



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y DE LA SALUD ANIMAL**

**EFFECTO DE LA INOCULACIÓN DE PALOMAS DOMÉSTICAS
(*Columba livia*), CON VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE
AISLADOS DE AVES COMERCIALES EN MÉXICO.**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A:

MARGARITA AUREA ARREGUÍN NAVA

**TUTOR: DR. NÉSTOR LEDESMA MARTÍNEZ
COMITÉ TUTORAL: DRA. ELIZABETH LOZA RUBIO
DR. ENRIQUE M. ABURTO FERNÁNDEZ.**

MÉXICO, D.F.

2008.



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 mis queridos hijos Diana y Diego, por ser lo más importante en mi vida

A mi esposo Roberto por su ayuda, su paciencia y su amor que me permite seguir adelante...

A mi mamá Margarita, por su apoyo incondicional.

A mis queridas hermanas Paty y Sandra por ser las mujeres más hermosas que he conocido.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por ser la mejor.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, a los directivos y académicos que me formaron y me dieron la oportunidad de estar ahí una vez más.

Al Departamento de Producción animal: aves. Maestros, alumnos y administrativos que me permitieron sentirme como en casa...

Al Dr. Néstor Ledesma, Dra. Elizabeth Loza y Dr. Enrique Aburto por su paciencia y esmero en la realización de este trabajo.

Al Dr. Napoleón Nieto y los miembros de su grupo de Columbofilia por su confianza al donar las palomas para este proyecto.

Al Dr. Tamás Fehervari, Dr. Vilmos Palya y Dr. Loimnizc B. Por sus ideas, sugerencias y comentarios

A los nuevos amigos que conocí durante esta estancia y a todas las personas de las que recibí ayuda de forma desinteresada.

RESUMEN

La enfermedad de Newcastle (ENC) tipo velogénico produce severos impactos económicos. El contacto directo e indirecto entre palomas y aves comerciales es muy frecuente. El objetivo de este trabajo fue describir los efectos clínicos, patológicos e inmunológicos de las palomas infectadas experimentalmente, con una cepa velogénica y otra mesogénica de virus de la ENC aislados en México. Se utilizaron sesenta palomas mensajeras menores a tres años de edad, serológicamente negativas al VENC por pruebas de Inhibición de la Hemoaglutinación. Estas fueron distribuidas en tres grupos: el grupo I fue inoculado con 0.1 ml de virus velogénico, el grupo II con 0.1 ml de virus mesogénico y el grupo III fungió como testigo. Se colectaron hisopos traqueales, cloacales y heces para reaislamiento viral. Las palomas fueron observadas para la detección de signos clínicos y/o mortalidad. A los 7, 14, 21 y 28 días post-inoculación se sacrificaron cinco palomas de cada grupo. Se realizaron las necropsias de cada una y se tomaron muestras de órganos para aislamiento viral e histopatología, se realizaron pruebas serológicas de HI para la medición de anticuerpos. Los signos clínicos observados en los grupos I y II, fueron de tipo respiratorio de moderados a leves como estornudos y lagrimeo, otros fueron diarrea, anorexia y plumas erizadas. En el grupo control no se presentaron signos clínicos. No se observó mortalidad en ninguno de los tres grupos. y la respuesta inmune fue detectada. Se concluye que las palomas inoculadas se infectan con el virus de ENC velogénico y mesogénico y fueron capaces de recuperarse de la infección. El aislamiento viral de órganos pudo llevarse a cabo, por lo que se considera que las palomas son diseminadoras potenciales del virus de la ENC hacia aves comerciales y de traspatio.

Palabras clave: Enfermedad de Newcastle, palomas, infección experimental.

ABSTRACT

The velogenic form of Newcastle disease (vND) is one of the most important viral diseases of birds worldwide. Direct or indirect contact between pigeons and poultry occurs frequently. The objective of this work was to describe the clinical, pathological, and immunological effects of pigeons experimentally infected with two different NDV strains at different days post infection. Sixty racing pigeons serologically negative to NDV by Hemagglutination Inhibition test (HI), younger than three years-old. The pigeons were distributed in three groups. The first group of pigeons was inoculated with 0.1 ml of a NDV velogenic strain. The second group was inoculated with 0.1 ml of a NDV mesogenic strain. Intraocular route were used in both cases. The third group was a non-inoculated negative control. Tracheal and cloacal swabs were collected for virus isolation, Pigeons were observed for the detection of clinical signs or mortality. Five pigeons from each group were euthanized at 7, 14, 21 and 28 days post inoculation. Complete necropsies were performed and samples were taken for virus isolation in SPF chicken embryos and histopathology, to analyze the antibody response, serum samples were taken and measure by HI test. Gross and microscopic lesions were described, clinical signs characterized by respiratory distress, diarrhea, anorexia, and bristly feathers, were observed in infected pigeons with velogenic strains. Mortality was not observed,. A measurable antibody response was found in pigeons inoculated with both strains. Pigeons were infected with velogenic and mesogenic virus strains isolated from commercial Mexican poultry. The infected pigeons exhibited some clinical signs but not mortality, and were able to recover from the infection. Virus isolation from different organs was possible at 7, 14 and 21 days post infection. Pigeons are potential carriers of Newcastle disease virus strains and could spread the disease in commercial poultry and in backyard poultry.

Key words: Newcastle disease, pigeons, experimental infection.

ÍNDICE

Resumen	I
Abstract	II
Índice	IV
Lista de figuras	V
Lista de Cuadros y gráficos	VI
Lista de abreviaturas	VIII
1. Introducción		
1.1 Enfermedad de Newcastle en el mundo	1
1.2 Antecedentes en México		
1.3 Virus de la Enfermedad de Newcastle	2
1.4 Enfermedad de Newcastle en las palomas	6
2. Justificación	13
3. Hipótesis		
4. Objetivo General	14
4.1 Objetivos particulares		
5. Materiales y Métodos	15
5.1 Virus		
5.2 Embriones		
5.3 Palomas		
5.4 Infección Experimental		
5.5 Aislamiento viral a partir de hisopos traqueales, cloacales y heces.	16
5.6 Sígnos clínicos y mortalidad		
5.7 Sacrificio, necropsia y recolección de órganos		
5.8 Aislamiento viral a partir de órganos	17
5.9 Histopatología		
5.10 Serología		
5.11 Hematología		
5.12 Análisis de resultados		
6. Resultados	19
6.2 Signos clínicos	23
6.3 Hallazgos a la necropsia	24
6.4 Histopatología	26
6.5 Aislamiento viral a partir de órganos	27
6.6 Serología	34
6.7 Pruebas de hematología	38
7. Discusión	40
8. Conclusiones	45
9. Referencias	46

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	12
Campaña Nacional contra la Enfermedad de Newcastle, presentación velogénica.		
FIGURA 2.	19
Hisopos traqueales y cloacales.		
FIGURA 3.	23
Signos clínicos observados en el grupo I.		
FIGURAS 4 y 5.	25
Sacrificio y necropsias de las palomas.		
FIGURA 6	26
Infiltración de linfocitos en cerebro.		
FIGURA 7	26
Gliosis moderada.		
FIGURA 8	27
Obtención de órganos.		
FIGURA 9	27
Macerado de órganos y adición de PBS 1%.		
FIGURA 10	27
Obtención de macerado de diferentes órganos.		
FIGURA 11	28
Encéfalo, bazo, tonsilas y pulmón.		
FIGURA 12.	28
Inoculación de embriones con los sobrenadantes obtenidos de los órganos: encéfalo, bazo, tonsilas y pulmones.		
FIGURA 13.	28
Prueba de Hemoaglutinación en placa (HA)		
FIGURA 14.	28
Hemoaglutinación positiva (HA+)		
FIGURA 15.	34
Realización de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI)		

LISTA DE CUADROS Y GRÁFICOS

CUADRO 1.	11
Aislamientos de virus de la Enfermedad de Newcastle en México 1946-1973.		
CUADRO 2.	11
Clasificación de Paramyxovirus.		
CUADRO 3.	18
Aislamiento viral a partir de hisopos traqueales, cloacales y heces.		
CUADRO 4.	20
Grupo I. Aves inoculadas con virus velogénico.		
Aislamientos de virus velogénico a partir de hisopos y heces tomados a las 24 horas post inoculación.		
CUADRO 5.	20
Grupo I. Aves inoculadas con virus velogénico.		
Aislamientos de virus velogénico a partir de hisopos y heces tomados a las 48 horas post inoculación.		
CUADRO 6.	21
Grupo II. Aves inoculadas con virus mesogénico.		
Aislamientos de virus mesogénico a partir de hisopos y heces tomados a las 24 horas post inoculación.		
CUADRO 7.	21
Grupo II. Aves inoculadas con virus mesogénico.		
Aislamientos de virus mesogénico a partir de hisopos y heces tomados a las 48 horas post inoculación.		
CUADRO 8.	22
Grupo III. Aves sin inocular.		
Aislamientos a partir de hisopos y heces tomados a las 24 horas post inoculación.		
CUADRO 9.	22
Grupo III. Aves sin inocular.		
Aislamientos a partir de hisopos y heces tomados a las 48 horas post inoculación.		
CUADRO 10.	29
Aislamientos a partir de órganos a los 7 días post inoculación.		
CUADRO 11.	29
Aislamientos a partir de órganos a los 14 días post inoculación.		
CUADRO 12.	30
Aislamientos a partir de órganos a los 21 días post inoculación.		
CUADRO 13.	30
Aislamientos a partir de órganos a los 28 días post inoculación.		
CUADRO 14.	31
Aislamientos a partir de órganos a los 7 días post inoculación.		
CUADRO 15.	31
Aislamientos a partir de órganos a los 14 días post inoculación.		
CUADRO 16.	32
Aislamientos a partir de órganos a los 21 días post inoculación.		

CUADRO 17.	32
Aislamientos a partir de órganos a los 28 días post inoculación.		
CUADRO 18.	33
Aislamientos a partir de órganos a los 7,14, 21 y 28 días post inoculación.		
CUADRO 19.	35
Resultados de la prueba de HI de muestras de suero obtenido de palomas inoculadas con virus velogénico, a los 7, 14, 21 y 28 días post inoculación.		
CUADRO 20.	35
Resultados de la prueba de HI de muestras de suero obtenido de palomas inoculadas con virus mesogénico, a los 7, 14, 21 y 28 días post inoculación.		
CUADRO 21.	38
Grupo I (Palomas inoculadas con virus velogénico).		
CUADRO 22.	39
Grupo II (Palomas inoculadas con virus mesogénico).		
CUADRO 23.	39
Grupo III (Palomas sin inocular).		
GRÁFICA 1.	36
GRÁFICA 2.	37

LISTA DE ABREVIATURAS

ALPES	Aves Libres de patógenos específicos
ANECA	Asociación Nacional de Especialistas en ciencias avícolas de México
APMV-1	Paramixovirus aviar tipo 1
CPA	Comisión México-Americana para el control y prevención de Enfermedades exóticas
DIEP	Dosis infectante embrión de pollo
ENC	Enfermedad de Newcastle
HA	Hemoaglutinación
HI	Inhibición de la Hemoaglutinación
ICPI	Índice de patogenicidad intracerebral
NOM	Norma Oficial Mexicana
OIE	Organización Mundial para la salud animal (antes Oficina Internacional de Epizootias)
PPMV-1	Paramixovirus tipo 1 de las palomas
RT-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real
RNA	Ácido Ribonucleico
SPF	Libre de patógenos específicos
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
VENC	Virus de la Enfermedad de Newcastle

1. INTRODUCCIÓN

1.1 ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN EL MUNDO.

