

Laringotraqueítis *

I) Su comprobación en un criadero de pollos.

J. J. Monteverde^(a); D. H. Simeone ^(b); B. L. Morán^(c);

E. J. Chialvo^(d) y J. Garbini^(e).

La laringotraqueítis aviar (LT) es una enfermedad infecto-contagiosa de las aves que incide sobre la producción avícola ocasionando serias pérdidas. Su descripción puede hallarse en obras de consulta corriente ⁽¹⁾ ⁽²⁾ que a su vez contienen bibliografía sobre el tema. El lector interesado podrá también recurrir a otros trabajos que se refieren a aspectos de lo que aquí se trata ⁽³⁾ ⁽⁴⁾ ⁽⁵⁾ ⁽⁶⁾ ⁽⁷⁾ ⁽⁸⁾ ⁽⁹⁾ ⁽¹⁰⁾ ⁽¹¹⁾ ⁽¹²⁾.

El objeto del presente estudio es aportar documentación sobre LT y con tal propósito se hace referencia a un brote de esta enfermedad aparecido en la República Argentina, consignando detalles epizootiológicos, clínicos, anatomo e histopatológicos y microbiológicos. Además se agrega información sobre reproducción experimental de la enfermedad, aislamiento del virus causal y pruebas de inmunidad cruzada entre el virus LT de origen argentino y uno de origen norteamericano

(*) Trabajo realizado en las Cátedras de Microbiología y de Anatomía y Fisiología Patológica. Fac. Agr. y Vet. (Esc. de Veterinaria), Bs. As.

a) Profesor Titular de Microbiología (Escuela de Veterinaria) Fac. de Agr. y Vet. Bs. Aires.

b) Profesor Adjunto de Microbiología (Escuela de Veterinaria) Fac. de Agr. y Vet. Bs. Aires.

c) Profesor Titular de Anatomía y Fisiología Patológica (Esc. de Veterinaria) Fac. de Agr. y Vet. Bs. Aires.

d) Auxiliar del Centro de Enterobacterias - Cátedra de Microbiología (Esc. de Veterinaria) Fac. Agr. y Vet. Bs. Aires.

e) Personal contratado en la Cátedra de Anatomía y Fisiología Patológica (Esc. de Veterinaria) Fac. Agr. y Vet. Bs. Aires.

Datos epizootiológicos

Un brote de LT se presentó durante la primavera del año 1961 en un criadero situado en la Provincia de Buenos Aires, a unos 30 Kms. al sur de la Capital Federal, que contaba con unos 1.800 animales adultos destinados a la producción de huevos, para incubación propia y producción de pollitos BB, los cuales eran criados hasta obtener peso y tamaño adecuado para la venta en el mercado interno.

Las aves eran predominantemente de la raza New Hampshire, se calcula, que al iniciarse la enfermedad en la primera semana del mes de noviembre de 1961, había alrededor de 9.000 pollos de 50 a 90 días de edad (grandes), 15.000 de 30 a 50 días (medianos) y 13.000 de 1 a 30 días (chicos). El total de animales en el criadero era de cerca de 40.000 unidades.

Como antecedente, expresaron quienes atendían el criadero que durante el año 1959 se había presentado LT, pero el diagnóstico no fue asegurado y sin embargo se procedió a vacunar con una vacuna a virus activo, adquirida en el comercio local. En esa ocasión la enfermedad atacó a las gallinas ponedoras, pero no a los pollos. Superadas las dificultades no volvieron a vacunar.

En momentos en que se inicia este brote los animales se hallaban en buen estado de salud, los adultos se alojaban en gallineros separados de la sección incubación, cría y recría, todo lo cual se encontraba en el mismo cuerpo del edificio con ventilación y cambios térmicos habituales, como así también con las separaciones entre secciones por medio de puertas corredizas.

El comienzo fue brusco, notaron un pollo grande enfermo, al segundo día, 6 ó 7 más, al tercer día unos 50 y aparición de algunos muertos y así fue aumentando el número de casos entre los pollos grandes en los primeros 10 días. El número de muertos sobre los enfermos fue al comienzo 100 %, luego algunos se recuperaron, pero la mortalidad se estimó alrededor del 95 %.

Se pusieron en ejecución varias medidas profilácticas y otras de emergencia, en relación con el negocio, tal como se expresa más adelante.

Sobre los 9.000 pollos grandes existentes no fue posible hacer un cálculo de morbilidad, en razón de que se inició el sacrificio y destino a mercado o a frío.

La LT comenzó a atacar a los pollos medianos (en total había unos 15.000) en los que se presentó alrededor del 40 %, con una mortalidad aproximada del 80 %; finalmente comenzaron a aparecer po-

litos chicos atacados, sobre 13.000 enfermaron cerca del 30 % y de éstos murieron aproximadamente el 80 %.

En total se consideró, que murieron unos 8.500 animales.

Si bien las ponedoras aparentemente no fueron afectadas, la puesta de huevos, de un promedio de 870 huevos diarios descendió a 760 y con respecto a la fertilidad de los mismos, comparada con el año anterior, notaron que el promedio de alrededor del 82 % para el año 1960 había descendido al 72 %.

