

Dres. José M. Borrazás *
 Francisco Capano **
 Omar Marinho ***
 María V. Repiso ****

RESUMEN

Se describen los primeros casos de Bronquitis Infecciosa (B.I.) de las aves comprobados en el Uruguay, confirmándose por técnicas virológicas y serológicas la presencia del agente causal. Se detallan además las netas diferencias con las descripciones clásicas de la enfermedad en lo relativo a su epizootiología y cuadro clínico.

"VETERINARIA" Tomo XII - Setiembre, 1975 - N° 60 - p. 4

I. EPIZOOTIOLOGIA Y DIAGNOSTICO INTRODUCCION

La B.I. es una enfermedad universalmente conocida, provocada por un corona-virus, siendo diagnosticada por primera vez en el año 1931 por Schalk y Hawn en los Estados Unidos (15). Hasta el presente han sido descriptos 19 serotipos diferentes (5, 6, 7, 11, 16, 17, 23), los que muchas veces complican el diagnóstico y el control de esta afección. Desde entonces se ha detectado su presencia en la mayoría de los países con cría intensiva de aves, incluyendo la República Argentina (3, 4, 22) y Brasil (14).

En lo referente al Uruguay, se sabe de la introducción del virus de la B.I. por vacunas combinadas (Newcastle - B.I.), ya en el año 1971, cuando en plena epizootia de la enfermedad de Newcastle se pudo apreciar que avicultores inexpertos suministraron las mencionadas vacunas.

En principios de 1973, surge la sospecha de la enfermedad en estudio, como consecuencia de la observación de una afección respiratoria que no tenía las características típicas de los cuadros patológicos conocidos hasta el momento.

Con los materiales remitidos en esa oportunidad, se realizaron algunos intentos de diagnóstico serológico, mediante la técnica de gel-difusión con resultados no concluyentes (*).

* y *** Médicos veterinarios privados.
 ** y **** Técnicos del Centro de Investigaciones Veterinarias "Miguel C. Rubino", Ministerio de Agricultura y Pesca, Pando, Uruguay.

* Dr. Eduardo Quintana: comunicación personal.

En esa ocasión se procesaron así mismo, por técnicas histopatológicas, tráqueas y bronquios, observándose lesiones similares a las descritas por Garside et al. (12) en casos de B.I.

Fue a partir del año siguiente y comienzos de 1975, que finalmente se comprueba en forma definitiva la B.I. en Uruguay, motivando la descripción de los casos más típicos de esta afección aviaria el presente trabajo.

MATERIALES Y METODOS

Se estudian cuatro casos clínicos sospechosos de B.I. posteriormente confirmados.

1) Datos clínicos y epizootiológicos:

Se procedió a ordenar y clasificar los datos obtenidos con referencia a: cantidad de animales, edad, líneas, alojamientos, vacunaciones, ubicación y fecha; así como sintomatología, producción, descarte y mortandad de animales de los casos estudiados.

2) Necropsias (lesiones macroscópicas):

Con las aves llegadas al Laboratorio, se llevó a cabo una minuciosa necropsia, siguiendo el procedimiento clásico (18, 15), poniendo especial énfasis en el estudio del tracto tráqueo-bronco-pulmonar.

3) Aislamiento vírico:

Como línea general de trabajo, se siguió la técnica descrita por la National Academy of Sciences (21), con algunas pequeñas modificaciones. Para el aislamiento vírico se extrajeron pulmones y tráqueas de animales con síntomas de los casos 1, 2 y 4, inoculando los materiales en forma inmediata o dejando los mismos en congelador a -70°C , hasta su ulterior manipulación.

El inóculo se obtuvo triturando los materiales arriba mencionados con arena estéril y efectuando luego una

suspensión al 10 % en caldo bacteriológico o PBS. A posteriori, se realizó una centrifugación (2.000 R.P.M. - 10 minutos) y al sobrenadante obtenido, se le agregó Penicilina y Estreptomicina a razón de 10.000 U. I. y 10 mg. respectivamente, por cada ml. del mismo.

