



## Enfermedad de Newcastle en pollitos criollos: Estudio patológico y filogenético

Norma L. Calderón Apodaca <sup>1\*</sup>  
Fernando Chávez Maya <sup>1</sup>  
Gary García Espinosa <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves,  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
CDMX, 04510.

\* Autor para correspondencia:  
Tel: +52 (55) 56 22 58 67  
Correo electrónico:  
nlca@unam.mx

### Resumen

**Descripción del caso clínico.** El 90 % de una parvada de 800 pollos criollos de tres semanas de edad murió en 72 horas. A partir de cinco pollos enfermos que presentaron signos de depresión severa, caquéticas y con secreción serosa mucosa, nasal y ocular, se realizó el diagnóstico integral que sugería una enfermedad aguda de alta mortalidad como la enfermedad de Newcastle o influenza aviar de alta patogenicidad.

**Hallazgos clínicos.** Se observaron hemorragias en la tráquea, el proventrículo y las tonsilas cecales, pero en el estudio histopatológico, se reveló una necrosis y hemorragias en la médula ósea, los timos, el bazo, la bolsa de Fabricio, las tonsilas cecales, la tráquea y los bronquios. En la médula ósea, se advirtió también una hipoplasia hematopoyética severa con depósito de material acidofílico multifocal y necrosis celular multifocal. En el timo, el bazo y las tonsilas, se encontró una depleción severa de linfocitos, mientras que en la bolsa de Fabricio, los folículos linfoides estaban muy atrofiados y la Bolsa tenía aspecto adenoide con proliferación del tejido conectivo fibroso e infiltrado difuso de linfocitos. En algunas folias, donde aún se encontraban folículos linfoides, se observó una gran necrosis multifocal de los linfocitos. El conjunto de lesiones macroscópicas e histológicas sugerían una enfermedad hemorrágica y necrótica sistémica de curso agudo que sustentaban el diagnóstico de influenza aviar y enfermedad de Newcastle.

**Pruebas complementarias de laboratorio.** El pulmón y la tráquea fueron los tejidos con las lesiones macroscópicas más significativas. Únicamente el virus que se aisló de la tráquea y se analizó por RT-PCR dio positivo a la enfermedad de Newcastle. La secuenciación de nucleótidos del gen F mostró una similitud del 97 % con la secuencia de la cepa México/01/10 (JX974435) del virus de la enfermedad de Newcastle. Además, ambos virus comparten los mismos cuatro aminoácidos básicos en el sitio de corte de la proteína F (RRQKR\*F) que los clasifica dentro de los patotipos velogénicos y mesogénicos. La prueba de índice de patogenicidad intracerebral del virus, en esta investigación, tuvo un índice de 1.14 que está en el rango de 1.0 a 1.5 y corresponde a virus mesogénicos considerados virulentos.

Recibido: 2016-06-23  
Aceptado: 2016-10-28  
Publicado: 2016-12-13

Información y declaraciones adicionales  
en la página 11

© Derechos de autor:  
Norma L. Calderón Apodaca *et al.* 2016

acceso abierto



Distribuido bajo una Licencia Creative Commons  
Atribución 4.0 Internacional (CC-BY 4.0)

Finalmente, el análisis filogenético del virus mostró que este virus se agrupa en el genotipo V de la clase II que corresponde a virus mexicanos.

**Relevancia clínica.** El virus de la enfermedad de Newcastle (VEN) está presente en los pollos y las gallinas de México desde los años 70's, y los estudios filogenéticos sobre estos virus en los últimos años, muestran que la avicultura mexicana tiene dos linajes del genotipo v. Uno de ellos relacionado con la cepa Chimalhuacán que persiste en el país desde la década de los 70's del siglo pasado y otro que ocasionó el brote en La Laguna en el año 2000 y que se le conoce como virus Torreón. El presente caso clínico refuerza la persistencia del virus de Newcastle en México y la vigilancia que se debe tener sobre la enfermedad en todo tipo de pollos y gallinas.

