

Enfermedad de Marek: Breve reseña bibliográfica y situación actual

Sandra Cuello, Armando Vega y Damarys Relova

Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apdo.
10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

Email: sandra@censa.edu.cu

Resumen

La enfermedad de Marek, producida por un virus oncogénico perteneciente a la familia *Herpesviridae*, es una de las principales enfermedades que afecta la avicultura mundial. En las aves afectadas causa tumores en varios órganos viscerales y la piel, además afecta el sistema nervioso y produce inmunosupresión. Existen 3 serotipos del virus pero solo el serotipo 1 es oncogénico. El control de la enfermedad se realiza mediante la aplicación de vacunas vivas atenuadas del serotipo 1 o mediante la aplicación de vacunas solas o combinadas con cepas del serotipo 2 y 3 del virus que protegen a las aves del desarrollo de tumores linfoides pero no de la replicación viral tanto con cepas vacunales como virulentas. El tipo de inmunidad producida por estas vacunas ha hecho posible la emergencia en el campo de cepas más virulentas capaces de neutralizar la respuesta del hospedero y producir brotes de la enfermedad por lo que continúa siendo una amenaza para la producción avícola a nivel mundial.

Palabras claves: enfermedad de Marek, herpesvirus oncogénico

Abstract

Marek's disease, caused by an oncogenic virus belonging to the Herpesviridae family, is one of the major diseases affecting the world poultry industry. In affected birds causes tumors in various visceral organs and skin, and affects the nervous system and cause immunosuppression. There are 3 serotypes but only serotype 1 is oncogenic. Disease control is accomplished by application of live attenuated serotype 1 or by the application of vaccines alone or in combination with strains of serotype 2 and 3 viruses that protect birds lymphoid tumor growth but no replication both viral vaccine strains as virulent. The type of immunity produced by these vaccines has made the field emergence of more virulent strains capable of neutralizing the

host response and cause disease outbreaks which remains a threat to poultry production worldwide.

Keywords: Marek's disease, oncogenic herpesvirus

Introducción

La enfermedad de Marek (EM) es una enfermedad económicamente importante en la avicultura mundial producida por un herpesvirus oncogénico (Tian et al., 2011; Li et al., 2011; Teng et al., 2011). La infección por este virus está reportada en varias especies de aves pero el pollo constituye el hospedero natural más importante seguido por la codorniz; en otras especies su presentación es muy rara y probablemente de poca importancia (Calnek, B.W and Witter, R.L., 1997). En los pollos susceptibles y poblaciones no vacunadas afectadas causa tumores en varios órganos viscerales y la piel, pero también produce parálisis e inmunosupresión con elevada morbilidad y mortalidad (Osterrieder, 1999; Davidson and Borenshtain, 2002; Niikura et al., 2007; Abdul-Careem et. al, 2008; Trapp and Osterreider, 2010; Li et al., 2011).

De estos, el síndrome de células T linfoproliferativa incluyendo parálisis (enfermedad de Marek clásica) y los linfomas de la enfermedad de Marek (enfermedad de Marek aguda) son los más frecuentemente asociados con la enfermedad. Sin embargo, la infección de los pollos con las cepas más recientes están caracterizadas por lesiones inflamatorias del cerebro masivas que se manifiestan clínicamente como una parálisis transiente y/o muerte sobreaguda (Trapp and Osterreider, 2010).

Las cepas del virus de la EM se clasifican en tres serotipos que se diferencian en sus características biológicas y en su genoma. El serotipo 1 incluye todas las cepas oncogénicas del virus y sus formas atenuadas, el serotipo 2 las cepas no oncogénicas aisladas en pollos y el serotipo 3 las cepas no oncogénicas aisladas de pavo, conocidas como herpesvirus de pavo (Tian et al., 2011), y ampliamente utilizadas como vacuna viva. Estas cepas utilizadas como vacuna viva para el control de la enfermedad protege a los animales del desarrollo de tumores linfoides pero no de la replicación viral tanto con cepas vacunales como virulentas (Morimura, et al, 1999; Karaca et al., 2004; Wang et al. 2011), por lo que la enfermedad continúa siendo una amenaza para la producción avícola y está diseminada en las explotaciones de todo el mundo (Davidson, 2007).

En este trabajo nos propusimos hacer una revisión bibliográfica de parte de los conocimientos publicados hasta el momento sobre esta enfermedad, así como de su agente etiológico con énfasis en la situación actual.

Historia

La enfermedad fue descrita por primera vez por Josef Marek en 1907 como una polineuritis de los pollos viejos principalmente con baja morbilidad y mortalidad despreciable. En la década del 60 la forma aguda de la enfermedad comenzó a predominar en la mayoría de los países que tenían una industria avícola bien desarrollada con severas pérdidas económicas (Calnek y Witter, 1997; Trapp and Osterreider, 2010). El control de la enfermedad se realizó con la introducción y el amplio uso de la vacuna con herpesvirus de pavo (HVT), pero en los años 70 se produjo una disminución de la eficiencia de la vacuna debido a la interferencia con los anticuerpos maternos y a la emergencia de cepas de campo del virus de la enfermedad de Marek (VEM) de mayor virulencia.

La introducción de una vacuna bivalente, con HVT y la cepa SB-1 del serotipo 2, a mediados de la década de los años 80 indujo mejor protección que cuando se utilizaban sus componentes por separado. En la década siguiente se hizo necesaria la introducción de forma masiva de la vacuna atenuada Rispens, elaborada con la cepa CVI988 del serotipo 1, porque las cepas de campo burlaban la inmunidad conferida por las vacunas debido al continuo incremento de su virulencia (Tian et al., 2011).