Seguidamente, se inocularon 0.2 ml. del citado sobrenadante por vía saco alantoideo en seis embriones de 9-10 días, descartándose aquellos que morían dentro de las primeras 24 horas (8).

La ovoscopia se hizo dos veces al día y con la finalidad de obtener nueva fuente de virus para sucesivos pases, se extrajo líquido alantoideo de 1 ó 2 huevos embrionados a las 48-72 horas.

Los restantes huevos embrionados se abrieron al 7.^o-8.^o día post-inoculación (P.I.) para observar la presencia de lesiones típicas de B.I.

Con los materiales en estudio, se efectuaron diez pases para las cepas 1 y 2 y nueve pases consecutivos para la cepa 4, controlándose la esterilidad bacteriana de los líquidos alantoideos extraídos.

Paralelamente también se descartó la presencia de virus hemoaglutinantes (Newcastle, Influenza), por medio de la prueba clásica de HA en tubo con eritrocitos de pollo.

4) Tipificación vírica y estudios serológicos:

Los líquidos alantoideos recogidos del 8.^o y 9.^o pases por embrión de pollo de las cepas mencionadas con anterioridad y sueros de animales afectados del caso 3, tomados a las cuatro semanas de iniciada la enfermedad, fueron enviados a la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Plata para su consiguiente tipificación.

RESULTADOS

1) Datos clínicos y epizootiológicos:

La descripción pormenorizada de los datos obtenidos es presentada en los cuadros 1 y 2.

Los síntomas fundamentales fueron tos, estornudos, disnea ("boqueo"), rinorrea y conjuntivitis, salvo las excepciones que se detallan a continuación:

—Caso 3 - lote B. Sin disnea ni conjuntivitis.

—Caso 3 - lote C. No se observaron síntomas ni repercusión económica.

—Caso 4 - lote A. No se detalla la sintomatología por carecer de datos epizootiológicos ciertos.

La mortandad fue baja y sólo en el caso 4 resultó ser del 100 %.

Los lotes con más de siete meses de producción, replumaron y recuperaron el porcentaje de postura anterior. En el caso 1 - lote B, los síntomas comenzaron dos semanas después que en el lote A, desapareciendo en el lapso de tres semanas. En el caso 2 se observó despigmentación de la cáscara del huevo en todo el lote C y parte del B, recobrando su color luego de dos semanas de evolución. En el caso 2 - lotes B y C, enferman juntos una semana después que el lote A.

En el caso 3 lo destacable fue la licuefacción del albumen, en los huc-

CUADRO 1: Detalle de los lotes, número de animales, edad, raza, alojamiento, vacunaciones, ubicación y fecha de los cuatro casos presentados.

Casos	Lotes	Número de animales	Edad (Meses)	Línea	Alojam.	VACUNACIONES			Ubicac. y fecha
						Marek	Newcast.	Diftero Viruela	
I	A	1600	12	Hyline	Jaula	Sí	Sí	Sí	La Paz - Canelon. 23.1.75
	B	1800	3½	"	Piso	"	"	No	
Total		3400							
II	A	2000	7	Hysex blanca	Jaula	"	"	Sí	Toledo - Canelon.
	B	7000	7-12	"	"	"	"	"	
	C	2000	3½	"	"	"	"	"	3.3.75
Total		500	9	Hysex marrón	Piso	"	"	"	
Total		11500							
III	A	1823	-7-9	Hyline	Jaula	"	"	"	Colón - Montev. 16.7.74
	B	350	-4	"	Piso	"	"	No	
	C	3000	1	Hybro	"	No	"	"	
Total		5173							
IV	A	200	3-24	No identificada	"	"	No	"	San José 13.1.75

El promedio general de postura para todos los casos antes de la enfermedad fue del 75,8 %; el descenso durante la misma llegó al 20,2 % y el promedio después de la enfermedad resultó ser del 73,3 %.

vos del lote A y tumefacción de los senos infraorbitales. En el lote B del mismo caso la postura se retrasa un mes en su iniciación, no existiendo descarte ni mortandad de animales. El lote C del caso que estamos tra-

CUADRO 2: Detalle de la sintomatología, postura, descarte y mortandad de los cuatro casos presentados.