*Palabras clave:* Newcastle; paramyxovirus 1; pollos; criollos.

## Newcastle disease in creole chickens: A pathologic and phylogenetic study

### Abstract

**Case description.** Ninety percent of a flock with 800 creole chickens, of 3 week of age, died within 72 h. Integral diagnoses of five chickens with depression, cachexy and serum secretion in the nasal and ocular mucous membranes, suggested that the chicken had a disease of high mortality such as the Newcastle disease or a highly pathogenic form of avian influenza.

**Clinical findings.** Bleeding from the trachea, proventriculus and cecal tonsils was observed. Histopathological analysis also revealed necrosis and bleeding in the bone marrow, thymus, spleen, bursa, cecal tonsils, trachea and bronchi. A severe hematopoietic hypoplasia with multifocal deposits of acidophylic material and cellular necrosis was observed in the bone marrow. Depletion of lymphocytes was observed in the thyme, spleen and tonsils, whereas the lymphoid follicles in the bursa were atrophied, and the bursa had an adenoidal shape with proliferation of the fibrous connective tissue and diffuse infiltration of lymphocytes. A large multifocal necrosis of lymphocytes was observed in some foils with lymphoid follicles. Together, the examination of the lesions at macroscopic and histological scales, suggested an acute and systemic necrosis, thus supporting a diagnosis of avian influenza or Newcastle disease.

**Complementary laboratory tests.** Tissues of the lung and trachea exhibited the most significant macroscopic lesions. The virus isolated from the trachea and analyzed with RT-PCR was positive for Newcastle disease. Sequencing of the gen F, suggested a 97 % similarity with the strain México/01/10 (JX974435) of Newcastle disease. Moreover, the virus had the same four basic aminoacids in the cleavage site of the portein F (RRQKR\*F), as the velogenic and mesogenic pathotypes. The intra-cerebral pathogenic index found in this study was 1.4 within the range of 1.0 and 1.5, corresponding to the mesogenic viruses which are considered to be virulent.

Finally, phylogenetic inference suggested that the virus was a close relative of the genotype V of the class II, corresponding to Mexican viruses.

**Clinical relevance.** Newcastle disease virus (NDV) has been present in the poultry of México since 1970s, and phylogenetic studies suggest that two lineages of the genotype V circulate in Mexican poultry farms. One of these strains is related to the strain Chimalhuacán that persists in the country since the 70s. The other one, Torreón virus, produced an outbreak of Newcastle in La Laguna in the year 2000. The present clinical case confirms the presence of NDV in México, and emphasizes the importance of epidemiological surveillance in all types of poultry farms.

**Keywords:** Newcastle, paramyxovirus 1, chicken; creole.

---

## Introducción

El virus de la enfermedad de Newcastle (VEN) está presente en los pollos y las gallinas de México desde los años 70's. Los estudios filogenéticos sobre estos virus aislados en México en los últimos años, muestran que la avicultura mexicana se enfrenta a dos linajes del genotipo V del virus de la EN con presentación velogénica. Uno de ellos relacionado con la cepa Chimalhuacán que persiste en el país desde la década de los 70's del siglo pasado<sup>1</sup> y otro que ocasionó el brote en La Laguna en el año 2000 y que se le conoce como virus Torreón, el cual probablemente circula en México desde 1996<sup>2</sup>. La evidencia experimental sugiere que el virus Chimalhuacán evolucionó y originó el virus Torreón, por ello, Merino y sus colegas (2009) consideran que los virus velogénicos que circulan en México pertenecen a dos linajes del genotipo V y son capaces de afectar tanto a granjas comerciales como a aves de combate y a otras especies como la paloma y la codorniz.

El caso clínico estudiado refuerza la persistencia del virus velogénico en México. El ancestral y altamente virulento, llamado Chimalhuacán, aislado en 1973, evolucionó para originar el virus Torreón, aunque un poco menos virulento, es velogénico, además de que aparentemente continúa su proceso evolutivo.

