

9



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES

CARACTERIZACION HISTOPATOLOGICA EN ENCEFALOS
DE POLLOS LIBRES DE PATOGENOS ESPECIFICOS
EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS CON EL VIRUS DE LA
ENFERMEDAD DE NEWCASTLE CEPA CHIMALHUACAN.

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
PRESENTADA POR:
ADRIANA BARRI COLIN

ASESORES: NESTOR LEDESMA MARTINEZ
GUILLERMO TELLEZ ISAIAS



MEXICO, D. F.

2001

2977



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

A LOS POLLOS QUE DIERON SU VIDA PARA LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO Y AQUELLOS CON LOS QUE SE ESTUDIA DÍA CON DÍA POR EL BIEN DE LA CIENCIA.

...Y CON TODO EL AMOR QUE SIENTO POR LA VIDA, MI VIDA, LES DEDICO ESTE TRABAJO A TODOS USTEDES QUE HAN ESTADO CONMIGO Y QUE ME HAN AYUDADO DE UNA U OTRA FORMA A SUPERARME DÍA CON DÍA.

- ❖ A TI DIOS QUE ME HAS ILUMINADO DESDE SIEMPRE.

- ❖ A MIS ABUELOS Y ABUELITOS, CON TODO EL CARIÑO DEL MUNDO!

- ❖ A MIS PAPÁS: QUIENES HAN LUCHADO CON TODO PARA DARMÉ TODO LO QUE AHORA TENGO Y CONVERTIRME EN LA PERSONA QUE SIEMPRE HE QUERIDO SER: YO MISMA.

- ❖ A MIS HERMANOS: ANITA, LEÓN, SYRLENE Y EDUARDO QUE SIEMPRE HAN ESTADO CONMIGO, LOS ADORO.

- ❖ A LOS PEQUEÑITOS DE LA CASA: BRUNO, LEÓN DAVID Y ARIANNA

- ❖ A JORGE: TE AMO!!



AGRADECIMIENTOS

AL PROGRAMA DE BECAS PARA TESIS DE LICENCIATURA (PROBETEL) POR LA BECA OTORGADA

A mi jurado: MVZ Fernando Constantino Casas, MVZ Elizabeth Morales Salinas, MVZ Tamas Fehervari Laszlo, MVZ Víctor Manuel Petrone García, MVZ Guillermo Téllez Isaías. Porque cada uno de ustedes, con sus comentarios y observaciones, hizo que este trabajo se enriqueciera y saliera adelante.

A mis asesores: MVZ Guillermo Téllez, muchísimas gracias por la confianza que ha depositado en mi y por todo su apoyo. MVZ Nestor Ledesma, no tengo palabras para agradecerle todo el tiempo dedicado a este trabajo, las palabras de aliento, las charlas, por escucharme en mis depres. y enojos, por su paciencia, y por haber estado ahí dispuesto a sacar este trabajo a como diera lugar. Mil gracias, me encantó haber trabajado con ustedes.

Del departamento de producción animal: aves: a los académicos que lo conforman, Dr. Téllez, Dr. Néstor, Dr. Quintana, Dr. López Coello, Dr. Tamas, Dra. Casaubón,; muchas gracias por tener tanta confianza en mi, por sus consejos y por motivarme con su ejemplo, a ser mejor día con día. Los admiro y respeto profundamente. Dra. Magda, muchas gracias por sus consejos, por su ayuda (usted también contribuyó con este trabajo!) gracias por último, por su franqueza... siempre. Dr. Rubén, Dr. Petrone, Dra. Norma, Dra. Charles, Dra. Odette (por cierto, qué risa tan agradable) gracias a ustedes también! ya que estuvieron ahí, dispuestos a ayudarme siempre. Gaby, desde el principio te vi como a una amiga, mil gracias por todo tu apoyo, por las pláticas y por la levantada de ánimos.



Del departamento de aves todavía... A mis queridísimas amigas del laboratorio de biología molecular (Mireyux, aunque digas lo contrario) Moni, Belem, Mireya, por sus travesuras (EH!?), por escucharme, por platicarme, por ser tan buenas amigas!!!, Jorge y Aída, en verdad nuestro equipo es único y la actitud de unión y de compañerismo no todos la tienen, espero que nunca lo pierdan vayan a donde vayan y por supuesto gracias, una vez más, al Dr. Néstor por fomentar este tipo de actitudes y evitar que la crítica (no la constructiva), la envidia y el gandallismo nos ganen. Gracias a mis amigos, Gerardo, Daniel, Christian, Gonzalo. Gracias por ser tan buenos compañeros a Mireya Juárez, Libia, Esmeralda, Ivonne, Sandra, Armando, Ulises, Sr. Adelfo (mi angelito del cuarto de lavado), Marcelo, Eli. José.

A los super doctores de la facultad: Rumiantes: Dr. Olguín (mi queridísimo Dr. Chagalapoli), Dr. Cano, Dr. Posadas, Dr. Quiroz e Ingrid: mil gracias por los buenos momentos!!!! Miguel, mil gracias por tu amistad y por todo el apoyo que me has dado. Microbiología: Dr. Barajas. Dr. Basurto, con mucho cariño (Barry Manilow). .

A mis amigas super veterinarias: Maribel y Pinky gracias por ayudarme a iniciar una nueva etapa en mi vida, espero que nunca nos alejemos. Claudia y French, dicen que la risa ayuda a no envejecer, yo creo que gracias a ustedes parezco de 17 (JE JE JE), mil gracias por todas esas carcajadas!!! Marisa y Paulina gracias! y sigamos viajando, conociendo y divirtiéndonos!!!

A mis queridísimas amigas del MAS: Pau, Fa, Cris, Pollo y Sandy, los años lo han demostrado, una buena amistad no termina nunca, estaremos desperdigadas por el mundo pero saben? siempre estamos juntas, las quiero mil.



A mis sobrinos Bruno, León David y Arianna por ser la alegría y la ternura personificadas, porque iluminaron la casa y mi vida desde el momento en el que nacieron. Los adoro!!

A mis hermanos, Güera, por ser una gran amiga, por las carcajadas y por dejarme contar contigo para todo. León, por ser un super ejemplo para mi, por ayudarme y preocuparte siempre para que salga adelante, te admiro muchísimo. Syrlene, por escuchar y por ser también una gran amiga, Güayo, por ser siempre tan tierno y lindo conmigo, por cuidarme, por tus chistes y tu buen humor (ejem...), te extraño mucho. A todos los quiero muchisisisimo!!!

A mis papás: por haberme dado una familia tan bonita, por estar juntos y demostrarnos día con día que el amor no muere. Por todo su esfuerzo y todas sus enseñanzas...LOS AMO!

A ti gallito, por ser parte de mi vida, la más importante, por estar siempre conmigo, por demostrarme que el amor solo se logra a base de respeto y confianza. Mil gracias por tus consejos, por escucharme, por hacer que sea mejor cada día. Siempre juntos, TE AMO!!

...finalmente al más importante de todos:

Gracias a Dios por haberme bendecido.



TABLA DE CONTENIDO

	<u>Página</u>
DEDICATORIAS.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	VII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VIII
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
OBJETIVO.....	14
MATERIAL Y MÉTODOS.....	14
RESULTADOS.....	17
DISCUSIÓN.....	18
CONCLUSIONES.....	24
REFERENCIAS.....	25



LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	<u>Página</u>
Cuadro 1.- Frecuencia de la signología.....	32
Cuadro 2.- Subregiones afectadas.....	32
Cuadro 3.- Frecuencia de lesiones.....	33
Cuadro 4.- Descripción detallada de las lesiones histológicas..	34
Figura 1.- Sección transversal del mesencéfalo.....	29
Figura 2.- Cerebelo.....	29
Figura 3.- Ubicación anatómica de los cortes evaluados.....	30
Figura 4.- Esquema de los 5 cortes revisados.....	31
Figura 5.- Sustancia gris normal.....	46
Figura 6.- Sustancia gris con foco de gliosis.....	46
Figura 7.- Capa granulosa y células piramidales normales.....	47
Figura 8.- Cerebelo con necrosis y células con cromatolisis....	47
Figura 9.- Hiperestriato- Vaso sanguíneo normal.....	48
Figura 10.- Neostriato- Degeneración fibrinoide.....	48
Figura 11.- Neuronas y células de la glía normales.....	49
Figura 12.- Neuronofagia.....	49
Figura 13.- Gliosis y necrosis en neostriato.....	50
Figura 14.- Células piramidales con cromatolisis.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS

SNC	Sistema nervioso central
LPE	Libres de patógenos específicos
V VENC	Cepa velogénica viscerotrópica Chimalhuacán
DIE ₅₀	Dosis infectante embrión de pollo 50%
ENC	Enfermedad de Newcastle
OIE	Oficina Internacional de Epizootias
VEN	Virus de la enfermedad de Newcastle
PMV-1	Paramixovirus serogrupo 1
PMV-3	Paramixovirus serogrupo 3
PMV-9	Paramixovirus serogrupo 9
ICPI	Índice de patogenicidad intracraneal
IVPI	Índice de patogenicidad intravenosa
ALPES	Aves libres de patógenos específicos
PI	Posinoculación

RESUMEN

BARRI COLÍN ADRIANA. CARACTERIZACIÓN HISTOPATOLÓGICA EN ENCÉFALOS DE POLLOS LIBRES DE PATÓGENOS ESPECÍFICOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS CON EL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE CEPA CHIMALHUACÁN (Bajo la dirección de MVZ Ph.D. Guillermo Téllez Isaías y MVZ MC Nestor Ledesma Martínez).

La cepa Chimalhuacán (V V-ENC), cepa velogénica viscerotrópica del virus de la enfermedad de Newcastle, representa un riesgo permanente para la avicultura mexicana y para la industria avícola mundial. El virus de la enfermedad de Newcastle es un paramixovirus del género *Rubulavirus* que pertenece a la familia *Paramyxoviridae* y pertenece al serogrupo de Paramixovirus-1. El propósito de este estudio fue identificar y caracterizar las lesiones en SNC en aves libres de patógenos específicos (LPE) que fueron inoculadas experimentalmente con la V V-ENC. Se utilizaron 72 aves las cuales fueron separadas en dos grupos. Grupo 1) 36 aves fueron inoculadas I.M. con 0.2 ml de 10^6 D_{IE50} de V V-ENC. Grupo 2) 36 aves inoculadas I.M. con PBS estéril y fueron utilizadas como grupo testigo negativo. A las 24, 36, 48, 52, 56, 60, 64, 68, 72, 73.5, 74, 75.5, 76, 76.5, 77, 79.5 y 80 horas posinoculación (PI) fueron sacrificados 2 pollos del grupo infectado y uno del testigo negativo. Se tomó el encéfalo y se fijó en formalina al 10% amortiguada a un pH de 7 para su posterior proceso por la técnica de inclusión en parafina y tinción H y E. Se hicieron 5 cortes por encéfalo (telencéfalo, diencéfalo rostral, diencéfalo caudal, mesencéfalo y cerebelo) y se registraron las lesiones y la frecuencia en cada región anatómica. No hubo mortalidad ni signología observada en el grupo 2, mientras que en el grupo 1, inoculado con la V V-ENC, se encontraron signos respiratorios (estornudos, secreción nasal), digestivos (diarrea color verde esmeralda), y nerviosos (incoordinación, torticolis, tics, temblor) a partir de la hora 36 PI. La mortalidad empezó a las 72 horas PI. Cerca del 80% de las aves presentaron signos nerviosos. Las regiones que presentaron cambios histológicos de manera más importante y constante fueron: telencéfalo (neostriato e hiperestriato particularmente); mesencéfalo (sobre todo en la subregión del quiasma óptico); y en el cerebelo (particularmente en la capa de células piramidales). En la evaluación de estas regiones, las lesiones histológicas consistieron en: 97% focos de gliosis, 89% focos de necrosis; 69% focos de desmielinización leves, 58% cromatolisis periférica; 55.5% degeneración fibrinoide de vasos sanguíneos, 53% edema perivascular, 53% neuronofagia, 33% infiltración linfocítica perivascular (manguito perivascular) leve, 28% hemorragias y 19% meningitis no supurativa leve. Estos resultados, difieren con lo descrito en cepas mesogénicas y lentogénicas en donde se ha observado encefalitis difusa no supurativa caracterizada por infiltración linfocítica perivascular, malacia, vasculitis proliferativa y desmielinización. Se requieren más estudios en donde sean comparados los sitios de lesión de otras cepas velogénicas viscerotrópicas y neurotrópicas de la enfermedad de Newcastle para poder saber si existen diferencias entre las diferentes cepas.



INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Newcastle (ENC), constituye uno de los problemas sanitarios más serios para la industria avícola mundial. La cepa Chimalhuacán (V V-ENC) es una cepa velogénica viscerotrópica del virus de la ENC y representa un riesgo permanente para la avicultura mexicana. Su presencia en México fue reportada por primera vez en 1946.^{1,2} Sin embargo a pesar del control, las cepas virulentas extremadamente patógenas están aún presentes en la República Mexicana. El 30 de marzo del 2000, se notificó la confirmación de un aislamiento del virus de la Enfermedad de Newcastle (VEN) en la zona de la Comarca Lagunera^A. Hasta la fecha del informe³ (recibido el 8 de abril del 2000 en la Oficina central de la oficina internacional de epizootias (OIE), enviado por el Doctor Ángel Omar Flores Hernández, Director General de Salud Animal) se mantenían en cuarentena 28 granjas de pollo de engorda confirmadas por aislamiento viral y evidencia clínica con un total de 3,947,187 aves. Todas estas aves fueron sacrificadas. Se informa también que el brote que inició ese 30 de marzo, afectó en total a 93 granjas avícolas, las cuales fueron des pobladas.³

El virus de la enfermedad de Newcastle (VEN) es un paramixovirus del género *Rubulavirus* que pertenece a la familia *Paramyxoviridae* y se han encontrado 9 serogrupos distintos; Paramixovirus -1 al

^A El área metropolitana conocida como "La Laguna" está formada por tres ciudades: Torreón, en el estado de Coahuila y Gómez Palacio junto con Lerdo en el estado de Durango

Paramixovirus -9 (PMV -1 al PMV -9). Todos los virus pertenecientes a la familia *Paramyxoviridae* en aves, se replican en embriones de pollo y no presentan reacción serológica cruzada entre sí, a excepción del PMV -3 el cual puede tener reacción cruzada con el PMV -1. Los serogrupos son estables antigénicamente y no llegan a mutar de un serogrupo a otro.⁴ El serogrupo PMV -1 es el más importante dentro de los patógenos que afectan a las aves domésticas. Tiene una distribución mundial. La patogenicidad del virus depende en su mayoría de la especie en la cual se hospede, así como también de la cepa de la que se trate.^{4,5,6} Las cepas se clasifican dependiendo de la velocidad con la que ocasionan la muerte embrionaria en: 1) Velogénicas si el embrión muere en menos de 60 horas posinoculación en cavidad alantoidea, 2) Mesogénicas si muere entre las 60 y 90 horas posinoculación en cavidad alantoidea y 3) Lentogénicas si tarda más de 90 horas en morir o no muere.^{4,5,6} A estos grupos se les conoce también como de baja, moderada y alta virulencia respectivamente.^{4,7}

Sin embargo, dependiendo de la presentación clínica se le clasifica en:

♦ Asintomática: conocida también como presentación entérica. Esta presentación solamente es detectada por métodos serológicos y aparentemente no hay signología. Las cepas involucradas son: Ulster 2C, QV4 y VG/GA.^{4,7}

- ◆ Hitchner: esta presentación es la menos severa. Las cepas pertenecientes a esta presentación se emplean en la elaboración de vacunas activas e incluye a las cepas lentogénicas, como las cepas: B1, La Sota y Clon 30. Llegan a ocasionar signos respiratorios de leves a moderados y disminución en los parámetros productivos como respuesta posvacunal.^{5,7,8,9}
- ◆ Beudette: produce signos respiratorios, la producción de huevo disminuye durante varias semanas. Pueden presentarse signos nerviosos. Las cepas involucradas son las mesogénicas y dentro de este grupo se encuentran las siguientes cepas: Roakin, Haifa-Komarov, Krananueled, cepa H y Muketswar.^{5,7,9}
- ◆ Beach: produce signos respiratorios y nerviosos en aves de cualquier edad. Involucra a cepas velogénicas neurotrópicas. La morbilidad puede llegar al 100% y la mortalidad puede ser del 50% en aves adultas y 90% en aves jóvenes. Involucra a la cepa Texas.^{5,7,9}
- ◆ Doyle: se caracteriza por producir signos respiratorios, digestivos y nerviosos. La mortalidad alcanza el 100% en aves susceptibles. Aquí se encuentran las cepas velogénicas viscerotrópicas como la Chimalhuacán, a partir de la cual se realizó este estudio, CU, Milano, GB y CA 1083.^{5,7,9}

La clasificación más reciente de las cepas de la ENC se realiza mediante el uso de técnicas de biología molecular, mediante las cuales se ha descrito que el genoma viral codifica para seis proteínas de gran importancia para los paramixovirus. Dentro de estas proteínas se encuentra la hemaglutinina-neuraminidasa, la cual permite que el virus tenga la capacidad de aglutinar eritrocitos (instrumento muy útil en el diagnóstico de la enfermedad), así como la proteína F (o proteína de fusión) encargada de la fusión de las membranas celular y viral y que por lo tanto, permite la entrada a la célula del complejo de la nucleocápside.^{4,5,10} De acuerdo a la secuencia de aminoácidos para esta última proteína, las cepas lentogénicas (quienes están ubicadas en los grupos I y II) poseen leucina en el sitio 117, mientras que las cepas velogénicas y mesogénicas (ubicadas dentro de los grupos III al VIII) poseen, en el mismo sitio, Fenilalanina.^{4,5,10}

Las cepas no tienen la capacidad de modificar su estructura antigénica de forma tan frecuente como sucede con otros virus como el virus de Influenza Aviar, lo cual significa que las cepas menos patógenas (lentogénicas) no se pueden transformar en velogénicas por medio de pases en condiciones de campo ni en el laboratorio.⁴

Los pollos son altamente susceptibles, mientras que los patos y los gansos no presentan signos clínicos, incluso con aquellas

cepas que resultan mortales para los pollos. El VEN puede infectar y multiplicarse en especies aviares y no aviares, sin embargo, el pollo sigue siendo el huésped natural más afectado. En pollos, la patogenicidad del VEN está prácticamente determinada por la cepa del virus, aunque la dosis, la vía de inoculación, la edad del ave y las condiciones ambientales tienen también gran importancia.^{5,6} En general entre más joven sea el ave, la enfermedad será más severa ya sea con cepas lentogénicas, mesogénicas o velogénicas.^{4,5,7,10}

Existen distintas pruebas para diferenciar los aislamientos entre una cepa velogénica, mesogénica o lentogénica como el tiempo promedio de muerte embrionaria, el índice de patogenicidad intracerebral (ICPI, por sus siglas en inglés) en pollos de un día de edad y el índice de patogenicidad intravenosa (IVPI, por sus siglas en inglés) en pollos de 6 semanas de edad. Estas cepas y sus aislamientos varían en cuanto a su capacidad y al tiempo que les toma matar al ave.^{4,5,7,11,12}

En aves domésticas los signos que se presentan pueden variar desde muerte súbita con 100% de mortalidad, como es el caso de las cepas velogénicas, hasta enfermedad subclínica cuando se trata de una cepa lentogénica.^{1,5,7}

Los signos clínicos que se pueden asociar con la enfermedad de Newcastle con una cepa velogénica viscerotrópica son: disnea, diarrea color verde esmeralda, ausencia de postura, estornudos,

depresión, tortícolis, incoordinación, tremor, tics, parálisis y muerte. Se pueden presentar todos o algunos de estos signos.⁵ Ninguno de estos signos puede ser considerado característico por lo que no deben ser usados como método de diagnóstico definitivo. Sin embargo, cualquier infección, toxina u otra condición que resulte en los signos antes mencionados, ya sean leves o severos, pueden hacer sospechar de ENC o de una infección provocada por otros agentes, por lo que se requiere de pruebas complementarias que lleven a dar un diagnóstico definitivo. Existen análisis serológicos que pueden ayudar a identificar virus específicos, pero definitivamente se requiere aislar al virus, identificarlo y caracterizarlo para saber específicamente qué virus está provocando la enfermedad.^{4,5,6,7}

El encéfalo de un ave tiene 5 divisiones; el telencéfalo, diencéfalo, mesencéfalo, metencéfalo y mielencéfalo. El cerebro, bien desarrollado, está constituido por el telencéfalo y el diencéfalo, los dos hemisferios derivan del telencéfalo. El metencéfalo incluye al cerebelo y al puente y el mielencéfalo está formado por la médula oblonga. El tallo cerebral consiste en el metencéfalo y el mielencéfalo. De cada subdivisión existen subregiones: ^{13,14}

1. Telencéfalo:

- o Neostriato
- o Hiperstriato

- o Ectoestriato
- o Paleoestriato
- o Corteza olfatoria (Lóbulo paraolfatorio)
- o Tracto septo-mesencefálico

2. Diencéfalo (quiasma óptico rostral) :

- o Neostriato
- o Hiperestriato
- o Hipotálamo
- o Arquiestriato
- o Quiasma óptico
- o Tracto septo-mesencefálico

3. Diencéfalo (quiasma óptico caudal):

- o Neostriato
- o Hiperestriato
- o Tectum óptico
- o Tracto septo-mesencefálico
- o Núcleo mesencefálico
- o Quiasma óptico
- o Hipocampo
- o Arquiestriato
- o Glándula Pineal
- o Comisura posterior

4. Mesencéfalo:

- o Tracto septo-mesencefálico

- o Tectum óptico
- o Tracto tectocerebelaris
- o Núcleo Mesencefálico
- o Núcleo Isthmi
- o *Nucleus Tegmenti* (sustancia negra)
- o *Nucleus Ruber* (sustancia roja)
- o Cerebelo

5. Cerebelo y puente

Cerebelo:

- o Pedúnculos cerebelares
- o Capa molecular
- o Capa de la granulosa
- o Células piramidales
- o Lingula

Puente:

- o Núcleo Reticular
- o Núcleo Vestibular

Las partes más importantes o principales subdivisiones del cerebro del ave son los hemisferios cerebrales, el tálamo y el hipotálamo. Los hemisferios constan de: una corteza, el hiperestriato, neostriato, ectoestriato, archiestriato y palcostriato. El hiperestriato, ectoestriato y paleostriato se consideran importantes ya que se cree que son áreas asociadas a

la integración visual, discriminación de modelos, y control de los reflejos de defensa. El neostriato se supone que está involucrado con los estímulos auditivos. El tálamo en las aves contiene un número de núcleos que son los principales medios de comunicación entre la corteza del prosencéfalo y los sistemas sensoriales de todo el cuerpo. La región del mesencéfalo es una región muy compleja que orienta a los ojos, a la cabeza y al cuerpo hacia distintos sonidos y objetos o vistas. El mesencéfalo recibe a los nervios ópticos y contiene al núcleo de origen de los nervios troclear y oculomotor. La estructura que predomina es el tectum óptico (figura 1). De forma medial al tectum están varios núcleos importantes, particularmente el núcleo mesencefálico (centro de difusión auditiva). La región del cerebelo también está muy desarrollada y consiste en un gran área central: la vermis y dos lóbulos laterales (figura 2). Todas las regiones importantes del tálamo y del mesencéfalo que están asociadas con la visión del ave reciben proyecciones del hiperestriato. El diencéfalo y la región del hipotálamo anterior están involucradas en reacciones de defensa o amenaza. Existen estudios donde indican que el cerebelo está involucrado en la regularización del tono muscular y de la coordinación del movimiento. Después de retirar el cerebelo a un ave, el músculo del cuello y de las piernas se contrae.¹⁴

Las lesiones de ENC en el sistema nervioso central (SNC) de pollos infectados con cepas velogénicas, no han sido debidamente caracterizadas. Aunque en distintos países se han descrito las lesiones provocadas por algunas cepas mesogénicas, mesogénicas adaptadas al SNC, velogénicas viscerotrópicas y velogénicas neurotrópicas,^{11,12,15,16,17,18} no existen estudios en nuestro país sobre las lesiones producidas por la V V-ENC en encéfalo. Además, la mayoría de los informes únicamente describen encefalitis no supurativa sin especificar el sitio anatómico de la lesión, su distribución ni el grado, por lo que podrían existir diferencias con respecto a las cepas de las cuales sí existen informes,^{11,15,16,17} así como existen diferencias en los signos clínicos observados. Al tener identificadas las lesiones y la ubicación neuroanatómica de aquellas provocadas por la V V-ENC, se puede tener un diagnóstico más certero.^{14,19}

Por otra parte, en algunas ocasiones los laboratorios reciben únicamente muestras de encéfalo fijadas en formalina al 10% para realizar un diagnóstico, en el laboratorio resulta inoperante realizar aislamientos a partir de éstas por lo que el diagnóstico histopatológico debe ser lo más preciso posible. Al mismo tiempo, el tipo de cortes que se realizan para la identificación de lesiones en encéfalo, producidas por cualquier agente, generalmente no son los adecuados, ya que debido al tamaño del encéfalo de un ave, el personal hace tan solo un corte



OBJETIVO

Identificar y caracterizar las lesiones y signos clínicos provocados por la cepa velogénica viscerotrópica Chimalhuacán de la ENC en el encéfalo de aves libres de patógenos específicos (LPE) de cuatro semanas de edad por medio de histología.

MATERIAL Y MÉTODOS

❖ *Material infectante*

Se utilizó virus de la enfermedad de Newcastle cepa Chimalhuacán^B a un título de 10^6 (DIE₅₀).

❖ *Diseño experimental*

Se utilizaron 72 aves ALPES^C de 4 semanas de edad. Fueron separadas en 2 grupos de la siguiente manera:

Grupo 1: 36 aves inoculadas I.M. con 0.2 ml del material infectante 10^6 (DIE₅₀).

Grupo 2: 36 aves testigo; inoculadas I.M. con 0.2 ml de PBS estéril.

Todas las aves estuvieron en unidades de aislamiento de alta seguridad ubicadas en el Departamento de producción animal: Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. A ambos grupos se les dio alimento comercial y agua a libre acceso. A las 24 horas

^B Donada por Laboratorios de biología Investigación Aplicada SA (IASA), 7 Norte N° 416, Tehuacán Puebla, 75700.

^C ALPES_g: Aves Libres de Patógenos Específicos (Grupo IDISA 7 Norte N° 416, Tehuacán Puebla, 75700)

posinoculación (PI) se tomaron 2 pollos del grupo 1 y un pollo del grupo 2, para obtención del encéfalo para su posterior examen histopatológico. De forma similar se procedió a las 36, 48, 52, 56, 60, 64, 68, 72, 73.5, 74, 75.5, 76, 76.5, 77, 79.5 y 80 horas PI. En cada toma de muestra se seleccionaron aquellos que manifestaron, de forma más evidente, signos clínicos nerviosos (tics, tremor, incoordinación, parálisis, tortícolis). En los casos en los que no hubo animales que presentaran signología nerviosa, se seleccionaron aleatoriamente. Los pollos que murieron se ubicaron en el tiempo en que murieron y se les dio el mismo seguimiento que a las demás aves. En los muestreos del grupo 1 de las horas 72 y 73.5 PI se obtuvieron 5 encéfalos (dos pollos seleccionados y tres muertos), en lugar de dos. En el muestreo del grupo 1 de la hora 79.5 PI solo se obtuvo un encéfalo (se obtuvo de un ave recién muerta).

❖ *Histopatología*

Las muestras que se utilizaron fueron encéfalos y se llevó a cabo un examen histopatológico de cada uno de ellos. Cada encéfalo se fijó en formalina al 10% amortiguada a un pH de 7. Se procesaron por la técnica de inclusión en parafina y se tiñeron por la técnica de hematoxilina y eosina²⁰ se llevó a cabo la observación por medio de un microscopio fotónico. Se registraron las siguientes lesiones: focos de gliosis, focos de necrosis, focos de desmielinización, neuronofagia, cromatolisis periférica,

degeneración fibrinoide de vasos sanguíneos, infiltración linfocítica perivascular (manguito perivascular), edema perivascular, hemorragias y meningitis no supurativa, su grado (leve, moderado o severo) y su ubicación anatómica. De cada encéfalo se obtuvieron 5 cortes coronales (Figuras 3 y 4):

1. Telencéfalo
2. Diencéfalo (Quiasma óptico rostral)
3. Diencéfalo (Quiasma óptico caudal)
4. Mesencéfalo
5. Cerebelo y Puente^{13,19}

RESULTADOS

En el grupo no infectado, no se observaron signos ni lesiones aparentes. No hubo mortalidad ni morbilidad. En el grupo inoculado con la V V-ENC, se encontraron signos generales (depresión, somnolencia, plumas erizadas), respiratorios (estornudos, secreción nasal) y digestivos (diarrea color verde esmeralda) a partir de la hora 36 PI, y los signos nerviosos (tremor, tics, incoordinación, parálisis, tortícolis) se empezaron a observar a partir de la hora 52 PI. El 94% de las aves mostraron signos generales, respiratorios y digestivos, mientras que el 86% presentó signología nerviosa. El 96% de las aves que mostraron signos nerviosos presentaron tremor, el 93% tics leves, 83% incoordinación, el 23% parálisis unilateral del ala o tarso y el 6.6% tortícolis (cuadro 1). Empezó a haber mortalidad a partir de las 72 horas PI. En el grupo infectado, las regiones que presentaron cambios histológicos de manera más importante y constante fueron: del telencéfalo (particularmente las subregiones del neostriato e hiperestriato); del diencéfalo (2° corte) (particularmente en sus subregiones neostriato e hiperestriato); (3er corte) diencéfalo (particularmente en sus subregiones neostriato e hiperestriato, quiasma óptico y tectum óptico); del mesencéfalo (4° corte) (Particularmente en el núcleo rojo, el núcleo mesencefálico y el tectum óptico) y finalmente, el cerebelo y el puente siendo el núcleo reticular y el



vestibular los más afectados (cuadro 2). En la evaluación de estas regiones, las lesiones histológicas consistieron en: 97% focos de gliosis (es importante mencionar que a partir de la hora 52 PI, todos los cortes de todos los encéfalos del grupo infectado presentaron células de la glía reactiva, es decir, el núcleo presentaba cromatina dispersa y nucleolo prominente.) (comparar figuras 5 y 6), 89% focos de necrosis (comparar figuras 7 y 8); 69% focos pequeños de desmielinización; 58% cromatolisis periférica; 55.5% degeneración fibrinoide de vasos sanguíneos (comparar figuras 9 y 10); 53% neuronofagia (comparar figuras 11 y 12); 53% edema perivascular; 33% infiltración linfocítica perivascular (manguito perivascular) leve; 28% hemorragias; 19% meningitis no supurativa leve (cuadros 3 y 4).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que las lesiones en SNC, descritas para ENC en la mayoría de los textos, pueden presentarse de manera distinta en algunos casos. Existen informes^{11,15,17,18,21} que indican que las lesiones más consistentes en SNC de pollos LPE son la meningoencefalitis no supurativa diseminada caracterizada por degeneración neuronal, gliosis, vasculitis proliferativa e infiltración linfocítica perivascular. Estas lesiones generalmente son descritas con cepas mesogénicas y



velogénicas neurotrópicas; sin embargo, con la cepa velogénica viscerotrópica Chimalhuacán, contrario a lo esperado, la infiltración linfocítica perivascular, la meningitis linfocítica y la vasculitis proliferativa, no estuvieron presentes en forma tan característica aun cuando las aves inoculadas manifestaron signos nerviosos. En cambio las lesiones mas frecuentes fueron necrosis focal, gliosis (figura 13) y los focos pequeños de desmielinización

Se ha propuesto que necrosis en SNC, en infecciones virales, pueden estar causadas por un daño directo del virus a las neuronas y células de la glía durante la replicación viral,^{10,22} o bien, indirectamente por mecanismos de inmunidad, isquemia o anoxia. En el presente estudio es probable que el primer mecanismo sea el responsable de las lesiones y signos nerviosos observados, ya que el daño vascular, aunque estuvo presente (degeneración fibrinoide e infiltración linfocítica perivascular leve) no alcanzaron el grado ni la frecuencia observada en otras cepas (Anhinga, Roakin, Texas GB, California 1083, Missouri-(H) y Q₁₀). Se ha visto que este tipo de cepas inducen la presencia de linfocitos hasta en 5 capas, mientras que en este estudio solo se llegó a observar una sola capa irregular y escasa de linfocitos alrededor del vaso.

Las diferencias encontradas en cuanto a lesiones, los sitios de lesión, así como el grado, son atribuibles, al menos en parte, a

las características propias de la cepa, ya que el virus de la ENC presenta en su superficie glicoproteínas,^{5,17,22} que se unen a receptores celulares. Una de ellas, la proteína F, responsable de los mecanismos de penetración del virus y fusión celular, presenta cambios en su estructura dependiendo de la cepa, de modo que las lesiones pueden variar en función de la variación de esta proteína.

Por otra parte, existen estudios^{11,12,17} donde indican que existen lesiones que se presentan de manera mas severa a los 10, 11, 17 y hasta 20 días PI (cepas mesogénicas: Missouri-(H) y B1),¹⁷ probablemente para que se presenten este tipo de lesiones se requiera de cierto tiempo y al trabajar con cepas velogénicas con las cuales generalmente las aves mueren en no mas de 5 días, no sea tiempo suficiente para el desarrollo de esas lesiones, inclusive existen casos donde hay presencia de infiltración linfocítica perivascular a los 200 días después de la inoculación.¹⁷ Con las cepas mesogénicas los primeros signos nerviosos son asociados a daño en vasos sanguíneos y posteriormente a neuronas y células de la glia, en este estudio los signos nerviosos fueron evidentes a las 48 horas PI, mientras que las lesiones se observaron a partir de las 24 horas PI, lo cual puede indicar que los signos se deben al daño que se presenta en neuronas y células de la glia.

