

ACTUALIDADES EN EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE MAREK

Isabel M. Gimeno

USDA-ARS Avian Disease and Oncology Laboratory

East Lansing. MI

La enfermedad de Marek (MD) ha sufrido una evolución hacia formas más severas desde que se describió en 1907 (31). Los factores que han contribuido a esta evolución no están del todo claros, pero sí se sabe que el incremento en la virulencia del virus de la enfermedad de Marek (MDV) ha contribuido de forma decisiva a ello (49).

Inicialmente, MD se describió como un síndrome paralítico que cursaba con morbilidad y mortalidad muy bajas. La lesión más relevante era la hipertrofia de los nervios periféricos pero esporádicamente se describía también algún tumor en vísceras (7, 13, 14, 27). Se cree que esta forma benigna de la enfermedad estaba asociada a cepas víricas de mediana virulencia (mMDV o "midly") (12). Hacia finales de los años 50, la MD empezó a cursar con morbilidad y mortalidad muy altas y la incidencia de tumores en vísceras se incrementó considerablemente (6, 8). Las cepas de MDV que se aislaron durante este período se han clasificado posteriormente como virulentas (vMDV o "virulent") (52). En 1970, se introdujeron en el mercado las primeras vacunas, y la MD se pudo controlar (15, 16, 35, 37). Sin embargo, la eficacia de las vacunas se vio reducida cuando el MDV evolucionó a formas más virulentas. A finales de los años 70 se describieron los virus muy virulentos (vvMDV o "very virulent") (38, 53) y a principios de los 90 los mucho más virulentos (vv+MDV o "very virulent plus") (11) (30) (46) (49, 56) capaces de romper la inmunidad vacunal conferida con HVT y la vacuna bivalente HVT+SB1, respectivamente. Aparte de reducir la eficacia de la vacunación, los vvMDV y vv+MDV se caracterizaron por inducir diversos síndromes, como el síndrome de mortalidad temprana (53), arteriosclerosis (22), parálisis transitoria aguda (54) y enfermedad neurológica persistente (26).

Los factores que determinan la evolución del MDV hacia formas más virulentas son muchos, pero el hecho de que las vacunas que se emplean no prevengan de subsecuentes infecciones es un factor sumamente relevante. Los animales vacunados constituyen un ecosistema en el que cepas vacunales y cepas virulentas coexisten y es frecuente que ocurran mutaciones. Los virus capaces de escapar la inmunidad vacunal con mayor eficiencia son los que tienen mayor oportunidad de replicarse y transmitirse a otros animales. En la actualidad, la mayoría de los países permiten el uso de la cepa CVI988, que es la que proporciona mayor protección frente a los vv+MDV (48). Es difícil predecir si MDV será capaz de romper la inmunidad conferida por CVI988 o cuándo sucederá. Sin embargo, dada la evolución que MDV ha sufrido en los últimos años y la falta de vacunas que protejan de la sobreinfección, debemos estar preparados para que la virulencia de MDV siga aumentando.

Las consecuencias prácticas de la evolución de MD afectan tanto al diagnóstico como al control de la enfermedad. El principal objetivo de éste trabajo es tratar de los problemas del control, sin embargo a continuación se mencionan brevemente aspectos básicos de diagnóstico puesto que identificar la existencia del problema es el primer paso en todo plan de control.

Puntos críticos en el diagnóstico de MD

El primer aspecto clave que debemos tener presente a la hora de diagnosticar MD es que infección y enfermedad no son sinónimas. Casi podríamos asegurar que todos los animales en la avicultura comercial van a estar expuestos a cepas de MDV de diversa virulencia a lo largo de su vida, y por tanto están infectados. Sin embargo muy pocos desarrollan la enfermedad. Por este motivo, la validez de los métodos de diagnóstico etiológico (aislamiento del virus, presencia de anticuerpos, detección de antígenos virales o detección del genoma viral) es muy reducida y pueden llevarnos a errar el diagnóstico.