Es relevante resaltar que la cepa ancestral llamada Querétaro, aislada en la década de los 50's del siglo pasado, está agrupada en el genotipo II y su referencia es la cepa lentogénica vacunal "LaSota", por ello no se ha encontrado recientemente ninguna cepa de campo relacionada con la cepa Querétaro.

La cepa Chimalhuacán del VEN genera signos clínicos digestivos en aves libres de patógenos específicos (ALPES) en 24 horas posinoculación, pero no signos nerviosos, por lo que concuerda con las cepas velogénicas viscerotrópicas tipo Doyle, diferentes a las cepas velogénicas neurotrópicas tipo Beach. Este virus causa a nivel histológico múltiples focos de necrosis y degeneración celular en la médula ósea en las primeras 48 horas posinfección (hpi). Es importante resaltar que los estudios ultraestructurales revelaron que, a partir de las 36 hpi, los precursores de la serie granulocítica y trombocítica en la médula ósea se degeneran y necrosan. Merino y sus colegas (2009) lograron el aislamiento viral en el 100 % de los casos a partir de tejido de médula ósea a las 72 hpi. Los resultados hematológicos mostraron linfocitosis hacia las 48 hpi y, a partir de las 60 hpi, Calderón y sus colegas (2005) observaron una severa linfopenia<sup>3</sup>, lo que demuestra que el VEN Chimalhuacán tiene especial afinidad para infectar tanto linfocitos como células hematopoyéticas y trombopoyéticas de la médula ósea, esto explica su gran letalidad. También debemos mencionar que, de las infecciones experimentales, en los encéfalos estudiados Galindo y sus colegas (2001) registraron infiltración linfocitaria perivascular y degeneración endotelial en los capilares cerebrales<sup>4</sup>, sin embargo, la ausencia de manifestaciones nerviosas clínicas probablemente se deba a que la gravedad de las lesiones hematopoyéticas y linfoides, que conducen a una letalidad muy rápida, que no permite la manifestación nerviosa.

## Descripción del caso clínico

A finales del año 2014, recibimos en el Departamento de Aves de la FMVZ cinco pollos criollos de tres semanas, que eran sobrevivientes de una parvada de traspasamiento de 800 aves, donde el 90 % había muerto en tan solo 72 horas. Estos animales



**Figura 1.** Pollitos con depresión y plumas erizadas.

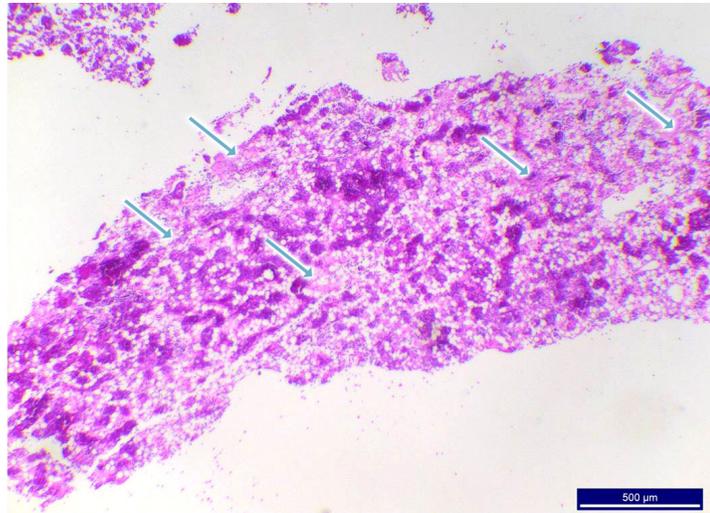
provenían de un área rural de la Ciudad de México. Las cinco aves vivas tenían signos clínicos de depresión profunda, caquéticas y con secreción serosa mucosa, nasal y ocular (figura 1). El propietario solicitó el sacrificio de las aves para llegar al diagnóstico de la enfermedad. Con base en la historia clínica, estábamos frente a un posible caso clínico de influenza aviar de alta patogenicidad o enfermedad de Newcastle.