La cromatolisis periférica (figura 14), necrosis y neuronofagia en células piramidales, con pérdida considerable de estas, ha sido descrita en informes donde se han realizado inoculaciones con cepas velogénicas neurotrópicas, así como en aves silvestres de las cuales se han aislado cepas de este tipo.^{18,23,24} En el presente estudio, estos hallazgos fueron constantes, a diferencia de lo descrito con cepas mesogénicas en las cuales hay cromatolisis pero sin neuronofagia ni pérdida de células. Estudios de microscopía electrónica muestran que el virus se encuentra sobre todo en células piriformes.¹⁷

Los sitios de lesión más frecuentes en este estudio, fueron el hiperestriato, neostriato así como el metencéfalo y contrario a otros estudios las regiones subleptomeningea y periventriculares no se vieron tan afectadas, lo que sugiere una diseminación del virus a través de vasos sanguíneos más que a través del líquido cerebro espinal. La distribución de las lesiones puede demostrar también que al igual que en los mamíferos (rabia, listeriosis, distemper canino, fiebre porcina clásica) pueden ser diferentes los sitios de lesión dependiendo del agente o inclusive dependiendo de la cepa con la que se esté trabajando.^{11,12,17}

Por otra parte, la localización de las lesiones en este estudio, indican que los cortes coronales ofrecen una mejor visión del encéfalo, ya que el corte longitudinal, si bien permite ver el encéfalo a todo lo largo, deja regiones amplias sin explorar,

sobre todo en el neostriato. Esto no solo es de importancia para la observación de lesiones provocadas por la ENC, sino para el resto de las enfermedades que afectan el SNC de las aves.

Las neuronas son células altamente especializadas por lo que con una pequeña cantidad afectada por cepas virulentas se puede comprometer la función celular.¹⁸ Se conoce que las cepas lentogénicas pueden replicarse en SNC, particularmente en plexo coroideo y células endodiales, mientras que las mesogénicas y velogénicas neurotropas también lo hacen en neuronas, células de la glía y endotelios.¹⁷ Existen informes donde se describe la presencia de virus en encéfalo de aves sin que estas presentaran signos clínicos nerviosos,¹⁷ como la cepa lentogénica B1, de la cual se conoce que se llega a replicar en SNC sin causar enfermedad.¹⁷ Se requiere un estudio con inmunohistoquímica con el cual se demuestre la relación existente entre el antígeno viral y los sitios de lesión encontrados en este estudio.

Se observó que la mayoría de las aves que mostraron signos clínicos nerviosos, presentaron lesiones a la histología, aunque en algunos casos se pudieron observar lesiones sin que los animales presentaran la signología nerviosa correspondiente.

Las lesiones y la distribución encontradas con la V V-ENC, al haber ocasionado signos nerviosos deben ser tomadas en cuenta al hacer diagnóstico diferencial con otras enfermedades del sistema nervioso de las aves tales como influenza aviar, enfermedad de

Marek, encefalomiелitis aviar (tremor epidémico) y enfermedades carenciales como la encefalomalacia. Aunque todas producen signos nerviosos, la aparición de signos en forma abrupta es más indicativo de ENC o de influenza aviar, mientras que el cuadro es progresivo en encefalomiелitis y encefalomalacia. Por otra parte, dado que clínicamente se comportan de manera similar ENC e influenza aviar^{15,21} deben ser comparadas las lesiones en SNC.^{25,26}

Dentro de las lesiones reportadas para otros paramixovirus, la desmielinización fue un hallazgo que no se describe de manera frecuente en estudios de ENC, así como sucede con el distemper canino, que presenta al igual que ENC una fase respiratoria, una digestiva y otra nerviosa. En el presente estudio, las áreas de desmielinización fueron más aparentes en el tectum óptico siendo pequeñas pero frecuentes a partir de las 24 horas PI.

El engrosamiento vascular y el aumento en la presión intracraneal puede afectar los reflejos propioceptivos y resultar en depresión,^{15,25,26} la cual es un signo de la ENC. Esto es ampliamente discutible, ya que existen muchas enfermedades que no involucran al SNC y sin embargo, se presentan con depresión. En este estudio no hubo un engrosamiento vascular como tal, pero la depresión se le podría atribuir, al menos en parte, al edema que si bien fue leve, estuvo presente y por lo tanto, pudo ocasionar un incremento en la presión intracraneal.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, se puede concluir que las lesiones descritas en la mayoría de la literatura para ENC no siempre se presentan como se describen. Con este estudio también se pudo ver que es de extrema importancia realizar cortes de tipo transversal o coronal en distintos puntos del encéfalo, ya que las lesiones se localizan en su mayoría dentro de las subregiones del neostriato, hiperestriato, quiasma óptico, tectum óptico y el puente. Los agentes etiológicos pueden presentar tropismo por alguna zona encefálica específica, como sucede en mamíferos. Si se continúa haciendo tan solo un corte de manera transversal, es muy posible que no se logren observar las lesiones, no porque estas no se encuentren presentes, sino por su ubicación anatómica. Es necesario sin embargo, hacer más estudios con el fin de determinar si cada cepa tiene una afinidad a cierta región encefálica. Podría haber diferencias entre las distintas cepas existentes. Se requiere realizar estudios, en un futuro, comparando los sitios de lesión de otras cepas involucradas en la enfermedad de Newcastle y determinar la distribución del virus por Inmunohistoquímica.

LITERATURA CITADA

1. Sánchez WC. Repercusiones Económicas y Políticas del brote de Newcastle en la comarca lagunera. Memorias del Curso Enfermedades emergentes: Enfermedad de Newcastle; 2000 julio 14; México (DF). Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas. 2000:16-19
2. Tamas Fehervari. Estrategias y control de la enfermedad de Newcastle en otros países. Memorias del Curso Enfermedades emergentes: Enfermedad de Newcastle; 2000 julio 14; México (DF). Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas. 2000:1-8
3. World Animal Health- 2000 -OIE; revisado en octubre del 2001 http://www.oie.int/fr/info/hebdo/FIS_61.htm
4. Beard CW, Hanson RP, Newcastle disease. In: Alexander DJ. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. 3rd ed. Pennsylvania: American association of avian pathologist, 1989: 114-120
5. Alexander DJ. Newcastle disease and other avian Paramixoviridae infections. In: Calnek BW, Hoffstad S, Barnes HJ, Reid WN and Yoder WN. Diseases of poultry. Ames Iowa: Iowa State University Press, 1997: 541-570
6. Norma Oficial Mexicana NOM-013-ZOO-1994, Campaña nacional contra la enfermedad de Newcastle presentación velogénica.

Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Diario Oficial Febrero 28 1992.

7. Kouwenhoven E. Newcastle disease. In: McFerran JB and McNulty MS. Virus infections of birds. United States of America (New York): Elsevier Science Publishers, 1993: 341-361
8. Lancaster EJ. Newcastle disease-pathogenesis and diagnosis. Wld's Poult Sci 1981; 37:26-33
9. Galindo MF. Patogénesis de las hemorragias en la enfermedad de Newcastle (tesis de maestría). México DF: Facultad de Medicina veterinaria y zootecnia. UNAM, 2001.
10. Seal SB, King JD, Sellers SH. The avian response to Newcastle disease virus. Developmental and Comparative Immunology 2000; 24:257-268
11. Bhaiyat MI, Ochiai K, Itakura C, Islam MA, Kida H. Brain lesions in young broiler chickens naturally infected with a mesogenic strain of Newcastle disease virus. Avian Pathol 1994;223:693-708.
12. Bhaiyat MI, Ochiai K, Itakura C, Islam MA, Kida H. Brain lesions in young broiler chickens experimentally infected with a neuroadapted strain of mesogenic Newcastle disease virus. J Vet Med Sci 1995;57:237-244.
13. King AS, Lucas AM, Breazile JE and Evans HE. Nómima Anatómica Avium. An Anatomical Dictionary of Birds. London: Academic Press, 1979:417-472

14. Benzo CA. Nervous system. In: PD. Sturkie, editors. Avian Physiology. 4th ed. Springer-Verlag New York, 1986: 1-36.
15. Pattison M. Histopathology of some viral infections of the central nervous system of domestic fowl. Veterinary Bulletin 1973;(43)6:305-310
16. Roy P, Koteeswaran A, Muralimanohar B, Venugopalan AT. Pathological studies of a Velogenic Newcastle Disease Virus in Chicken. Cheiron 1998;27:102-106
17. Wilczynski PS, Cook LM, Stevens GJ. Newcastle Disease as a Model for Paramyxovirus-induced Neurologic Syndromes. *II Detailed Characterization of the Encephalitis*. Am J Pathol 1977;(3)89:649-665
18. Brown C, King DJ, Seal BS. Pathogenesis of Newcastle disease in chickens experimentally infected with viruses of different virulence. Vet Pathol 1999; 36:125-132.
19. Riddel C. Avian Histopathology. 2nd edition. American Association of Avian Pathologists, Tallahassee, Florida, 1996: 183-192
20. Estrada FE, Peralta ZL, Rivas MP. Manual de Técnicas Histológicas. México: AGT Editor SA, 1982.
21. Helmboldt FC. Histopathologic differentiation of diseases of the nervous system of the domestic fowl (*Gallus Gallus*). 1971: 229-240

22. Hanson RP, and Brandly CA. Identification of vaccine strains of Newcastle disease virus. *Science* 1955; 122:156-157
23. Benerjee M, Reed WM, Fitzgerald DS, Panigrahy B. Neurotropic Velogenic Newcastle Disease in Cormorants in Michigan: Pathology and Virus Characterization. *Avian Dis* 1994; 38:873-878
24. Meteyer CU, Docherry DE, Glaser LC, Franson JC, Senne DA, Duncan R. Diagnostic Findings in the 1992 Epornitic o Neurotropic Nelogenic Newcastle Disease in Double-crested Cormorants from the Upper Midwestern United States. *Avian diseases* 1997;41:171-180
25. Jubb KVF, Huxtable CR. Cytopathology of Nervous Tissue. In: Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. *Pathology of Domestic Animals*. 4th ed. Academic Press San Diego California, 1993: 292-309
26. Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC, Studdert MJ, *Paramyxoviridae*. In: *Veterinary Virology*. 3rd ed. Academic Press, San Diego California, 1999: 419-421

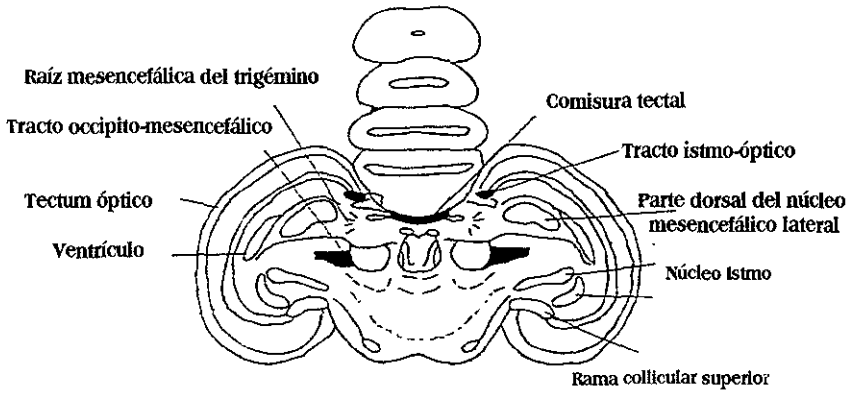


Figura 1

Sección transversal de la región del mesencéfalo.

