

Estudio histopatológico de la enfermedad de Newcastle en casos experimentales

I. MENÉNDEZ, J. J. MARTÍNEZ Y T. VERDURA

*Dptos. de Patología y Virología, del Centro Nacional de Salud Animal,
La Habana, Cuba*

Recibido: 18 de marzo de 1977

Recibido: 22 de septiembre de 1977

Recibido: 12 de septiembre de 1978

ABSTRACT. An Histopathological study has been made in 100 chickens of one and two weeks old after inoculation with Newcastle Disease Virus by different Ways (oral, nasal, ocular and tracheal). The lesions were mainly encountered in trachea with hiperplastic epithelial reaction and acute inflamation. Others histologic features consisted of a proliferation of the nodules lymphofollicular into parenquimatous organs. Encephalitis was a picture presented in the most advanced stages.

RESUMEN. Se realizó un estudio histopatológico en 100 pollos de una y dos semanas de edad, inoculados con una cepa Velógena del virus de la enfermedad de Newcastle por diferentes vías (oral, nasal, traqueal y ocular). Las lesiones fueron encontradas principalmente en tráquea con respuestas inflamatorias agudas e hiperplasia epitelial. Otras alteraciones tisulares consistieron en proliferaciones de nódulos linfoculares en los órganos parenquimatosos. La encefalitis se presentó en los estadios más avanzados de la enfermedad. El análisis estadístico de los resultados mediante la prueba de X^2 demostró que no existe dependencia entre las vías de infección empleadas y los hallazgos lesionales.

INTRODUCCION

La enfermedad de Newcastle es reconocida mundialmente como una de las enfermedades más temibles para la Indust. Avícola y de mayor distribución geográfica.

Por su significación económica esta enfermedad ha sido bastante estudiada en el mundo; no obstante, se mantienen las investigaciones en

muchos países, debido a las características que la misma ha tomado en las dos últimas décadas destacándose nuevos reportes en algunos países y en otros un incremento en la incidencia de las epizoóticas según confirman Lancaster y Alexander, (1975). A esto se suma el peligro potencial que la enfermedad representa por el aumento en el número de especies susceptibles reportadas por Friend, (1970); Keymer, (1971); Vindervagel, (1972); Dory, (1973); Tozzini, (1973) y Cavilli, (1974) y por las características de los nuevos patotipos del virus aislados con una gran patogenicidad.

A partir del año 1973, nuevas cepas altamente patógenas han sido aisladas en diferentes países incluyendo al nuestro, las cuales tienden a producir un predominio de afecciones respiratorias que regularmente provocan la muerte en las aves afectadas antes de que lleguen a presentarse las clásicas afecciones nerviosas descritas en esta entidad.

El presente estudio fue realizado en casos experimentales con el fin de caracterizar el cuadro morfológico producido por una cepa Velógena aislada de casos de campo en nuestro medio y al mismo tiempo conocer la relación entre las alteraciones tisulares producidas por este virus y las vías de infección.

MATERIALES Y METODOS

Se realizaron dos experimentos con un total de 100 pollos pertenecientes a la raza Plymouth Rocks, de una y dos semanas de edad, los cuales estaban clínicamente sanos al iniciar los experimentos.

Se utilizó una cepa Velógena del virus de la enfermedad de Newcastle aislada de casos de campo, con patogenicidad probada en embrión de pollo.

Se inoculó en cada caso 0,1 ml de una suspensión viral parcialmente purificada conteniendo 1000 DLEP_{50/ml} por 4 vías naturales de infección con el siguiente esquema:

Experimento I.

Con 50 pollos de una semana de edad.

10 pollos inoculados por vía Intratraqueal (IT)

10 " " " " Intranasal (IN)

10	„	„	„	„	Intraocular	(IO)
10	„	„	„	„	Oral	(O)
6	„	de control	en el foco			(CF)
4	„	„	„	separados del foco		(CS)

Experimento II.

Con 50 pollos de dos semanas de edad.

10	pollos	inoculados	por vía	Intratraqueal	(IT)	
10	„	„	„	„	Intranasal	(IN)
10	„	„	„	„	Intraocular	(IO)
10	„	„	„	„	Oral	(O)
7	„	de control	en el foco			(CF)
3	„	„	„	separados del foco		(CS)

Se procedió al sacrificio en la medida que la sintomatología clínica evolucionaba aplicando la técnica clásica para autopsia de aves.