### Hallazgos en la necropsia

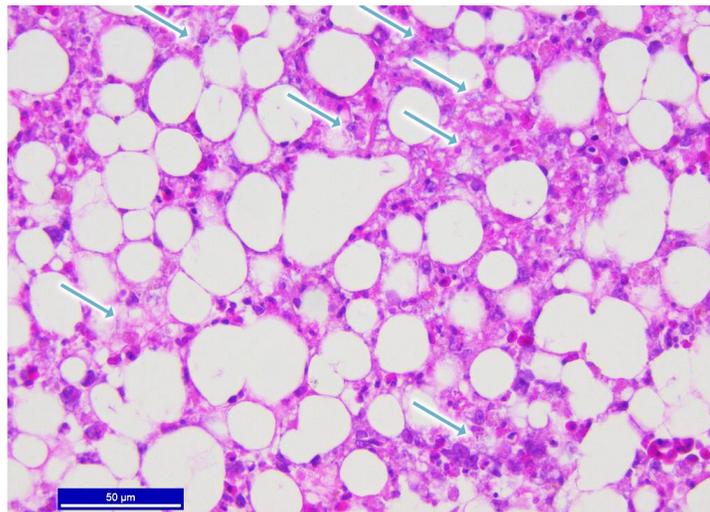
En la necropsia, se observaron hemorragias en la tráquea, el proventrículo y las tonsilas cecales. El estudio histopatológico reveló necrosis multifocal severa y hemorragias en la médula ósea, los timos, el bazo, la Bolsa de Fabricio y las tonsilas cecales. También se encontraron hemorragias y necrosis severa del epitelio traqueal y bronquial. En la médula ósea, se advirtió una hipoplasia hematopoyética severa con depósito de material acidofílico multifocal (figura 2), necrosis celular multifocal (figura 3) y hemorragias multifocales.

En el timo, hallamos una depleción severa de linfocitos con necrosis multifocal tanto en la zona medular como cortical (figura 4); un bazo con depleción linfocitaria severa, necrosis multifocal de linfocitos y zonas con depósito de material acidofílico (figura 5). Las tonsilas cecales tenían hemorragias multifocales extensas (figura 6), una gran depleción linfocitaria y focos de necrosis linfocitaria, mientras que en la bolsa de Fabricio observamos los folículos linfoides muy atrofiados, y esta Bolsa con aspecto adenoide, proliferación de tejido conectivo fibroso (figura 7) e infiltrado difuso de linfocitos. En algunas folias, donde aún se encontraban folículos linfoides, los linfocitos manifestaban una severa necrosis multifocal (figura 8).

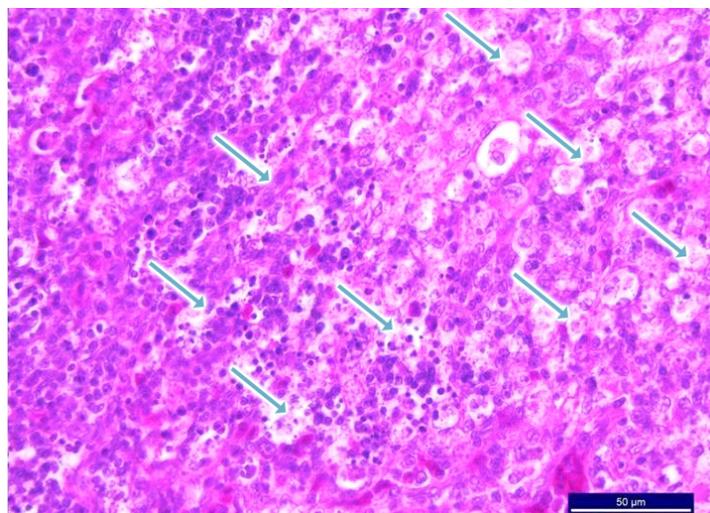
Las lesiones macroscópicas e histológicas claramente sugerían una enfermedad hemorrágica y necrótica sistémica de curso agudo que sustentaban el diagnóstico de influenza aviar y enfermedad de Newcastle.