Prácticamente en la primera semana de diciembre no había más enfermos, es decir que durante unos 25 días se presentó la enfermedad siendo el período más crítico 10 a 15 días después de notado el primer caso.

Profilaxis

Se adoptaron medidas de profilaxis general: separación, sacrificio de animales agónicos y enfermos graves, destrucción de cadáveres, higiene y desinfección general.

Como lucha específica se adoptó la autovacunación y también se aplicaron vacunas preparadas en el comercio (*) (***) ambas conteniendo virus vivo. La aplicación general fue por vía mucosa de la cloaca.

Síntomas:

Los primeros síntomas aparecieron sobre pollos de alrededor de 70 días de edad. Por lo general tenían los párpados semicerrados y en la cavidad oral podían observarse filamentos sanguinolentos, acúmulos de mucus y detritus caseosos, sobre todo en los animales que presentaban accesos de tos y producían ruidos respiratorios; las plumas estaban algo revueltas y los enfermos tendían a mantenerse quietos. Prácticamente no comían o algunos lo hacían muy poco; al palpar el buche no se percibía alimento o éste era escaso.

Varios animales entreabrían el pico de vez en cuando y estiraban con cierta frecuencia el cuello para inspirar; en algunos se observaba lagrimeo, otros presentaban ojos cerrados, algo de parpadeo, catarro ocular y abscedación en zona orbitaria. Posteriormente mantenían el

(*) Agradecemos la colaboración prestada por el Dr. Gil León, quién nos facilitó sin cargo vacunas contra laringotraqueítis de origen norteamericano (Lederle) con la que pudimos hacer ensayos de inmunización cruzada.

(**) Agradecemos al Dr. W. Armstrong, accidentalmente en Bs. Aires, sus sugerencias referentes a la aplicación de vacunas en este foco.

pico abierto y el cuello estirado o la cabeza gacha para facilitar los movimientos respiratorios; sacudían con cierta frecuencia la cabeza y producían ruido parecido a un chasquido, debido al movimiento del aire por los conductos obstruidos parcialmente. Algunos enfermos presentaban secreción en orificios nasales. Por lo general los atacados no adoptaban la posición de sentarse sobre los tarsos, algunos para mantener el equilibrio desplegaban un ala, otros caían en decubito lateral. En varios animales se notaban crestas cianóticas.

Por lo general aquellos que presentaban síntomas morían luego de 72 a 96 horas, a veces antes, tal como ocurría con los pollos chicos; los que pasaban las 120 horas de enfermedad, solían recuperarse.

Lesiones anatomopatológicas

La necropsia de animales, en el comienzo de los síntomas, permitió apreciar: exudación mucopurulenta con grumos caseosos o seropurulenta en los senos infraorbitarios, obstrucción de fosas nasales por el exudado o aparición de una secreción mucopurulenta a la compresión lateral en los orificios de la nariz. En la mucosa laríngea se presentó un exudado seroso-hemorrágico que se extendía a la tráquea. En la luz de este órgano se observaron filamentos fibrino-hemorrágicos o acúmulos mucosanguinolentos cuyo desprendimiento no permitió observar úlceras; algunos animales presentaron exudación serosa o mucosa rosada de aspecto brillante que cubría una mucosa intensamente congestiva; también pudo observarse inflamación catarral con complicación serosa o seroso-purulenta.

Los sujetos sacrificados, o recientemente muertos, con sintomatología típica, presentaron como característica inconfundible la mucosa traqueal y laríngea tumefacta de color rojo oscuro, algo violado, siendo llamativa la intensa congestión de todo el tubo traqueal y aún de los grandes bronquios.

En los senos infraorbitarios se pusieron en evidencia exudados sero-purulentos; en cavidad oral se observaron acúmulos inflamatorios sanguinolentos con restos de partículas caseosas de color amarillento. En la vecindad de la laringe se comprobaron petequias sobre una mucosa congestionada y cubierta de exudado mucoso-hemorrágico con acúmulos necróticos en zonas crípticas. En la tráquea se observaron exudados sero-fibrinosos y muchas veces, formación de membranas y conglomerados necróticos en forma de moldes tubulares; o bien se podía retirar un tapón, que prácticamente ocupaba casi toda la luz

traqueal, formado por acúmulos inflamatorios fibrino-necróticos en vecindad del nacimiento de los grandes bronquios; al retirar éstos, la mucosa los acompañaba desprendiéndose en grandes extensiones.

No se pudo, en términos generales, apreciar compromiso de los sacos aéreos del tipo que suele observarse en la enfermedad respiratoria crónica. Los pulmones, en general, no se presentaron congestionados.

En síntesis: las lesiones alcanzaron su máxima intensidad y significación en tráquea y laringe, caracterizándose por una laringotraqueítis seromucosa hemorrágica, cruposa o membranosa, complicada con focos purulentos, con participación de las fosas nasales, senos adyacentes y párpados.