Posteriormente, algunos reportes muestran las fallas de la vacuna Rispens en Europa cuando es utilizada tanto sola como en combinación con vacunas del serotipo 2 y 3 del VEM sugiriendo la emergencia de cepas hipervirulentas (Burgess et al., 2004; Schumacher et al., 2002). Más recientemente, han sido reportados brotes de la enfermedad en parvadas vacunadas con HVT, o con la vacuna Rispens o con la vacuna 814 (vacuna comercial China) lo que sugiere la emergencia de cepas del VEM muy virulentas y muy virulentas plus en el campo (Buscaglia et al, 2004; Zuo et al., 2007; Chen et al., 2008; Teng et al., 2011). Actualmente, la enfermedad continúa siendo una seria amenaza para la industria avícola por lo que es necesario realizar el aislamiento y caracterización de los virus circulantes para evaluar la efectividad de las vacunas existentes (Tian et al., 2011).

Etiología

La etiología de la EM no fue totalmente esclarecida hasta el año 1967 en que fue demostrado que la EM era producida por un herpesvirus. El VEM es un virus célula asociado con propiedades linfotrópicas similares a los gammaherpesvirus pero su estructura y organización genómica son similares a los alfa herpesvirus (Buckmaster y col, 1988; Venugopal et al, 2008; Trapp and Osterreider, 2010).

Actualmente el virus pertenece a la familia *Herpesviridae*, subfamilia *Alphaherpesvirinae*, género *Mardivirus*, especie *Gallid herpesvirus 2* (Niikura et al, 2006a; Niikura et al, 2006b; Murata et et al., 2007; Abdul-Careem et al., 2009; Tian et al, 2011). Son virus envueltos, con cápsida icosaédrica, su genoma es ADN, lineal, de doble cadena con una longitud de 175 kb que codifica para alrededor de 103 proteínas algunas de las cuales están asociados con la oncogenicidad del virus (Karaca et al., 2004; Sun et al., 2010; Wozniakowski, et al, 2011).

Existen tres serotipos del VEM (VEM1, VEM2 y VEM3 o herpesvirus de pavo, HVT) los cuales se diferencian en sus capacidades para producir transformación oncogénica y en su patogenicidad, pero ellos están estrechamente relacionados genética y serológicamente (Osterrieder, 1999, Tian et al., 2011). El serotipo 1 del VEM o *Gallid herpesvirus* tipo 2 es altamente oncogénico e incluye todas las cepas oncogénicas y sus formas atenuadas, las cuales de acuerdo a su patogenicidad se clasifican en cuatro patotipos: medio (m), virulentas (v), muy virulentas (vv) y muy virulentas plus (vv+). Las cepas del serotipo 2 o *Gallid herpesvirus* tipo 3 y principalmente el serotipo 3 o *Meleagris herpesvirus* tipo 1, no son oncogénicas, causan síntomas menos severos e incluyen cepas de VEM aisladas en pollos y pavos respectivamente (Witter, 1983; Osterrieder, 1999; Witter et al., 2005; Venugopal et al, 2008; Trapp and Osterreider, 2010; Teng et al., 2011).

La secuencia del genoma del HVT está muy relacionada con una zona muy conservada de las cepas del VEM, donde se encuentran los genes involucrados en la infección lítica (Afonso et al., 2001; Kingham et al., 2001). Las diferencias significativas encontradas en el genoma están relacionadas con la presencia en el VEM de una zona de 10 genes donde están los genes *meq*, *pp38* y de la interleucina viral-8, asociados con la oncogenicidad y la patogenicidad (Parcells et al., 2001; Wozniakowski et al., 2010; Tian et al., 2011). La ausencia de esta región, que comprende estos 10 genes, es la causa por la cual el HVT no induce linfoma en las células T (Karaca et al., 2004).

El estudio de las bases genéticas y moleculares de la patogenicidad y la oncogenicidad del VEM ha sido realizado por diferentes autores (Lee

et al, 2000; Spatz y Rue, 2008; Tian et al, 2011) pero los resultados obtenidos no han permitido esclarecer y entender hasta el momento todos los mecanismos asociados con estos eventos (Zhang et al, 2012).

La estabilidad del virus es variable y dependerá de si es célula asociado o libre de células. Las preparaciones de virus célula asociado del VEM y HVT pueden ser preservadas por congelación en nitrógeno líquido y la infectividad del virus estará en dependencia de la viabilidad de las células. En condiciones ideales la vida media del virus vacunal célula asociado es de 2-6 horas. Las preparaciones de VEM libres de células obtenidas de la piel de los pollos infectados son inactivadas cuando son tratadas a pH extremos (3 y 11) por 10 minutos o cuando son almacenadas por 2 semanas a 4 °C, 4 días a 25°C, 18 horas a 37°C, 30 minutos a 56°C y 10 minutos a 60°C. Sin embargo, el virus permanece infeccioso por largos períodos de tiempo (4-8 meses a temperatura ambiente y por 10 años a 4°C) en los folículos de las plumas, en la yacija y en las células decamadas. El virus pierde su infectividad cuando es tratado por 10 minutos con desinfectantes químicos comunes (Calnek y Witter, 1997; Wang et al., 2011).

Síntomas clínicos

Los signos clínicos asociados con la enfermedad de Marek pueden presentarse en los pollos a partir de las 4 semanas de edad, con mayor frecuencia entre las 12 y 24 semanas de edad y a veces más tardío. A continuación algunas de las características de las diferentes formas de la enfermedad (Calnek y Witter, 1997; Venugopal et al, 2008).

- **Clásica.** La principal afección es neural y el signo clínico más común es la parálisis parcial o completa de las extremidades. Una característica particular es cuando las aves muestran una pata extendida hacia delante y la otra hacia detrás semejando la posición de un compás o bailarina. Si hay afectación de los nervios que controlan los músculos del cuello la cabeza puede estar colgando hacia abajo o puede haber tortícolis. Las aves pueden quedar ciegas debido a la afectación del nervio óptico. El o los ojos afectados pierden la capacidad para acomodar la intensidad de la luz y al examen clínico se observan cambios en la coloración del iris y la pupila irregular. La mortalidad raramente excede 10-15%.
- **Aguda.** Es usual la formación de linfomas en los órganos viscerales. La incidencia de la enfermedad está entre el 10-30% y en los brotes puede llegar hasta el 70%. Los signos clínicos son menos marcados con manifestaciones generalizadas como depresión, pérdida de peso, anorexia y diarrea.