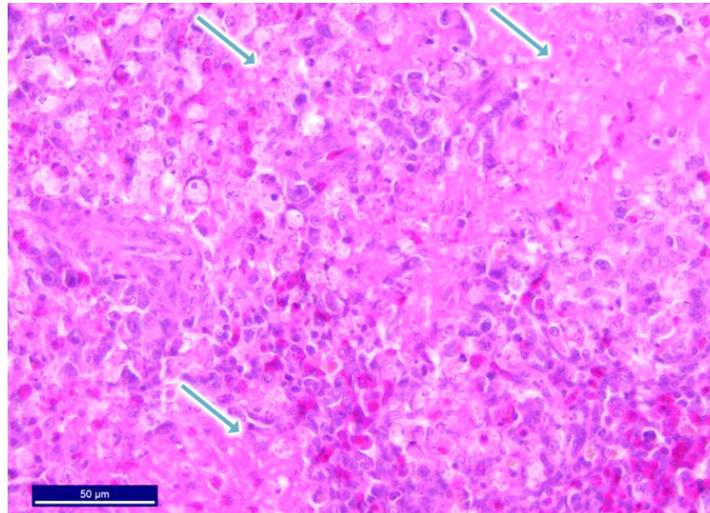
**Figura 2.** Necrosis multifocal de la médula ósea.



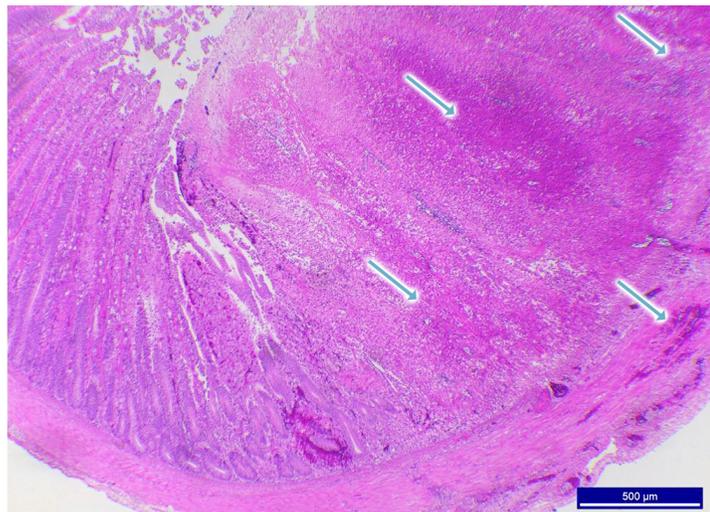
**Figura 3.** Necrosis de las células precursoras de los granulocitos y los trombocitos.



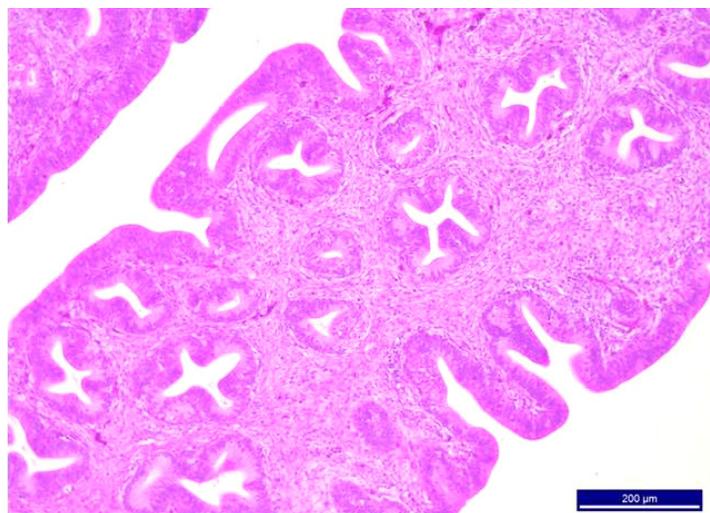
**Figura 4.** Necrosis linfoide del timo.