Histopatología

Se utilizaron varios procedimientos con el objeto de poner en evidencia los cuerpos de inclusión intranucleares, considerados característicos de esta infección viral (*). Las inclusiones aparecieron en células del epitelio nasal, traqueal y de las glándulas existentes en la mucosa traqueal. Según nuestra experiencia no ha sido complicado ponerlas en evidencia en células de la mucosa traqueal de aves naturalmente enfermas o en las que se reprodujo la infección experimentalmente. Aplicamos el método rápido propuesto por Armstrong ⁽⁹⁾ sobre preparados diversos y notamos que es posible utilizar este procedimiento, aunque es necesario poseer experiencia para realizar diagnósticos correctos.

Consideramos que los preparados en cortes dan imágenes muy satisfactorias, son más completos y facilitan la ubicación de las inclusiones mejor que el método rápido, pero claro está requiere mucho más tiempo desde que se obtiene el material hasta que es posible cumplir las observaciones.

La investigación histopatológica sobre cortes puso en evidencia la particular predilección o afinidad del virus aislado por el epitelio de revestimiento de las vías respiratorias, con marcada preferencia por la tráquea y laringe. La presencia de los cuerpos de inclusión específicos de LT, en los núcleos de las células epiteliales, así lo confirmó.

La degeneración y necrosis consecutiva del epitelio, desencadenó

(*) Comunicación personal a uno de los autores (J.J.M.) del Prof. Dr. P. P. Levine - 14/enero/962. "The intranuclear inclusion-bodies are very characteristic and the only ones found in that location in any poultry disease".

el proceso inflamatorio de la submucosa, de más espectacular significación por la intensa lesión vascular, que dió lugar a un exudado seroso-hemorrágico, que explicó las lesiones macroscópicas.

En los cortes, al comienzo de la lesión, la submucosa apareció embebida por un líquido seroso que, por su riqueza en fibrinógeno, coaguló, formando redes de fibrina, dando marcado espesor a la misma que apareció así edematosa por la colecta líquida que separaba las fibras del conjuntivo.

Al comienzo del ataque viral, el tejido epitelial de revestimiento sufrió marcada proliferación hiperplásica, para entrar enseguida en un proceso degenerativo necrótico, borrándose los límites celulares, cuyos citoplasmas mostraron acidofilia marcada y los núcleos perdieron su normal estructura perdiéndose la organización cromática por cariorrexis, agrupándose la misma en los bordes de la membrana nuclear. Tanto la mucosa como la submucosa se encontraban invadidas por una infiltración linfocitaria y mononuclear con algunos elementos polimorfonucleares.

En las partes más afectadas de la mucosa traqueal los procesos degenerativos y necróticos desdibujaron su conformación histológica, la que se convirtió en un conglomerado de células epiteliales necróticas, glándulas mucosas atróficas, infiltrados linfocitarios y leucocitarios abundantes, entre redes de fibrina que constituyeron las membranas típicas de la LT.

Las redes vasculares de la submucosa, en algunos casos, se encontraban infiltradas de sangre y acúmulos linfocitarios.

Dentro del conglomerado necrótico formado por células, detritus e infiltrado linfocítico, pudieron identificarse células epiteliales todavía visibles, aunque borrosas, con las consiguientes modificaciones dadas por los procesos degenerativos. Se las distinguió con un núcleo agrandado circular u ovoide de cromatina clara, pulverulenta o agrupada en grumos periféricos contra la membrana nuclear que todavía estaba más o menos intacta. Dentro de la sustancia cromática, pálidamente teñida por la hematoxilina pudieron distinguirse los nucleolos basófilos, adheridos o desplazados contra la membrana por el proceso alterativo de cromatolisis. Una gran parte de estas células mostraron en sus núcleos los cuerpos de inclusión típicos de LT, representados por cuerpos de forma redondeada u ovoide, de bordes nítidos, ubicados en el centro del núcleo y rodeados de una zona clara incolora de jugo nuclear.

El tamaño de los cuerpos de inclusión fue mucho mayor que el de los nucleolos; llegaron a ocupar a veces hasta la mitad del núcleo. Su

coloración fue típicamente acidófila, con gran apetencia por la eosina en las coloraciones de H.E. o Giemsa y también de gran afinidad por la fucsina con la que se tiñeron de rojo intenso y brillante, por el método de Mallory.

Las lesiones determinadas por el virus en la membrana corioalantoidea de los embriones de pollo inoculados, confirmaron la predilección demostrada por su desarrollo en el tejido epitelial. En dicha membrana se observó una marcada proliferación del epitelio coriónico que alcanzó espesores notables en los sectores de multiplicación del virus; las células atacadas se encontraron dentro de una masa protoplásmica, sin límites celulares, con marcada acidofilia debida al proceso necrobiótico.

En los sectores correspondientes a las clásicas motas de la LT en la membrana corioalantoidea, las lesiones más avanzadas llegaron a la necrosis del epitelio en el que se aglomeró una masa de elementos celulares epiteliales, con núcleos picnóticos hiper cromáticos, detritus celulares provocados por la lisis e infiltración linfocítica y mononuclear procedente de la capa subyacente. En los bordes de estas lesiones, donde las células epiteliales todavía conservaban sus núcleos en cariorexis con la membrana más o menos visible, fue donde se pudieron visualizar los cuerpos de inclusión con las mismas características que los observados en el epitelio traqueal, ya descriptos.