La enfermedad de Newcastle fue observada por primera vez en Java en 1926, ese mismo año se difundió a Inglaterra y fue detectada en la ciudad de Newcastle de donde tomó su nombre. ^{1,2,3.}

Es una de las enfermedades infecciosas de las aves más importante en el mundo ya que causa graves pérdidas económicas en la avicultura. Los brotes de Newcastle velogénico son de reporte obligatorio en la Organización Mundial para la Salud Animal (OIE). ^{2,4,5,6,7,8.}

Se ha reportado que más de 250 especies de aves son susceptibles al VENC como resultado de una infección natural o experimental, es probable que otras especies de aves también sean susceptibles, pero esto no ha sido completamente estudiado. ^{1,2,3.}

1.2 ANTECEDENTES EN MÉXICO

La presencia de la Enfermedad de Newcastle en México tiene sus orígenes a principios de los años 40. Su hallazgo y diagnóstico fue hecho por Bankowski y Velásquez en 1946, quienes en sus orígenes le llamaron Cólera aviar y en ese mismo año por Camargo y Téllez Girón, posteriormente por Olvera quien reportó en 1948 pérdidas de mas de 300,000 aves en unidades de producción, principalmente en el Valle de México. La mayoría de los patólogos aviarios de ese tiempo notificaron como especies susceptibles a las gallinas, palomas, guajolotes, patos, ganso, cisne, periquitos, guacamayas y cacatúas. ⁹

El origen de los brotes de la ENC ha sido múltiple, Olvera comprobó que la epizootia de 1946, provino de Estados Unidos a causa de la importación rutinaria de pollitos de un día de edad. Ramírez Valenzuela (1950) sugiere que la epizootia de 1950-51 fue causada por un virus introducido por aves importadas de Inglaterra a través del puerto de Tampico. ⁹

Durante la década de los años 60, los veterinarios mexicanos aíslan muchas cepas velogénicas, mesogénicas y lentogénicas las cuales fueron clasificadas según Hanson. Cuadra (1962) citado por Márquez (1978) menciona que la mayoría de los brotes ocurridos en los últimos 31 años corresponden al tipo velogénico viscerotrópico. Las lesiones descritas por Cuadra (1962), Antillón y Lucio (1973) corresponden a ENC velogénico viscerotrópico⁹. *Cuadro 1.*

La ENC ha sido un problema de sumo impacto en la avicultura mexicana de todos los tiempos.

En México, la enfermedad de Newcastle en su presentación velogénica, se encuentra en campaña de erradicación desde hace más de diez años, bajo la Norma Oficial Mexicana NOM-013-ZOO-1994.^{10,11} En cuatro estados de la República Mexicana aún se presentan casos de esta enfermedad. *Figura 1*

Muchos brotes de enfermedad de Newcastle velogénico fueron reportados por México a la OIE de 1996 a 2001. La relación de los virus del 2002 y 2003 entre México y los Estados Unidos no es sorpresiva debido a su cercanía geográfica; sin embargo se debe establecer un programa de vigilancia a través de Estados Unidos, México y Centroamérica, desarrollando y validando las pruebas de RT-PCR complementarias.^{8,12}

1.3 VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE

El agente etiológico de la Enfermedad de Newcastle, es un virus RNA que pertenece a la familia *Paramixoviridae*, subfamilia *Paramixovirinae* y género *Rubulavirus*.^{1,2,12} Se reconocen nueve serotipos de paramixovirus, pero sólo el serotipo identificado como Paramixovirus-1 aviar (APMV-1) está relacionado con la enfermedad de Newcastle.² *Cuadro 2.*

El virus de la Enfermedad de Newcastle es envuelto, no segmentado, de cadena simple negativa, mide de 10-500 nanómetros (nm); la superficie del virus esta cubierta por proyecciones de aproximadamente 8 nm de largo, la nucleocápside tiene una disposición de “espina de pescado”. El genoma del virus de Newcastle

esta compuesto por 15,186 nucleótidos; las partículas virales tienen de un 20-25% de lípidos derivados de la célula huésped. ^{2,4}

Su genoma codifica para seis proteínas en el orden 3'N-P-M-F-HN-L5' que incluyen una fosfoproteína asociada a nucleocápside (N-P), matriz (M), glucoproteína de fusión (F) que forma proyecciones pequeñas en la superficie, Hemaglutinina-Neuraminidasa (H-N) que forma dos tipos de proyecciones en la superficie del virus, (L) que es una RNA polimerasa asociada a la nucleocápside ^{1,2}

La glucoproteína F es responsable de la fusión entre la membrana de la célula huésped y la superficie viral con la consecuente penetración del genoma viral. La Hemaglutinina confiere al VENC y otros paramyxovirus aviares la propiedad de aglutinar glóbulos rojos de pollo, anfibio y reptiles. Esta propiedad y la inhibición específica de la aglutinación usando un antisuero han sido útiles herramientas en el diagnóstico de la enfermedad. ¹

La Neuraminidasa produce la elusión gradual de los glóbulos rojos hemaglutinados, la función exacta en la replicación viral no se conoce, pero se ha visto que remueve los receptores virales de la célula huésped evitando que queden hemoaglutinados. ²

Los trabajos de Rott y colaboradores (1988, citado por Collins 1994), demostraron que en la replicación del virus de Newcastle, las partículas virales producidas son infecciosas sólo cuando el virus requiere una proteasa del huésped que reacciona con el sitio de escisión de la proteína F0 resultando en dos proteínas activas F1 y F2; los virus de Newcastle que son patógenos para los pollos tienen una proteína F0, que puede ubicarse y reaccionar con la proteasa del huésped que se encuentra en la mayoría de los tejidos, dando como resultado una infección sistémica fatal. Por el contrario la proteína F0 de los virus de baja virulencia (lentogénicos) para los pollos, requieren enzimas tipo tripsina (trypsin-like enzymes) para reaccionar quedando restringidos sólo al tracto respiratorio y digestivo. ^{13,14} Collins y colaboradores (1994), concluyeron también que la capacidad de escisión de la proteína F0 está mediada por aminoácidos presentes

en el sitio de escisión y que parece un requerimiento en los virus muy patógenos para los pollos la presencia de un doble par de aminoácidos básicos en los sitios 112 - 113 y 115 – 116 más fenilalanina en el residuo 117, la excepción a esto fue un paramyxovirus de paloma analizado.¹³

Un estudio publicado en el 2002 ¹⁵, demuestra que por medio de la amplificación de fragmentos específicos de ácido nucleico (REA) y la secuenciación por medio de RT-PCR (transcriptasa reversa de la reacción en cadena de la polimerasa) del sitio de escisión de la proteína F se pueden diferenciar los patotipos de virus de Newcastle que corresponden a cepas velogénicas, lentogénicas y mesogénicas. En dicho estudio se incluyeron virus aislados de palomas (Paramyxovirus-1), que fueron correspondientes a virus mesogénicos. ¹⁵

La diferenciación entre cepas por medio del índice de patogenicidad intracerebral en pollitos de un día de edad, puede ser sustituida por la prueba de RT-PCR¹⁵

Collins y colaboradores (1994) además de otros investigadores ^{13,17} estudiaron las bases moleculares de la patogenicidad de la variante del virus de Newcastle llamada “Paramyxovirus-1 de palomas o PPMV-1” secuenciando el sitio de escisión de la Proteína F2/F1 de quince cepas llamadas PPMV-1, en esta investigación encontraron que hay gran variación entre la patogenicidad de los virus para los pollos. Trece de los aislamientos estudiados contienen la secuencia ¹¹²G-R-Q-K-R-F¹¹⁷, ésta se ha visto en virus que al principio tienen baja patogenicidad y permanece sin cambio cuando la virulencia se incrementa al dar pases de ave a ave. En los otros dos aislamientos encontraron la secuencia ¹¹²R-R-Q-K-R-F¹¹⁷ que es más típica de virus patógenos, pero los índices de patogenicidad indicaron que estos virus fueron de moderada a baja patogenicidad ¹³ También secuenciaron los nucleótidos que codifican para la producción de la Hemaglutinina y Neuraminidasa HN/HN0, cuyo producto final es la proteína HN. Estos autores concluyen que la gran variación en la patogenicidad de la variante del virus de Newcastle llamada PPMV-1 para los pollos, no sólo está determinada por la variación en los aminoácidos o la presencia de aminoácidos básicos en los sitios de escisión o corte de la proteína F2/F1, sino también la producción de HN0

que puede influir en la patogenicidad en cuanto a cantidad de proteínas HN en la superficie del virus.^{13,14} Este mismo punto fue estudiado por Wakamatsu y colaboradores (2006), en donde compararon las patogenicias de un virus lentogénico La Sota con dos clones infecciosos llamados NDFL y NDFLtag, la modificación en el sitio de corte de la proteína F hacia un motivo virulento en el clon infeccioso sólo incremento ligeramente la gravedad de la enfermedad y la distribución viral, aunque las pruebas de IP demostraron un incremento en la patogenicidad del clon NDFLtag, según estos investigadores los efectos patogénicos del VENC no dependen del sitio de escisión de la proteína de fusión.¹⁶

La OIE actualmente define a la Enfermedad de Newcastle como una infección causada por un APMV-1 con un índice de patogenicidad intracerebral mayor o igual a 0.7, en pollitos de un día o por la presencia de múltiples aminoácidos básicos en el sitio de escisión o corte de la proteína F^{7,8}; el término múltiples aminoácidos básicos se refiere a la presencia de al menos tres argininas o lisinas entre los sitios 113 a 116 y fenilalanina en el sitio 117 .^{1,12}

Normalmente existen varios patotipos de este virus circulando en el mundo.^{1,2,4,18} Los pollos son altamente susceptibles a las cepas patógenas de APMV-1, mientras que los patos y gansos pueden ser infectados y presentar o no signos clínicos.²

Los aislamientos virales se clasifican también dentro de uno de los tres patotipos existentes: lentogénico, mesogénico o velogénico, basándose en el resultado de las pruebas de patogenicidad *in vivo*² y en el tiempo de mortalidad media de los embriones inoculados^{1,10,19,20} así, una mortalidad embrionaria después de las 24 horas post inoculación y antes de las 60 horas post inoculación corresponde a un virus velogénico. Si los embriones inoculados mueren entre las 60 a 90 horas post inoculación corresponde entonces a una cepa mesogénica; las cepas lentogénicas pueden o no matar a los embriones después de las 90 horas post inoculación.^{2,3,10,19,20,21}

La capacidad del virus para causar variación en las lesiones y signos clínicos ha sido atribuida a varios factores como el huésped, edad, estado de salud, condiciones ambientales y la presencia de otras infecciones. Por lo general según los signos clínicos observados en infecciones experimentales los patotipos de la enfermedad de Newcastle se han dividido en cinco grupos: 1) Velogénico viscerotrópico, con lesiones hemorrágicas en tracto intestinal; 2) Velogénico neurotrópico que presenta alta mortalidad, signos respiratorios y neurológicos. 3) Mesogénico con signos respiratorios y nerviosos pero usualmente con baja mortalidad; 4) Lentogénico que se refiere a una infección leve o inaparente del tracto respiratorio. 5) Entérica asintomática que es una infección intestinal inaparente. ^{1,22}

