alta probabilidad; sin embargo, su confirmación definitiva sólo será posible mediante el aislamiento y la identificación de su agente causal.

CONCLUSIONES

Existe un alto porcentaje (68.5%) de aves que presentan anticuerpos contra la A.I.A en estos municipios, los cuales pueden derivarse de una infección a nivel de campo o por transferencia de inmunidad materna. Sin embargo la probabilidad de infección en estas aves es alta ya que el virus es de transmisión vertical.

Un alto porcentaje (56.38%) de la población avícola puede estar siendo afectado por la forma subclínica de la A.I.A y sólo un bajo porcentaje (12.08%) por la forma clínica.

Existe una correlación negativa altamente significativa entre la edad y la presencia de anticuerpos contra la A.I.A, a través de la cual se pueden confirmar:

- a. La mayor susceptibilidad de las aves jóvenes con edades de 7 a 14 días a contraer y padecer la enfermedad.
- b. La persistencia de los anticuerpos maternos en la progenie hasta la tercera semana de edad.

Se demuestran evidencias serológicas contra el agente de la A.I.A en pollos de engorde procedentes de los municipios Mara y La Cañada de Urdaneta del estado Zulia.

RECOMENDACIONES

Realizar estudios serológicos similares en otras regiones del estado y del país, en pollos de engordes y en aves reproductoras, comparando parámetros productivos, donde se detecte la infección del agente y su efecto sobre la producción.

Debido el alto porcentaje de aves que pueden estar siendo afectadas por la A.I.A en la región y la inexistente aplicación de medidas para su control y prevención, se recomienda a las integraciones avícolas, incrementar las medidas de control de los otros agentes inmunosupresores conocidos como son, el virus de la Enfermedad Infecciosa de la Bolsa de Fabricio, el de la Enfermedad de Marek y de los Reovirus, etc., que puedan actuar en forma sinérgica con el virus de la A.I.A.

Tomar las medidas para evitar la adquisición aves y biológicos (vacunas) contaminadas con el virus de la A.I.A, exigiendo a sus proveedores el certificado libre de A.I.A.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BRENTANO, L.; MORE, N.; WENTZ, I.; CHAUDRATILLEKE, D.; SCHAT, K.A. Isolation and identification of chicken infectious anemia virus in Brazil. **Avian Diseases**. 35: 793-800. (1991)
- [2] ENGSTROM, B.E. Blue wing disease of chickens: isolat of avian reovirus & chicken anemia agent. **Avian Pathology**. 13: 23-32. (1998a)