- **Aguda citolítica.** Se presenta con severa atrofia de los órganos linfoides y se presenta en infecciones con algunas de las cepas muy virulentas de la EM recientemente aisladas. Esta forma de la enfermedad también descrita como síndrome de mortalidad temprana se manifiesta con una mortalidad muy alta generalmente entre los 10 y 14 días de edad.
- **Parálisis transitoria.** Es la menos común de las manifestaciones de la infección por el virus de la EM y se presenta entre las 5-18 semanas de edad y en algunos casos puede ser fatal. Las aves afectadas desarrollan de forma súbita varios grados de ataxia o parálisis de las extremidades y el cuello a los 8-10 días posinfección.

Multiplicación viral

La infección de los cultivos o pollos por el virus ocurre mediante el proceso convencional de adsorción y penetración. La diseminación de la infección ocurre por contacto directo con la célula infectada y es el principal modo de diseminación tanto *in vitro* como *in vivo*. Tres tipos generales de interacción virus célula se producen durante la infección (Calnek y Witter, 1997; Venugopal et al, 2008; Trapp and Osterrieder, 2010):

- **Productiva:** Existen dos tipos, una infección totalmente productiva que se produce solamente en el folículo de las plumas de los animales infectados con la producción de grandes cantidades de partículas virales infecciosas. Esta infección produce cuerpos de inclusión intranucleares y destrucción celular. En la infección productiva restringida se sintetizan antígenos virales pero la mayoría de los viriones producidos carecen de envoltura y por lo tanto son no infecciosos.
- **Latente:** Es una infección no productiva en la cual el genoma viral está presente pero no se expresa. Los linfocitos T CD4⁺ son las dianas para el establecimiento de la latencia por el VEM y es la forma de diseminación del virus dentro del animal infectado como una viremia asociada a célula. En los linfocitos T latentemente infectado el ADN viral se integra en el genoma celular, mecanismo usado por muy pocos Herpesvirus que permite mantener el genoma viral durante el estado inactivo de la infección Este tipo de infección solo puede ser detectada por métodos moleculares, por la activación del genoma viral por el cultivo *in vitro*, o inducida por el tratamiento con agentes químicos inmunosupresores pero no por la infección con el virus de la enfermedad de Gumboro (VEG) o con el virus de la reticuloendoteliosis (VRE). En este caso algunos genes se transcriben pero no se traducen resultando en la no producción

de virus o antígenos asociados a tumores. No obstante, el cultivo *in vitro* resulta en la producción de antígenos y partículas virales. Esta interacción ha sido observada en pollos después de la infección por los serotipos 2 y 3 del VEM.

- **Transformante:** Sólo ocurre en las células infectadas con el serotipo 1 del VEM que a diferencia de la infección latente el genoma viral está altamente metilado y se expresa con producción ocasional de antígenos virales. De todos los antígenos virales sólo el pp38 y el pp40 han sido detectados en las células transformadas.

Patogénesis

La infección *in vivo* por el VEM puede ser dividida en cuatro fases. Una fase temprana de **infección viral productiva-restrictiva** que produce los primeros cambios degenerativos seguida de una fase de **infección latente**. La tercera fase se corresponde con una segunda **infección citolítica productiva restrictiva** coincidente con una inmunosupresión permanente y por último una **fase proliferativa** que involucra células linfoides infectadas no productivamente que pueden o no progresar a la formación de linfoma (Calnek y Witter, 1997; Venugopal et al, 2008; Abdul-Careem et al., 2009).

La replicación inicial del virus ocurre en el tejido pulmonar y se disemina al tejido linfoide por los macrófagos infectados. Corto tiempo después es detectada una infección lítica en las células de los órganos linfoides, principalmente en las células B, aunque algunas células T, principalmente los linfocitos T CD4⁺, también son activadas y sufren la infección y posterior degeneración. El efecto necrotizante de esta infección temprana provoca una respuesta inflamatoria aguda con infiltración de macrófagos, granulocitos y linfocitos comprometidos o no inmunológicamente. Seguidamente se produce una respuesta hiperplástica en el bazo y alrededor de los 7 días puede presentarse una inmunosupresión transiente debido a la presencia de macrófagos supresores. Por último, puede ocurrir atrofia del bazo y timo. Se ha reportado que la patogenicidad del virus puede afectar la severidad de esta primera fase temprana debido a que las cepas más oncogénicas producen una atrofia más severa de los órganos linfoides que las menos oncogénicas y pueden causar el síndrome de muerte temprana como resultado de una infección citolítica muy marcada (Calnek y Witter, 1997; Calnek, 2001; Barrow et al., 2003, Venugopal et al, 2008).

El cambio de la infección a latente ocurre coincidentemente con el desarrollo de una respuesta inmune que es principalmente mediada por células y la mayoría de las células latentemente infectadas son linfocitos T activados, aunque algunos linfocitos B pueden estar

involucrados. Esta infección latente es persistente y dura toda la vida del animal. Las células de Schwann y las células satélites del ganglio espinal también están latentemente infectadas pero se desconoce que otras células no linfoides pudieran estar infectadas latentemente (Calnek, 2001; Abdul-Careem et al., 2008).