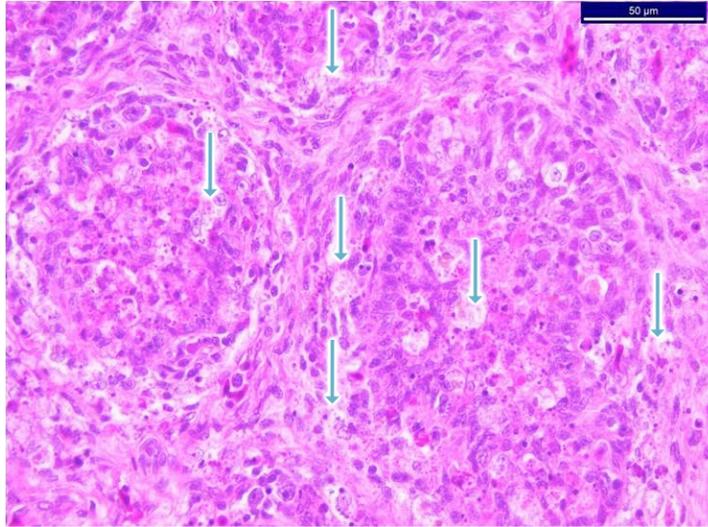
**Figura 5.** Necrosis linfoide del bazo.



**Figura 6.** Necrosis y hemorragia de tonsila cecal.



**Figura 7.** Atrofia severa de la bolsa de Fabricio.



**Figura 8.** Necrosis linfoide de los folículos de la bolsa de Fabricio.

### Pruebas complementarias de laboratorio

A partir de los tejidos del pulmón y la tráquea, aquellos con las lesiones más significativas, aislamos un virus a partir de un embrión de pollo que hemoaglutina glóbulos rojos de gallina y que esa hemoaglutinación es inhibida por un antisuero contra el virus de la enfermedad de Newcastle. Al virus lo denominamos 364. De las muestras de estos tejidos, extrajimos el RNA viral para detectar el gen que codifica para la proteína F del virus 364 por medio de la técnica de RT-PCR. Únicamente la tráquea fue positiva al gen. Amplificamos el gen, secuenciamos los nucleótidos (número de acceso GenBank KY284094): tuvieron una similitud del 97 % con la secuencia de la cepa México/01/10 (número de acceso GenBank JX974435) del virus de la enfermedad de Newcastle.

Xiao y sus colegas (2013), en la región centro norte de México en el año 2010, aislaron el virus México/01/10 de pollos de engorda vacunados para la enfermedad de Newcastle, cuya mortalidad era de 24 a 36 % con signos en el sistema nervioso central y severa disnea<sup>5</sup>. El virus México/01/10 contiene cuatro aminoácidos básicos en el sitio de corte de la proteína F (**RRQKR\***F) al igual que el virus 364 de este caso de estudio (**RRQKR\***F).

La secuencia de aminoácidos **RRQKR\***F está asociada a patotipos velogénicos como la cepa Texas GB y a patotipos mesogénicos como la cepa Roakin. Para conocer la virulencia del virus 364, probamos el índice de patogenicidad intracerebral: arrojó un índice de 1.14, y que Alexander (2008) cataloga en el rango de 1.0 a 1.5 correspondiente a virus mesogénicos, considerados virulentos<sup>6</sup>. Con base en la secuencia de nucleótidos del gen F del virus 364, analizamos la filogenia. Este virus se agrupa en el genotipo v de la clase II que corresponde a virus mexicanos (figura 9).