Se tomaron muestras de encéfalo, tráquea, pulmón, hígado, bazo, proventrículo y válvula íleocecal para su estudio histopatológico se fijaron en formalina neutra al 10% y se procesaron para su inclusión en parafina. Los cortes histológicos se colorearon con la técnica de Hematoxilina Eosina. Se empleó la prueba de X^2 para el análisis estadístico de los resultados.

RESULTADOS

En los dos experimentos la sintomatología clínica comenzó entre 48 y 96 horas post-inoculación. Los pollitos presentaban estados de tristeza y somnolencia; los trastornos respiratorios fueron notables y se manifestaron frente a las 4 vías de infección, caracterizados por una marcada disnea inspiratoria con ruidos traqueales, secreción catarral por los orificios nasales y el pico.

La sintomatología nerviosa fue más escasa y se presentó en estadios finales. La misma consistió en marcha insegura, trastornos del equili-

brio y posiciones anormales de la cabeza (tortícolis y opistotonos). Síntomas digestivos sólo se presentaron en los pollos inoculados por vía oral, con presencia de diarreas verdosas, acompañándose este cuadro con trastornos respiratorios.

En los dos experimentos, los pollos que estaban de controles en el foco, presentaron alteraciones respiratorias en los últimos días, permaneciendo en perfecto estado los controles que estaban separados del foco.

Anatomía Patológica.

Macroscópicamente se presentó un cuadro congestivo generalizado, otro cambio lo constituyó la pérdida de la transparencia normal de la tráquea con presencia de secreciones catarrales e hiperemia de la mucosa.

Los sacos aéreos no mostraron alteraciones a señalar. Desde el punto de vista histopatológico, se constató un cuadro hiperémico generalizado, así como proliferación de los nódulos linfocitocitarios a nivel de pulmones, hígado, proventrículo y tonsilas cecales.

En la tráquea se presentaron cambios inflamatorios a nivel de mucosa, submucosa y lámina propia, predominando el infiltrado de tipo heterófilo y linfocitario; uno de los cambios más característicos fue la reacción hiperplástica del epitelio traqueal con vacuolizaciones y descamaciones epiteliales. También se presentaron cuadros de traqueítis hemorrágicas.

Los cuadros encefálicos presentados en etapas finales se caracterizaron por degeneraciones neuronales, reacción difusa de la glia, infiltración linfocitaria perivascular y gliosis focal en la capa molecular del cerebelo.

Cobran valor las lesiones traqueales y encefálicas por su presentación en todos los grupos, cuya frecuencia se señala en las Tablas I y II así como los porcentos de mortalidad.

El análisis estadístico a través de la prueba de X^2 demostró que no existe dependencia entre las lesiones encontradas y las vías de infección empleadas en este estudio.

DISCUSION

El predominio de afecciones respiratorias encontradas en este estudio tanto desde el punto de vista clínico como lesional coincide con el cuadro referido de los casos de campo a partir de los cuales fue aislado el virus.

TABLA I

(Pollitos de una semana de edad)

Lesiones	Intra-nasal %	Intra-ocular %	Intra-traqueal %	Oral %	Cont. en el foco %	Cont. separados %
En la tráquea	90 %	50 %	90 %	70 %	30 %	—
En el encéfalo	30 %	30 %	70 %	20 %	—	—
Muertes	10 %	20 %	10 %	10 %	—	—

TABLA II

(Pollitos de dos semanas de edad)

Lesiones	Intra-nasal %	Intra-ocular %	Intra-traqueal %	Oral %	Cont. en el foco %	Cont. separados %
En la tráquea	70 %	70 %	70 %	90 %	40 %	—
En el encéfalo	20 %	30 %	—	—	—	—
Muertes	10 %	—	20 %	10 %	—	—

De acuerdo a los resultados obtenidos coincidimos con lo planteado por Beard y Easterday, (1967) en la relación que guardan las vías de infección naturales con la presencia acelerada de manifestaciones respiratorias.

La sintomatología digestiva que se presentó en los casos inoculados por vía oral, asociada a afecciones respiratorias, evidencia el papel que juega la vía de entrada del virus en la forma de presentación de la gicos coinciden con los de estos autores en el caso específico de la enfermedad; no obstante, nuestros resultados confirman además la afinidad de esta cepa por provocar alteraciones básicamente a nivel de tráquea.