Debemos considerar, además, que la evolución de MDV a formas más virulentas ha modificado el espectro de hospedadores, tanto en especie como en edad. Si bien es cierto que la presencia de tumores en animales mayores de 30 semanas es más indicativo de leucosis linfoide que de MD, algunas cepas vv+ de MDV pueden originar la enfermedad a esta edad. Por otra parte, la aparición del subgrupo J de leucosis complica aún más el diagnóstico ya que estos virus pueden inducir tumores en animales jóvenes.

Tampoco debemos perder de vista las infecciones mixtas entre MDV y diversos retrovirus que además de modificar la epidemiología y el cuadro clínico nos ofrecen lesiones compatibles con diversas patologías (19). Finalmente es importante recordar que MDV no es sólo un virus con capacidad oncogénica. Los patotipos más virulentos de MDV son capaces de inducir otros muchos síndromes cuya relevancia en el campo es difícil de evaluar. Especialmente relevante a este respecto es la mayor capacidad de inmunosupresión de estos virus y el incremento en neurovirulencia que demuestran tener.

Pautas de diagnóstico de MD

Para el diagnóstico de MD, tanto en su forma linfoproliferativa como para los diferentes síndromes, es necesario la combinación de diferentes criterios. Diversas técnicas moleculares pueden ayudar a ratificar un diagnóstico, pero antes de llegar a ellas es necesario ratificar que se trata de tumores con apariencia linfoide.

a) Diagnóstico de los síndromes linfoproliferativos

Los datos clínico-patológicos y epidemiológicos pueden ser bastante indicativos de un problema de MD. Sin olvidar que los nuevos patotipos pueden causar excepciones en el grupo de edad y de especie afectada, en general la presencia de tumores en animales jóvenes, la sintomatología nerviosa y la afectación de nervios periféricos o del globo ocular son criterios suficientes para considerar que MDV podría ser la causa del problema.

El siguiente paso a seguir en el diagnóstico es el estudio histopatológico, incluyendo en todos los casos no sólo muestras del tumor sino también nervios periféricos y sistema nervioso central. Puesto que no todos los nervios se afectan por igual, es recomendable incluir más de un plexo siendo especialmente útil para el diagnóstico el plexo nervioso vago. Otros plexos a incluir podrían ser el braquial y el ciático por su facilidad de acceso. La histopatología sigue siendo la herramienta más útil para diagnosticar MD. Las características más importantes a considerar en el estudio histopatológico de los tumores y de las lesiones nerviosas se recogen a continuación.

Histológicamente los tumores presentan un aspecto pleomórfico. Se componen de células mononucleares de distinto tamaño y morfología, fundamentalmente células linfoides con distinto grado de activación y macrófagos. Es muy frecuente evidenciar múltiples mitosis, en muchos casos mitosis aberrantes características de tumores malignos. Tradicionalmente se ha descrito la presencia de las

llamadas "células de Marek" que son linfoblastos en degeneración, pero no siempre están presentes en los tumores.

Los nervios periféricos casi siempre están afectados en algún grado cuando MDV es la etiología de los tumores. No obstante, el tipo de lesión predominante puede variar mucho, desde simples infiltrados perivasculares de células mononucleares (lesión tipo C en la clasificación de (36)), hasta lesiones linfoproliferativas similares a las encontradas en los tumores viscerales (lesión tipo A en la clasificación de Payne y Biggs). En casos más extraños, sobre todo en animales mayores que han sufrido la enfermedad durante varios meses es posible observar desmielinización y edema junto con un marcado infiltrado inflamatorio, sobre todo de células plasmáticas (lesiones de tipo B en la clasificación de Payne y Biggs). Cuando sólo existen lesiones de tipo B en los nervios y no hay evidencia de tumores en vísceras es necesario diferenciar entre la MD y el síndrome de neuropatía periférica (PN) que tiene un origen autoinmune y no está producido por el MDV (4). La PN se ha descrito en pollitas de 8-11 semanas de vida. La falta absoluta de lesión en los nervios, debería hacernos reconsiderar el diagnóstico de MDV y en ese caso es necesario confirmar el diagnóstico mediante otras técnicas.

Las lesiones en el encéfalo son menos frecuentes que las lesiones en nervios periféricos. No obstante, al igual que en los nervios su presencia es un buen indicativo para el diagnóstico de MD. El tipo de lesiones que puede observarse en el encéfalo es muy similar al descrito en los nervios periféricos.