Tomado de: Benzo CA.¹⁴ Nervous System. In: PD. Sturkie, editors. Avian Physiology. 4th ed. Springer-Verlag New York, 1986

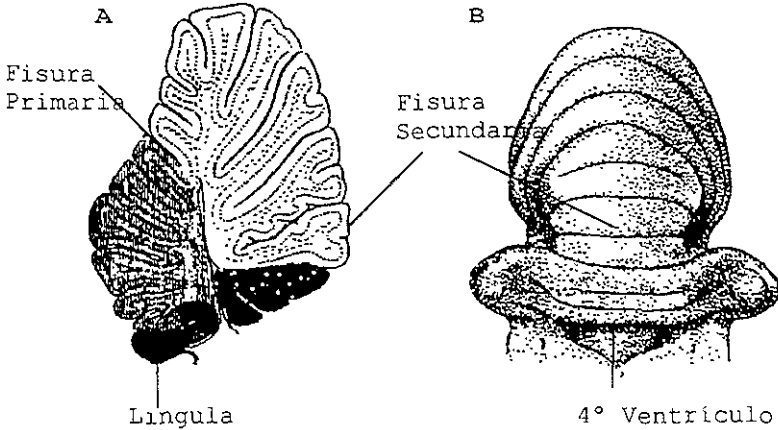


Figura 2

Cerebro; A) Sección media B) Vista posterior

Tomado de: Benzo CA.¹⁴ Nervous System. In: PD. Sturkie, editors. Avian Physiology. 4th ed. Springer-Verlag New York, 1986

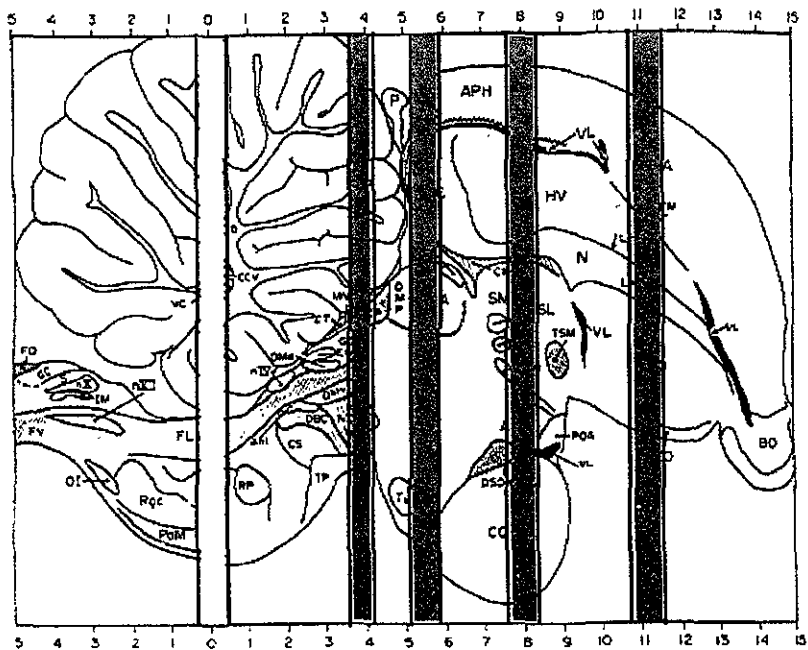


FIGURA 3

Ubicación de los cortes evaluados.

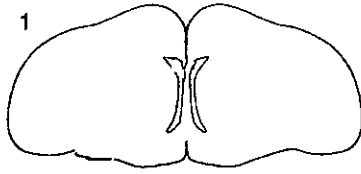
Diencefalo Rostral

Mesencefalo

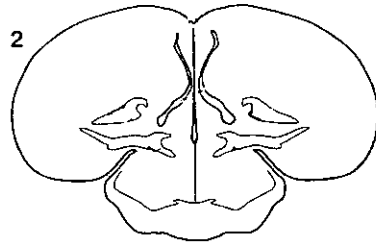
Telencefalo

Diencefalo Caudal

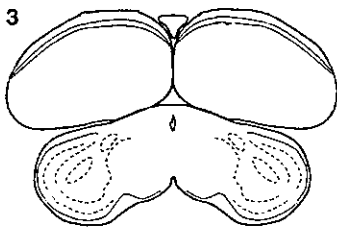
Tomado de: King AS,¹³ Lucas AM, Breazile JE and Evans HE. Nómima Anatómica Avium. An Anatomical Dictionary of Birds. London: Academic Press, 1979



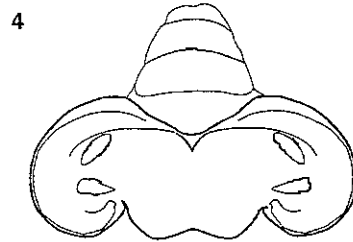
TELENCEFALO



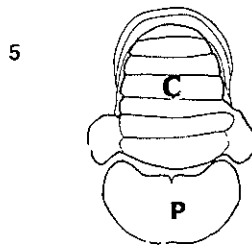
DIENCEFALO ROSTRAL



DIENCEFALO CAUDAL



MESENCEFALO



CEREBELO Y PUENTE

FIGURA 4

Esquema de los 5 cortes revisados.

Tomado del: Riddel¹¹ C. Avian Histopathology. 2nd edition. American Association of Avian Pathologists, Tallahassee, Florida, 1996;185

CUADRO 1

Frecuencia de la signología observada en pollos libres de patógenos específicos infectados con el virus de la enfermedad de Newcastle cepa Chimalhuacán a un título de 10^6 (DIE₅₀)

SIGNOS CLÍNICOS	NÚMERO DE AVES/ TOTAL	FRECUENCIA %	
RESPIRATORIOS (estornudos y secreción nasal ¹)	34/36	94	
DIGESTIVOS (Diarrea verde esmeralda)	34/36	94	
NERVIOSOS	30/36	86	
		36/36ⁱⁱ	30/30ⁱⁱⁱ
❖ Tremor	29/36	80%	96%
❖ Tics	28/36	77%	93%
❖ Incoordinación	25/36	69%	83%
❖ Parálisis unilateral	7/36	19%	23%
❖ Tortícolis	2/36	5.5%	6.6%

¹ Todas las aves presentaron estornudos y secreción nasal simultáneamente

ⁱⁱ Utilizando como el 100% a las 36 aves

ⁱⁱⁱ Utilizando como el 100% a las 30 aves que presentaron signos nerviosos

CUADRO 2

Subregiones más afectadas por corte, en aves libres de patógenos específicos inoculadas con el virus de la enfermedad de Newcastle cepa Chimalhuacán a un título de 10^6 (DIE₅₀):

Nombre del Corte y # del Corte	Telencéfalo 1	Diencéfalo 2	Diencéfalo 3	Mesencéfalo 4	Cerebelo y Puente 5
Subregión más afectada	Neostriato Hiperestriato	Neostriato Hiperestriato	Neostriato Hiperestriato Quiasma óptico	Núcleo Rojo Núcleo Mesencefálico Capa Molecular Capa Granulosa Células piramidales Tectum óptico	Núcleo Reticular Núcleo Vestibular Capa Granulosa Capa Molecular Células piramidales

CUADRO 3

Frecuencia de las lesiones producidas en pollos libres de patógenos específicos infectados con el virus de la enfermedad de Newcastle cepa Chimalhuacán a un título de 10^6 (DIE₅₀) por encéfalo y por corte

LESION	FRECUENCIA %		CORTES AFECTADOS (%)				
	Encéfalos lesionados/ Total encéfalos	%	1	2	3	4	5
Gliosis	35/36	97	86	72	78	39	44
Necrosis	32/36	89	64	72	75	75	75
Desmielinización	25/36	69	36	16	15	42	22
Cromatolisis	21/36	58	5.5	0	0	39	47
Degeneración fibrinoide	20/36	55.5	19	30.5	14	5.5	8
Edema	19/36	53	14	42	19	8	3
Neuronofagia	19/36	53	22	22	8	17	0
Manguitos perivasculares	12/36	33	11	14	11	11	5.5
Hemorragias	10/36	28	17	3	8	3	3
Meningitis no supurativa	7/36	19	3	3	14	3	0

CUADRO 4

Descripción detallada de las lesiones histológicas en encéfalo de pollos LPE infectados con el virus de la enfermedad de Newcastle cepa Chimalhuacán a un título de 10^6 (DIE₅₀)

POLLO	Hora Muestreo (PI)	Lesiones histológicas ^D
1	24	1. Focos de necrosis leve en neostriato 2. Manguito perivascular leve y focos de necrosis leves. 3. Desmielinización, células de la glía activa 4. Células de la glía reactivas 5. Células de la glía reactivas
2	24	1. Focos de gliosis escasos, focos de necrosis, edema leve. Neostriato 2. Gliosis discreta en neostriato. 3. Gliosis moderada, desmielinización moderada. 4. Células de la glía reactivas, desmielinización leve. 5. Edema ^E leve.
3	36	1. Manguito Perivascular leve, edema moderado, gliosis escasa, focos de necrosis leve en neostriato 2. Edema leve, focos de gliosis leve. 3. Sin cambios aparentes (SCA) 4. Edema, gliosis, desmielinización, manguito perivascular leve, degeneración fibrinoide ^F 5. Desmielinización leve
4	36	1. Desmielinización leve y focos de necrosis en neostriato. 2. Focos de necrosis, degeneración fibrinoide, edema leve, focos gliosis leves y desmielinización leve en neostriato. 3. Desmielinización en quiasma óptico, hemorragia submeningea, gliosis en hiperestriato, manguito perivascular leve.

^D Los números corresponden al número de corte 1 Telcéfalo. 2 Diencefalo quiasma óptico rostral. 3 Diencefalo quiasma óptico caudal. 4. Mesencéfalo. 5 Cerebelo y puente

^E En todos los casos se refiere a edema perivascular

^F En todos los casos se refiere a degeneración fibrinoide en vasos sanguíneos

		<ol style="list-style-type: none"> 4. Gliosis, cromatolisis periférica, neuronofagia. 5. Gliosis en puente núcleo reticular, gliosis en núcleo vestibular. Desmielinización en puente con focos de gliosis moderados, cromatolisis periférica, meningitis no supurativa leve, necrosis en capa molecular del cerebelo.
5	48	<ol style="list-style-type: none"> 1. Desmielinización y necrosis en neostriato 2. Necrosis focal leve 3. Degeneración fibrinoide, focos de gliosis y hemorragia submeníngea leve 4. SCA 5. SCA
6	48	<ol style="list-style-type: none"> 1. Gliosis leve, Hemorragia leve, Degeneración fibrinoide leve (todo en neostriato) 2. SCA 3. SCA 4. SCA 5. SCA
7	52	<ol style="list-style-type: none"> 1. Hemorragia, edema leve, manguito perivascular leve, necrosis focal, cromatolisis periférica, desmielinización leve. Todo en neostriato 2. Desmielinización y edema, gliosis moderada, focos de necrosis y células de Gitter. 3. Meningitis no supurativa moderada, focos de necrosis en quiasma óptico moderados, edema leve, gliosis moderada en quiasma óptico. 4. Focos de necrosis moderados en <i>Tractotectoespinal</i> 5. Focos de necrosis en capa de células piramidales, tracto rubroespinal, en núcleo motor de nervio trigémino, manguito perivascular leve, focos de necrosis moderados en capa granulosa, hemorragia en Cerebelo, Focos de necrosis moderados en sustancia blanca.
8	52	<ol style="list-style-type: none"> 1. Gliosis en neostriato y hemorragia en hiperestriato, gliosis, focos de necrosis en neostriato e hiperestriato, desmielinización, hemorragia submeníngea 2. Manguito perivascular en neostriato leve, degeneración fibrinoide leve, neuronofagia