La ausencia de signos patognomónicos en esta enfermedad aun en infecciones con los virus mas patógenos da como resultado la necesidad de otras técnicas para el diagnóstico, identificación, caracterización y estudios epidemiológicos como las pruebas moleculares basadas en anticuerpos monoclonales y RT-PCR. ^{1,15}

1.4 ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN LAS PALOMAS

Las palomas (*Columba livia*) y otros miembros de la familia *Columbidae* pueden ser infectados con APMV-1 adaptado a esas especies y se le ha designado como paramyxovirus-1 de las palomas (PPMV-1) y la mayor parte de reportes de infecciones en palomas se relacionan a epizootias de enfermedad de Newcastle en la avicultura. La susceptibilidad de las palomas a este virus ha sido estudiada por muchos autores y el papel de dichas aves y de otras aves silvestres y domésticas en la diseminación de esta y otras enfermedades, ha sido muy discutido ^{1,2,4,6,7,8,12,17,23,24,25,27,28,29,30,31,32}

Es bien conocido que el virus de la enfermedad de Newcastle puede permanecer viable en heces de aves por periodos muy largos, es entonces lógico pensar que algunos brotes en la avicultura que han ocurrido de forma espontánea, han sido ocasionados por la incorporación al alimento de ingredientes sin tratar

contaminados por las palomas, esto se comprobó al mezclar 1 ml de líquido alantoideo infectado con 10^9 DIEP_{50%}/ dosis con 20 ml de heces de paloma y se agrego a 3 Kg de alimento de aves. Posteriormente se alimentaron algunas aves de postura de dos años de edad con esta mezcla y todas se infectaron, presentaron signos clínicos, eliminaron el virus por 35 días y algunas murieron³³ Kaleta y colaboradores a partir de un grupo designado como BVC 78, de virus aislados en 1981 de una enfermedad llamada “encefalomielitis de las palomas” se identificó un paramyxovirus-1, este virus compartió todas las características conocidas con los virus que se aislaron posteriormente en 1982-1983 durante la epidemia en las palomas en Europa, los autores concluyen que es el primer aislamiento del paramyxovirus –1 de las palomas.¹⁸

Los brotes más importantes que ocurrieron en la avicultura de Inglaterra en la primera mitad de 1984, fueron asociados a paramyxovirus-1 aislados de las palomas un año anterior. Varias evidencias sugieren que los virus pasaron a las aves domésticas por contaminación del alimento con heces de palomas ferales infectadas. Se lograron aislar los virus de estas palomas, de las heces e inclusive del alimento.⁵

En las palomas, los signos clínicos varían dependiendo de la cepa que este afectándolas, en algunos casos se produce una baja mortalidad y morbilidad, en otros casos es una enfermedad grave y de rápida difusión acompañada de anorexia, diarrea, poliuria, conjuntivitis, edema y signos neurológicos, que incluyen tortícolis, paresia de patas y alas. En muchos casos las palomas llegan a recuperarse.^{2,18,24,34,35,36}

En los años 80 en toda Europa hubo reportes de varios brotes de ENC con baja mortalidad en palomas, los signos clínicos que mostraban eran desórdenes neurológicos uni o bilateralmente como tortícolis, diarrea verdosa y si las palomas se infectaban durante la reproducción o muda de plumas se observaba mayor mortalidad embrionaria o plumas deformes en cada caso.^{4,35} En reportes no publicados se menciona que los virus aislados de las palomas eran diferentes del virus “clásico” de la enfermedad de Newcastle y esto fue confirmado por

Alexander y colaboradores en 1984, quienes demuestran que los aislamientos de palomas pertenecen al grupo 4b y se encontraron además dos grandes subgrupos 4bi y 4bii^{4,17} que convergen en un aislamiento más antiguo disponible de Irak en 1978, las variaciones en los subgrupos se deben sobre todo al año del aislamiento y el origen geográfico.⁴ Al realizar una caracterización antigénica y biológica de los paramyxovirus tipo 1 aislados de palomas en 15 países de Europa pudo confirmarse que todos eran idénticos por pruebas con anticuerpos monoclonales²³

En México se reportó un caso de infección por paramyxovirus tipo 1 en palomas en 1999, en donde se observaron signos nerviosos y una mortalidad del 8.5 % aproximadamente.²⁵

Las investigaciones de Liu y colaboradores (2006) sobre 14 virus aislados en China desde 1996 a 2005, difieren de las anteriores en que en el árbol filogenético la mayoría pertenecen al grupo VIId, pero otros al VIIId que es un genotipo predominante responsable de la mayoría de los brotes de la enfermedad de Newcastle en pollos y gansos en ese país.³⁷

Los estudios de Bancifiori y Fioroni demostraron que varios de los virus aislados de palomas en Italia durante los brotes en los años ochentas, no correspondían a cepas velogénicas. Esto fue determinado mediante estudios de Hemaglutinación, patrones de elusión de la Hemoaglutinación, tiempo de mortalidad media de los embriones inoculados; todos los virus produjeron efectos citopáticos en cultivo celular de monocapa, pero no indujeron la formación de placas a las 96 horas. Al inocular pollitos estos no fueron susceptibles a los aislamientos del virus de la enfermedad de Newcastle de las palomas y desarrollaron anticuerpos con rangos entre 1:20 a 1:640. Estos mismos virus inoculados experimentalmente en codornices produjeron una mortalidad de 8% con signos nerviosos, baja en la postura y desarrollo de anticuerpos con un rango entre 1:20 a 1:80. Los grupos de palomas infectados experimentalmente presentaron un 80% de morbilidad y 55% de mortalidad, en estas palomas se observaron signos clínicos respiratorios y nerviosos entre los 7 y 14 días post infección, además de anticuerpos en rangos entre 1: 40 a 1:640. También realizaron estudios de Índice de patogenicidad

intracerebral de los virus de Newcastle aislados de palomas y estos presentaron un rango entre 0.83 a 0.9, mientras que el Índice de patogenicidad intracerebral de la cepa La Sota tiene un valor de 0.16, esto indica que pueden pertenecer a un grupo de virus mesogénico.²⁴

Meulemans y colaboradores (2002), estudiaron 27 aislamientos realizados de 1998 a 1999 de palomas y demostraron que eran antigénicamente indistinguibles de los aislamientos hechos entre 1983 y 1984, la mayoría de los cambios en los nucleótidos fueron mutaciones silenciosas; la secuencia de F2/F1 fue la típica de paramyxovirus 1 patógeno.²⁸

Algunos estudios han demostrado que los paramyxovirus aislados de las palomas llegan a tener una gradual y estadísticamente significativa disminución de la patogenicidad para los pollos, pero otros estudios demostraron lo contrario: un aumento en la patogenicidad para los pollos, de los virus aislados de las palomas al darles dos o más pases en pollos. Los índices de patogenicidad intracerebral cambian de 0.34 y ningún signo clínico, hasta 2.00 después de tres a cuatro pases y con alta mortalidad en las aves infectadas.^{28,35}

Otra característica de los paramyxovirus de las palomas es la habilidad de diseminarse hacia los pollos. En un estudio el nivel de infección por contacto de dos cepas diferentes originarias de palomas provocaron una infección del 100% en aves SPF de 4 semanas de edad también se ha demostrado que existe un alto riesgo para los pollos de infectarse con VENC proveniente de aves como faisanes, palomas y pericos.^{6,27}

En muchas partes del mundo el diagnóstico y la implementación de políticas encaminadas al control y erradicación de la ENC velogénica, radican en el índice de patogenicidad (IP) de los virus aislados y es un peligro que pudiese ocurrir una evaluación errónea de los virus aislados de aves que no sean comerciales. Collins y colaboradores opinan que sería más pertinente y real la evaluación de la virulencia de los VENC mediante la secuenciación de la región del gen F que codifica para el sitio de escisión de F2/F1.¹³

En los años setentas y ochentas ocurrieron importantes brotes en Oriente Medio y Europa que rápidamente se extendieron a todo el mundo. En Inglaterra en 1996 se reportaron brotes muy graves en faisanes¹ y pollos infectados a partir de alimento contaminado con heces de palomas infectadas con APMV-1^{6,33,35}

En los trabajos de Meulemans y colaboradores (2002), se demuestra una evolución en la secuencias de el sitio de escisión de la proteína F en diferentes aislamientos de paramyxovirus 1 de palomas, las nuevas secuencias encontradas en la mayoría de estos virus son idénticas a las asociadas con los virus de Newcastle altamente patógenos, aunque su ICPN son variables y bajos (0.69). En muchas partes del mundo el diagnóstico, control y erradicación del ENC velogénico se basa sólo en el índice de patogenicidad *in vivo*, pero algunos virus su ICPI es menor de 0.7, sin embargo la secuenciación de la proteína F corresponde a virus muy patógenos.²⁸

En Australia después de los brotes del 2000, se encontró que éstos virus estaban relacionados genéticamente con los virus responsables de los brotes de 1930 y 1932.³⁸

CUADRO 1. AISLAMIENTOS DE VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE EN MÉXICO 1946-1973.

Memorias de la III Convención anual ANECA. ⁹

Cepa Ixtapalapa	Bankoswki, 1946
Cepa Querétaro	Ramírez V. 1950
Cepa Zamora	Hurtado, 1956
Capa CU	Estudillo, 1959
Cepa Guadalajara	Vázquez V, 1960
Cepa Tulyehualco	Vázquez V, 1960
Cepa Jilotepec	Antillón y Lucio 1970
Cepa Chimalhuacán	Antillón y Lucio 1973

CUADRO 2. CLASIFICACIÓN DE PARAMYXOVIRUS ¹

<i>APMV -1</i>	<i>Enfermedad de Newcastle</i>
APMV -2	Yucaipa Pavos, paserinas, psitácidas
APMV -3	Pavos(Winsconsin) Pericos (Holanda)
APMV -4	Patos y gansos
APMV -5	Periquitos
APMV -6	Patos, pavos, garzas y zancudas
APMV -7	Palomas, pichones, pavos, avestruz
APMV -8	Gansos y Patos
APMV -9	Patos

FIGURA 1. CAMPAÑA NACIONAL CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE, PRESENTACIÓN VELOGÉNICA

 **LIBRE**
 **ERRADICACION**



Actualizado al 28 de Febrero 2008

Con alerta epidemiológica en algunas unidades de producción pecuaria de los estados de SLP y Veracruz, el resto del territorio del Municipio y del Estado no tienen restricción alguna para la movilización de aves, sus productos y subproductos.

FUENTE: CPA, Dirección de Campañas Zoonositarias, Dirección de Vigilancia Epidemiológica y Programa nacional para el Control de la Abeja Africana. <http://www.senasica.sagarpa.gob.mx>

2. JUSTIFICACIÓN

A diferencia de otras partes del mundo, en nuestro país, no se conoce ningún trabajo sobre la paloma doméstica (*Columba livia*) y la Enfermedad de Newcastle. Existen cepas del virus de Newcastle patotipo velogénico para los pollos y gallinas de postura que causan severos problemas sanitarios y económicos en la avicultura de nuestro país, sin embargo no se ha descrito el efecto que dichos virus, tienen en las palomas domésticas.