CASOS	LOTES	SINTOMAS					RESPUESTA A ANTIBIOTICOS	POSTURA Promedio %			DESCARTE %	Mortandad %	OBSERVACIONES
		Tos	Estornudos	Boqueo	Exudado nasal	Conjuntivi.		Antes	Durante	Después			
I	A	+	+	+	+	+	No	75	30	80	15	—	Se observó muda a las dos semanas. Los síntomas aparecieron 2 semanas después que en A.* Cuando no estaban en producción comenzaron los síntomas.
	B	+	+	+	—	+	"	*	—	85	15	—	
II	A	+	+	+	+	+	"	75	10	65	—	—	Despigmentación de la cáscara. Parte del lote*. Despigmentación de la cáscara, 100%*. * Enfermaron juntos una semana después que el A.
	B	+	+	+	+	+	"	70	15	70	8	4	
	C	+	+	+	+	+	"	80	20	70	8	—	
III	A	+	+	+	+	+	"	79	26	70	12	5	Se observó licuefacción del albumen y tumefacción de los senos infraorbitales. Se retrasó seis semanas el inicio de la postura.* Cuando no estaban en producción comenzaron los síntomas. No enfermó.
	B	+	+	—	+	—	"	*	—	—	—	—	
	C	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
IV	A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	100	Se notó deformación de la cáscara y murieron sin presentar síntomas.
		—	—	—	—	—	—	75,8	20,2	73,3	11,6	—	
P R O M E D I O								75,8	20,2	73,3	11,6	—	

tando no enfermó a pesar de la proximidad con los lotes afectados. En el caso 4 no se observaron síntomas respiratorios; solamente se observó la deformidad de la cáscara de los huevos presentándose fina y rugosa.

2) **Necropsias (lesiones macroscópicas):**

En el cuadro 3 se detallan las lesiones encontradas en las necropsias de los cuatro casos estudiados. En todos ellos se observó un exudado seroso, seromucoso o catarral de la tráquea y bronquios (13,24).

Como regla general no se vieron tapones mucosos o caseosos en bronquios. En algunas carcasas del caso 2 se evidenció a posteriori una aerোসaculitis manifestada por una opacidad de los sacos aéreos torácicos y abdominales. Esta lesión aún cuando es citada por Hofstad (15), no es generalmente específica de la B.I., sino que se debe a una complicación secundaria producida por agentes bacterianos (*E. coli*) o del género *Mycoplasma* (*E. R. C.*) (1, 25).

Cabe destacar por otra parte, que en los casos 2 y 4, se constató la presencia de ovaritis y otras lesiones de carácter inespecífico (puesta intra-abdominal).

Asimismo es significativo hacer no-

Casos	Traqueítis	Tapón mucoso en bronquios	Aerোসaculitis	Ovaritis
I	+	-	-	-
II	+	-	++	+
III	+	-	-	-
IV	+	-	-	+

CUADRO 3: Lesiones observadas en las necropsias.

tar, que en ningún caso se observaron lesiones renales caracterizadas por órganos pálidos y repletos de uratos, iguales o semejantes a las descritas en Australia ocasionadas por la cepa "T" (7, 26).

3) **Aislamiento vírico:**

Las lesiones típicas de B.I. se constataron para los casos 1 y 4 en el 8.º pase por embrión de pollo, mientras que para el caso 2 ya se evidenciaron en el 5.º.

Estas tres cepas aisladas produjeron a nivel del 9.º pase, un aumento de su patogenicidad con relación al embrión de pollo, produciendo una mortalidad embrionaria entre el 3er. y 5.º día P.I.