En las aves genéticamente resistentes, la infección no progresa de esta fase de latencia con una infección persistente productiva de bajo grado en el folículo de las plumas. Sin embargo, las aves susceptibles desarrollan un segundo ciclo de infección citolítica después de la segunda o tercera semana coincidente con una inmunosupresión permanente que involucra los órganos linfoides nuevamente y focos localizados de infección en tejidos epiteliales (riñón, páncreas, glándulas adrenales, etc.) y principalmente en la piel donde se infectan los folículos de las plumas, único sitio donde se produce la replicación completa del virus (Calnek y Witter, 1997; Abdul-Careem et al., 2008). En la última fase ocurren los cambios linfoproliferativos que pueden progresar al desarrollo de tumores, aunque puede ocurrir regresión de los tumores una vez que están presentes. La muerte puede ocurrir en cualquier momento después de la presentación de los tumores (Calnek y Witter, 1997).

Transmisión

El VEM se elimina por la piel asociado a las plumas y escamas y puede persistir durante largos períodos de tiempo en el ambiente. La transmisión del virus se produce por inhalación ya sea por contacto directo y/o a través del virus presente en el polvo y escamas (Heidari et al., 2007; Trapp and Osterreider, 2010). Las células epiteliales del folículo de la pluma son la fuente de contaminación del medio ambiente debido a que ellas son el único sitio de replicación del virus donde se producen partículas infectivas. No se ha demostrado la existencia de transmisión vertical (Calnek y Witter, 1997; McKay, 1998; Davidson and Borenshtain, 2002; Venugopal et al, 2008) y la transmisión por contaminación externa del huevo embrionado es poco probable que ocurra debido a que el virus no resiste las condiciones de temperatura y humedad del proceso de incubación (Calnek y Witter, 1997).

Inmunidad

Como respuesta a la infección las aves competentes desarrollan tanto inmunidad humoral como celular y puede ser tanto contra la infección viral como contra la proliferación de células tumorales. Los anticuerpos perduran por toda la vida del animal, son detectados entre la 1-2 semana pi y son de tipo precipitantes y neutralizantes. Estos últimos están relacionados con la protección y sobrevivencia de las aves

después de la infección. La inmunidad pasiva reduce el nivel de infección y se ha demostrado que la resistencia a la enfermedad no está relacionada con la respuesta humoral debido a que pollos bursectomizados sobreviven a la infección (Calnek y Witter, 1997).

Estudios realizados por diferentes autores (Kaiser et al., 2003; Quere et al., 2005) han caracterizado la inmunidad mediada por células producida como respuesta a la infección por VEM en el bazo y en los linfocitos de sangre periférica que está asociada con un incremento significativo en la expresión de interferón (IFN) α , IFN- γ , y de las interleucinas (IL) 1β , IL-6, IL-8, IL-10 e IL-18 (Kaiser et al., 2003; Quere et al., 2005; Jarosinski et al., 2005; Abdul-Careem et al., 2007). Sin embargo, la respuesta del hospedero es incapaz de controlar la replicación viral en el folículo de la pluma (Baigent and Davison, 2004; Islam et al., 2006) aún cuando la resistencia genética del hospedero y la vacunación pueden prevenir la formación de linfomas acompañada de una reducción significativa de la partículas virales y la latencia en los órganos linfoides (Kaiser et al., 2003). Esta diferencia de la respuesta inmune del hospedero entre el folículo de la pluma y los tejidos linfoides puede deberse al no desarrollo de una respuesta inmune protectora en el folículo de la pluma (Baigent et al., 2005) lo cual tiene implicaciones en la transmisión horizontal y la evolución de la virulencia (Davison and Nair, 2005).

Diagnóstico

En el diagnóstico de laboratorio de esta enfermedad se emplean diferentes metodologías que van desde el aislamiento viral y/o detección de antígenos virales por inmunohistoquímica o técnicas moleculares, determinación de anticuerpos específicos y la histopatología (Davidson, 2007).

El diagnóstico por aislamiento viral de virus oncogénico es laborioso y requiere de tiempo y el virus puede ser aislado tan temprano como a partir del 1er. o 2do. día pi, a partir del 5to. día después del contacto o exposición con material infectado y durante toda la vida del animal. Para el aislamiento primario se recomiendan los cultivos primarios de riñón de pollo y fibroblastos de pato a partir de células del bazo, tumorales y sangre periférica (Schat, 2005). Líneas celulares permanentes de origen aviar como la OU2, DF-1 y QM7 producen infecciones abortivas o un nivel de replicación viral bajo (Trapp and Osterrieder, 2010). Es fundamental para el aislamiento garantizar la viabilidad de las células debido a que la infectividad del virus está estrechamente relacionada con la misma. También se debe tener en cuenta la posible presencia de infecciones múltiples en la misma muestra por el VEM y retrovirus pues los procedimientos para el

aislamiento del virus de la enfermedad de Marek interfieren con los del aislamiento de retrovirus (Davidson, 2007).

Durante la última década han sido desarrolladas numerosos ensayos moleculares para la detección y cuantificación de cepas del VEM (St Hill et al., 2004; Krol et al., 2007). Actualmente, la detección del VEM en diferentes muestras, incluyendo el folículo de las plumas, está basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y en el PCR en tiempo real (Islam et al., 2004; Baigen et al., 2005), las cuales constituyen una importante herramienta en el diagnóstico y caracterización de las infecciones por el VEM.

El diagnóstico de la presencia de anticuerpos a este virus en los animales es de limitada importancia debido a que el virus es ubicuo en la naturaleza y se encuentra en todo el mundo (Davidson, 2007; Wang et al. 2011).

Es válido señalar que para realizar el diagnóstico confirmativo del VEM se requiere del complemento de las técnicas de laboratorio con las lesiones clínico-patológicas y ambas contribuyen a la determinación correcta del agente causal. Además, se debe realizar diagnóstico diferencial de otras enfermedades tumorales de los pollos como la leucosis linfoide y la reticuloendoteliosis aviar. En la tabla 1 se muestran las principales características ocasionadas por el VEM que permiten diferenciarla de la leucosis linfoide y de la reticuloendoteliosis (OIE, 2008).

Tabla 1. Principales características para el diagnóstico diferencial de la enfermedad de Marek, leucosis linfoide y reticuloendoteliosis.