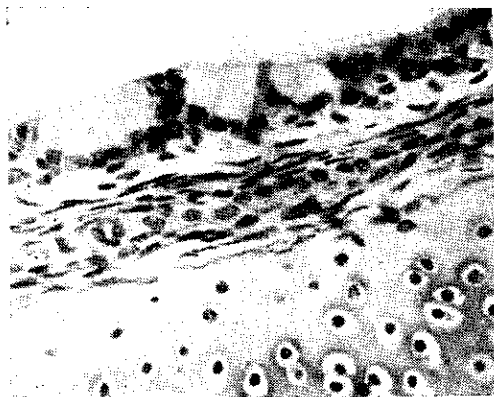


Fig. 1. Corte histológico de la tráquea normal en un pollo control H.E.



Fig. 2. Corte histológico de tráquea de un pollo inoculado donde se aprecia traqueítis con infiltración de heterófilos y formación de vacuolas en la mucosa. H.E.

La forma respiratoria presentada en los pollos de control en el foco, en la última etapa del experimento, habla en favor de la peligrosidad del contagio por vía aerógena, teniendo en consideración la ausencia de este cuadro en los controles que se mantuvieron separados del foco.

Las encefalitis encontradas en este estudio coinciden con las planteadas por Mayor, (1968) y por Brandy, (1968 y 1972).

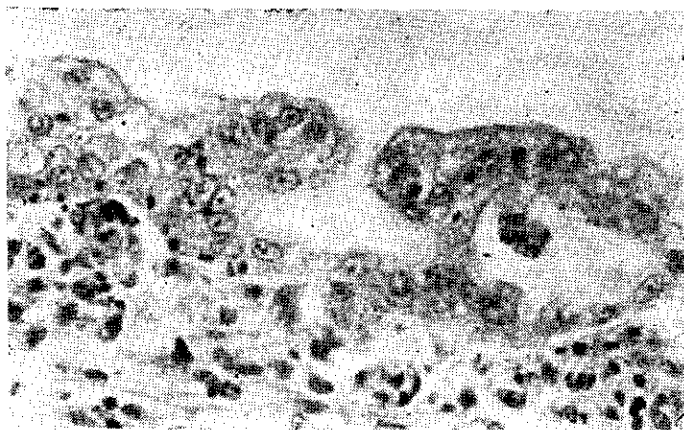


Fig. 3. Corte histológico de tráquea de un pollo inoculado. Se observa hiperplasia del epitelio. H.E.



Fig. 4. Corte histológico de tráquea de un pollo inoculado. Hiperplasia epitelial y formación de vacuola H.E.



Fig. 5. Corte histológico de tráquea de un pollo inoculado. Se observa Hiperplasia del epitelio, formación de vacuolas y células descamadas.



Fig. 6. Corte histológico de tráquea de un pollo inoculado. Traqueítis con infiltración de heterófilos, hiperplasia epitelial y formación de vacuolas. H.E.

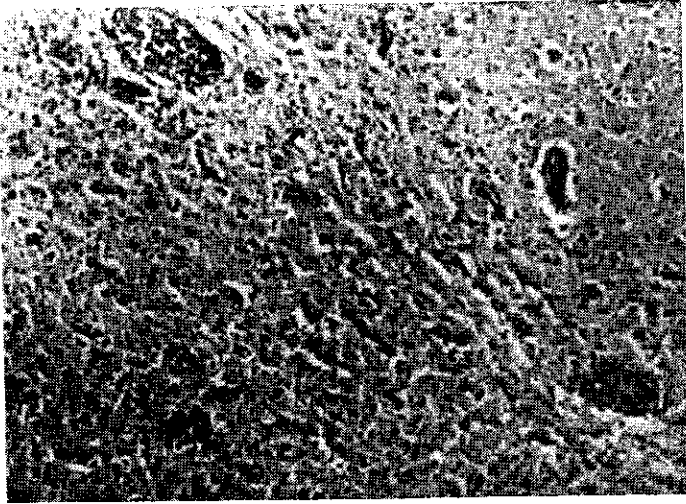


Fig. 7. Corte histológico de encéfalo de un pollito inoculado con el virus. Cuadro de encefalitis con fuerte reacción linfocitaria en los vasos, nótese la proliferación difusa de la glia. H.E.

