

# Proventriculitis viral transmisible en España: infecciones naturales y experimentales en broilers

T. COSTA<sup>1\*</sup>, L. GRAU-ROMA<sup>1</sup>, K. BERTRAN<sup>2</sup>, A. RAMIS<sup>1,2</sup>, R. DOLZ<sup>2</sup> Y N. MAJÓ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Departament de Sanitat i Anatomia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona. 08193. Bellaterra, Barcelona, España.

<sup>2</sup> Centre de Recerca en Sanitat Animal, UAB-IRTA, Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona. 08193. Bellaterra, Barcelona, España.

\* Autor de contacto: taiana.costa@uab.cat

---

## RESUMEN

La proventriculitis viral transmisible (TVP) es una enfermedad infecciosa de broilers caracterizada por aumento del tamaño del proventrículo y fragilidad del istmo gástrico, que se rompe durante la evisceración mecánica, resultando en contaminación de la carcasa. Se realizó un estudio retrospectivo de todos los casos de proventriculitis necrotizante recibidos por el Servicio de Patología Veterinaria de la UAB. El proventrículo se evaluó mediante histopatología, inmunohistoquímica (IHC) dirigida a la proteína VPX del virus de Gumboro (Infectious Bursal Disease Virus; IBDV) y RT-PCR para el IBDV. Los casos con lesiones microscópicas compatibles con TVP y positivos a la presencia de antígeno VPX fueron considerados positivos para TVP. Se observaron lesiones histopatológicas características de TVP en casos naturales desde el año 2003. La enfermedad fue experimentalmente reproducida inoculando pollos por vía oculonasal con un homogeneizado de los proventrículos de broilers positivos para TVP infectados de forma natural. En la IHC se observó tinción positiva intranuclear e intracitoplasmática en células oxinticopépticas necróticas. La microscopía electrónica de transmisión mostró la presencia de partículas virales compatible con virus de la familia Birnaviridae.

**Palabras clave:** birnavirus; broiler; proventriculitis viral transmisible.

---

## ABSTRACT

*Transmissible viral proventriculitis (TVP) is an infectious disease of broilers, characterized by the enlargement of the proventriculus and fragility of the gastric isthmus, which may rupture during mechanical evisceration in the processing plant, resulting in carcass contamination. A retrospective study was done on the database of all the necrotizing proventriculitis cases received at the Veterinary Pathology Service of the UAB. The proventriculi were evaluated by means of histopathology and immunohistochemistry (IHC) against the VPX protein of the Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) and RT-PCR for IBDV. The cases with microscopic lesions compatible with TVP and positive for the presence of VPX antigen on IHC were considered positive for TVP. Microscopic lesions characteristic of TVP were observed in field cases since 2003. The disease was experimentally reproduced by inoculating chicks via oculonasal route with a proventricular homogenate of positive field cases. Positive staining was observed in necrotic oxynticopeptic cells using IHC. The transmission electron microscopy revealed viral particles compatible with Birnaviruses.*

## INTRODUCCIÓN

La proventriculitis viral transmisible (TVP) es una enfermedad infecciosa de broilers caracterizada por un aumento del tamaño del proventrículo y fragilidad del istmo gástrico, que se rompe durante la evisceración mecánica, resultando en contaminación y decomiso. Las aves afectadas muestran una mala conversión alimentaria y un crecimiento retardado. Microscópicamente, la TVP se caracteriza por necrosis y degeneración de las células oxinticopépticas e inflamación glandular, principalmente por linfocitos; también se observa metaplasia ductal e hiperplasia de células epiteliales. El agente causal de la TVP ha generado debate durante muchos años, pero estudios recientes han encontrado indicios de que TVP está causada por un nuevo birnavirus (Grau-Roma et al. 2010, Guy et al. 2011a) llamado Virus de la Necrosis Proventricular del Pollo (CPNV) (Guy et al. 2011b). El objetivo de este estudio fue evaluar retrospectivamente todos los casos de TVP enviados al Servicio de Patología Veterinaria de la *Universitat Autònoma de Barcelona* y reproducir la enfermedad de forma experimental.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *Estudio retrospectivo*

Se realizó un estudio retrospectivo de todos los casos recibidos por el Servicio de Patología Veterinaria del Departamento de Sanidad y Anatomía Animales (*Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona*, Catalunya, España) entre enero de 1998 y diciembre de 2010. Se seleccionaron 15 casos que tenían "necrosis de las células oxinticopépticas" en la descripción microscópica o "proventriculitis necrotizante" en el diagnóstico morfológico. Los proventrículos fueron evaluados usando técnicas de rutina de histopatología e inmunohistoquímica (IHC) contra la proteína VPX del virus de la enfermedad de Gumboro (*Infectious bursal disease virus*; IBDV) como se ha descrito previamente (Dolz et al. 2005). Además, los casos fueron testados para la presencia de IBDV usando una RT-PCR.