- [3] ERGSTROM, B.E; FOSSUM, O.; LUTHMAN, M. Blue wing disease of chickens: experimental infection with dermatitis in broiler chicken anemia agent and avian reovirus. **Avian Pathology**. 17: 51-62. (1988b).
- [4] GOODWIN, M.A, BROWN, J.; MILLER, S.L; STEFFENS, W.L.; WALTMAN, W.D Infectious anemia caused by a parvovirus-like virus in Georgia broilers. **Avian Diseases**. 33: 438-445. (1.989).
- [5] GOODWIN, M.A; STEFFENS, W.L.; DAVIS, J.F.; BROWN, J., LATIMER, K.S.; DISKSON,T.G. Diagnosis of infections by the so called chicken anemia: Anemia and Direct Transmision Electron Microscopic detection of virus. **Avian Diseases**. 35: 860-871. (1991).
- [6] GOODWIN, M.A.; BROWN, J. Inability of so called chicken anemia agent (CAA) infections to be diagnosed by anemia and hematopotent organ atrophy alone. **Avian Diseases**. 36: 353-355. (1992).
- [7] HOOP, R.P Persistence and vertical transmission of chicken anemia agent in experimentally infection laying hens. **Avian Pathology**. 21: 493-501.(1992).
- [8] LAMICHHANE, C.M; SNYDER, D.B; GIRSCHICK, S.; GOODWIN, M.A.; MILLER, L. Development and comparison of serologic methods for diagnosing chicken anemia virus infection. **Avian Diseases**. 36: 725-729. (1992).
- [9] LUCIO, B.; SCHAT, K.A.; SHIVAPRASAD, H.L. Identification of the chicken anemia agent, reproduction of the disease and serological surveys in the United States. **Avian Diseases**. 34: 146-153. (1990).
- [10] MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRIA (MAC). **Censo de Granjas Avícolas**. Municipio Mara, Urdaneta. Departamento de Ganadería y Estadística. Pag 1,2,3. (1993).
- [11] MVILROY, S.G.; MCNULTY, M.S; BRUCE, D.W.; SMYTH, J.A; GOODALL, E.A.; ALCORN, M.J. Economic effects of clinical chicken anemia agent infection in broiler flocks. **Avian Diseases**. 36: 566-574. (1992).
- [12] MCNULTY, M.S; CONNOR, T.J.; MCNEILLY, F.; KIRKPATRICK, K.S.; MCFERRAN, J.B. A serological survey of domestic poultry in the United Kingdom for antibody to chicken anemia agent. **Avian Pathology**. 17: 315-324. (1988).
- [13] MCNULTY, M.S; CONNOR, T.J.; MCNEILLY, F. A survey of specific pathogen free chicken flocks for antibodies to chicken anemia agent, avian nephritis virus and group a rotavirus. **Avian Pathology**. 18: 215-220. (1989a).
- [14] MCNULTY, M.S.; CONNOR, T.J.; MCNEILLY, F.; SPACKMAN, D. Chicken anemia agent in the United States: isolation of the virus and detection the antibody in broiler breeder flocks. **Avian Diseases**. 33: 691-694. (1989b).
- [15] McNULTY, M.S.; McLROY, S.G.; BRUCE, D.W.; TODD, D. Economic effects of subclinical chicken anemia agent infection in broiler chickens. **Avian Diseases**. 35: 263-268. (1991a).
- [16] MCNULTY, M.S.; CONNOR, T.J.; MCNEILLY, F.; MCLOUGHLIN, M.F.; KIRKPATRICK, K.S. Preliminary characterization of isolates of chicken anemia agent from the United Kingdom. **Avian Pathology**. 19: 67-73. (1991b).
- [17] MCNULTY, M.S.; CONNOR, T.J.; MCNEILLY, F. Influence of virus dose on experimental anemia due to chicken anemia agent. **Avian Pathology**. 19: 167-171. (1991c).
- [18] MCNULTY, M.S. Chicken anemia agent: a review. **Avian Pathology**. 20: 187-203. (1991).
- [19] OTAKI, Y.; NUNOYA, T.; TAJIMA, M.; TAMADA, H.; NOMURA, Y. Isolation of chicken anemia agent and Marek's disease virus from chicken vaccinated with turkey herpesvirus and lesions induced in chicks by inoculating both agents. **Avian Pathology**. 16: 291-306. (1987).
- [20] OTAKI, Y.; NUNOYA, T.; TAJIMA, M.; KATO, A.; NOMURA, Y. Depression of vaccinal inmunity to Marek Disease by infection with ckicken anemia agent. **Avian Pathology**. 19: 167-171. (1988).
- [21] POPE, C.R. Chicken anemia agent. **Inmunology e Immunopatology Veterinaryb** 30: 51-65. (1991).
- [22] ROSENBERGER, J.; CLOUD, S. The isolation and characterization of chicken anemia agent (CAA) from broiler in the United States. **Avian Diseases**. 33: 707-713. (1989a).
- [23] ROSENBERGER, J.; CLOUD, S. The effects of age, route of exposure, and coinfection with infectious bursal disease virus on the pathogenicity and transmissibility of chicken anemia egent (CAA). **Avian Diseases**. 37: 753-759. (1989b).
- [24] TODD, D., MACKIE, D.P., MAWHINNEY, K.A., CONNOR, T.J., MCNEILLY, F.; MCNULTY, M.S. Development of ELISA to detect serum antibody to chicken anemia agent. **Avian Diseases**. 34: 359-363. (1990).
- [25] VIELITZ, E.; LANDGRAF, H. Anemia-dermatitis of broilers: Field observations on its occurrence, transmission and prevention. **Avian Pathology**. 17: 113-120. (1988).
- [26] YUASA, N.; TANIGUCHI, T.; YOSHIDA, I. Isolation and characteristics of an agent inducing anemia in chicken. **Avian Diseases**. 23: 336-385. (1979).

- [27] YUASA, N.; NOGUCHI, T.; FURUTA, K.; YSHIDA, I. Maternal Antibody and its effect on the susceptibility of chicks to chicken anemia agent. **Avian Diseases**. 24: 197-201. (1980a).
- [28] YUASA, N.; TANIGUCHI, T.; NOGUCHI, I.; YOSHIDA, I. Efeccts of infectious bursal diasese virus infection on incidence of anemia by chicken anemia agent. **Avian Diseases**. 24: 202-209. (1980b).
- [29] YUASA, N.; IMAI, K. Pathogenicity and Antigenicity of eleven isolates of chicken anemia agent (CAA). **Avian Pathology**. 15: 639-645. (1986).
- [30] YUASA, N.; IMAI, K.; NAKAMUR, K. Pathogenicity of chicken anemia agent in bursectomized chicken. **Avian Pathology**. 17: 363-369. (1988).
- [31] YUASA, N. Effect of chemicals on the infectivity of chicken anemia virus. **Avian Diseases**. 21: 315-319. (1992).