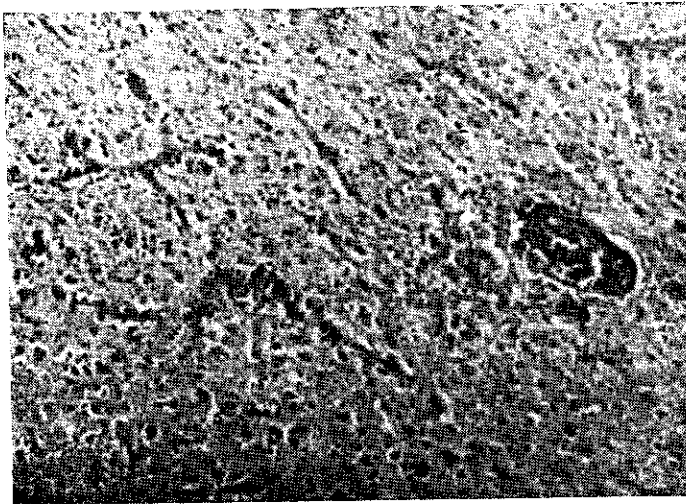


Fig. 8. Corte histológico de encéfalo de un pollo inoculado. Encefalitis linfocitaria con reacción difusa de la glia.

En relación a las alteraciones traqueales, Helmboldt en 1952 (*citado por Fritzsche y Gerriets, 1969*), señaló la hiperplasia del epitelio de la tráquea como un hallazgo de significación diagnóstica para casos crónicos de la enfermedad. Posteriormente, Mayor, (1968) refiere esta hiperplasia traqueal en la enfermedad aguda en aves que habían sido sometidas a vacunación; en *Methods for examining...* (1971) es también planteado este hallazgo para casos agudos del Newcastle.

Cuadros de traqueítis han sido planteados por Beard y Easterday, (1967); Cheville y Stone, (1972) y Carlson, (1973); nuestros resultados histopatológicos coinciden con los de estos autores en el caso específico de la respuesta de este órgano, lo cual sugiere su consideración en el diagnóstico histopatológico de esta enfermedad para nuestras condiciones, ya que se trata de una cepa aislada en nuestro medio.

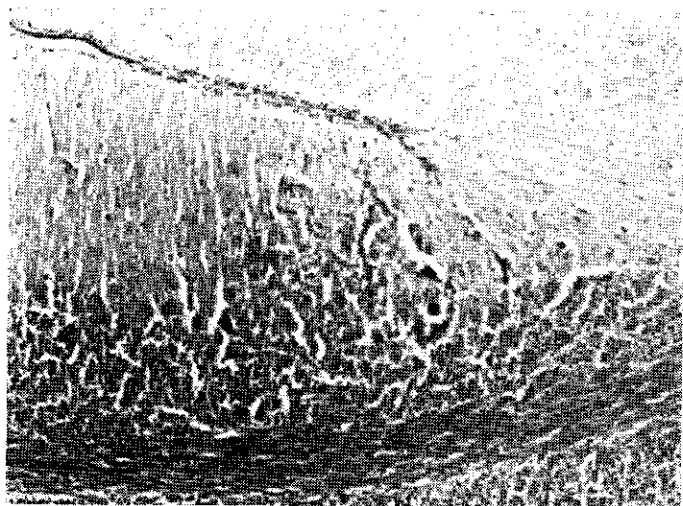


Fig. 9. Corte histológico de cerebelo de un pollo inoculado. Degeneración de algunas células de Purkinje. Foco de glia proliferando en la capa molecular. H.E.

La proliferación de nódulos linfocitocitarios en órganos parenquimatosos ha sido planteada por Fritzsche y Gerriets, (1969) en la fase crónica de

la enfermedad como respuesta proliferativa del sistema retículo endotelial; Fuad, Sheikhly y Carlson, (1975) lo describen en el estadio de recuperación de la enfermedad. Su presentación en nuestros casos favorece el criterio de la rápida respuesta tisular frente a la cepa empleada con una alta patogenicidad.

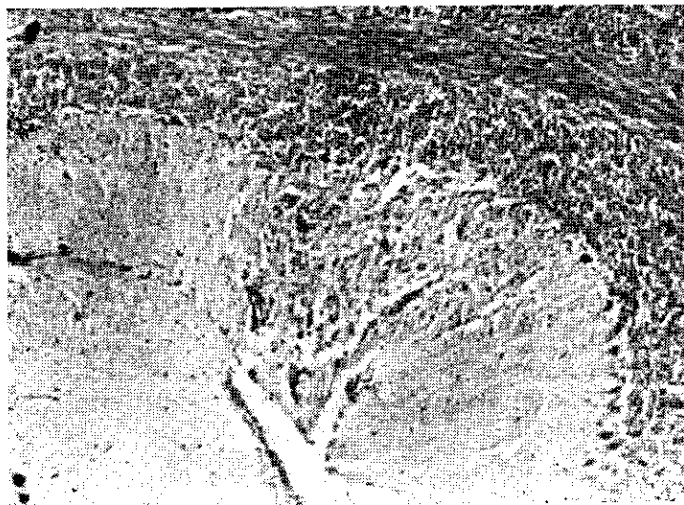


Fig. 10. Corte histológico de cerebelo de un pollito inoculado con el virus mostrando proliferación de la glia a nivel de la capa molecular. Las células de Purkinje muestran signos degenerativos H.E.