Característica	Enfermedad de Marek	Leucosis linfoide	Reticuloendoteliosis
Edad	Pocos días – muchas semanas	Menor de 16 semanas	Menor de 16 semanas
Signos clínicos	Parálisis frecuente	No específico	No específico
Incidencia	Generalmente mayor del 5% en poblaciones no vacunadas	Raramente mayor del 5% en poblaciones infectadas	Raro

Lesiones macroscópicas			
Implicación neuronal	Frecuente	Ausente	No frecuente
Tumor en bolsa de Fabricio	Aumento difuso o atrofia	Nodular	Nodular
Tumores en proventrículo, piel y músculo	Generalmente presente	Generalmente ausente	Ausente
Lesiones microscópicas			
Implicación neuronal	Frecuente	No	No es frecuente
Tumor en hígado	Mayormente perivascular	Generalmente focal y difuso	Focales
Tumor en bazo	Generalmente difuso	A menudo focal	Focales o difusos
Tumor en bolsa de Fabricio	Interfoliiculares y/o atrofia de los folículos linfoides	Intrafoliicular	Intrafoliicular
Proliferación linfocítica en la piel/ folículo de la pluma	Si	No	No
Lesiones en el SNC	Si	No	No
Citología de los tumores	Células linfocíticas pleomórficas, incluyendo los linfoblastos	Linfoblastos	Linfoblastos

	tos, linfocitos pequeños, medios y grandes y las células reticulares. Raramente solo linfoblastos		
Tipo de célula linfoide neoplásica involucrada	Linfocito T	Linfocito B	Linfocito B

Control

Uno de los objetivos del control es proteger a las aves de la infección con el VEM y por otra parte reducir el número de aves susceptibles mediante la aplicación de la vacunación. La bioseguridad es parte indispensable de los procedimientos de las buenas prácticas de producción, por ser la mejor defensa contra las enfermedades, de no cumplirse con la misma de nada valdrían las técnicas de diagnóstico de avanzada y la producción de vacunas. Sólo la prevención permite lograr que el ave manifieste su potencial biológico productivo, por lo tanto el desarrollo y cumplimiento de un extenso programa de bioseguridad constituye uno de los factores más importantes en la reducción de las pérdidas asociadas a las enfermedades infecciosas.

La vacunación constituye actualmente la principal estrategia para la prevención y el control de la EM mediante la aplicación de vacunas vivas, algunas de las cuales se han utilizado por más de 40 años. No obstante, la resistencia genética y la bioseguridad complementan la vacunación y adquieren mayor significación en aquellos lugares donde se presentan fallos de vacunación.

En el desarrollo de las vacunas para la protección contra la enfermedad de Marek se han utilizado los tres serotipos virales, mezcla de los serotipos y vacunas de ADN recombinantes, estas últimas aún no licenciadas para su uso. En las vacunas monovalentes se incluyen las cepas atenuadas del serotipo 1 y el HVT. Los aislamientos naturalmente avirulentos del serotipo 2 son

frecuentemente combinados con el HVT, aunque otras combinaciones son de uso común y la más utilizada es la de HVT debido probablemente a su bajo costo y a su efectividad donde el desafío de campo no es tan severo.

La vacunación contra la EM es generalmente efectiva logrando una protección del 90% en condiciones comerciales (Calnek y Witter, 1997). Sin embargo, la atención está focalizada en el incremento del número de parvadas en las cuales a pesar de haber recibido la vacunación se presentan brotes de la enfermedad debido a la emergencia de cepas de mayor virulencia. En este sentido, la EM es un ejemplo bien documentado de cómo evoluciona la virulencia después de la introducción de una vacuna (Witter, 1997).

Situación actual

La EM constituye un tema de gran interés para la comunidad científica debido a que es una de las principales enfermedades que afectan la producción avícola, y además porque es un modelo de inducción por herpesvirus de linfoma en células T en su hospedero natural (Biggs and Venugopal, 2012).

Numerosos esfuerzos se realizan para el control de la EM mediante la aplicación de diferentes estrategias de vacunación pero la enfermedad continúa siendo un serio problema para la industria avícola a nivel mundial por la presentación de brotes de la enfermedad. Esto evidencia la evolución del VEM y la emergencia de cepas muy virulentas (vv) y muy virulentas plus (vv+) en el campo (Buscaglia et al., 2004; Murata et al., 2007; Teng et al., 2011; Tian et al, 2011; Zhang et al, 2012; Biggs and Venugopal, 2012) debido a que las vacunas empleadas inducen inmunidad no estéril que solo restringen la multiplicación viral dentro del hospedero y no bloquean la entrada del virus al hospedero ni su diseminación en el ambiente (Butter et al, 2007; Gimeno and Cortés, 2010).

Los pollos son el hospedero natural más importante del VEM y evidencias virológicas y serológicas son reportadas en algunos géneros del orden *Galliformes* (Calnek y Witter, 1997). Tomikawa et al (2001), reportaron la EM en poblaciones de gansos salvajes que migraron de Rusia a Japón. Posteriormente Murata et al., (2007) evidenciaron la amplia diseminación de cepas muy virulentas del VEM en poblaciones de gansos salvajes de Japón al estudiar el folículo de la pluma de estos animales por técnicas moleculares. También ha sido reportada en poblaciones de pollos de otros países (Buscaglia et al, 2004; Tiang et al, 2011).

Los resultados obtenidos por estos investigadores evidencian la amplia circulación del VEM en las poblaciones avícolas y sugieren que los gansos pudieran actuar como reservorios y portadores para la introducción de cepas del VEM de mayor virulencia en las parvadas y ocasionar brotes de la enfermedad. Así mismo, la circulación de diferentes cepas del virus en las poblaciones pudiera ser un factor importante que facilitaría la coinfección bajo las condiciones de campo y la emergencia potencial de cepas más virulentas (Dunn et al, 2012).