La membrana alantoidea manifestó una marcada proliferación de células conjuntivas estrelladas contenidas en una malla fibrilar; se apreció igualmente una acentuada vascularización con focos aislados de infiltración celular perivascular, dando todo ello un marcado espesor a la membrana.

Microbiología

La información que va a continuación se refiere a características limitadas del virus aislado (Cepa Q), pero tenidas como suficientes para asignarle papel en la etiología del foco estudiado.

El objetivo microbiológico fue: aislamiento del virus; multiplicación viral en series de embriones de pollo; demostración que el virus aislado en los embriones producía lesiones similares a las que originaban los virus clásicos de LT y también cuerpos de inclusión intranucleares; conservación del virus para trabajos ulteriores o para confirmación de resultados; reproducción experimental de la enfermedad en sujetos susceptibles, con virus de varios pasajes por embrión de pollo;

utilización de animales inmunizados con virus de LT de otro origen y comprobación de su resistencia ante el virus aislado y a su vez tratamiento de animales recuperados o vacunados con Cepa Q frente a descargas de un auténtico virus LT.

Cepa Q del virus LT

De un conjunto de 8 pollos enfermos se seleccionaron aquellos cuyas lesiones traqueales no estaban muy evolucionadas y con las precauciones debidas se preparó un triturado empleando trozos de varias tráqueas. Se agregó suero fisiológico esterilizado y aproximadamente 200 unidades de penicilina y 200 mμ de estreptomycinina por cada ml. El material así tratado, fue utilizado para inocular directamente pollos susceptibles a LT, nacidos en el laboratorio.

Siguiendo el método de siembra en la membrana corio-alantoidea, desprendida por desplazamiento de la cámara de aire, el triturado fue inoculado a un lote de embriones de pollo de 12 días de edad a razón de 0,1 ml a cada uno.

El triturado fue sometido a controles bacteriológicos, sembrando el mismo en medios de cultivo apropiados que no acusaron desarrollo luego de incubación a 37°C durante 96 horas.

El conjunto de embriones inoculados fue incubado a 37°C y se realizaron observaciones ovoscópicas cada 24 horas. Los embriones muertos en las primeras 24 horas fueron eliminados. Como controles fueron puestos en la incubadora embriones de pollo de la misma edad, sin inocular.

Después de transcurridos 4 días, los resultados obtenidos pueden resumirse así: no hay muertes, al ovoscopio aparentemente normales, pero ya hay lesiones en la membrana corio-alantoidea. Los embriones fueron llevados a la heladera y luego, con las debidas precauciones y en laboratorio estéril, las membranas fueron extraídas y revisadas en cajas de Petri estériles conteniendo suero fisiológico estéril, para facilitar su despegamiento.

En el primer intento se pudo aislar una cepa de virus, que resultó ser la Cepa Q del virus argentino de LT, el cual dio origen a típicas lesiones macroscópicas representadas por áreas redondeadas blanco-amarillentas de tamaño aproximado entre 3 y 5 mm. de diámetro, que hacían ligero relieve y eran parecidas a las que suelen producir ciertos virus de la viruela.

En algunas membranas se comprobaron focos confluentes de más

de 1 cm. de diámetro, aunque en estas circunstancias la forma fue irregularmente circular.

Los embriones no murieron en los primeros 4 días, aunque suelen sucumbir a los 6 días o más de inoculados.

Al inocular virus en el saco alantoideo, se observaron lesiones en la membrana corioalantoidea, pero menos que en la inoculación directa sobre ella.

El virus aislado no produjo en la membrana corioalantoidea lesiones necróticas con depresión central, apreciables a ojo desnudo.

Con respecto al título infeccioso, las pruebas fueron cumplidas en embriones de pollo a razón de 4 embriones por dilución, inoculando 0,1 ml. de diluciones entre 10^{-1} hasta 10^{-6} , a partir de un triturado de lesiones obtenidas en membranas corioalantoideas, después de 4 días de incubación a 37°C (10 % material húmedo tomado como original). El título fue calculado con virus de 2º pasaje por embrión de pollo en $\text{DI } 50=10^{-4}$.

Resistencia:

Si bien no se emprendieron investigaciones sobre la resistencia de la Cepa Q a diferentes agentes, se pudo apreciar que resiste determinadas concentraciones de penicilina y estreptomycin cosa que por otra parte es frecuente en virus LT; se notó, además, que a -18°C el virus tiende a inactivarse en pocos días (alrededor de 15).

A poco de aislado, se pensó que se había perdido el virus originalmente aislado, pero pudo ser recuperado de algunas muestras aunque no de otras. Ante esta situación se trató de conservarlo por pases repetidos, ensayando otros métodos de conservación y también entregándolo en custodia a otros virólogos.

En nuestros ensayos esto no ocurrió con la Cepa L del virus LT de procedencia norteamericana, ya que este se mantuvo viable, en las mismas condiciones de conservación, mucho más del doble de tiempo.