		<p>en neostriato, manguito perivascular moderado en neostriato, necrosis con células de gitter en neostriato.</p> <p>3. Necrosis con gliosis en hiperestriato, desmielinización en hiperestriato, desmielinización en quiasma óptico, desmielinización en hipotálamo, manguito perivascular leve en hiperestriato, necrosis con gliosis en neostriato.</p> <p>4. Necrosis con gliosis en tracto tectocerebelaris, degeneración neuronal severa en el núcleo mesencefálico de un lado y del otro apenas empiezan. Necrosis en capa granulosa del cerebelo, neuronofagia y pérdida de células piramidales, manguito perivascular leve en cerebelo, necrosis en capa molecular, manguito perivascular con degeneración fibrinoide.</p> <p>5. Necrosis en puente en núcleo reticular, necrosis en puente en núcleo ventricular, cromatolisis periférica severa con satelitosis en capas de células piramidales, gliosis severa.</p>
9	56	<p>1. Degeneración neuronal en hiperestriato, gliosis difusa severa en neostriato, desmielinización leve.</p> <p>2. Gliosis difusa severa con necrosis difusa severa, neuronofagia difusa severa en neostriato, Hiperestriato y Paleostriato.</p> <p>3. Necrosis con gliosis difusa severa en neostriato hiperestriato, necrosis focal en el tractoestrato mesencefálico y estratocerebelaris</p> <p>4. Degeneración neuronal severa con gliosis moderada, capa de células piramidales con cromatolisis periférica y neuronofagia severa.</p> <p>5. Degeneración y necrosis severa en capa de células piramidales y la capa molecular con pocas células.</p>
10	56	<p>1. Gliosis difusa, desmielinización, necrosis focal en hiperestriato.</p> <p>2. Degeneración fibrinoide, focos de necrosis en hiperestriato, gliosis difusa severa. Células de la glía no están tan reactivas. Focos de necrosis en neostriato,</p>

		<p>degeneración fibrinoide severa en neostriato.</p> <ol style="list-style-type: none"> 3. Edema, necrosis en tractoestrepoencefalico y estrepoocerebelar y en hiperestriato, células de la glía reactivas. 4. Cromatolisis periférica. Desmielinización en sustancia blanca, necrosis de las células de piramidales. 5. No hay gliosis, capas de células piramidales con espacios, no hay focos de necrosis en la granulosa.
11	60	<ol style="list-style-type: none"> 1. Gliosis severa difusa, focos de necrosis abundantes en neostriato e hiperestriato 2. Focos de necrosis abundantes en hiperestriato y gliosis severa difusa. 3. Focos de necrosis en quiasma óptico, foco de necrosis en quiasma óptico, focos necrosis abundantes en neostriato, gliosis difusa moderada. 4. Focos de necrosis abundante en núcleo mesencefálico cromatolisis periférica en el lóbulo óptico. En cerebelo cromatolisis periférica leve, necrosis en molecular, en capa de células piramidales, neuronofagia y focos de gliosis severa 5. En puente, focos de necrosis abundante. No hay gliosis, células piramidales con espacios, focos de necrosis en granulosa.
12	60	<ol style="list-style-type: none"> 1. Necrosis focal escasa en hiperestriato, gliosis difusa severa, degeneración fibrinoide, desmielinización leve en neostriato. 2. Demielinización leve. Necrosis focal, gliosis difusa moderada, edema moderado. Todo en neostriato. 3. Gliosis moderada, necrosis focal escasa en neostriato 4. Neuronofagia y gliosis severa en capa de células piramidales 5. Cromatolisis periférica abundante en núcleo reticular, necrosis focal escasa, hemorragias escasas, desmielinización leve. Capa de Células piramidales igual (idem) a los anteriores (Necrosis gliosis cromatolisis). Degeneración fibrinoide escasa. Necrosis focal moderada en capa

		granulosa.
13	64	<ol style="list-style-type: none"> 1. Gliosis moderada difusa, necrosis focal moderada en hiperestriato. 2. Gliosis focal moderada 3. Meningitis no supurativa leve 4. Necrosis focal escasa en núcleo reticular. Células piramidales con gliosis, cromatolisis periférica severa, neuronofagia, Necrosis focal leve en granulosa. 5. Células piramidales ídem al corte anterior
14	64	<ol style="list-style-type: none"> 1. Gliosis difusa severa en neostriato, meningitis no supurativa leve 2. Necrosis focal escasa en hiperestriato y neostriato 3. No hay muestra 4. Desmielinización leve, cromatolisis periférica, escasa, necrosis en sustancia blanca, capa de células piramidales ídem encéfalo anterior, manguito perivascular leve en sustancia blanca. 5. Manguito perivascular leve en puente. Células piramidales con zonas ausentes de neuronas y gliosis.
15	68	<ol style="list-style-type: none"> 1. Focos de necrosis severos en Paleostriato, foco de necrosis moderado en hiperestriato , manguito perivascular leve, focos de necrosis moderado en neostriato, gliosis difusa y neuronofagia presentes 2. Focos de necrosis en hiperestriato, gliosis difusa, neuronofagia moderada, focos de necrosis en neostriato leve. 3. Gliosis y neuronofagia moderada, focos de necrosis moderados en neostriato, hiperestriato y paleostriato, meningitis leve. 4. Foco de necrosis en el núcleo mesencefálico, lateral al 3er ventrículo. Foco de necrosis en lóbulo óptico, Foco entre tracto espinal y tractocerebroespinal. Células piramidales ídem anteriores. Gliosis en molecular, necrosis moderada en capa molecular. 5. Cromatolisis periférica en puente, necrosis en núcleo vestibular, cromatolisis en células piramidales. Necrosis moderada en capa molecular

16	68	<ol style="list-style-type: none"> 1. Meningitis leve, focos de necrosis moderados en neostriato, gliosis moderada 2. Focos de necrosis en paleostriato, manguito perivascular leve en neostriato, foco de necrosis células de la glía menos reactivas, degeneración fibrinoide. 3. Focos de necrosis en neostriato. 4. Foco de necrosis en hiperestriato, manguito perivascular leve en lóbulo óptico, foco de necrosis en núcleo rojo, foco de gliosis en núcleo reticular. 5. Foco necrosis leve en puente, focos necrosis moderados en capa molecular células piramidales ídem encéfalos anteriores.
17	72	<ol style="list-style-type: none"> 1. Manguito perivascular leve, degeneración fibrinoide y necrosis en neostriato (leves ambas) 2. Necrosis en hiperestriato, degeneración fibrinoide leve, gliosis difusa moderada, edema moderado. Meningitis no supurativa leve. 3. Degeneración fibrinoide. Necrosis focal escasa en tracto septomesencefálico, gliosis focal leve en quiasma óptico. 4. Hemorragia leptomenígea, desmielinización en quiasma óptico, edema leve. Necrosis focal leve, necrosis en capa molecular del cerebelo, Células piramidales igual que anteriores, necrosis en capa granulosa. 5. Región del puente con cromatolisis periférica, necrosis escasa en región molecular del cerebelo.
18	72	<ol style="list-style-type: none"> 1. Gliosis moderada, neuronofagia en neostriato 2. Gliosis difusa moderada, foco de necrosis en hiperestriato leve. 3. Focos de necrosis en quiasma óptico, gliosis difusa leve. 4. Necrosis sin células de glía. En núcleo vestibular: desmielinización, satelitosis. células piramidales igual encéfalo anterior. 5. Cromatolisis periférica en puente. Degeneración y necrosis de células piramidales con gliosis, satelitosis. Desmielinización de sustancia blanca,

		gliosis en zona molecular no es tan fuerte pero sí en el área de células piramidales.
19 Animal Muerto	72	<ol style="list-style-type: none"> 1. Hemorragia, desmielinización leve, gliosis leve 2. Gliosis moderada, desmielinización leve alrededor del vaso sanguíneo, focos de necrosis leves en hiperestriato 3. Necrosis lateral al tercer ventrículo, focos de necrosis moderados, neuronofagia, gliosis 4. Gliosis moderada, desmielinización del tectum (lóbulo óptico), focos de necrosis en lóbulo óptico, en cerebelo las células piramidales ausentes en su mayoría. 5. Necrosis en núcleo reticular (puente), necrosis en capa molecular con células de Gitter. Necrosis en capa granulosa.
20 Animal Muerto	72	<ol style="list-style-type: none"> 1. Degeneración fibrinoide, desmielinización leve alrededor del vaso sanguíneo, focos de necrosis en neostriato, gliosis y neuronofagia en neostriato. 2. Gliosis y neuronofagia severa difusa, gliosis severa en neostriato, focos de necrosis. 3. Necrosis y gliosis severa en quiasma óptico, focos de necrosis en hiperestriato, desmielinización leve. 4. Focos de necrosis moderados en lóbulos ópticos en su parte central y lateral, células piramidales idem encéfalo anterior. 5. Necrosis en puente, células piramidales idem encéfalo anterior.
21 Animal Muerto	72	<ol style="list-style-type: none"> 1. Focos de necrosis en neostriato, gliosis moderada 2. Gliosis severa difusa, focos de necrosis 3. Gliosis difusa severa 4. Gliosis moderada, neuronofagia, autólisis, Células piramidales con gliosis severa, partes donde ya no hay células piramidales, resto idem encéfalo anterior. 5. Células piramidales con necrosis y gliosis.
22	73.5	<ol style="list-style-type: none"> 1. Gliosis severa difusa, focos de necrosis leves 2. idem al corte del encéfalo anterior. 3. Gliosis severa difusa, necrosis en quiasma

		<p>óptico</p> <p>4. Manguito perivascular leve, necrosis. Capa de células piramidales ídem encéfalo anterior.</p> <p>5. Focos de necrosis en puente.</p>
23	73.5	<p>1. Necrosis en hiperestriato, focos de gliosis leves</p> <p>2. Gliosis y neuronofagia moderados en neostriato</p> <p>3. Necrosis leve en quiasma óptico, gliosis difusa moderada, neuronofagia moderada.</p> <p>4. Necrosis entre las capas del tectum óptico.</p> <p>5. Foco de necrosis severo en el puente lateral a la lingula (núcleo vestibular), Células piramidales con necrosis y gliosis.</p>
24	73.5	<p>1. Gliosis moderada en hiperestriato, gliosis severa en neostriato</p> <p>2. No hay muestra</p> <p>3. Degeneración fibrinoide con manguito perivascular leve, gliosis leve, necrosis en quiasma óptico.</p> <p>4. Focos de necrosis moderados, Células piramidales con necrosis y gliosis.</p> <p>5. Purkinje ídem al 5° corte del encéfalo anterior</p>
25	73.5	<p>1. Auto lisis</p> <p>2. Gliosis moderada, neuronofagia moderada.</p> <p>3. Edema, focos de necrosis leves en neostriato, focos de necrosis laterales a ventrículos, gliosis severa en neostriato.</p> <p>4. Desmielinización leve alrededor de un vaso sanguíneo, focos de gliosis moderada, meningitis leve, gliosis en neostriato severa, degeneración fibrinoide leve, desmielinización y hemorragia en hiperestriato, necrosis moderada en quiasma óptico.</p> <p>5. Focos de necrosis severos en lóbulo óptico, necrosis leve en capa molecular. Capa de células piramidales ídem encéfalo anterior. Focos de necrosis leves en núcleo vestibular, Células piramidales con cromatolisis periférica.</p>
26	73.5	<p>1. Desmielinización moderada alrededor de vaso sanguíneo. Gliosis moderada en</p>

Animal Muerto		<p>neostriato.</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. Focos de necrosis moderada, gliosis en hiperestriato severa y en neostriato, edema leve, neuronofagia. 3. Desmielinización leve alrededor del vaso sanguíneo, edema leve, necrosis en hiperestriato, necrosis en quiasma óptico. 4. Gliosis leve, necrosis, desmielinización al centro del lóbulo óptico. Necrosis en capa molecular y en granulosa, células piramidales ídem. 5. Cromatolisis en el puente en núcleo reticular, células piramidales ídem encéfalo anterior, necrosis en capa molecular.
27	74	<ol style="list-style-type: none"> 1. Focos de necrosis en hiperestriato, focos de gliosis severa y edema moderado en neostriato. 2. Edema leve, focos de gliosis severa difusa en neostriato en hiperestriato leve, necrosis escasa. 3. Gliosis leve, foco necrosis leve, edema moderado, necrosis en parte central del quiasma óptico y foco de necrosis leve en quiasma óptico. 4. Focos de necrosis entre la 2ª y 3ª capa de lóbulo óptico y la parte externa (la que desemboca en quiasma), desmielinización en quiasma, células piramidales ídem. 5. Células piramidales ídem encéfalo anterior, Focos de necrosis leves en puente, desmielinización en capa molecular.
28	75.5	<ol style="list-style-type: none"> 1. Focos de gliosis severa en neostriato y leve en hiperestriato, degeneración fibrinoide, edema y necrosis moderada.. 2. Edema, foco de necrosis, degeneración fibrinoide severa, focos de gliosis moderados en neostriato y leves en hiperestriato. 3. Focos de necrosis leves, desmielinización alrededor de vasos sanguíneos. Necrosis en quiasma óptico y gliosis difusa moderada. 4. Desmielinización alrededor de vasos sanguíneos, en 2ª capa del lóbulo óptico, células piramidales ausentes, necrosis entre las capas molecular y granulosa.