CONCLUSIONES

La cepa Velógena empleada en este estudio produce alteraciones básicamente en tráquea con independencia de las vías de infección natural empleadas, consistiendo estas alteraciones en traqueítis agudas con infiltración heterófila y linfocitaria, hiperplasia, vacuolizaciones y descamaciones del epitelio traqueal.

Otros cambios menos importantes producidos por esta cepa lo constituyen las proliferaciones linfocitulares en hígado, pulmón, proventrículo y tonsilas cecales; los cuadros de encefalitis linfocitaria se presentan en

la etapa más avanzada de la enfermedad en aquellos pollos que logran sobrevivir la fase respiratoria.

RECONOCIMIENTOS

A los compañeros del Dpto. de Virología por su colaboración en la inoculación de los animales y su apoyo durante el tiempo que duró el experimento. Los técnicos del Dpto. de Patología por su eficiente trabajo en el procesamiento de todas las muestras. Dpto. de Fotografía del CNIC, por la elaboración de las microfotografías y Combinado Avícola Nacional que facilitó los pollos para la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- BEARD C. W. AND EASTERDAY B. C. The influence of the route of administration of Newcastle Disease virus on host response. III Immunofluorescent and histopathological studies. *J. Infect. Dis.*, 117, 66, 1967.
- BRANDLY C. A. Enfermedad de Newcastle. Enfermedades de las aves. Biester. H. E. y Schwarte L. H. Traducido de la 4ª edición en inglés. 480-490. Ediciones Revolucionarias. Instituto del Libro La Habana, 1968.
- BRANDLY C. A. Newcastle Disease. Diseases of Poultry Biester. H. E. and Schwarte L. H. 619-645, Editorial Board for. The American Association of avian Pathologists. 6th edition, 1972.
- CARLSON H.C. Canadian Poultry Review. 97, No. 3, 18 March 1973.
- CAVILLI J. P. Newcastle Disease in imported psittacine birds. *Vet Rec.* 94, 226, 1974.
- CHEVILLE N. F., STONE. H., RILEY J. RITCHIE A. E. Pathogenesis of virulent Newcastle Disease in Chickens. *Jour of Am. Vet. Med. Ass.* 161, 1972.
- DORY N. Newcastle Disease eradication plan debated. *Freedstuffs.* 45, 1, 1973.
- FRIEND M. Serologic evidence of N.C.D. in captive Mallards and duk. *Avian. Dis.* 6, 180, 1970.
- FRITZSCHE K. Y GERRIETS E. Enfermedad de Newcastle. Enfermedades de las Aves. Traducido de la 2ª. edición alemana. 159, Editora Ciencia y Técnica, La Habana, 1969.
- FUAD A., SHEIKHLY A. AND CARLSON H.C. Pathologic of Velogenic Newcastle Disease Virus Infection in turkeys. *Avian Dis.* 19, 3, 1975.
- KEYMER I. F. Newcastle Disease in birds of Pgey. *Vet. Rec.* 88, 432, 1971

- LANCASTER J. E. AND ALEXANDER D. J. Newcastle Disease virus and spread. A Riview of some of the Literature. Canada Department of Agriculture Monograph., 11, 1975.
- MAYOR O. Y. Histopathological aids to the Diagnosis of certain Poultry Diseases. *The Vet. Bull.* 38, 275, 1968.
- Methods for examining poultry biologics and for identifying and quantifying avian pathogens. National Academy of Sciences. National Research Council. Washington D.C. USA, 1971.
- TOZZINI F. Isolation of N.C.D. virus from the spleen of a cat. *Am. Fac. Med. Vet. Pisa.*, 25, 189, 1973.
- VINDERVAGEL H. Sensibilite ou pigeon Voyagere adulte ou virus de la maladie de Newcastle. *Ann. de Re. Vet.*, 3, 519, 1972.