Pasajes sucesivos en embrión de pollo:

A partir del 1er. aislamiento en embrión de pollo y conservación a -18°C , se repitieron pasajes según el procedimiento de triturar estérilmente tejidos embrionarios infectados agregando antibióticos e inoculando grupos de 4 a 6 embriones de 12 días de edad sobre la membrana corioalantoidea. Las membranas fueron cosechadas luego de 4 días de incubación y en cada caso se efectuaron controles sobre medios de cultivo destinados a la multiplicación de bacterias y hongos.

Poder patógeno experimental:

Los pollos fueron susceptibles, tanto a la inoculación de los triturados tratados con antibióticos libres de bacterias y hongos procedentes de casos de infección natural, como a la inoculación del virus aislado en embrión de pollo (4º pasaje). En ellos se reprodujeron los síntomas registrados en la infección natural; en los preparados histológicos aparecieron los cuerpos de inclusión y las lesiones anatomopatológicas fueron típicas.

A partir de triturados traqueales se recuperó el virus al ser inoculado sobre membrana corioalantoidea de embriones de pollo en los que se produjeron las clásicas lesiones macro y microscópicas.

La inoculación intrasínusal (seno infraorbitario) resultó regularmente efectiva cuando se inoculó 0,03 y 0,05 ml. del virus original en suspensión cuya DI 50 e.p. era de 10^{-4} . Por lo general se produjo a las 48 horas lagrimeo del ojo correspondiente al lado de la inyección, repetido parpadeo, seno inoculado tumefacto, a la compresión arrojamamiento sero-purulento por el orificio nasal, pico entreabierto, ruidos respiratorios y curso similar al de la infección natural, con la diferencia que en las condiciones en que eran tenidos los animales, con más espacio y ventilación, se produjeron varias recuperaciones (60 % aproximadamente), de resultas de lo cual quedaban inmunizados.

La edad más apropiada para este tipo de prueba fue la de 3 a 4 semanas de edad.

También resultó efectiva, con regularidad, la inoculación intratraqueal de virus activo.

Por escarificación de la mucosa de la cloaca se produjo entre 3 y 5 días reacción inflamatoria en el área donde la suspensión de virus activo fue depositada.

La inoculación al ratón, cobayo y conejo, por distintas rutas, no produjo ningún fenómeno patológico. La instilación ocular en conejo no produjo alteración corneal. En esta especie animal la repetida inoculación intraperitoneal de virus, de pasaje por embrión de pollo, no produjo alteraciones evidentes; el suero obtenido se reservó para pruebas serológicas.

Inmunidad cruzada:

Se utilizó la Cepa L (EE. UU.) y la Cepa Q (Argentina); ambas al ser inoculadas en cloaca de animales susceptibles produjeron reacción positiva.

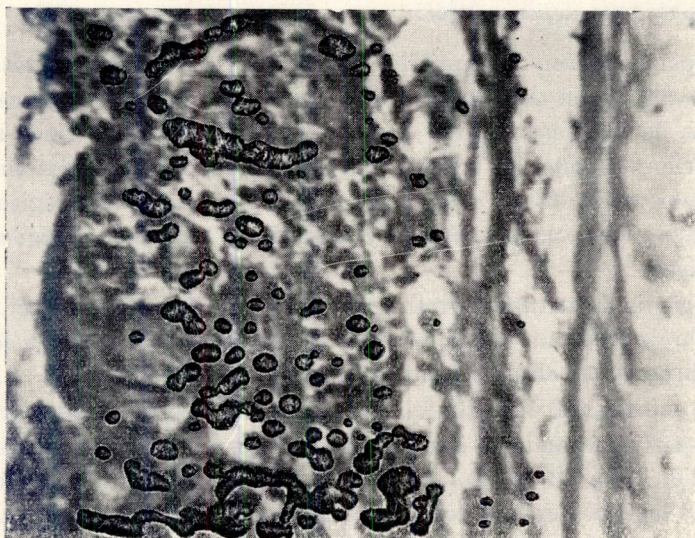


Foto N° 1 — LT infección natural. Pueden apreciarse en la mucosa traqueal las lesiones seroso-hemorrágicas con marcada infiltración linfocitaria y necrosis del epitelio. La submucosa con abundante exudado que separa las fibras conjuntivas; debajo el cartilago traqueal. Coloración H. E.

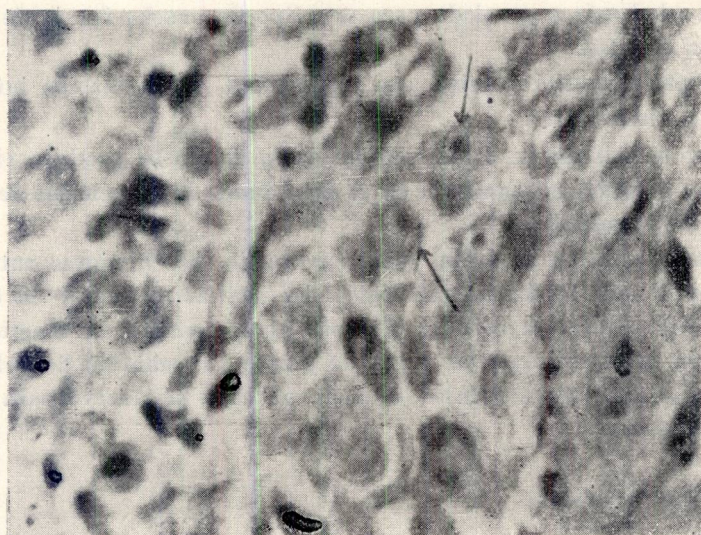


Foto N° 2 — LT infección natural. Las 2 flechas indican otros tantos cuerpos de inclusión intranuclear de los varios que pueden apreciarse. Coloración H. E. Mucosa traqueal.