Cada año se reciben reportes en la OIE de brotes de esta enfermedad causada por palomas (40), además algunos autores ya han descrito el efecto patológico que tienen los paramixovirus-1 aislados de las palomas en los pollos de engorda (2,5).

El contacto directo e indirecto de palomas con aves en producción o de traspatio es frecuente.

3. HIPÓTESIS

Los virus de la Enfermedad de Newcastle aislados de aves comerciales en México, causan signos clínicos, lesiones, mortalidad y respuesta inmunológica en palomas domésticas inoculadas experimentalmente.

4. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la inoculación de dos virus de Enfermedad de Newcastle aislados de pollos, en palomas domésticas.

4.1. OBJETIVOS PARTICULARES

4.1.1. Describir los signos clínicos y lesiones macroscópicas en las palomas infectadas experimentalmente con virus mesogénico y velogénico de la Enfermedad de Newcastle.

4.1.2. Describir los cambios histopatológicos que ambos virus de Newcastle provoquen en las palomas infectadas.

4.1.3. Realizar el reaislamiento viral a partir de órganos, e hisopos cloacales y traqueales de palomas infectadas experimentalmente con virus de la enfermedad de Newcastle.

4.1.4. Comprobar la respuesta inmunológica de las palomas a estos virus.

4.1.5. Conocer el tiempo de permanencia de los virus en las tonsilas cecales de las palomas.

4.1.6. Determinar si los virus inoculados se eliminan en heces durante las primeras horas de infección.

4.1.7. Comparar los hallazgos obtenidos con los dos virus.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Virus: Se utilizaron dos virus aislados de aves comerciales (pollo de engorda y gallinas de postura) durante brotes de campo en México. Estos dos virus fueron previamente caracterizados como velogénico y mesogénico.²⁰ Ambos virus fueron titulados mediante el método de Reed and Muench.^{10,21}

5.2. Embriones: Tipo ALPES* I y II de 9 a 11 días de edad. En los embriones tipo Alpes II la cantidad de anticuerpos contra las enfermedades de Newcastle y bronquitis infecciosa es conocida. Los embriones tipo Alpes I son libres de *Mycoplasma synoviae* y *gallisepticum*, *Salmonella pullorum* y *gallinarum*, Leucosis linfoide, adenovirus, reovirus e Influenza aviar, entre otras enfermedades.

5.3. Palomas: Se utilizaron sesenta palomas mensajeras, menores a 3 años de edad, negativas al aislamiento de *Salmonella spp*³⁴ y coccidias; serológicamente negativas al virus de la enfermedad de Newcastle y al virus de Influenza aviar, por pruebas de Inhibición de la hemoaglutinación.^{10,21}

Las palomas se distribuyeron al azar en 3 grupos de veinte palomas cada uno. Se mantuvieron con agua y alimento compuesto por trigo (20%), maíz (20%), arroz (20%), sorgo (20%), alverjón (15%) y concentrado para pollo (5%) *ad libitum*³² en Unidades de aislamiento de alta seguridad con presión de aire positiva en el Depto. de Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

5.4. Infección Experimental: Las palomas fueron inoculadas por vía intraocular como sigue^{6,27,34,39}

- Grupo I - 20 palomas con 0.1 ml de virus velogénico $10^{6.5}$ DIEP 50%/ ml.
- Grupo II - 20 palomas con 0.1 ml de virus mesogénico $10^{6.5}$ DIEP50%/ ml.
- Grupo III - 20 palomas no fueron inoculadas.

*Aves libres de patógenos específicos, S.A. de C.V. 7 Norte 416, Tehuacán, Puebla México.

5.5. Aislamiento viral a partir de hisopos traqueales, cloacales y heces: A las 24 y 48 horas post inoculación, se tomaron diez hisopos traqueales y diez hisopos cloacales al azar en cada uno de los tres grupos de palomas. También se colectaron heces frescas en cada grupo de palomas. Los hisopos fueron colectados en tubos estériles con solución de PBS al 1% y se mantuvieron en refrigeración para su transporte.

A la solución que contenía los hisopos, se le adicionó además 1% de antibiótico (penicilina-estreptomicina) y se inocularon los embriones con 0.2 ml cada uno.

Las heces fueron homogenizadas y suspendidas en 15 ml de PBS 1% estéril, posteriormente se centrifugaron a 2500 rpm/20 minutos a 4°C, el sobrenadante se filtró con una membrana millipore de 0.22 µm. y se agregó 1% de antibiótico (penicilina-streptomicina). Se inoculó 0.2 ml a cada embrión.

Se realizó el aislamiento viral en embrión de pollo de diez días de edad, inoculando cinco embriones para cada tipo de muestra y para cada tipo de cepa (velogénica y mesogénica) como se muestra en el *Cuadro 3*.

Los embriones se observaron al ovoscopio a las 24 horas post inoculación, descartando a los muertos ya que puede deberse a traumatismos en la inoculación.^{3,10}

A los embriones muertos después de las 24 horas se les realizó la prueba de hemoaglutinación en placa.^{3,10,19}

5.6. Signos clínicos y mortalidad: Las palomas de los tres grupos fueron observadas a intervalos de 6 horas durante 28 días para detectar signos clínicos y mortalidad.

5.7. Sacrificio, necropsia y recolección de órganos: Fueron sacrificadas al azar cinco palomas de cada uno de los grupos a los 7, 14, 21 y 28 días post inoculación. El método de eutanasia fue dislocamiento cervical.⁴⁰ De estas mismas aves, se realizó la necropsia, se describieron lesiones macroscópicas y

se tomaron órganos para el reaislamiento viral. ^{1,2,10,19,21,24} Fueron tomadas además muestras de órganos para observar lesiones microscópicas.

5.8. Aislamiento viral a partir de órganos: De las cinco palomas que se sacrificaron de forma aleatoria a los 7, 14, 21 y 28 días post inoculación de cada uno de los tres grupos, se obtuvieron órganos para aislamiento viral en embrión de pollo SPF de 9 a 11 días de edad. Los órganos obtenidos fueron tráquea, pulmón, bazo, tonsilas cecales y encéfalo. Se obtuvieron de forma aséptica y se guardaron por separado en bolsas nuevas resellables, fueron mantenidos en refrigeración. El procedimiento para el aislamiento viral es el citado en la Norma Oficial Mexicana. Campaña de Erradicación contra la Enfermedad de Newcastle NOM-013-ZOO-1994.¹⁰

5.9. Histopatología: Se realizó un estudio anatomopatológico de aves sacrificadas a los 7, 14, 21 y 28 días post inoculación. Para la histopatología se utilizó el procedimiento de fijación, procesamiento, cortes y tinción de rutina. (Hematoxilina - Eosina). Fue realizado en el Departamento de Patología de la FMVZ.

5.10. Serología: Se realizaron pruebas de inhibición de la hemoaglutinación a las 72 horas post inoculación y después a los 7, 14, 21 y 28 días para realizar la medición de anticuerpos. ²¹

Se obtuvieron de 3 a 5 ml de sangre de vasos sanguíneos del cuello de cada paloma sacrificada y de esta el suero sanguíneo.

5.11. Hematología: El hemograma fué realizado por el laboratorio de hematología del Depto. De Producción Animal: Aves.

5.12. Análisis de resultados: Los resultados obtenidos con ambos virus fueron comparados entre sí.

**CUADRO 3. AISLAMIENTO VIRAL A PARTIR DE HISOPOS
TRAQUEALES, CLOACALES Y HECES**

GRUPO DE PALOMAS	24 HORAS HISOPOS Y HECES	CANTIDAD DE EMBRIONES ALPES I	48 HORAS HISOPOS Y HECES	CANTIDAD DE EMBRIONES ALPES I
I velogénico	10 traqueales 10 cloacales Heces	Cinco Cinco Cinco	10 traqueales 10 cloacales Heces	Cinco Cinco Cinco
II mesogénico	10 traqueales 10 cloacales Heces	Cinco Cinco Cinco	10 traqueales 10 cloacales Heces	Cinco Cinco Cinco
III testigo	10 traqueales 10 cloacales Heces	Cinco Cinco Cinco	10 traqueales 10 cloacales Heces	Cinco Cinco Cinco

6. RESULTADOS

Los resultados del presente estudio indican que los virus de ENC de aves comerciales, al ser inoculados en palomas, no inducen mortalidad, signos nerviosos ni lesiones, sin embargo son capaces de ocasionar signos respiratorios y digestivos leves. Por otra parte, es posible el reaislamiento a partir de órganos y heces.

6.1 AISLAMIENTOS VIRALES A PARTIR DE HISOPOS Y HECES

Los aislamientos a partir de hisopos traqueales fueron posibles a las 24 y 48 horas post inoculación de virus velogénico. *Figura 2*

En el caso del virus mesogénicos, solo fue posible el aislamiento a las 48 horas post inoculación.

A partir de heces no se logró el aislamiento viral a las 24 ni 48 horas post inoculación de ninguna de las dos cepas.

En el grupo control de palomas no inoculadas, no hubo aislamientos virales a partir de hisopos traqueales, cloacales ni de heces.

En los cuadros del 4 al 9 se resumen los resultados obtenidos de los aislamientos virales en embrión de pollo, a partir de hisopos traqueales, cloacales y de heces frescas.



Figura 2. Hisopos traqueales y cloacales

CUADRO 4. GRUPO I. AVES INOCULADAS CON VIRUS VELOGENICO.
 AISLAMIENTOS DE VIRUS VELOGENICO A PARTIR DE
 HISOPOS Y HECES TOMADOS A LAS **24 HORAS**
 POST INOCULACIÓN

MUESTRAS	24 HR.	48 HR.	72 HR.	96 HR.
HISOPOS TRAQUEA	0/5	1/5 HA+	4/4 HA +	-----
HISOPOS CLOACA	0/5	0/5	0/5	0/5
HECES	0/5	0/5	0/5	0/5

* 5 se refiere al número de embriones inoculados por cada tipo de muestra.

CUADRO 5. GRUPO I. AVES INOCULADAS CON VIRUS VELOGENICO.
 AISLAMIENTOS DE VIRUS VELOGENICO A PARTIR DE
 HISOPOS Y HECES TOMADOS A LAS **48 HORAS**
 POST INOCULACIÓN

MUESTRAS	24 HR.	48 HR.	72 HR.	96 HR.
HISOPOS TRAQUEA	0/5	0/5	3/5 HA +	2/2 HA+
HISOPOS CLOACA	0/5	0/5	0/5	0/5
HECES	0/5	0/5	0/5	0/5

* 5 se refiere al número de embriones inoculados por cada tipo de muestra.

CUADRO 6. GRUPO II. AVES INOCULADAS CON VIRUS MESOGENICO.

AISLAMIENTOS DE VIRUS MESOGENICO A PARTIR DE
HISOPOS Y HECES TOMADOS A LAS **24 HORAS**
POST INOCULACION

MUESTRAS	24 HR.	48 HR.	72 HR.	96 HR.
HISOPOS TRAQUEA	0/5	1/5 HA -	0/4	0/4
HISOPOS CLOACA	0/5	0/5	0/5	0/5
HECES	0/5	0/5	0/5	0/5

* 5 se refiere al número de embriones inoculados por cada tipo de muestra.