Un aspecto importante en los estudios realizados sobre este virus en años recientes son los resultados obtenidos por Crucillo et al, (2010) quienes aislaron una cepa del VEM de patogenicidad media para los pollos con una alta incidencia de tumores a partir de la línea celular QT35. Estos resultados son de gran valor debido a que la presencia de este virus en la línea celular QT35 tiene implicaciones para el uso de la misma en la producción de vacunas.

En Cuba, la enfermedad se reportó por primera vez por Sanda y Fonseca (1970) y a partir de este momento se realizaron numerosas investigaciones epizootiológicas, virológicas y serológicas (Moreno y González, 1983; Fraga y Moreno, 1981) que profundizaron en el conocimiento y caracterización de la enfermedad. Los estudios epizootiológicos realizados también permitieron la elaboración y aplicación de un programa de control basado en la aplicación de medidas de bioseguridad, el manejo zotécnico con el sistema "todo dentro todo fuera" y la inmunoprofilaxis, con la aplicación de una vacuna viva de HVT, que redujo de forma considerable la presentación de casos de la enfermedad en la avicultura comercial (Noda y col., 1992). Actualmente, continúa la vacunación de las parvadas pero con frecuencia se observan tumores en aves comerciales con resultados negativos por PCR a los virus de la leucosis A, B, J y el virus de la reticuloendoteliosis y positivas a herpesvirus (Cuello y col., 2011). Estudios posteriores son requeridos para la identificación del herpesvirus detectado.

Todos estos resultados evidencian que las vacunas utilizadas hasta el momento para el control de la EM son capaces de reducir y retrasar el desarrollo de tumores pero no son capaces de impedir la replicación viral en el hospedero, lo cual ha favorecido la emergencia de cepas de mayor virulencia del VEM y la presentación de brotes en poblaciones vacunadas. De ahí que los principales retos de la comunidad científica estén encaminados a la obtención de nuevas vacunas, al mejor entendimiento de la inmunidad inducida por estas y al esclarecimiento de los factores involucrados en la patogenicidad y oncogenicidad de este virus.

Referencias Bibliográficas

- Abdul-Careem, M.F.; Haq, K.; Shanmuganathan, S.; Read, L.R.; Schat, K.A.; Heidari, M. and Sharif, S. (2009). Induction of innate host responses in the lungs of chickens following infection with a very virulent strain of Marek's disease virus. *Virology*, 393:250-257.
- Abdul-Careem, M.F.; Hunter, B.D.; Parvizi, P.; Haghighi, H.R.; Thantrige-Don, N. and Sharif, S. (2007). Cytokine gene expression patterns associated with immunization against Marek's disease in chickens. *Vaccine*, 25:424-432.
- Abdul-Careem, M.F.; Hunter, B.D.; Sarson, A.J.; Parvizi, P.; Haghighi, H.R.; Read, L.; Heidari, M. and Sharif, S. (2008). Host responses are induced in feathers of chickens infected with Marek's disease virus. *Virology*, 370:323-332.
- Adldinger, H.K. and Calnek, B.W. (1973). Pathogenesis of Marek's disease: early distribution of virus and viral antigens in infected chickens. *J. Natl. Cancer Inst.*, 50:1287-1298.
- Afonso, C.L.; Tulman, E.R.; Lu, Z.; Zsak, L.; Rock, D.L.; Kutish, G.F., 2001. The genome of turkeys herpesvirus. *J. Virolo*, 75; 971-978.
- Baigent, S.J.; Smith, L.P.; Currie, R.J. and Nair, V.K. (2005). Replication kinetics of Marek's disease vaccine virus in feathers and lymphoid tissues using PCR and virus isolation. *J. Gen. Virol.*, 86:2989-2998.
- Barrow, A.D.; Burgess, S.C.; Baigent, S.J.; Howes, K. and Nair, V.K. (2003). Infection of macrophages by a lymphotropic herpesvirus: a new tropism for Marek's disease virus. *J. Gen. Virol.*, 84:2635-26-45.
- Biggs, P. M. and Venugopal, N. (2012). The long view: 40 years of Marek's disease research and *Avian Pathology*. *Avian Path.* Vol.41(1):3-9.
- Buckmaster, A.E.; Scott, S.D.; Sanderson, M.J.; Bourrsnell, M.E.G.; Ross, L.J.N. and Binns, M.M. (1988). Gene sequence and mapping data from Marek's disease virus and herpesvirus of turkeys-implications for herpesvirus classification. *J. Gen. Virol.*, 69:2033-2042.
- Burgess, S.C., Young, J.R., Baaten, B.J., Hunt, L., Ross, LN., Parcels, MS., Kumar, PM., Tregaskes, CA., Lee, LF. And Davison, TF., (2004). Marek's disease is a natural model for lymphomas overexpressing Hodgkin's disease antigen (CD30). *Proc. Natl. Acad. Sci.USA*, 101:13879-13884.
- Buscaglia, C.; Nervi, P. and Risso, M. (2004). Characterization of four very virulent Argentinian strains of Marek's disease virus and the influence of one of those isolates on synergism between Marek's disease vaccine viruses. *Avian Pathol.*, 33(2):190-195.
- Butter, Colin, Karen Staines, Bas Baaten, Lorraine Smith and T. Fred Davison (2007). Route of challenge is critical in determining the clinical outcome of infection with a very virulent oncogenic herpesvirus, Marek's disease virus. *Avian Pathology* 36(2), 93-99.