### Discusión

Este brote de campo es similar tanto en los signos clínicos como en las lesiones según los estudios experimentales con el virus de la enfermedad de Newcastle

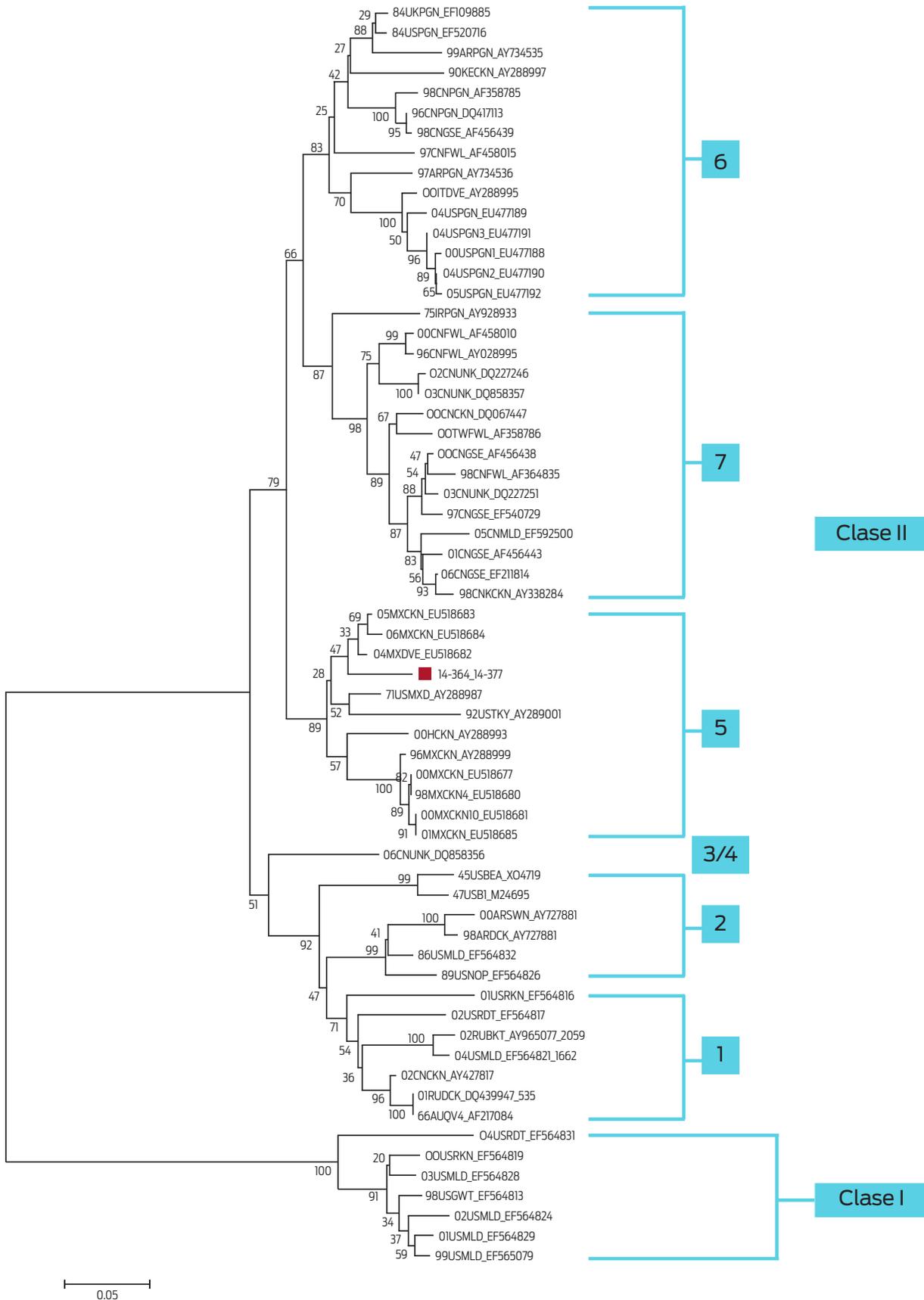


Figura 9. Árbol filogenético que incluye secuencias del gen F de 63 virus de paramyxovirus 1.

cepa Chimalhuacán<sup>2</sup>. Sin embargo, el estudio filogenético muestra que el virus más cercano al 364, es el de Newcastle México/01/10 aislado de un brote en el 2010 que provocó una mortalidad menor al 36 % y signos nerviosos en las aves convalecientes.