CUADRO 7. GRUPO II. AVES INOCULADAS CON VIRUS MESOGENICO.

AISLAMIENTOS DE VIRUS MESOGENICO A PARTIR DE
HISOPOS Y HECES TOMADOS A LAS **48 HORAS**
POST INOCULACION

MUESTRAS	24 HR.	48 HR.	72 HR.	96 HR.
HISOPOS TRAQUEA	0/5	1/5 HA -	2/4 HA +	2/2 HA+
HISOPOS CLOACA	0/5	0/5	0/5	0/5
HECES	0/5	0/5	0/5	0/5

* 5 se refiere al número de embriones inoculados por cada tipo de muestra.

CUADRO 8. GRUPO III. AVES SIN INOCULAR
AISLAMIENTOS A PARTIR DE HISOPOS Y HECES
TOMADOS A LAS 24 HORAS

MUESTRAS	24 HR.	48 HR.	72 HR.	96 HR.
HISOPOS TRAQUEA	0/5	0/5	0/5	0/5
HISOPOS CLOACA	0/5	0/5	0/5	0/5
HECES	0/5	0/5	0/5	0/5

* 5 se refiere al número de embriones inoculados por cada tipo de muestra.

CUADRO 9. GRUPO III. AVES SIN INOCULAR

AISLAMIENTOS A PARTIR DE HISOPOS Y HECES
TOMADOS A LAS 48 HORAS

MUESTRAS	24 HR.	48 HR.	72 HR.	96 HR.
HISOPOS TRAQUEA	0/5	0/5	0/5	0/5
HISOPOS CLOACA	0/5	0/5	0/5	0/5
HECES	0/5	0/5	0/5	0/5

* 5 se refiere al número de embriones inoculados por cada tipo de muestra.

6.2 SIGNOS CLÍNICOS

6.2.1. Signos clínicos del grupo I (Palomas inoculadas con VENC velogénico)

Los primeros signos clínicos se hicieron evidentes a partir del tercer día post inoculación.

En las veinte palomas se observaron signos respiratorios de leves a moderados caracterizados por estornudos, lagrimeo constante y secreción nasal. Además las palomas tuvieron diarrea, anorexia y plumas erizadas. No se observaron signos neurológicos como temblor muscular, tortícolis, parálisis de alas o patas, característicos de la enfermedad.

No hubo mortalidad. *Figura 3*

6.2.2 Signos clínicos del grupo II (Palomas inoculadas con VENC mesogénico)

En este grupo se observaron signos respiratorios muy leves como estornudos y lagrimeo, mas frecuentemente en las palomas mas jóvenes. No se observó diarrea ni signos nerviosos. No hubo mortalidad.

6.2.3 Signos clínicos del grupo III (Palomas sin inocular)

En este grupo no se presentaron signos clínicos ni mortalidad.



Figura 3. Signos clínicos observados en el grupo I

6.3 HALLAZGOS A LA NECROPSIA

De las aves inoculadas de cada grupo se eligieron al azar 5 aves a los 7, 14, 21 y 28 días post inoculación. *Figuras 4 y 5.*

6.3.1 Grupo I (palomas inoculadas con virus velogénico).

Traqueitis moderada 3/5, abundante presencia de moco en nariz, boca y tráquea superior 5/5. Congestión y edema en intestino delgado 5/5, presencia de heces líquidas en intestino grueso 3/5, tonsilas cecales congestionadas 2/5, presencia de ascáridos en intestino 2/5. El resto de los órganos observados no presentaron cambios patológicos aparentes.

Se tomaron muestras para su evaluación histopatológica de pulmón, traquea, tonsilas cecales, bazo, intestino, encéfalo. Los hallazgos a la necropsia podrían relacionarse con la enfermedad de Newcastle aunque no se consideran específicos para esta.

6.3.2 Grupo II (palomas inoculadas con virus mesogénico).

Presencia de moco en nariz y boca 5/5, presencia de moco en tráquea superior 2/5, congestión en pulmones 3/5, hígado congestionado 3/5, presencia de ascáridos en intestino y molleja 2/5. Hipertrofia de pared de molleja con la presencia de estructuras esféricas en su interior 1/5. Tonsilas cecales congestionadas 3/5, Intestino con contenido líquido amarillento 1/5. El resto de los órganos observados no presentaron cambios patológicos aparentes. Se tomaron muestras para su evaluación histopatológica de pulmón, traquea, tonsilas cecales, bazo, intestino y encéfalo. Los hallazgos a la necropsia podrían relacionarse con la enfermedad de Newcastle aunque no se consideran específicos para esta.

6.3.3 Grupo III (palomas sin inocular).

Presencia de parásitos en molleja e intestino delgado 2/5. El resto de los órganos observados no presentaron cambios patológicos aparentes. Se tomaron muestras

para su evaluación histopatológica de pulmón, traquea, tonsilas cecales, bazo, intestino y encéfalo. La presencia de ascáridos, es un hallazgo común en palomas.



Figuras 4 y 5. Sacrificio y necropsias de las palomas.

6.4 HISTOPATOLOGÍA

No se encontraron lesiones representativas en Enfermedad de Newcastle en las palomas inoculadas, únicamente en cuatro palomas inoculadas con virus velogénico a los 21 días post inoculación gliosis moderada y en una paloma se encontró infiltración linfocitaria muy leve en encéfalo. *Figuras 6 y 7.*

El resto de los órganos sin cambios patológicos aparentes.

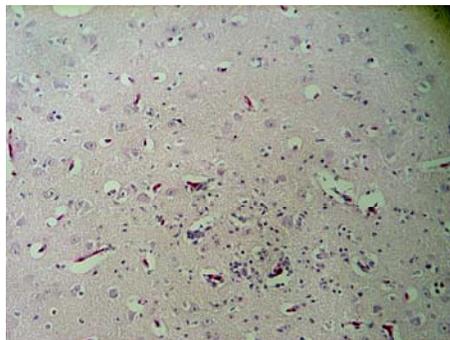


Figura 6. Infiltración de linfocitos en cerebro

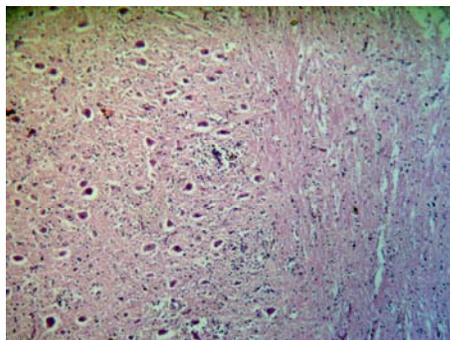


Figura 7. Gliosis moderada

6.5 AISLAMIENTO VIRAL A PARTIR DE ÓRGANOS

Posteriormente en este estudio se logró el aislamiento de virus velogénico y mesogénico a los 7, 14 y 21 días post inoculación a partir de diferentes órganos: tráquea, pulmones, bazo, tonsilas cecales e intestino y encéfalo.

El aislamiento a partir de encéfalo fue a partir del día 7 post inoculación, mientras que a partir de tonsilas cecales e intestino se lograron aislamientos desde el día 7 post inoculación hasta casi el final del experimento.

Para el día 28 post inoculación sólo se obtuvo un aislamiento a partir de tonsilas cecales. *Figuras 8 a 14.*



Figura 8. Obtención de órganos



Figura 9. Macerado de órganos y adición de PBS 1%



Figura 10. Obtención de macerado de diferentes órganos



Figura 11. Encéfalo, bazo, tonsilas y pulmón



Figura 12. Inoculación de embriones con los sobrenadantes obtenidos de los órganos: Encéfalo, bazo, tonsilas y pulmones



Figura 13. Prueba de Hemoaglutinación en placa (HA)



Figura 14. Hemoaglutinación positiva (HA +)

En los siguientes cuadros se resume el resultado de los aislamientos virales a partir de diferentes órganos a los 7, 14, 21 y 28 días post inoculación:

GRUPO I. PALOMAS INOCULADAS CON VIRUS VELOGÉNICO

CUADRO 10. AISLAMIENTO VIRAL A PARTIR DE ÓRGANOS A LOS 7 DIAS POST INOCULACIÓN

- La notación con diagonal se refiere a mortalidad embrionaria.
- HA – Hemoaglutinación en placa.

ORGANOS	*24 HR.	*48 HR.	*72 HR.	*96 HR.
PULMÓN/TRÁQUEA	0/5	5/5 4/5 HA +	-----	-----
TONSILAS CECALES	0/5	5/5 4/5 HA +	-----	-----
BAZO/ PÁNCREAS	1/5 HA (-)	4/4 3/4 HA +	-----	-----
ENCÉFALO	0/5	0/5	5/5 4/5 HA +	-----
TESTIGO	0/5	0/5	0/5	0/5

CUADRO 11. AISLAMIENTO VIRAL A PARTIR DE ÓRGANOS A LOS 14 DIAS POST INOCULACIÓN

ORGANOS	*24 HR.	*48 HR.	*72 HR.	*96 HR.
PULMÓN/TRÁQUEA	0/5	4/5 1/5 HA +	0/1	0/1
TONSILAS CECALES	0/5	1/5 HA -	4/4 HA +	-----
BAZO/ PÁNCREAS	0/5	2/5	1/3 HA +	0/2
ENCÉFALO	0/5	1/5	2/4 HA +	2/2 HA +
TESTIGO	0/5	0/5	0/5	0/5

CUADRO 12. AISLAMIENTO VIRAL A PARTIR DE ÓRGANOS A LOS
21 DIAS POST INOCULACIÓN

ORGANOS	*24 HR.	*48 HR.	*72 HR.	*96 HR.
PULMÓN/TRÁQUEA	0/5	0/5	0/5	1/5 HA +
TONSILAS CECALES	0/5	0/5	0/5	1/5 HA +
BAZO/ PÁNCREAS	0/5	0/5	1/5	0/4
ENCÉFALO	1/5 HA +	0/4	0/4	0/4
TESTIGO	0/5	0/5	0/5	0/5

CUADRO 13. AISLAMIENTO VIRAL A PARTIR DE ÓRGANOS A LOS
28 DIAS POST INOCULACIÓN

ORGANOS	*24 HR.	*48 HR.	*72 HR.	*96 HR.
PULMÓN/TRÁQUEA	0/5	0/5	0/5	0/5
TONSILAS CECALES	0/5	0/5	2/5 HA +	1/3 HA +
BAZO/ PÁNCREAS	0/5	0/5	0/5	0/5
ENCÉFALO	0/5	0/5	0/5	0/5
TESTIGO	0/5	0/5	0/5	0/5

GRUPO II. PALOMAS INOCULADAS CON VIRUS MESOGÉNICO

CUADRO 14. AISLAMIENTO VIRAL A PARTIR DE ÓRGANOS A LOS 7 DIAS POST INOCULACIÓN

- La notación con diagonal se refiere a mortalidad embrionaria.
- HA – Hemoaglutinación en placa.