Las manifestaciones anatomopatológicas que manifestaron los embriones inoculados con las cepas mencionadas en el apartado anterior fueron las siguientes:



Fig. 1.— Derecha Embrión Normal de 18 días. Izquierda: Embriones de 18 días inoculados

—Enanismo, dedos deformados de las patas y en contadas ocasiones, cuello torcido. El tamaño de los mismos, si los comparamos con los embriones controles de la misma edad, estaba disminuído en un 50 % (Fig. 1).

—Enroscamiento caracterizado por una exagerada curvatura del embrión, llevándolo a formar una bola

compacta, donde las patas cubrían casi enteramente la cabeza (Fig. 1).

—Membrana amniótica engrosada, seca y dura al tacto. El líquido amniótico era prácticamente inexistente pero a su vez el líquido alantoideo de apariencia límpida y traslúcida o de aspecto lechoso, estaba aumentado de volumen.

—Amiotrofia marcada y enlentecimiento de los movimientos de las patas. Esto se observó en aquellos embriones que todavía estaban vivos en el momento de la apertura de los huevos embrionados.

Por último, solamente en determinadas ocasiones se vieron signos de hepatomegalia con focos necróticos inespecíficos y depósitos de uratos en mesonefros.

4) **Tipificación vírica y estudios serológicos:** De los materiales remitidos a la República Argentina resulta:

- a) Se confirma la presencia del virus causante de la B.I., el cual se tipifica como serotipo Massachusetts.
- b) La seroneutralización también fue positiva teniendo en cuenta que se obtuvieron 4.0 por 10.000 dosis neutralizantes DL_{50} .

DISCUSION

Los casos aquí descriptos nos ponen en conocimiento de una enfermedad exótica para el país como era la B.I.

Se sospechó su presencia desde principios de 1973, pero es imposible actualmente dar una respuesta correcta a la interrogante sobre la introducción al país de esta afección aviaria. Sólo se pueden esbozar aquí las hipótesis más factibles:

I) La entrada ilegal al país de híbridos comerciales o de aves exóticas, estas últimas exclusivamente como portadoras, ya que como se sabe, la B.I. es una enfermedad que afecta única-

mente a las gallinas (*Gallus gallus*) como especie (17).

II) La importación de reproductores, ya se trate de huevos fértiles o pollitos de un día de edad. Como lo demostraron Me Ferran y col. (20), el virus de la B.I., puede sobrevivir el período de incubación y aislarse en los embriones que quedan en la cáscara o en los pollitos recién nacidos, los cuales no presentarán los síntomas clásicos de la enfermedad.

Salvo algunas excepciones, hasta hoy la B.I. en el Uruguay afectó aves mayores de tres meses y principalmente en período de postura.

Los casos descriptos en el presente trabajo estuvieron comprendidos en los departamentos de Montevideo (zona Colón), Canelones (zonas de La Paz y Toledo) y San José.

Lo que más llamó la atención fue el atipismo con que se presentó la B.I. en el país. Una de las características más constantes de dicha afección según la descripción clásica, es su gran difusibilidad (15). En los casos estudiados por los autores la difusión fue lenta y aún, en un mismo criadero, hubo lotes que no enfermaron; por ejemplo, en los casos 1 y 2, establecimientos de pequeñas dimensiones y atendidos los diferentes lotes por un mismo personal, tardó dos semanas en pasar de un lote a otro en el caso 1 y una semana en el caso 2. En el caso 3, el lote C no presentó la enfermedad.

Por lo general son descriptos en la bibliografía clásica los síntomas respiratorios en las aves adultas, como muy leves (15) o incluso ausentes (4). Sin embargo, en los casos presenciados la sintomatología fue muy intensa. Concomitantemente con la tos, estornudos y lagrimeo, los dos signos más constantes fueron la disnea ("boqueo") y el exudado nasal, este último en muchos casos abarcando la casi totalidad de los animales y con una intensidad desusada, lo que llevó en al-

guna oportunidad a confusión, diagnosticándose erróneamente como Coriza Infecciosa.