		5. Focos de necrosis moderados en puente, zona de necrosis y cromatolisis en células piramidales severa, zonas muy amplias sin neuronas.
29	75.5	<ol style="list-style-type: none"> 1. Focos de necrosis severos en hiperestriato, edema, desmielinización alrededor del vaso sanguíneo. Focos de gliosis difusa severa en neostriato e hiperestriato, degeneración fibrinoide. 2. focos de necrosis en hiperestriato leves, desmielinización leve, focos de gliosis difusos moderados, edema leve, degeneración fibrinoide. 3. Focos de gliosis en hiperestriato (moderados) y en neostriato (leves), focos de necrosis en hiperestriato. 4. Focos de necrosis y desmielinización en 2ª capa del lóbulo óptico. 5. Focos de necrosis moderados en puente, desmielinización alrededor del vaso sanguíneo, degeneración fibrinoide en zona granular, necrosis en la molecular, gliosis severa.
30	76	<ol style="list-style-type: none"> 1. Gliosis leve en hiperestriato y moderada en neostriato, edema y hemorragia 2. No hay muestra 3. Edema, focos de gliosis leves, focos de necrosis leves 4. Focos de necrosis en 2ª capa, focos de necrosis leves entre quiasma y capa molecular 5. Focos de gliosis moderada, Células piramidales ya no hay, desmielinización leve.
31	76	<ol style="list-style-type: none"> 1. Focos de necrosis severa en hiperestriato, degeneración fibrinoide severa, gliosis severa, edema leve, hemorragia leve. 2. Edema leve, focos de necrosis severa, hemorragia 3. Degeneración fibrinoide, edema, focos necrosis escasos, focos de gliosis leves, focos de necrosis en quiasma óptico. 4. Desmielinización entre 2ª y 1ª capa, necrosis en puente, necrosis en núcleo vestibular, necrosis en quiasma óptico, focos de necrosis abundantes en capa granular y molecular, células piramidales

		<p>ídem corte 5 del encéfalo anterior.</p> <p>5. Focos de necrosis severos en puente, edema leve. Focos de necrosis severos en capa de la granulosa y en la molecular.</p>
32	76.5	<p>1. Focos de necrosis leves, degeneración fibrinoide leve, edema moderada, gliosis moderada, desmielinización alrededor del vaso sanguíneo leve.</p> <p>2. Edema severo, necrosis moderados, gliosis moderada, degeneración fibrinoide.</p> <p>3. ídem corte anterior pero en quiasma óptico</p> <p>4. Desmielinización, células piramidales ídem encéfalo anterior, necrosis en molecular.</p> <p>5. Focos necrosis moderados en puente, células piramidales ídem, zona molecular con necrosis moderada, zona granular con necrosis moderada.</p>
33	77	<p>1. Focos necrosis leves abundantes, gliosis y neuronofagia severa.</p> <p>2. Edema, necrosis moderada, degeneración fibrinoide.</p> <p>3. Desmielinización en vaso sanguíneo, edema leve, gliosis severa en hiperestriato, moderada en neostriato, focos de necrosis leves, focos necrosis escasos en quiasma óptico y focos de Gliosis moderados.</p> <p>4. Desmielinización, gliosis leve, células piramidales ídem encéfalo anterior.</p> <p>5. ídem corte 5 del encéfalo anterior.</p>
34	79.5	<p>1. Focos de gliosis severos en hiperestriato, en neostriato moderados, edema leve, desmielinización leve alrededor del vaso sanguíneo</p> <p>2. Degeneración fibrinoide, desmielinización leve, edema leve, gliosis moderada, manguito perivascular leve, focos de necrosis abundantes en neostriato</p> <p>3. Focos de gliosis y focos de necrosis escasos en quiasma óptico.</p> <p>4. Quiasma óptico con focos de necrosis y desmielinización, cerebelo con necrosis leve en capa de la granulosa. Células piramidales con huecos, resto normal.</p> <p>5. Focos necrosis moderados en puente, células piramidales ídem, zona molecular con necrosis moderada, zona granular con necrosis moderada.</p>

Animal Muerto

35	80	<ol style="list-style-type: none"> 1. Focos de necrosis escasos, gliosis severa, Edema leve. Todo en neostriato 2. Focos de necrosis escasos en neostriato, degeneración fibrinoide, gliosis moderada. 3. Necrosis escasa, edema, gliosis leve, necrosis moderada en quiasma 4. Necrosis en molecular, células piramidales ídem encéfalos anteriores. 5. Focos necrosis en puente, necrosis en capa molecular y granulosa moderada, degeneración fibrinoide.
36	80	<ol style="list-style-type: none"> 1. Focos de gliosis severos, edema moderado, focos necrosis leves. Todo en neostriato e hiperestriato. 2. Edema leve, degeneración fibrinoide, gliosis severa, focos de necrosis de leves a moderados. 3. Focos de necrosis leves y focos de gliosis severos en quiasma óptico. 4. Focos de necrosis severos en lóbulo óptico, células piramidales ídem encéfalos anteriores, focos de necrosis en la capa granular. 5. ídem corte 5 de encéfalo anterior.

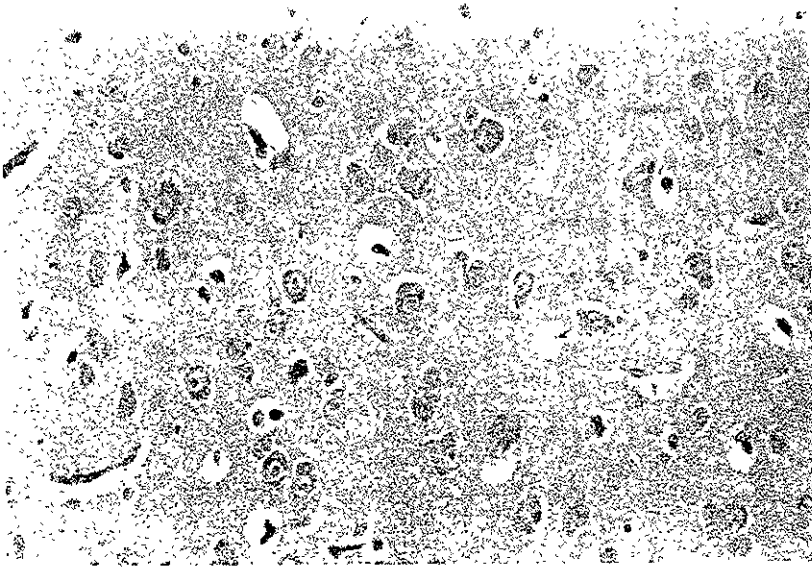


FIGURA 5
Neostriato donde se observa sustancia gris sin lesiones (H&E, 400X)

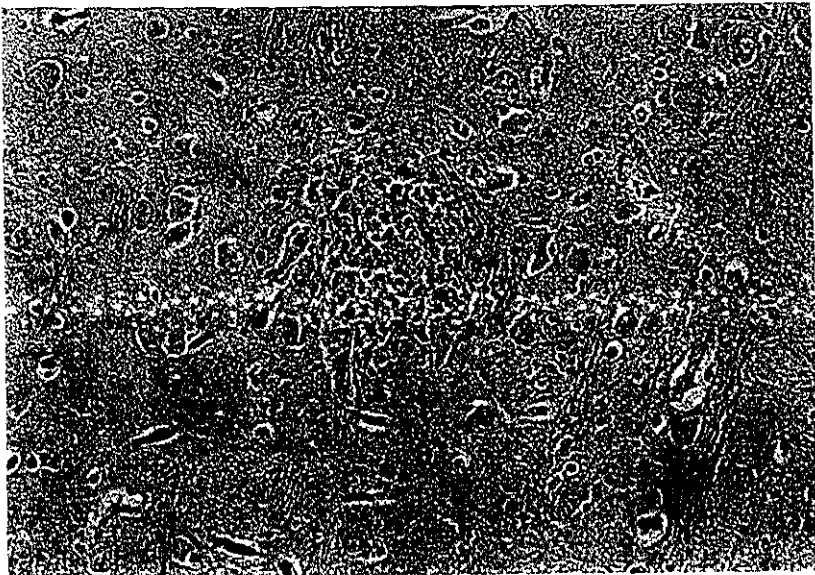


FIGURA 6
Neostriato donde se observa un foco de gliosis (H&E, 150X)

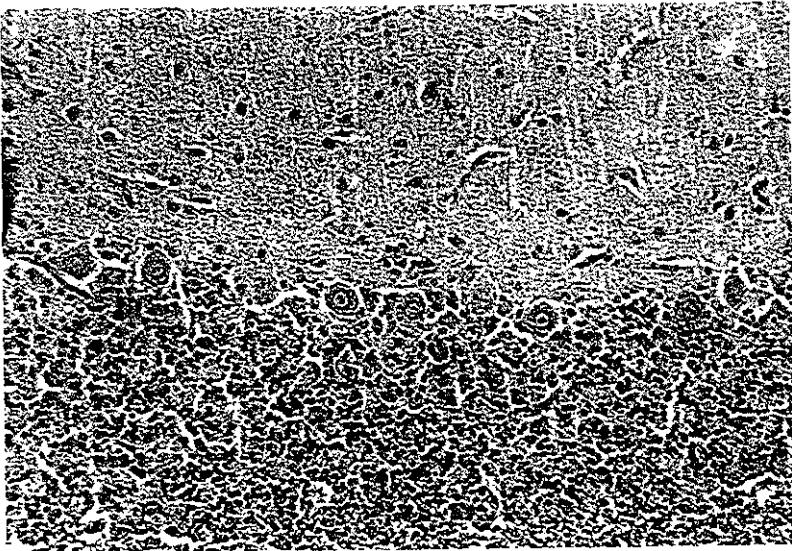


FIGURA 7
Cerebelo sin lesiones (H&E, 150X)