- Calnek, B.W and Witter, R.L., 1997. In: Poultry Diseases, tenth edition, Ch. Neoplastic Diseases/Marek Disease, pp367 Eds. B.W. Calnek, H. John Barnes, C.W. Beard, L.R. McDougald and Y.M. Saif
- Calnek, B.W. (2001) Pathogenesis of Marek´s disease virus infection. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 255:25-55.
- Chen. M., Payne, WS., Hunt, H., Zhang, H., Holmen, SL., Dodgson, JB., (2008). Inhibition of Marek´s disease virus replication by retroviral vector-based RNA interference. *Virology*, 377:265-272.
- Crucillo, K. L., Schat, K. A., Schukken, Y. H., Brown, A. E. and Patricia S. Wakenell (2010). Pathogenicity of a Quail (*Coturnix coturnix japonica*)-Derived Marek´s Disease Virus Rescued from the QT35 Cell Line. *Avian diseases* 54:126–130.
- Cuello, S. Relova, D., Merino, A., y Noda J. (2011). Evidences of Marek´s disease virus by PCR in a tumor disease outbreak (2012). *Rev. Salud Anim.*, Vol. 34(1):64.
- Davidson, I., (2007). Avian oncogenic viruses: The correlation between clinical signs and molecular virus identification, knowledge acquired from the examination of over 1000 flocks. www.isrvma.org vol. 62(2):42-47.
- Davidson, I. and Borenshtain, R. (2002). The feather tips of commercial chickens are a favorable source of DNA for the amplification of Marek´s disease virus and avian leukosis virus subgroup J. *Avian Pathol.*, 31:237-240.
- Davison, A.J. (2002). Evolution of herpesviruses. *Vet. Microbiol.*, 86:69-88.
- Davison, F. and Nair, V. (2005). Use of Marek´s disease vaccines: could they be driving the virus to increasing virulence?. *Expert Rev. Vaccines*, 4:77-88.
- Dunn, J. R., Silva, R. F., Lee, L. F. and Witter, R. L. (2012). Competition between two virulent Marek´s disease virus strains in vivo. *Avian Pathol.*, 41(3):267-275.
- Feng Zhang, Chang-Jun Liu, Yan-Ping Zhang, Zhi-Jie Li, Ai-Ling Liu, Fu-Hai Yan, Feng Cong, Yun Cheng (2012). Comparative full-length sequence analysis of Marek´s disease virus vaccine strain 814. *Arch Virol* 157:177–183.
- Fraga, M y Moreno, A., Encuesta serológica de anticuerpos maternos contra la enfermedad de Marek en pollos procedentes de madres vacunadas y madres enfermas. *Rev. Cub. C. Avíc.*, 1981, 8:97.
- Gimeno, I. M. and Cortes, A. L. (2010). Evaluation of factors influencing replication of serotype 1 Marek´s disease vaccines in the chicken lung. *Avian Pathology* 39(2), 71-79.
- Heidari, M.; Fitzgerald, S.D.; Zhang, H.M.; Silva, R.F.; Lee, L.F. and Dunn, J.R. (2007). Marek´s disease virus-induced skin leucosis in scaleless chickens: tumor development in the absence of feather follicles. *Avian Dis.*, 51:713-718.
- Islam, A.; Harrison, B.; Cheetham, B.F.; Mahony, T.J.; Young, P.L. and Brown, S.W. (2004). Differential amplification and quantification of

Marek's disease virus using real-time polymerase chain reaction. *J. Virol. Methods*, 119:103-113.

- Jarosinski, K.W.; Njaa, B.L.; O'Connell, P.H.; Schat, K.A. (2005). Proinflammatory responses in chickens spleen and brain tissues after infection with very virulent plus Marek's disease virus. *Viral Immunol.*, 18:148-161.

- Kaiser, P.; Underwood, G. and Davison, F. (2003). Differential cytokine responses following Marek's disease virus infection of chickens differing in resistance to Marek's disease. *J. Virol.*, 77:762-768.

- Karaca, G.; Anobile, J.; Downs, D; Burnside, J. and Schmidt, C.J. (2004). Herpesvirus of turkeys: microarray analysis of host gene responses to infection. *Virology*, 318:102-111.

- Kingham, B.F.; Zelnik, V.; Kopacek, J.; Majerciak, V.; Ney, E.; Schmitdt, C.J., (2001). The genome of herpesvirus of turkeys: comparative analysis with Marek's disease virus. *J. Gen. Virol.*, 82:1123-1135.

- Krol, K.; Samorek-Salamonowicz, E.; Kozdrun, W. and Wozniakowski, G.(2007). Duplex PCR assay for detection and differentiation of pathogenic and vaccine strains serotype 1. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 51:331-335.

- Lee LF, Wu P, Sui D, Ren D, Kamil J, Kung HJ, Witter RL (2000) The complete unique long sequence and the overall genomic organization of the GA strain of Marek's disease virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:6091-6096.

- Li, Y., Sun, A., Su, S., Zhao, P., Cui, Z., and Zhu, H., (2011). Deletion of the meq gene significantly decreases immunosuppression in chickens caused by pathogenic Marek's disease virus. *Virology Journal*, 8:2.

- Manual de la OIE sobre animales terrestres (2008). Capítulo 2.3.13. Enfermedad de Marek.

- M.F. Abdul-Careem, B.D. Hunter, A.J. Sarson, P. Parvizi, H.R. Haghghi, L. Read, M. Heidari, S. Sharif, *Virology* 370 (2008) 323-332.

- McKay, J.C. (1998). A poultry breeder's approach to avian neoplasia. *Avian Pathol.* 27:874-877.

- Moreno, A. y González, R., 1983, Influencia del sistema de crianza de ciclo continuo o cerrado en la incidencia de la enfermedad de Marek entre los reemplazos de ponedoras comerciales. *Rev. Cub. C. Avícola*, 10:71.

- Morimura, T.; Cho, K-O.; Kudo, Y.; Hiramoto, Y.; Ohashi, K.; Hattori, M.; Sugimoto, C. and Onuma, M. (1999). Anti-viral and anti-tumor effects induced by an attenuated Marek's disease virus in CD4- or CD8- deficient chickens. *Arch Virol.*, 144: 1809-1818.