ORGANOS	*24 HR.	*48 HR.	*72 HR.	*96 HR.	120 HR
PULMÓN/TRÁQUEA	0/5	0/5	3/5 3/3 HA +	2/2 1/2 HA +	-----
TONSILAS CECALES	0/5	2/5 0/2 HA +	1/3 1/1 HA +	2/2 2/2 HA +	-----
BAZO/ PÁNCREAS	1/5 0/1 HA +	0/4	0/4	1/4 0/1 HA +	0/3
ENCÉFALO	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
TESTIGO	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

CUADRO 15. AISLAMIENTO VIRAL A PARTIR DE ÓRGANOS A LOS 14 DIAS POST INOCULACIÓN

ORGANOS	*24 HR.	*48 HR.	*72 HR.	*96 HR.	120 HR
PULMÓN/TRÁQUEA	0/5	0/5	3/5 2/3 HA +	2/2 2/2 HA +	-----
TONSILAS CECALES	0/5	2/5 2/2 HA +	3/3 3/3 HA +	-----	-----
BAZO/ PÁNCREAS	0/5	2/5 1/2 HA +	1/3 1/1 HA +	1/2 1/1 HA +	1/1 1/1 HA +
ENCÉFALO	0/5	0/5	1/5 1/1 HA +	1/4 1/1 HA +	1/3 1/1 HA +
TESTIGO	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

**CUADRO 16. AISLAMIENTO VIRAL A PARTIR DE ÓRGANOS A LOS
21 DIAS POST INOCULACIÓN**

ORGANOS	*24 HR.	*48 HR.	*72 HR.	*96 HR.	120 HR
PULMÓN/TRÁQUEA	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
TONSILAS CECALES	0/5	2/5 1/2 HA +	1/3 1/1 HA +	0/2	0/2
BAZO/ PÁNCREAS	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
ENCÉFALO	0/5	0/5	2/5 2/2 HA +	1/3 0/1 HA +	0/2
TESTIGO	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

**CUADRO 17. AISLAMIENTO VIRAL A PARTIR DE ÓRGANOS A LOS
28 DIAS POST INOCULACIÓN**

ORGANOS	*24 HR.	*48 HR.	*72 HR.	*96 HR.	120 HR
PULMÓN/TRÁQUEA	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
TONSILAS CECALES	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
BAZO/ PÁNCREAS	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
ENCÉFALO	0/5	0/5	1/5 0/1 HA +	0/4	0/5
TESTIGO	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

GRUPO III. TESTIGO PALOMAS SIN INOCULAR
CUADRO 18. AISLAMIENTO VIRAL A PARTIR DE
ÓRGANOS A LOS 7, 14, 21 Y 28 DIAS POST INOCULACIÓN

- No hubo mortalidad embrionaria a los 7, 14, 21 ni 28 días post inoculación.
- No hubo aislamiento viral en ningún caso.

ORGANOS	*24 HR.	*48 HR.	*72 HR.	*96 HR.	120 HR
PULMÓN / TRÁQUEA	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
TONSILAS CECALES	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
BAZO/ PÁNCREAS	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
ENCÉFALO	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
TESTIGO	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

6. 6 SEROLOGÍA

De las cinco aves que se sacrificaron de forma aleatoria a los 7, 14, 21 y 28 días post inoculación, se obtuvieron muestras de suero sanguíneo para la medición de anticuerpos por la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación (HI) ⁴⁰ en los dos grupos de palomas inoculadas (virus velogénico y mesogénico). *Figura 15.*

En ambos grupos se puede detectar un incremento en la cantidad de anticuerpos conforme se acercan al día 14 post inoculación, para después observar una disminución de estos hacia el día 28 post inoculación.

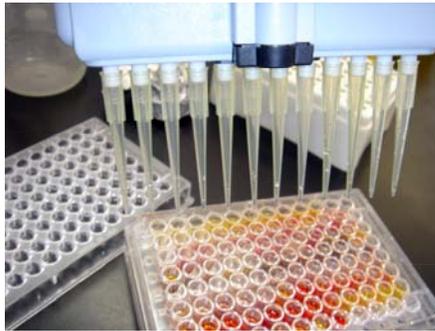


Figura 15. Realización de la prueba de Inhibición de la hemoaglutinación (HI).

CUADRO 19. Resultados de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación de muestras de suero sanguíneo obtenido de palomas inoculadas con virus velogénico, a los 7, 14, 21 y 28 días post inoculación.

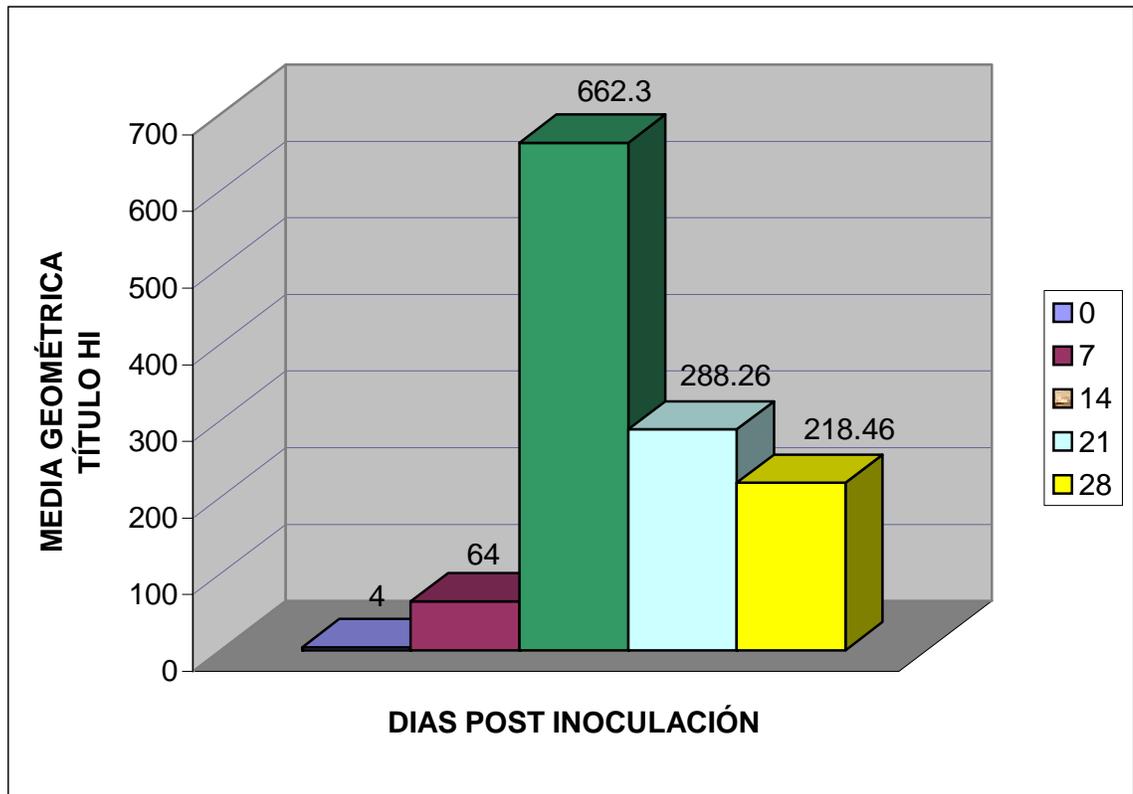
0 DIAS	7 DIAS	14 DIAS	21 DIAS	28 DIAS
1:2 3/10	1:32 1/5	1:256 1/5	1:128 2/5	1:128 2/5
1:4 4/10	1:64 3/5	1:312 1/5	1:312 1/5	1:312 3/5
1:8 3/10	1:128 1/5	1:624 2/5 1:4096 1/5	1:624 2/5	
MED.GEO = 4	MED.GEO = 64	MED.GEO = 662	MED.GEO = 288	MED.GEO = 218

CUADRO 20. Resultados de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación de muestras de suero sanguíneo obtenido de palomas inoculadas con virus mesogénico, a los 7, 14, 21 y 28 días post inoculación.

0 DIAS	7 DIAS	14 DIAS	21 DIAS	28 DIAS
1:2 3/10	1:16 2/5	1:32 2/5	1:128 3/5	1:64 1/5
1:4 5/10	1:32 2/5	1:64 2/5	1:256 2/5	1:128 2/5
1:8 2/10	1:64 1/5	1:128 1/5		1:256 2/5
MED.GEO = 4.5	MED.GEO = 27.8	MED.GEO=55.71	MED.GEO=168.9	MED.GEO = 147

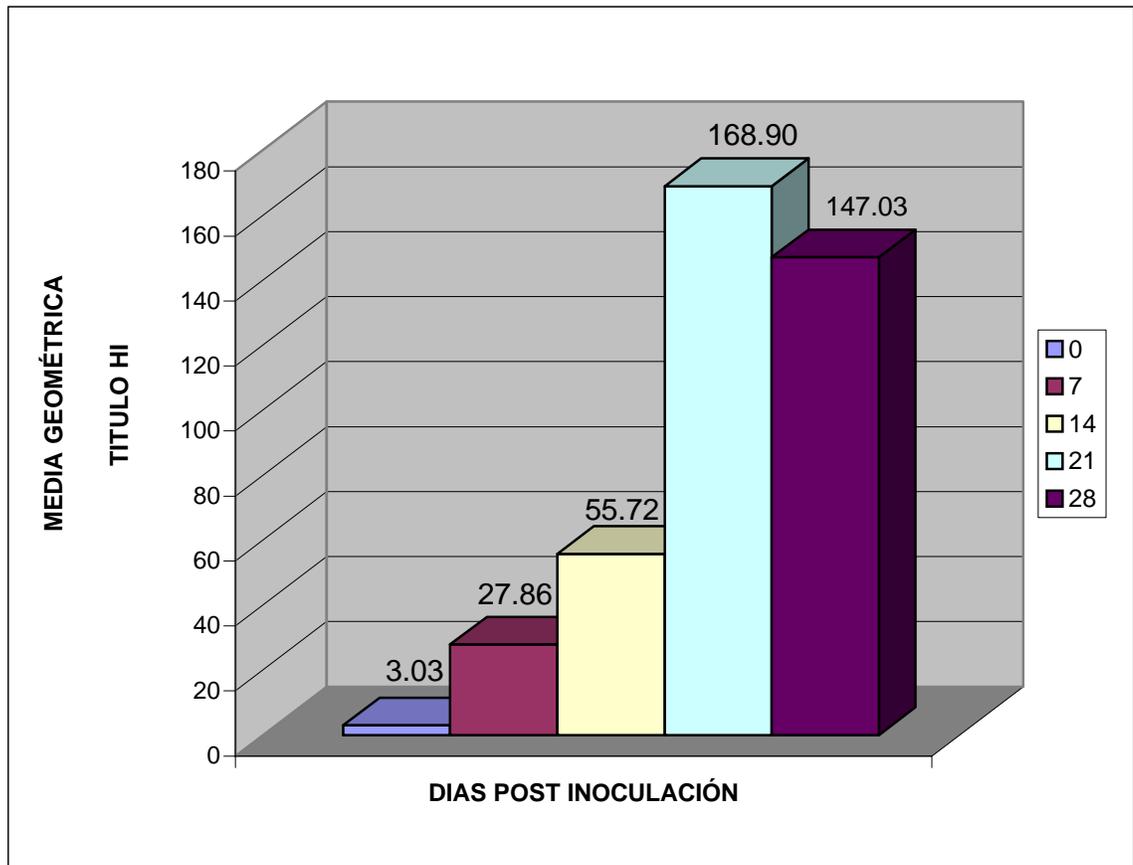
GRÁFICA 1.