Foto N° 3 — LT infección natural “Boqueo” típico. Evolución desde aparición de los primeros síntomas: 48 horas.



Foto N° 4 — LT infección experimental. Inoculación intrasínusal, Cepa Q. Repercusión zona ocular: edema, párpados entornados, secreción ocular; 72 horas después de inyectado.

Aves vacunadas con Cepa L recibieron descargas de virus activo: Cepa Q y Cepa L, permaneciendo resistentes; a su vez pollos inmunizados activamente con Cepa Q recibieron descargas de virus activo Cepa Q y Cepa L, sin revelar las reacciones que presentaron los sujetos susceptibles.

CONSIDERACIONES

En una reunión de especialistas ⁽¹³⁾ se llegó a la conclusión, con respecto a LT en la República Argentina, que “no existe documentación científica hecha pública de su comprobación”, si bien se reconoció que había sospechas clínico-epizootiológicas por una parte y por otra información escrita ⁽¹⁴⁾ y verbal sobre hallazgos anatomopatológicos, histopatológicos y microbiológicos. Con el presente estudio se dejan aclaradas varias de las dudas que en la reunión anteriormente aludida tuvieron quienes a ella concurrieron.

Cuando se trató de la enfermedad de Newcastle en Argentina ⁽¹⁵⁾ ⁽¹⁶⁾ se mencionó que, el patólogo aviar en un mismo criadero puede hallar concomitantemente más de una entidad patológica de repercusión seria para la explotación y también una enfermedad que se preste a confusión de no mediar la intervención del laboratorio. Por tales motivos se entiende que el diagnóstico merece algún comentario en el brote estudiado. El mismo permitió descartar: a) avitaminosis A, por la rareza de hallazgo de casos con exudado blanco-caseoso en sacos conjuntivales y ausencia de nódulos en esófago; b) enfermedades bacterianas o fúngicas, por no detectar los respectivos agentes etiológicos en las diversas siembras practicadas sobre materiales obtenidos en las necropsias; c) agentes virales productores de enfermedades como: viruela por el fracaso de aislar el virus en las infecciones experimentales por las vías correspondientes; o productores de enfermedad de Newcastle, por tratarse de animales vacunados y por no haber obtenido aislamiento del virus de los diferentes materiales inoculados experimentalmente; o productores de la bronquitis infecciosa, por no haberse obtenido aislamientos en las inoculaciones experimentales de este virus, que por otra parte aún no ha sido hallado en Argentina; d) en cuanto a los agentes del grupo PPLO se aclara que no se está en condiciones de afirmar que, en el brote estudiado, la enfermedad respiratoria crónica (E.R.C.) haya estado presente o ausente, en razón de que no asignamos valor a los pocos aislamientos intentados que dieron resultados negativos ya que, por ese entonces, no se disponía de un antígeno ade-

cuado (*) para orientar en el diagnóstico. Con respecto a las lesiones anatomopatológicas se puede expresar que durante el brote no se apreciaron las que suelen observarse en la E.R.C.

Según la experiencia recogida, la LT produce serios inconvenientes en una explotación avícola ya que el curso que sigue la enfermedad es agudo y la propagación rápida; desde el punto de vista profesional se considera fundamental actuar con rapidez. Para cumplir este requisito es preciso disponer de un diagnóstico de certeza en un lapso mínimo y para tal objeto se aprecia muy adecuado utilizar el diagnóstico histopatológico, sin perjuicio de llevar la búsqueda hasta el aislamiento del agente causal. Lo que precede, implica disponer de los elementos y personal necesario para que pueda producirse, con la premura que exigen estas situaciones, un diagnóstico firme para basar el plan profiláctico a encarar en una determinada circunstancia. Esto está justificado en razón de que, ante una enfermedad respiratoria no se debe aplicar vacuna LT a virus vivo, a menos que se disponga de un diagnóstico de certeza.

En el brote estudiado, en posesión del diagnóstico de LT, se aplicó vacunación de urgencia empleando para ello una autovacuna y también vacuna adquirida en el comercio. Las vacunas se aplicaron en forma sistemática a los animales aparentemente sanos y posteriormente a los pollos que iniciaban el ciclo de producción. En los animales que después del 5º día de vacunados, se comprobó reacción local vacunal negativa, se procedió a la revacunación.