El diagnóstico histopatológico, aunque de gran utilidad en numerosos casos, resulta insuficiente algunas veces y es necesario recurrir a otras técnicas de diagnóstico. La caracterización del tipo de células que componen el tumor (linfocitos B o linfocitos T), cuantificación del genoma del MDV en los tumores o expresión del antígeno meq en las células tumorales son criterios de gran utilidad para confirmar un diagnóstico de la MD (24).

b) Diagnóstico de los síndromes no linfoproliferativos

En general la vacunación frente a MDV protege frente a los síndromes no linfoproliferativos (incluso con HVT). Incluso la presencia de anticuerpos maternos frente a cualquiera de los serotipos del MDV minimiza la aparición de éstos síndromes. Por ello, su incidencia en el campo es mínima, especialmente en el caso de los síndromes linfodegenerativos y la arteriosclerosis. El síndrome de parálisis transitoria (TP) sin embargo se ha descrito en broilers de entre 30 y 40 días de edad no vacunados. El curso clínico es generalmente suficiente para el diagnóstico. La aparición de los síntomas es muy brusca y el curso clínico muy rápido, ya que en menos de 48 horas los animales o bien se recuperan totalmente o se mueren. Los síntomas paralíticos además son característicos puesto que comienzan con una parálisis flácida de los músculos del cuello que se extiende a las extremidades en pocas horas y se generaliza en menos de un día. Cuando los animales se recuperan, la recuperación es tan rápida como la instauración de la enfermedad. En la necropsia lo único que se observa es atrofia en bolsa de Fabricio y timo. La confirmación del diagnóstico puede hacerse por histopatología del encéfalo. Los animales que sufren de parálisis muestran vasculitis y edema, que son las lesiones responsables de los síntomas. Aunque se ha indicado que la detección de DNA viral en el encéfalo por PCR es válida para diagnosticar la TP (20), hay que advertir que es posible detectar DNA viral en el encéfalo de prácticamente todos los animales infectados con MDV, desarrollen o no TP y por tanto la validez de esta técnica para el diagnóstico es mínima.

Claves para el control de MD

El desarrollo de un sistema de control eficaz para la MD es uno de los hallazgos más relevantes en la investigación avícola. Por una parte fue posible reducir a mínimos las pérdidas económicas de una enfermedad devastadora. Por otro se desarrolló la primera vacuna capaz de controlar una enfermedad neoplásica. El control de MD se basa en tres criterios: buena bioseguridad, resistencia genética y vacunación. Pese a la relevancia de los tres criterios, en la actualidad la bioseguridad y la resistencia genética se utilizan más como complementos de la vacunación que como herramientas fundamentales de control.

BIOSEGURIDAD

En condiciones ideales de bioseguridad, la MD puede ser erradicada de una granja. Este es el caso de las parvadas de pollos libres de patógenos (SPF o specific-pathogen-free). Desgraciadamente el uso de filtros de aire y granjas con presión positiva no son económicamente rentables para la empresa avícola. Sin embargo, un sistema de seguridad adecuado es de gran utilidad para controlar no sólo MD sino otras enfermedades infecciosas. Cualquier plan de bioseguridad debe considerar dos puntos críticos: reducir los niveles de infección de MDV en la granja y prevenir la contaminación del ambiente con MDV. Las medidas para reducir el nivel inicial de contaminación en la granja (sistemas todo dentro todo fuera, evitar lotes multiedad, etc) son en las que más énfasis se pone a la hora de diseñar un plan de bioseguridad. Sin embargo, las medidas para evitar la contaminación ambiental son igualmente importantes, aunque a veces no se tengan en cuenta. Los dos aspectos que necesitan mayor atención son el control del aire y la eliminación de residuos. En la actualidad existen biofiltros que se han diseñado para evitar la salida de olores de las granjas porcinas que podrían reducir el nivel de MDV en el aire de salida de las instalaciones (42, 43). Los cadáveres y la cama son generalmente quemados o enterrados, pero el sistema de composting ha demostrado ser un método alternativo de gran utilidad para la eliminación de residuos (42, 43).