### *Infección experimental*

Pollos libres de patógenos específicos de 18 días de edad fueron divididos en dos grupos, un grupo control negativo (n=8) y un grupo infección (n=29). Se preparó un macerado de proventrículo con los proventrículos de seis casos de campo positivos para TVP. Las aves del grupo infección fueron infectadas por la vía oculonasal. Las aves fueron eutanasiadas y necropsiadas en cuatro días diferentes: 4, 7, 9 y 11 dpi. Para el análisis histológico, se recogieron muestras y se fijaron en formol al 10% tamponado. Además, los proventrículos se testaron por IHC frente a la VPX del IBDV, como en el estudio retrospectivo, y también con TEM. Todos los procedimientos siguieron los requerimientos del Comité de Ética de Experimentación Animal y Humana de la *Universitat Autònoma de Barcelona*.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Estudio retrospectivo*

Diez casos fueron positivos para TVP en base a la presencia de lesiones microscópicas compatibles con la enfermedad y en tinción positiva en núcleo y citoplasma de las células oxinticopépticas usando IHC. Además, la TEM de dos de los diez casos reveló la presencia de numerosas partículas virales intranucleares e intracitoplasmáticas, con simetría icosaédrica y un tamaño medio de 60 a 70 nm de diámetro, en células oxinticopépticas necrosadas y no necrosadas. Este estudio retrospectivo indicó que la TVP está presente en broilers en España desde al menos 2003. Más estudios son necesarios para esclarecer la epidemiología de TVP en España.

### ***Infeción experimental***

Microscópicamente, tres de las cinco aves necropsiadas a 9 dpi tenían lesiones en proventrículo: necrosis de células oxinticopépticas multifocal moderada, marcada metaplasia tubular de las glándulas e intenso infiltrado inflamatorio mononuclear en mucosa y lámina propia. La IHC fue positiva en núcleo y citoplasma de las células oxinticopépticas de las glándulas afectadas, y se correlacionaron con las lesiones microscópicas observadas. La TEM reveló la presencia de partículas virales intracitoplasmáticas, de 60 a 70 nm de diámetro, con simetría icosaédrica, en células epiteliales necróticas y no necróticas de los proventrículos afectados.

Los resultados de este estudio coinciden en que el agente etiológico de la TVP es un nuevo birnavirus que, en base a los resultados de la técnica de IHC, comparte algunos epítomos con el IBDV, y que esta circulando en España por lo menos desde 2003. Además, las partículas virales encontradas en los casos naturales y experimentales de TVP son compatibles con virus de la familia Birnaviridae. Se necesitan más estudios para caracterizar mejor este patógeno.

## **BIBLIOGRAFÍA**

**DOLZ, R., N. MAJO, G. ORDONEZ, and R. PORTA.** (2005). Viral genotyping of infectious bursal disease viruses isolated from the 2002 acute outbreak in Spain and comparison with previous isolates. *Avian Diseases* 49:332-339.

**GRAU-ROMA, L., A. MARCO, J. MARTINEZ, A. CHAVES, R. DOLZ, and N. MAJO.** (2010). Infectious bursal disease-like virus in cases of transmissible viral proventriculitis. *Veterinary Record* 167:836.

**GUY, J. S., M. A. WEST, and F. J. FULLER.** (2011a). Physical and genomic characteristics identify chicken proventricular necrosis virus (R11/3 Virus) as a novel birnavirus. *Avian Diseases* 55:2-7.

**GUY, J. S., M. A. WEST, F. J. FULLER, R. A. MARUSAK, H. L. SHIVAPRASAD, J. L. DAVIS, and O. J. FLETCHER.** (2011b). Detection of chicken proventricular necrosis virus (R11/3 virus) in experimental and naturally occurring cases of transmissible viral proventriculitis with the use of a reverse transcriptase-PCR procedure. *Avian Diseases* 55:70-75.