Medias geométricas de los resultados de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación de muestras de suero sanguíneo obtenido de palomas inoculadas con virus velogénico, a los 7, 14, 21 y 28 días post inoculación.



GRAFICA 2.

Medias geométricas de los resultados de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación de muestras de suero sanguíneo obtenido de palomas inoculadas con virus velogénico, a los 7, 14, 21 y 28 días post inoculación



6.7 PRUEBAS DE HEMATOLOGÍA

Se tomaron muestras de sangre de cada grupo de palomas que se sacrificaron a los 7, 14, 21 y 28 días post inoculación, la sangre se mezcló con anticoagulante EDTA al 1%.

Presencia de parásitos *Hemoproteus columbae* en el 30% de las palomas muestreadas.

Se solicitó hemograma en la sección de Hematología del Departamento de Producción animal: Aves y los resultados obtenidos en promedio, se resumen en los siguientes cuadros:

CUADRO 21. Grupo I (palomas inoculadas con virus velogénico)

	VALORES DE REFERENCIA (42)	7 DIAS 5 AVES	14 DIAS 5 AVES	21 DIAS 5 AVES	28 DIAS 5 AVES
Hematocrito	33-35 %	54.66	67	71.5	66.4
Proteínas plasmáticas	3 – 6 g/dl	3.03	4.6	3.6	3.9
Leucocitos	$13 \times 10^3/\text{ul}$	3.86	8.33	15.5	14.8
Linfocitos	65%	33.5	31.6	40.5	48.2
Heterófilos	23%	42	40	30.5	28.6
Eosinófilos	0-2%	0	1	0	0
Basófilos	1-6%	1	1	0.5	1
Monocitos	6.6%	24	27.2	28.5	27.9
Trombocitos	$20-30 \times 10^3/\text{ul}$	3.15	n/d	7.17	12.07

En este caso se observa Leucopenia, linfopenia, heterofilia y monocitosis.

CUADRO 22. Grupo II (palomas inoculadas con virus mesogénico)

	VALORES DE REFERENCIA (42)	7 DIAS 5 AVES	14 DIAS 5 AVES	21 DIAS 5 AVES	28 DIAS 5 AVES
Hematocrito	33-35 %	52.4	64	65.4	63.4
Proteínas plasmáticas	3 – 6 g/dl	3	3.4	3.6	3.02
Leucocitos	13X10 ³ /ul	7.06	8	9.52	9.1
Linfocitos	65%	42.5	47.6	47.7	49.2
Heterófilos	23%	34.2	30	30.9	31.9
Eosinófilos	0-2%	2	1	1	1
Basofilos	2-6%	2	1.5	1	1.8
Monocitos	6.6%	22	21.2	20.5	23.9
Trombocitos	20-30X10 ³ /ul	4.15	6.09	7.27	9.07

En este caso se observa Leucopenia, linfopenia, heterofilia y monocitosis.

CUADRO 23. Grupo III (palomas sin inocular)

	VALORES DE REFERENCIA (42)	7 DIAS 5 AVES	14 DIAS 5 AVES	21 DIAS 5 AVES	28 DIAS 5 AVES
Hematocrito	33-35 %	51	54	48.5	53.02
Proteínas plasmáticas	3 – 6 g/dl	3.21	3.5	3.6	3
Leucocitos	13X10 ³ /ul	12.5	12.84	13.21	13.1
Linfocitos	65%	65.32	66.6	65.8	67
Heterofilos	23%	29.5	30	31.9	31.04
Eosinofilos	0-2%	1	1	1	1
Basofilos	2-6%	2	2	2	2
Monocitos	6.6%	18.64	18.6	20.45	19.5
Trombocitos	20-30X10 ³ /ul	4.9	N/d	7.0	N/d

7. DISCUSIÓN

Los hallazgos del presente estudio concuerdan con otros trabajos en el mundo, sin embargo, existen diferencias con otros estudios.

Los resultados no son consistentes entre los diferentes autores.

7.1 SIGNOS CLÍNICOS

Las palomas inoculadas con virus de Newcastle mesogénico, presentaron signos clínicos que sugieren una infección por esta enfermedad, pero no hubo mortalidad.

En nuestro estudio las palomas inoculadas con el virus de Newcastle velogénico, presentaron signos clínicos a partir del tercer y cuarto días post inoculación, estos signos coinciden con los descritos por varios autores.^{1,2,35} El primer signo fue la disminución de la actividad que resultó en apatía y depresión, diarrea acuosa, anorexia, plumas erizadas, estornudos y lagrimeo.

En el estudio de Barbezange (2003) al inocular un grupo de palomas con un paramyxovirus-1 10^6 DIEP_{50%} / 0.1ml por ave vía óculo-nasal los primeros signos clínicos fueron notados a los 4 días post inoculación y en algunas palomas perduraron hasta los 31 días post inoculación, la morbilidad alcanzó el 90%. Una gran diferencia entre este estudio y el de Barbezange fue que en su grupo de palomas inoculadas se observaron signos neurológicos y digestivos a los 8 días post inoculación. Las alas y cabeza caídas fueron los primeros signos nerviosos que se notaron hasta posteriormente la pérdida de coordinación y tortícolis, la tortícolis permaneció en algunas palomas hasta el día 31 que fueron sacrificadas³⁴

En las palomas del presente estudio no se observaron signos neurológicos, no hubo mortalidad y fueron capaces de recuperarse de la infección, posiblemente porque tengan una resistencia natural.

Además en el experimento de Barbezange (2003) fueron observados otros signos en algunas palomas como plumas erizadas, temblor, edema en ojos y pérdida de peso y condición física. No se observaron lesiones macroscópicas. En este experimento no se observó mortalidad, las aves fueron sacrificadas periódicamente.³⁴

Alexander y Parson (1984) y Barbezange (2003) no observaron signos clínicos al tratar de reproducir la enfermedad en palomas con el paramyxovirus-1 inoculándolas por vía intranasal ni por contacto directo, pero sí pudieron aislar el virus de las palomas inoculadas Pearson y colaboradores (1987) no tuvieron éxito al reproducir la enfermedad por una ruta natural de inoculación ^{5 y 34}.

Mubarak (1990) y Zenetti (2001) observaron signos cuando inocularon a las palomas vía oral con paramyxovirus-1. ⁶

Kommers y col., (2002), al inocular pollos con aislamientos de VENC originarios de paloma y darles 4 pases en pollo observaron edema periocular, con conjuntivitis bilateral, depresión, tremor en cabeza, incoordinación, a los 2 y 7 días post inoculación. Con otras cepas observaron plumas erizadas a los 5 días postinoculación. ⁶

Pearson y colaboradores (1986), observaron parálisis, tortícolis, temblores, incoordinación y muerte en palomas infectadas por paramyxovirus -1. ³⁶

Los hallazgos de los citados autores y los del presente estudio, sugieren una resistencia natural de las palomas contra estos virus, también sugieren que existe en las palomas la capacidad de recuperación cuando se ha presentado la enfermedad; entre los múltiples factores pudiera ser un menor número de receptores. Por otra parte es posible que la dosis requerida para inducir signos clínicos y mortalidad sea mayor.

7.2 SEROLOGIA

Las palomas desarrollaron una respuesta inmunológica medible por la prueba de Inhibición de la hemoaglutinación.

Las palomas estuvieron en cuarentena antes de la inoculación y por pruebas de HI fueron negativas a la presencia de anticuerpos contra NC, se consideraron libres de NC. Después de la inoculación se dió la seroconversión, los títulos considerados positivos se observaron hasta las tres semanas post infección en donde los títulos de anticuerpos permanecieron entre 4.5 a 6.5 log₂ y las aves del grupo control permanecieron negativas, esto coincide con el estudio de

Barbezange y colaboradores (2003)³⁴. Por el contrario en los trabajos de Pearson y colaboradores (1986) algunas palomas inoculadas con vacunas de ENC no desarrollan anticuerpos hasta que fueron revacunadas y la mayoría fueron susceptibles a los desafíos.³⁶

7.3 AISLAMIENTO VIRAL

En el presente experimento, los primeros aislamientos virales se obtuvieron a las 24 y 48 horas post inoculación, a partir de los hisopos traqueales tomadas de las palomas inoculadas tanto con virus velogénico como mesogénico. Las palomas sin inocular fueron negativas. Los virus se replicaron primero en la tráquea pero no fue posible aislarlos por medio de hisopos cloacales a las 24 ni 48 horas post inoculación.

En el experimento de Alexander y colaboradores⁵ cuando las aves consumieron alimento contaminado con heces de palomas infectadas con virus de Newcastle, a partir del día 4 post inoculación fue posible aislar el virus de heces durante un periodo de 35 días de observación. En el presente estudio no fue posible aislar el virus a partir de heces a las 24 ni 48 horas post inoculación, sin embargo el presente estudio coincide con que fue posible el aislamiento tanto de virus velogénico como mesogénico a partir de tonsilas cecales, a los 7, 14 y 21 días post inoculación. De alguna forma también coincide con el experimento de Barbezange y Jestin (2003) quienes mediante la prueba de RT-PCR anidado demostraron la presencia del virus en traquea y pulmones, los pulmones fueron positivos hasta el fin del experimento. Después de los 14 días el virus ya no fue detectado en tráquea. Encontraron positivo intestino delgado a los 4 días post inoculación. Las tonsilas cecales y bazo fueron positivos desde el día 2 al 31, hígado del día 4 al 14, páncreas del 4 al 10. Los autores mencionaron que el genoma viral fue detectado en el corazón, riñones, cerebro casi al final del experimento.³⁴

7.4 LESIONES A LA NECROPSIA

Al igual que en otros estudios, las lesiones observadas no son representativas de la enfermedad, la traqueitis y congestión en pulmones puede incluso presentarse en otras enfermedades respiratorias. La presencia de edema en intestino puede hacerse mucho más evidente por la presencia de parásitos alojados en este sitio, que en el caso del presente estudio fueron un hallazgo a la necropsia. Sin embargo, el grupo testigo también presentó parásitos pero no diarrea ni un intestino edematoso.