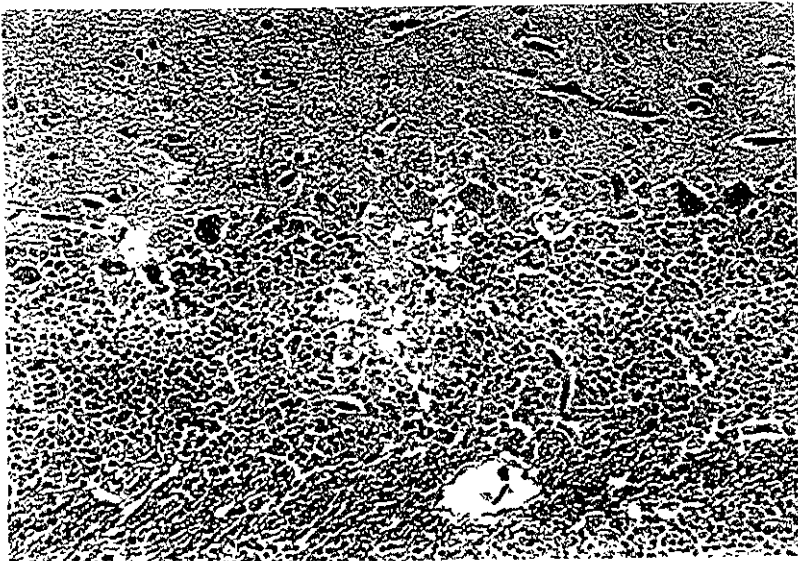


FIGURA 8
Cerebelo La capa de la granulosa presenta necrosis (H&E, 150X)

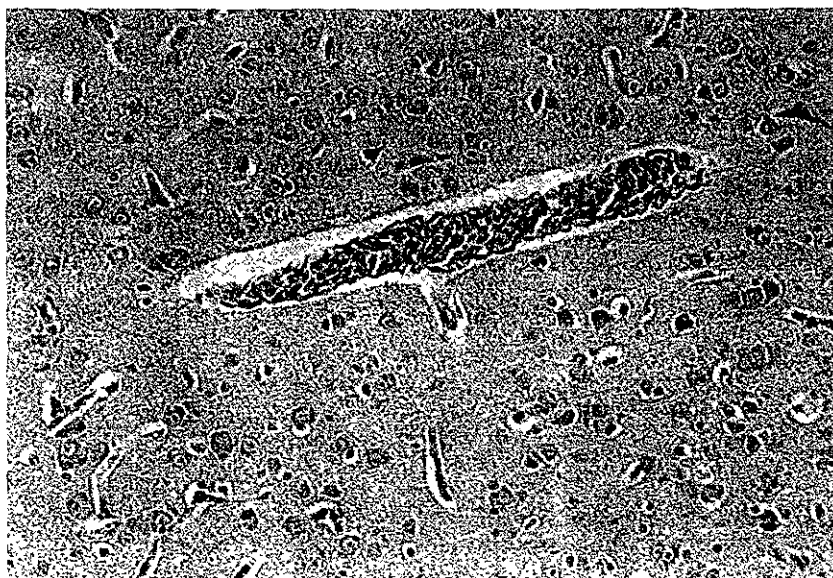


FIGURA 9

Hiperestriato en el cual se observa un vaso sanguíneo normal (H&E, 150X)

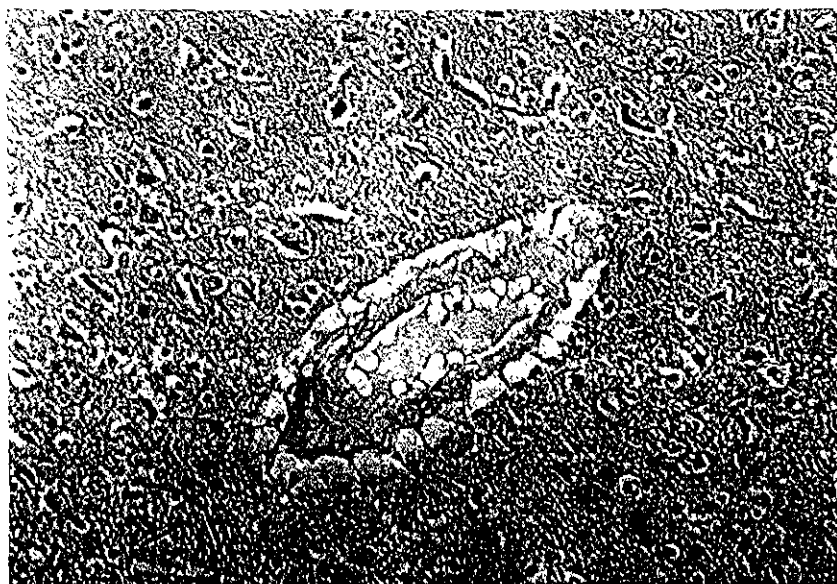


FIGURA 10

Neostriato donde se observa un vaso con degeneración fibrinoide y edema (H&E, 150X)

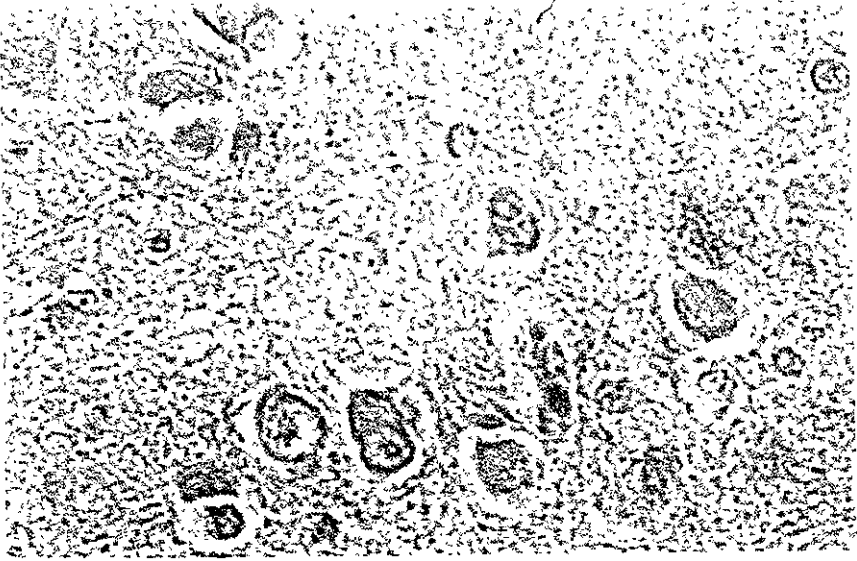


FIGURA 11
Neostriato con neuronas y células de la glía normales (H&E, 600X)

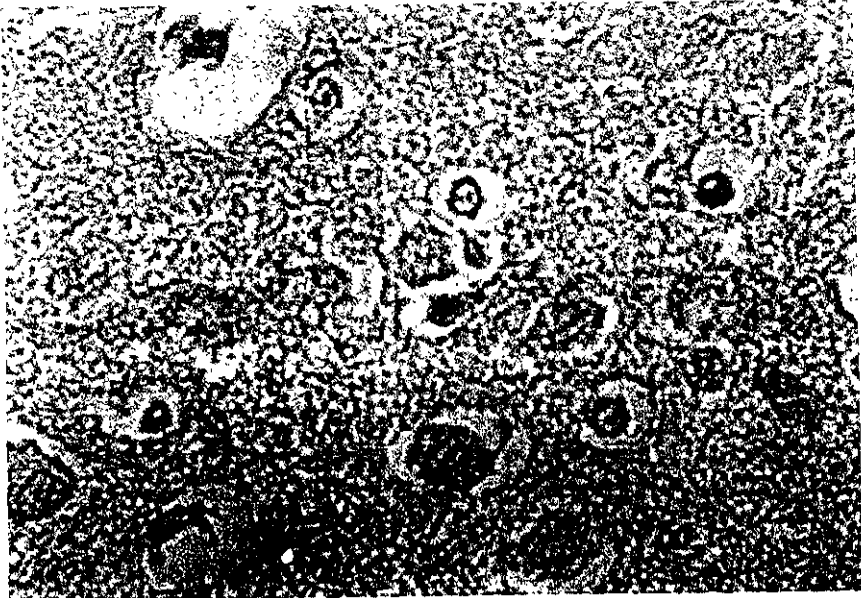


FIGURA 12
Neostriato donde se observa satellitosis y neuronofagia (H&E, 600X)

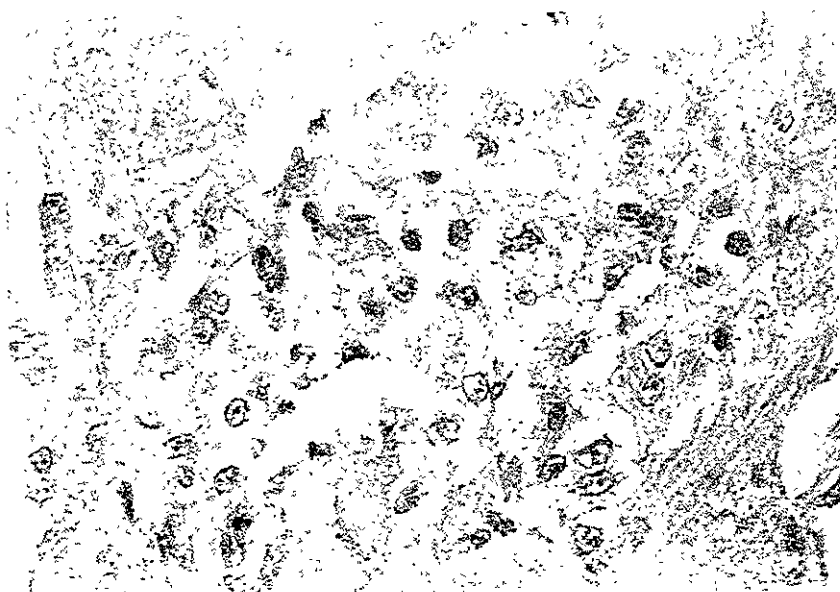


FIGURA 13
Neostriato con gliosis y necrosis (H&E, 400X)

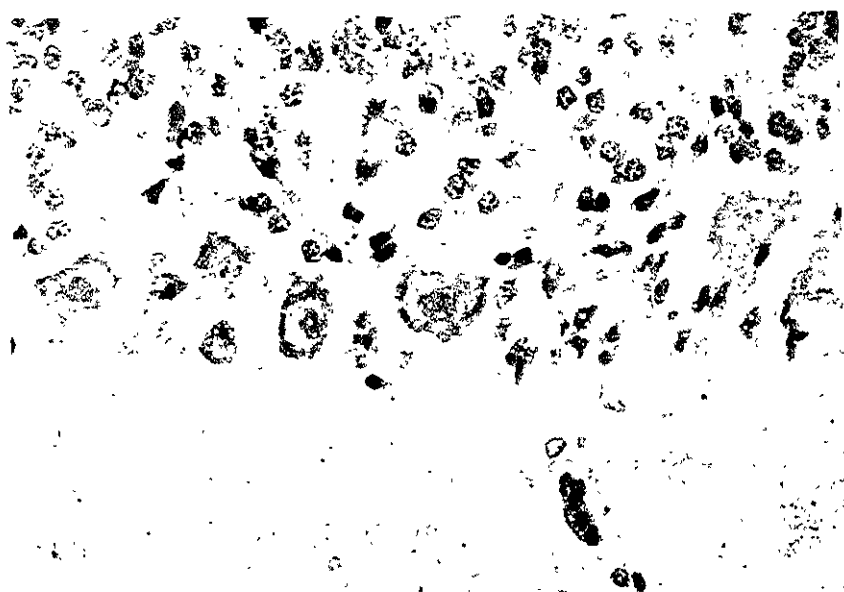


FIGURA 14
Células piramidales con cromatolisis (H&E, 400X)