Se considera que la aplicación de las vacunas, juntamente con las restantes medidas profilácticas de tipo general, dió resultados efectivos

(*) En una reunión científica realizada el 14 de julio de 1962, en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires, donde se trató el tema: "Enfermedad respiratoria crónica en Argentina y problemas conexos", informamos (J.J.M. y D.H.S.) acerca de los resultados obtenidos al aplicar un antígeno rápido para diagnóstico de E.R.C. (C.R.D. Chronic Respiratory Disease). Se hizo mención que, en el mismo criadero donde hallamos laringo-traqueítis, posteriormente se había presentado la E.C.R. con sus características clínicas, epizootológicas, anatomopatológicas y con serología positiva, confirmando así observaciones previas de los Dres. Perotti y J. Massot, que intervinieron en otros brotes sospechosos de E.C.R. de donde nos remitieron sueros de enfermos que resultaron positivos frente al mismo antígeno.

Se considera apropiada ocasión para agradecer al Dr. F. S. Markham de la American Cyanamid Company y al Dr. J. F. Figueroa de la Cyanamid International, rama de la misma compañía, por su intervención para que uno de nosotros (J.J.M.) en el mes de marzo de 1962 entrara en posesión, en la Ciudad de New York, del antígeno rápido (C.R.D. diagnostic experimental antigen PPLO. Lot. CV. 6601-101 AB) y de una muestra de C.R.D. positive chicken Serum; fué con estos reactivos que obtuvimos evidencia serológica sobre aves enfermas de la E.C.R.

ya que los nuevos animales ingresados a los galpones de recría, no dieron origen a nuevos brotes de LT.

Otro hecho que merece comentario es que, en el criadero donde se actuó, a pesar de la época del año poco propicia para la presentación de LT, se notaron algunos defectos de manejo como ser: elevada densidad de población, inadecuada ventilación e incorrecta separación entre animales de diferentes edades. Lo que precede debe haber influido favorablemente en la difusión y en las elevadas cifras de mortalidad y lo expresado queda en cierto modo corroborado, al notar que animales enfermos trasladados a sitios simplemente mejor ventilados y sin hacinamiento de aves, presentaron alto grado de recuperaciones espontáneas.

Finalmente se considera que es necesario educar, en los distintos niveles, sobre esta enfermedad, que representa un real peligro en las condiciones en que actualmente se desarrolla la naciente y promisoría industria avícola nacional.

CONCLUSIONES

- En un criadero de pollos situado en la Provincia de Buenos Aires, República Argentina, a unos 30 kilómetros al Sur de la Ciudad de Buenos Aires, se estudió una enfermedad infecto-contagiosa que sobre alrededor de 40.000 animales mató aproximadamente 8.500, en un lapso no mayor de 30 días.
- La marcha epizootiológica, clínica y anatomopatológica de este brote coincidió con laringotraqueítis aviar.
- El estudio histopatológico permitió poner en evidencia, a partir de la mucosa traqueal de aves naturalmente enfermas, los cuerpos de inclusión intranucleares característicos de laringotraqueítis aviar.
- De triturados de tráqueas procedentes de animales naturalmente enfermos, en fase aguda inicial, despojados de bacterias por agregado de antibióticos, se reprodujo experimentalmente la enfermedad y separadamente se obtuvo el aislamiento del virus causal en la membrana corioalantoidea de embriones de pollo la que se designó Cepa Q.
- La Cepa Q produjo en la membrana corioalantoidea de embriones de pollo lesiones macro y microscópicas similares a las producidas

por cepas típicas de virus LT. Después de siete pasajes por embrión de pollo mantuvo estas características. La DI 50 para embrión de pollo, de la Cepa Q de 2º pasaje fue calculada en 10^{-4} .

—Con suspensión original de Cepa Q (4º pasaje) sobre embriones de pollo se reprodujo experimentalmente la infección y en los enfermos se pusieron en evidencia los cuerpos de inclusión característicos y se aisló el virus.

—Pollos vacunados con virus LT de origen norteamericano (Cepa L) resistieron la descarga de virus activo Cepa L y Cepa Q, a su vez pollos vacunados con Cepa Q resistieron la descarga de virus activo Cepa Q y Cepa L.

RESUMEN

Se describe un brote infeccioso aparecido en un criadero de aves de alrededor de 40.000 animales de los cuales se pierden, pese a poner en ejecución medidas profilácticas generales y específicas, aproximadamente 8.500 unidades en un lapso no mayor de 30 días.

La marcha epizootiológica, sintomatología, lesiones anatomopatológicas, macro y microscópicas, resultaron altamente sospechosas de laringotraqueítis.

A partir de preparados histopatológicos procedentes de tráqueas de pollos y pollitos naturalmente enfermos y siguiendo procedimientos rápidos y "standard", por cortes teñidos con diferentes técnicas, se pusieron en evidencia cuerpos de inclusión intranucleares similares a los clásicamente registrados en laringotraqueítis y considerados patognomónicos de esta infección viral.

Empleando la inoculación intrasínusal o intratraqueal de triturados tratados con antibióticos y libres de bacterias, obtenidos de "pool" de tráqueas procedentes de enfermos naturales se reprodujo regularmente la enfermedad en pollos susceptibles.