Muchos autores citados por Barbezange (2003) reportan la ausencia de lesiones a la necropsia en infecciones experimentales Barton 1992, Johnston 1992, Lumeji y Stam 1985, Maeda 1987, Barbezange y Jestin 2003. Pearson 1987 observó hemorragias en órganos digestivos y páncreas, Ei Mubarak 1990 observó también hemorragias en cerebro.^{34,36,42,}

Kommers y colaboradores (2002), observaron lesiones en pollos que incluyen hemorragias petequiales y edema en conjuntiva, esplenomegalia y hemorragias petequiales en el timo al inocular a estos pollos con aislamientos de VENC provenientes de paloma.⁶

Pearson y colaboradores (1986) no observaron signos clínicos después del contacto o exposición intranasal. Observaron gastroenterocolitis y necrosis pancreática en palomas inoculadas experimentalmente por vía intravenosa con paramyxovirus y el tiempo promedio de muerte fue de 9.5 días.³⁶

Ericson y colaboradores (1980), inocularon palomas con cepas velogénicas viscerotrópicas por vía de aerosol, pero sólo 17 de 83 desarrollaron signos clínicos similares a los descritos en pollos. Estos mismos autores reportan haber observado en palomas muertas petequias y equimosis en la submucosa sin haber erosión o ulceración en tracto digestivo. Observaron también hemorragias en esófago, proventrículo, ventrículo, intestino y páncreas.³⁶

7.5 LESIONES MICROSCÓPICAS

En pollos inoculados con aislamientos de VENC originarios de palomas se observaron lesiones en corazón y cerebro, consistentes en infiltraciones multifocales de células inflamatorias (linfocitos, células plasmáticas y macrófagos). También se encontró depleción linfocítica, necrosis celular y células apoptóticas en bazo, bolsa de Fabricio y timo. En el cerebro se observó infiltración mononuclear, áreas hipercelulares, gliosis y reacción inflamatoria cercana a capilares. (19)

Algunos autores (Alexander y Parson 1984) sugieren que por la presencia de otros agentes infecciosos se desarrolla la enfermedad en el campo y eso explica en ocasiones la falla en la presentación de signos clínicos experimentalmente.

En el experimento de Barbezange y Jestin (2003) (7) las palomas estaban infectadas naturalmente con *Salmonella typhimurium*, ellos consideran que a esto se debe la presencia de signos clínicos y lesiones en palomas infectadas con Paramyxovirus 1.

En este experimento las palomas fueron negativas a *Salmonella spp.* Y a Coccidias, sin embargo se encontraron algunas fases larvarias y adultas de ascáridos en molleja e intestino delgado, lo que también podría irritar la mucosa intestinal.

En el presente estudio se pudo observar únicamente en cuatro palomas inoculadas con el virus velogénico a los 21 días post inoculación gliosis moderada y en una paloma se encontró infiltración linfocitaria muy leve en encéfalo, esto podría sugerir que el virus llegó a encéfalo coincidiendo con los aislamientos virales a partir de éste órgano. No hubo signos neurológicos.

7.6 HEMATOLOGÍA

Tanto en las palomas inoculadas con virus velogénico como en las inoculadas con virus mesogénico se observa leucopenia, linfopenia, heterofilia y monocitosis en los diferentes días en que se sacrificaron las palomas. Esto puede deberse a la infección viral.

8. CONCLUSIONES

De acuerdo al presente estudio la hipótesis no se cumplió completamente debido a que no se presentaron lesiones, ni mortalidad en palomas inoculadas con virus de la enfermedad de Newcastle aislados de aves comerciales en México, algunos de los signos clínicos podrían coincidir con los descritos para esta enfermedad aun que no hubo signos neurológicos.

Los virus de la Enfermedad de Newcastle en palomas, no ocasionan enfermedad grave ni lesiones significativas.

Los virus de la Enfermedad de Newcastle aislados de aves comerciales en México e inoculados experimentalmente en palomas, no ocasionan mortalidad.

Las palomas desarrollan respuesta inmunológica lo cual puede servir como un indicador de infección.

Es posible reaislar el virus hasta 21 días post inoculación en ausencia de signos clínicos, lesiones y mortalidad.

El aislamiento viral a partir de diferentes órganos es muy importante ya que esto sugiere que el virus tanto velogénico como mesogénico replicó en el organismo de las palomas, pudiendo comportarse como portadores de los virus.

Se requieren más estudios con diferentes cepas y en los que se adapte el virus proveniente de pollos o gallinas, a través de pases en las palomas y con diferentes dosis infectantes.

9. REFERENCIAS

1. Aldous EW, Alexander DJ. Detection and differentiation of Newcastle disease virus (avian paramyxovirus type 1). *Avian Pathology* 2001; 30: 117-128.
2. Alexander DJ. Newcastle disease and other avian Paramyxoviridae infections. En Saif Y.M. et al. *Diseases of Poultry*, (p.64 – 85) 11ed. Iowa State Univ. Press. Iowa, 2003
3. Srilakshmi V, Suguna R. Pathology of Newcastle disease (velogenic) in embryos. *Indian Journal of Animal Sciences* 2002; 72 (10): 855-857.
4. Aldous EW, Fuller CM, Mynn JK, Alexander DJ. A molecular epidemiological investigation of isolates of the variant avian paramyxovirus type 1 virus (PPMV-1) responsible for the 1978 to present panzootic in pigeons. *Avian Pathology* 2004; 33:22, 258-269.
5. Alexander DJ, Parsons G, Marshall R. Infection of fowls with Newcastle disease virus by food contaminated with pigeon faeces. *The Veterinary Record* 1984; 115, 601-602.
6. Kommers GD, King DJ, Seal BS, Carmichael KP, Brown C. Pathogenesis of six pigeon-origin Isolates of Newcastle disease virus for domestic chickens. *Veterinary Pathology* 2002; 39, 353-362.
7. OIE, World Organization for animal Health. Enfermedad de Newcastle en Manual de pruebas diagnósticas y vacunas. Código Sanitario para animales terrestres 2005; Capítulo 2.7.13. Artículos 1-20. 2005.
8. 26 [http:// www.oie.com](http://www.oie.com)

9. Márquez M. Historia de la Enfermedad de Newcastle. Memorias de la III Convención Anual ANECA, Mazatlán, Sin. 1978.

10. NOM-013-ZOO-1994. Norma Oficial Mexicana Campaña de Erradicación contra la Enfermedad de Newcastle velogénico.

11. [http:// www.senasica.sagarpa.gob.mx](http://www.senasica.sagarpa.gob.mx)

12. Janice etal. Phylogenetic relationships among virulent Newcastle disease virus isolates from 2002-2003 outbreak in California and other recent outbreaks in North America. *Journal of Clinical Microbiology* 2004; 42 (5) 2329-2334.

13. Collins MS, Strong I, Alexander DJ. Evaluation of the molecular basis of pathogenicity of the variant Newcastle disease viruses termed "pigeon PMV-1 viruses". *Archives of Virology* 1994; 134, 403-411.

14. Römer-Oberdörfer A, Veits J, Werner O, Mettenleiter T. Enhancement of pathogenicity of Newcastle Disease Virus by Alteration of specific amino acid residues in the surface glycoproteins F and HN. *Avian diseases* 2006; 50(2), 252-258.

15. Creelan J, Gram DA, McCullough. Detection and differentiation of pathogenicity of avian paramyxovirus serotype 1 from field cases using one-step reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Avian Pathology* 2002; 31, 493-499.

16. Wakamatsu N, King D, Seal B, Peeters B, Brown A. Effects on pathogenesis of newcastle disease virus La Sota strain from a mutation of the fusion cleavage site to a virulent sequence. *Avian diseases* 2006; 50 (4), 469-660.

17. Loimnizc B, Fehervari T. Caracterización genética de las cepas paramyxovirus-1 aislados de palomas en Hungría. Magyar Állatorvosok Lapja. Año 1980.
18. Kaleta EF, Alexander DJ, Russell PH. The first isolation of the avian PMV-1 virus responsible for the current panzootic in pigeons? Avian Pathology 1985; 14, 553-557.
19. Hitchner S B. Isolation and identification of Avian pathogens. The American Association of Avian Pathologist, Texas A&M Univ. College Station, USA, 1998.
20. Ortiz M. Tesis de Maestría. Caracterización de cepas de virus de la enfermedad de Newcastle, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM; 2003.
21. Villegas Pedro. Laboratory Manual. Avian Virus Diseases, AVMD 8050. University of Georgia. 2001.
22. Ridell C. Avian Histopathology. The American Association of avian pathologist, 1990.
23. Alexander DJ, et al. Antigenic and biological Characterization of avian paramyxovirus type 1 isolates from pigeons – an international collaborative study. Avian Pathology 1985 14, 365-376.
24. Biancifiori F, Fioroni A. An occurrence of Newcastle disease in pigeons: virological and serological studies on the isolates. Comp. Immunology of Microbiology infectious diseases 1983; 6:3, 247-252.

25. Calderón N, Petrone V, Ledesma N, Fehervari T, Lomniczi B. Infección con un paramyxovirus tipo 1 en palomas. Informe de un caso en la ciudad de México. XXIV Convención Anual ANECA, León, Guanajuato, 1999.
26. Keimer Ian F. Palomas cap. 14 en Manual de Animales exóticos, Harcourt Brace, España 1991, 199-223.
27. King DJ, Seal BS, Carmichael KP, Brown C. Pathogenesis of six heterogeneous-origin Newcastle disease virus isolates before and after sequential passages in domestic chickens. Avian Pathology 2003; 32, 81-93.
28. Meulemans G, Berg VM, Decaesstecker M, Boschmans M. Evolution of pigeon Newcastle disease virus strains. Avian Pathology 2002; 31, 515-519.
29. Terregino C, Cattoli G, Grossele B, Bertoli E, Tisato E, Capua I. Characterization of Newcastle disease virus isolates obtained from Eurasian collards doves (*Streptopelia decaocto*) in Italy. Avian Pathology 2004; 32, 63-68.
30. Tudor D.C Viral diseases en Pigeon Health and disease (p. 25-34) Iowa State University Press. Iowa, 1991.
31. Fang T, Lieng Y, Cheng M, Tsai H. Resistance of Immune-suppressed pigeons to subtypes H5N2 and H6N1 low pathogenic avian Influenza virus. Avian diseases 2006; 50(2), 269-272.
32. Grepe N. Crianza de palomas, Grupo Editorial Iberoamericano, S. A de C.V. México, 2001

33. Alexander DJ, Parsons G, Marshall R. Infection of fowls with Newcastle disease virus by food contaminated with pigeon faeces. *The Veterinary Record* 1984; 115, 601-602.
34. Barbezange C, Jestin V. Monitoring of pigeon paramyxovirus type-1 in organs of pigeons naturally infected with *Salmonella Typhimurium*. *Avian Pathology* 2003; 32:3, 277-283.
35. Alexander DJ, Parsons G. Pathogenicity for chickens of avian paramyxovirus Type 1 isolates obtained from pigeons in Great Britain during 1983-85. *Avian Pathology* 1986; 15, 487-493.
36. Pearson JE, Senne DA, Alexander DJ, Taylor WA, Peterson LA, Russell PH. Characterization of Newcastle Disease Virus (Avian Paramyxovirus-1) Isolated from pigeons. *Avian Pathology* 1986; 31:1, 105-111.
37. Liu H, Wang Z, Song C, Wang Y, Yu B, Zheng D, Sun C, Wu Y. Characterization of pigeon-origin Newcastle disease virus Isolated in China. *Avian Diseases* 2006; 50 (4), 469 –660.
38. Westbury H. Newcastle disease virus: an evolving pathogen? *Avian Pathology* 2001; 30, 5-11.
39. Wan H, Chen L, Wu L, Liu X. Newcastle disease in geese: natural occurrence and experimental infection. *Avian Pathology* 2004; 33(2), 216-221.
40. NOM 033-ZOO 1995. Norma Oficial Mexicana Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres.

41. Wagner E, Martínez. Basic Virology, 2a ed, Blackwell publishing, 283-291 UK, 2004.

42. Lumeij JT, Bruijne JJ. Blood chemistry reference values in racing pigeons (*Columba livia domestica*). Avian Pathology 1985; 14, 401-408.