Otro hecho a destacar fue que el exudado nasal se observó en general, en los animales adultos, aves en postura y poco en las aves en recría, a pesar de que mostraron otros síntomas (casos 1, 2 y 3).

Dentro de los signos que caracterizan la B.I., por la frecuencia con que se presentan y por la facilidad de observar, es la alteración que sufre la cáscara de los huevos. Salvo un caso (caso 4), justamente lo constante en todos los demás focos fue la no aparición de alteraciones, hecho éste a resaltar dado que no se ha encontrado información relatando la aparición epizootica de la enfermedad, sin mostrar esta alteración.

Del mismo modo, otro signo del cual hay pocas citas bibliográficas (19) y que fue característico en los casos a que hacemos referencia, fue la despigmentación de la cáscara de los huevos de color por un período variable, entre una semana y dos.

El cuadro anatomopatológico observado, por el contrario, no difería del descrito normalmente en la bibliografía (15).

Asimismo cabe destacar que la B.I. cursa normalmente sin mortandad, a menos que se agreguen complicaciones secundarias; por ejemplo, el lote B del caso 2, sufrió una mortandad del 4 % al

complicarse con E.R.C. Sin embargo, se observó un caso (caso 4) en donde la mortandad llegó al 100 %, cuyo diagnóstico fue confirmado virológica y serológicamente, aún cuando indudablemente debieron existir otras noxas que se asociaron al cuadro primario.

Con referencia a los embriones inoculados con las cepas de campo aisladas de los materiales remitidos, presentaron las lesiones típicas que se identifican con las expresadas por otros autores (2, 9, 10, 21).

Por otra parte, los resultados obtenidos del estudio serológico confirman la presencia del virus en nuestro medio, ya que el índice de seroneutralización que se considera como positivo, es de 2.0 por 100 dosis neutralizantes.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Queda demostrada de esta manera la presencia de la B.I. en el país, la que se manifestó bajo una forma atípica.

Evidentemente, el control primario deberá hacerse con cepas tipo Massachusetts dado por un lado, la confirmación de ese serotipo en las muestras analizadas y por otro, el mayor espectro inmunitario que presenta este serotipo con relación a los otros.

En una publicación posterior, se presentará un trabajo referente a la reproducción experimental de la enfermedad y su histopatología.

SUMMARY

The first cases of infectious bronchitis (I.B.) in poultry discovered in Uruguay are described. The presence of the causing agent is confirmed by means of virological and serological techniques. The clear differences with the classical descriptions of the disease in connection with its epizootiological and clinical picture are detailed.

"VETERINARIA" Vol. XII - September 1975 - Nr. 60 - page 4

BIBLIOGRAFIA.