A partir de los mismos triturados se obtuvo el aislamiento de un virus en la membrana corioalantoidea de embriones de pollo de 12 días de edad, el cual dió origen a lesiones macro y microscópicas no distinguibles de las producidas por virus típicos de LT.

Con el virus aislado se realizaron varios pasajes efectivos sobre embriones de pollo (hasta ahora siete).

El virus aislado en el embrión de pollo, inoculado a animales susceptibles, principalmente pollos de 3 a 4 semanas de edad, por vía

intrasinusal o intratraqueal, produjo con regularidad la laringotraqueítis. De estos enfermos se recuperó el virus y en los preparados histológicos de la mucosa traqueal se pusieron en evidencia los típicos cuerpos de inclusión intranuclear.

Pollos vacunados con un virus clásico de laringotraqueítis de procedencia norteamericana (Cepa L), resistieron la inoculación de virus argentino activo Cepa Q y Cepa L, a su vez pollos vacunados con virus argentino Cepa Q resistieron a la descarga de virus activo Cepa L y Cepa Q.

S U M A R Y

The description is made of an outbreak in poultry in which a disease of contagious nature determined a 20 % overall mortality rate over a 30 day long period despite hygienic and prophylactic measures.

The epizootiological course, symptomatology, post mortem findings and hystopathological changes were highly suspicious of laryngotracheitis (LT).

Nuclear inclusion bodies were found in tracheas of naturally infected broilers and chickens with both standard and slide smears for a quicker diagnosis.

Antibiotic treated-bacteria free-suspensions from tracheae pool of naturally infected poultry were injected both intrasinusally and intratracheally in susceptible poultry giving regulary rise to the disease.

From that suspensions a virus was isolated from 12-day old chick embryo chorioallantoic membrane which showed both macro and microscopic changes no distinguishable from typical LT virus.

This egg isolated virus-Q strain-was 7 times successfully passaged in chick embryo always producing the already described pathological changes.

Cross vaccination trials with the Q and L strains of LT regularly protected approximately 95 % of the test animals.

The conclusion is drawn that the outbreak was due to LT virus.

BIBLIOGRAFIA

1. REIS, J. E NOBREGA, P., "*Tratado de doenças das aves*", 2da. Edição. Ed. Melhoramentos, I, II, 1955.
2. BARGER, E. H.; CARD, L. E. AND POMEROY, B. S., "*Diseases and Parasites of poultry*". Fifth Ed. Philadelphia. Lea and Febigen, 1958.
3. BEACH, J. R., "*A filtrable virus the cause of infection laryngotracheitis of chickens*". J. Exp. Med. 54: 809-816, 1931.

4. HINSHAW, W. R., "*Infectious laryngotracheitis of fowls*". Vet. Med. 26: 324-327, 1931.
5. BEAUDETTE, F. R. AND HUDSON, C. B., "*Experiments on immunization against laryngotracheitis in fowls*". J.A.V.M.A. 82: 460-476, 1933.
6. BRANDLY, C. A., "*Some studies of infectious laryngotracheitis. A preliminary report*". J.A.V.M.A. 84: 588-595, 1934.
7. BEAUDETTE, F. R., "*Laryngotracheitis*". J.A.V.M.A. 34: 743-747, 1939.
8. TWIEHAUS, M. J., "*The diagnosis of poultry diseases*". Vet. Med. 34: 698-710, 1939.
9. ARMSTRONG, W. H., "*A slide smear technique for the diagnosis of laryngotracheitis*". Avian Diseases 3 (1):80-84, 1958.
10. RAMIREZ VALENZUELA, M., "*El virus de la laringotraqueítis*". México Avícola. Monterrey, N. L. 4 (39): 18-21, 1961.
11. RAMIREZ, L., "*Método de diagnóstico de la laringotraqueítis*". México Avícola. Monterrey, N. L. 4 (39): 18-21, 1961.
12. COLEGIO DE MÉDICOS VETERINARIOS ZOOTECNICISTAS., "*Laringotraqueítis infecciosa de las aves como problema actual en México*". México Avícola. Monterrey, N.L. 4 (39):37-40, 1961.
13. UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, FAC. AGR. Y VET., "*Curso de Patología Aviar*". Boletín Especial, 2: 1-61, 1961.
14. SCHANG, L. C., "*Ensayos de inmunización con virus de laringotraqueítis aviar aislado en el país*". Rev. Med. Vet. Bs. As. 39 (3):3-6, 1958.
15. MONTEVERDE, J. J.; RODRÍGUEZ LEIVA, M.; SIMEONE, D. H. y CHIALVO, E. J., "*Enfermedad de Newcastle. I) Primer foco comprobado en la República Argentina y aislamiento del agente causal*". Fac. de Agr. y Vet. Bs. Aires. Boletín Especial. 1-25, julio de 1961.
16. MONTEVERDE, J. J.; SIMEONE, D. H.; RODRÍGUEZ LEIVA, M. y CHIALVO, E. J.; "*Enfermedad de Newcastle. Su hallazgo en la República Argentina*". Rev. Med. Vet. 42 (6):1-36, 1961.