Los virus velogénicos causan alta mortalidad aguda que va del 50 al 100 %, mientras que en los mesogénicos la mortalidad es menor al 50 % con depresión, signos de daños respiratorios y signos nerviosos en pollos jóvenes. Los virus mesogénicos lesionan poco, mientras que los velogénicos producen lesiones hemorrágicas y necrosis en varios tejidos<sup>6,7</sup>.

En este caso clínico, las lesiones corresponden a virus velogénicos, y las pruebas moleculares indican que son virulentos ya sean velogénicos o mesogénicos. Sin embargo, recordemos que no siempre hay correlación entre la virulencia del virus en pollos y el índice de patogenicidad intracerebral (IPIC), así como tampoco entre el IPIC y la secuencia de aminoácidos básicos presentes en la proteína F.

Este análisis muestra la presencia todavía del VEN velogénico, que se puede explicar o por la falta de vacunación o por una vacunación incorrecta. Además, las vacunas aplicadas de forma subcutánea con virus inactivados, no evita la infección, y por ello, el virus ha persistido. Algunas vacunas en uso, tales como las que contienen antígeno cepa LaSota, pertenecen al genotipo II, mientras que todos los aislamientos de campo conocidos, con excepción de la cepa Querétaro, han sido del genotipo V.

---

## Financiamiento

Laboratorio del Diagnóstico e Investigación en Enfermedades de las Aves del Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves.

## Agradecimientos

A José G. González por el aislamiento viral y la titulación del virus. A Nadia Prado Ramírez por el apoyo técnico para la prueba de índice de patogenicidad.

## Conflictos de interés

Los autores declaran que no hay conflictos de interés para la publicación de esta investigación.

## Contribución de los autores

NLCA patólogo responsable del diagnóstico, trabajo fotográfico, escritura y revisión del manuscrito.

FCM pruebas moleculares, bioinformática, escritura y revisión del manuscrito.

GGE diseño de pruebas moleculares, índice de patogenicidad, bioinformática, escritura y revisión del manuscrito.

## Referencias

1. Perozo F, Merino R, Alfonso CL, Villegas P, Calderón N. Biological and phylogenetic characterization of virulent Newcastle disease virus circulating in Mexico. *Avian Dis.* 2008;52(3):472–9.

2. Merino R, Villegas H, Quintana J, Calderón N. Characterization of Newcastle disease viruses isolated from chicken, gamefowl, pigeon and quail in Mexico. *Vet Res Commun.* 2009;33(8):1023–30.
3. Calderón A, Galindo M, Lomniczi B, Fehervari T, Paasch L. Thrombocytopenia in Newcastle disease: Hematological evaluation and histological study of bone marrow. *Acta Vet Hung.* 2005;53(4):507–13.
4. Galindo M, Calderón N, Tellez I, Fortoul T. Haematological and histological findings in experimental Newcastle disease. *Acta Vet Brno.* 2001;70:185–9.
5. Xiao S, Nayak B, Mirande A, Collins P, Smal S. Complete genome sequence of a highly virulent Newcastle disease virus currently circulating in Mexico. *Genome Announc.* 2013;1:1–2.
6. Alexander D, Senne D. Newcastle disease virus and other avian paramyxoviruses. En: *A Laboratory Manual for the Isolation, Identification, and Characterization of Avian Pathogenes.* 5th ed. Madison, USA: The American Association of Avian Pathologists; 2008.
7. Miller P, Koch G. Newcastle disease. En: Swayne DE et al (eds) *Diseases of Poultry.* 13th ed. Singapore, Singapore: Wiley Publishing; 2013