RESISTENCIA GENÉTICA

La relevancia que la resistencia genética tiene en el desarrollo de MD ha sido ampliamente estudiada (Cole, 1985) y actualmente la mayoría de las empresas de reproductoras incluyen la resistencia a MD como uno de los factores de selección. No se conoce que la resistencia a MD esté asociada con efectos negativos en parámetros de producción (9). Incluso en un estudio se ha relacionado la resistencia a MD con mejora en la puesta de huevos y en el peso corporal (1). Una revisión exhaustiva de los genes que podrían estar relacionados en la resistencia genética se recoge en Bacon *et al.* (2). Hay dos grupos de genes en los pollos involucrados en la resistencia genética a MD: los genes del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y los genes no relacionados con el MHC. La relevancia de los genes del MHC en la resistencia a MD es ampliamente conocida y está bien caracterizada pero los genes no relacionados con el MHC están poco estudiados y en mayoría no han sido identificados (2).

Incluso las estirpes de pollos con mayor resistencia a MD, pueden desarrollar la enfermedad si se las inocula con virus altamente patogénicos. No obstante, se ha demostrado que la protección conferida por las diferentes vacunas existentes frente a MD es mucho mejor en las estirpes resistentes que en las estirpes susceptibles (44). La interacción entre las vacunas y la genética del hospedador parece compleja y no se ha dilucidado completamente. Se sabe por ejemplo que el haplotipo B está claramente relacionado con el nivel de inmunidad conferido por diferentes vacunas (3). La aplicación práctica del efecto que el haplotipo tiene en la vacunación sería la de diseñar estrategias de vacunación

individualizadas para cada estirpe de aves, que conferiría la máxima protección frente a MD. Lamentablemente el tipado del haplotipo B de las estirpes comerciales, sobre todo de las estirpes pesadas, es difícil de determinar. A medida que las técnicas de tipado mejoren y sean más asequibles es posible que ésta característica se use en la práctica para diseñar protocolos de vacunación.

VACUNACIÓN

a) Tipos de vacunas

Diversos tipos de vacunas se han empleado para el control de MD, bien sean solas o en combinación. En general las cepas empleadas pueden clasificarse en tres grupos (cepas del serotipo 1 atenuadas, cepas del serotipo 2 y cepas del serotipo 3), aunque dentro de cada uno de los grupos existe cierta heterogeneidad.

La atenuación por pases seriados en cultivos celulares es la base del desarrollo de vacunas a partir de cepas de MDV del serotipo 1. La cepa HPRS-16 atenuada fue la primera vacuna conseguida frente a MD (17). Posteriormente, Rispens atenuó la cepa CVI988 (37), que lleva su nombre, y junto con las vacunas del serotipo 3 constituye la vacuna más empleada mundialmente y la que confiere mayor protección frente a los vv+MDV. La vacuna CVI988 se ha empleado desde el año 1972 en toda Europa y en muchos países asiáticos, pero su uso no se permitió en USA hasta 1992 por considerarse que mantenía virulencia residual (47). Recientemente, una nueva vacuna del serotipo 1 se ha introducido en Australia (cepa BH16) que parece ser tan eficaz en la protección de vv+MDV como CVI988 (28, 29). Aunque se han atenuado muchas otras cepas del serotipo 1, no todas pueden ser empleadas como vacunas. El principal problema de la atenuación es conseguir un equilibrio entre la pérdida de oncogenicidad y la capacidad de replicación *in vivo*. La sobreatenuación conlleva normalmente a la incapacidad de replicarse *in vivo*. Por el contrario, la falta de atenuación deja virulencia residual y la posibilidad de revertir a formas más virulentas. Curiosamente se ha observado que cuando las cepas víricas presentan una cierta virulencia residual confieren una protección mucho mayor.

Las cepas del serotipo 2 no confieren suficiente protección *persé*, pero su uso se ha generalizado porque empleadas junto con cepas del serotipo 3 potencian mucho la protección conferida por estas (51). Las bases de este sinergismo se desconocen y parece ser que el potencial sinérgico de las cepas del serotipo 2 está inversamente relacionado con su capacidad de protección (50). La protección adicional que se consigue con las vacunas policlonales no obedece a un efecto aditivo, y con dosis muy pequeñas de la cepa SB-1 del serotipo 2 (80 PFU), añadidas a las dosis normales del HVT (serotipo 3) se consigue el efecto sinérgico.