- Murata S., Chang, K.-S., Yamamoto, Y., Okada, T., Lee, S.-I., Konnai, S., (2007). Detection of the virulent Marek's disease virus genome from feather tips of wild geese in Japan and the far east region of Russia. *Arch Virol* 152: 1523-1526

- N. Osterrieder, (1999). Sequence and initial characterization of the U_L10 (glycoprotein M) and U_L11 homologous genes Arch Virol 144: 1853–1863.
- Niikura, M, Dodgson, J.B. and Cheng, H.H. (2006a). Stability of Marek´s disease virus 132-bp repeats during serial in vitro passages. Arch. Virol. 151:1431-1438.
- Niikura, M, Dodgson, J.B. and Cheng, H.H. (2006b). Direct evidence of host genome acquisition by the alphaherpesvirus Marek´s disease virus. Arch. Virol., 151:537-549.
- Niikura, M.; Kim, T.; Hunt, H.D.; Burnside, J.; Morgan, R.W.; Dodgson, J.B. and Cheng, H.H. (2007). Marek´s disease virus up-regulates major histocompatibility complex class II cell surface expression in infected cells. Virology, 359:212-219.
- Noda, J., Cuello, S., Acosta, I., Espinosa, V., Noda, P. y Trujillo, A. Aislamiento y caracterización de una cepa del virus de la enfermedad de Marek. Rev. Cub. C. Avíc., 19:46.
- Oficina Internacional de Epizootias. (2008). Marek´s Diseases. In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.
- Parcels, M.S.; Lin, S.F.; Dienglewicz, R.L.; Majerciak, V.; Robinson, D.R.; Chen, H.C.; Wu, Z.; Dubyak, G.R.; Brunovskis, P.; Hunt, H.D.; Lee, L.F. and Kung, H.J. (2001). Marek´s disease virus (MDV) encodes an interleukin-8 homolog (vIL -8): characterization of the vIL-8 protein and vIL-8 deletion mutant MDV. J. Virol., 75:5159-5173.
- Quere, P.; Rivas, C.; Ester, K.; Novak, R. and Ragland, W.L. (2005). Abundance of IFN-alpha and IFN-gamma mRNA in blood of resistant and susceptible chickens infected with Marek´s disease virus (MDV) or vaccinated with turkey herpesvirus; and MDV inhibition of subsequent induction of IFN gene transcription. Arch. Virol., 150:507-519.
- Sanda, A. y Fonseca, Cecilia, 1970. Avances sobre la enfermedad de Marek. Rev. Avícola, vol. 14, no. 3, 94-99.
- Schat, K.A (2005). Isolation of Marek's disease virus: revisited. Avian Pathology 34(2), 91-95.
- Schumacher, D., Tischer, B.K., Teifke, J.P., Wink, K. and Osterrieder, N. (2002). Generation of a permanente cell line that supports efficient growth of Marek´s disease virus (MDV) by constitutive expression of MDV glycoproteinE. J. Gen. Virol, 83:1987-1992.
- Spatz SJ, Rue CA (2008). Sequence determination of a mildly virulent strain (CU-2) of Gallid herpesvirus type 2 using 454 pyrosequencing. Virus Genes 36:479–489
- St Hill, C.A.; Silva, R.F.; Sharma, J.M. (2004). Detection and localization of avian alphaherpesviruses in embryonic tissues following in ovo exposure. Virus Res., 100:243-248.
- Sun, A., Xu, X., Petherbridge, L., Zhao, Y., Nair, V., Cui, Z., (2010). Functional evaluation of the role of reticuloendotheliosis virus long terminal repeat (LTR) integrated into the genome of a field strain of Marek´s disease virus. Virology, 397:270-276.

- Teng, L., Wei, P., Song, Z., He, J., and Cui, Z., (2011). Molecular epidemiology investigation of Marek's disease virus from Guangxi, China. *Arch. Virol.*, 156:203-206.
- Tian, M., Zhao, Y., Lin, Y., Zou, N., Liu, C., Liu, P., Cao, S., Wen, X. and Huang, Y. (2011). Comparative analysis of oncogenic genes revealed unique evolutionary features of field Marek's disease virus prevalent in recent years in China. *Virology Journal*, 8:121.
- Trapp, S and Osterrieder, N. Herpesviruses of Birds, in *Desk Encyclopedia of Animal and Bacterial Virology*, Cornell University, Ithaca, NY, USA, 2008. Elsevier Ltd.
- Venugopal, Nair, Richard C. Jones and R. E. Gough. *Herpesviridae, Chapter 23 in Diseases of Poultry, 2008*
- Wang, X., Chi, X., y Wang, M. (2011). Structural characteristics and antiviral activity of multiple peptides derived from MDV glycoproteins B and H. *Virology Journal*, 8:190.
- Witter, R.L. (1983). Characteristics of Marek's disease viruses isolated from vaccinated commercial chicken flocks: association of viral pathotype with lymphoma frequency. *Avian Dis.*, 27:113-132.
- Witter, R.L. (1997). Increased virulence of Marek's disease virus field isolates. *Avian Dis.*, 41:149-163.
- Witter, R.L., Calnek, B.W., Buscaglia, C., Gimeno, I.M. and Schat, K.A., (2005). Marek's disease viruses according to pathotype: philosophy and methodology. *Avian Pathol.*, 34:75-90.
- Wozniakowski, G.; Samorek-Salamonowicz, E. and Kozdrun, W. (2011). Rapid detection of Marek's disease virus in feather follicles by loop-mediated amplification. *Avian Dis.*, 55:462-467.
- Wozniakowski, G.; Samorek-Salamonowicz, E. and Kozdrun, W. (2010). Sequence analysis of meq oncogene among Polish strains of Marek's disease. *Pol. J. Vet. Sci.*, 13:263-267.
- Zuo, T., Zhao, Z., Wei, P., Wei, X., Li, Y. and Mo, M., (2007). Isolation and identification of a field isolate of Marek's disease virus with acute oncogenicity. *Chinese Journal of Virology*, 23:218-223.