- 1) **Adler, H. E., McMartin, D. A. and Ort-mayer, H. B.** The effect of infectious bronchitis virus on chickens injected with *Mycoplasma gallisepticum*. *Avian Dis.* 6:267-274. 1962.
- 2) **Asplin, F. D.** Identification of Infectious Bronchitis of chickens in England. *Vet. Rec.* 60:485-486. 1948.
- 3) **Colusi, A. y Garbini, J.** Primera comprobación de la Bronquitis Infecciosa Aviar en la República Argentina. I) Aislamiento del virus causal. *Rev. Med. Vet. (Bs. As.)* 46: 77-84. 1965.
- 4) — Primera comprobación de la Bronquitis Infecciosa Aviar en la República Argentina. II) La enfermedad en aves de postura. *Rev. Med. Vet. (Bs. As.)* 46:145-149. 1965.
- 5) **Cowen, B. S., Hitchner, S. B. and Lucio, B.** Characterization of a new infectious bronchitis virus isolate I) Serological and pathogenicity studies of Clark 333. *Avian Dis.* 15: 518-526. 1971.
- 6) —, — and **Ubertini, T.** Characterization of a new infectious bronchitis virus isolate. II) Some chemical and physical properties of Clark 333. *Avian Dis.* 15:528-532. 1971.
- 7) **Cumming R. B.** Infectious avian nephrosis (uraemia) in Australia. *Australian Vet. J.* 39:145-147. 1963.
- 8) **Cunningham, G. H.** A laboratory guide in Virology. Burgess Publishing Co., Minneapolis. 6th. ed. 1966.
- 9) **Estola, Timo.** Studies on the IBV of chickens isolated in Finland. *Acta Vet. Scandinavica, Sup.* 18. Helsinki. 1966.
- 10) **Fabricant, Julius.** The diagnosis of IB by virus isolation in chick embryos. *The Cornell Vet.* 39:414-430. 1949.
- 11) **Fields, D.** Arkansas 99. New infectious bronchitis serotype. *Avian Dis.* 17:659-661. 1973.
- 12) **Garside, J. S.** The histopathological diagnosis of avian respiratory infections. *Vet. Rec.* 77:354-366. 1965.
- 13) **Gualandi, G.** Terzo corso di aggiornamento per Veterinari. Società Medica-Veterinaria Mantovana. Maggio-Giugno 1964.
- 14) **Hipólito, O.** Isolamento e identificação do vírus da Bronquite Infecciosa das galinhas no Brasil. *Arq. Esc. Sup. Vet. Univ. Rural Est. Minas Gerais.* 10:131-153. 1957.
- 15) **HOFSTAD, M. S.** In *Diseases of Poultry.* The Iowa State University Press. 586-606. 1972.
- 16) **Hopkins, S. P.** Serological comparisons of strains of infectious bronchitis virus using plaque-purified isolants. *Avian Dis.* 18:231-239. 1974.
- 17) **Johnson, R. B., Marquardt, W. W. and Newman, J. A.** A new serotype of infectious bronchitis virus responsible for respiratory disease in Arkansas broiler flocks. *Avian Dis.* 17:518-523. 1973.
- 18) **Mayor, O. Y.** The post-mortem examination of poultry. Near East Animal Health Institute, Fanar. LEBANON.
- 19) **McDougall, J. S.** Infectious bronchitis in laying fowls. Its effects upon egg production and subsequent egg quality. *Vet. Rec.* 63:84-86. 1971.
- 20) **McFerran, J. B., Cahill, H. T., Young, J. A. and Wright, C. L.** Isolation of infectious bronchitis virus from newborn chicks and dead in shell embryos. *Vet. Rec.* 89:560-561. 1971.
- 21) **National Academy of Sciences (U.S.A.).** Methods for examining poultry biologics and for identifying and quantifying avian pathogens. Washington, D. C. 1971.
- 22) **Polero de Muslera, Beatriz Josefina y Smitsaart, Teodoro Emilio.** Comprobación de la Bronquitis Infecciosa en la República Argentina. *Rev. de Investigaciones Agropecuarias (INTA).* II:63-73. 1965.
- 23) **Van Der Heide, L., Johnson, R. B. and Bryant, E. S.** Infectious bronchitis outbreaks in vaccinated poultry in Connecticut. *Avian Dis.* 19:540-545. 1973.
- 24) **Van Roekel, H.** Infectious Bronchitis. *Am. J. Vet. Res.* 12:140-146. 1951.
- 25) —, **Olesiuk, O. and Beninato, L. P.** Symposium on chronic respiratory diseases of poultry-epizootiology of chronic respiratory diseases in chickens. *Am. J. Vet. Res.* XIX:453-463. 1958.
- 26) **Winterfield, R. W. and Hitchner, S. B.** Etiology of an Infectious nephritis nephrosis syndrome of chickens. *Am. J. Vet. Res.* 23:1273-1279. 1962.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen profundamente la colaboración prestada, a los Dres. Néstor Menéndez y Eugenio Brandetti de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Plata (República Argentina), por la ejecución de la prueba de

SN de los materiales oportunamente remitidos. Asimismo se deja constancia de la invalorable ayuda proporcionada por la Srta. Alicia Barceló Peirano, Ayudante del C. I. V. "Miguel C. Rubino" (M.A.P.).