Las cepas del serotipo 3 o herpesvirus del pavo (HVT) son capaces de proteger frente a virus virulentos, aunque cuando se combinan con cepas del serotipo 2 confieren una protección adecuada frente a cepas muy virulentas (vv o "very virulent"). Antigénicamente el HVT está muy relacionado con los MDV del serotipo 1 (55) y se considera que la protección conferida por el HVT frente a los virus virulentos del serotipo 1 es de base inmunológica. En particular, es de resaltar la similitud antigénica de la glicoproteína B (gB) en estos dos serotipos, ya que se considera a esta proteína como uno de los antígenos más relevantes en la inmunidad conferida por las vacunas.

Diversas vacunas recombinantes se han desarrollado en los últimos 20 años, pero ninguna de ellas ha conseguido igualar la protección conferida por vacunas convencionales. HVT y el virus de la viruela aviar se han usado como vectores para expresar diferentes genes del serotipo 1 de MDV (32, 34). Vacunas de DNA se han desarrollado a partir de cepas vv+MDV atenuadas (45). Una revisión

exhaustiva de las diferentes vacunas recombinantes desarrolladas hasta el momento se recoge en Bublott y Sharma (10).

b) Administración de la vacuna

La vacunación de MD se realiza tradicionalmente en las salas de incubación al día de edad. Normalmente se emplean vacunas asociadas a células que se mantienen congeladas en nitrógeno líquido, aunque las cepas del serotipo 3 también pueden conseguirse liofilizadas. Las dosis empleadas normalmente exceden las 2000 PFU (unidades formadoras de placa) y la ruta de administración suele ser vía subcutánea. No obstante, se ha demostrado que las rutas intramuscular o intraabdominal son igualmente eficaces. Experimentalmente se ha observado que un pequeño porcentaje de aves de estirpes muy susceptibles a MD, cuidadosamente inoculados, no desarrollan la infección (Witter y Gimeno, datos no publicados). Los factores que determinan este fenómeno aún no se han dilucidado y tampoco se sabe la relevancia que el pequeño porcentaje de animales que quedarían sin vacunar podría tener en los casos naturales de MD. Otro aspecto al que muchas veces no se le concede la importancia necesaria es el efecto del uso de antibióticos con la vacuna de Marek (21). El uso conjunto de antibióticos como gentamicina, oxitetraciclina, eritromicina o clorotetraciclina con la vacuna de Marek, inactivan al virus y pueden inutilizar la vacuna.

La técnica de vacunación *in ovo*, a los 18 días del desarrollo embrionario se ha generalizado en la última década, sobre todo para la vacunación de broilers (40). Las ventajas de la vacunación *in ovo* incluyen el desarrollo de una respuesta inmune precoz (57) y automatización del proceso de vacunación, con la consiguiente disminución de mano de obra.

En la última década se ha generalizado en muchos países la técnica de la revacunación a la semana de edad. El fundamento científico para explicar la ventaja de este procedimiento aún no ha podido ser dilucidado, y en condiciones de laboratorio no se ha podido reproducir efecto positivo alguno en la revacunación. Es posible que otros factores (virus inmunosupresores, estrés, otras vacunas administradas al mismo tiempo que la de MD, etc) influyan el efecto positivo de la revacunación y por ello no han podido reproducirse en condiciones experimentales.

Desarrollo de nuevas estrategias de control

DESARROLLO DE VACUNAS

La vacuna ideal de MD debe ser eficaz, segura, estable y capaz de bloquear la evolución del MDV hacia formas más virulentas. Además, cualquier vacuna avícola tiene que ser barata, fácil de administrar y capaz de conferir protección durante largos períodos de tiempo. La vacuna de MDV se administra al día de edad o en embriones de 18-19 días, por lo tanto las vacunas necesitan ser eficaces en presencia de anticuerpos maternos. Las vacunas actuales son muy eficaces (95% de protección), seguras y estables. Además pueden administrarse en presencia de anticuerpos maternos y confieren inmunidad por mucho tiempo. Los aspectos en los que las vacunas deben mejorar son dos: ninguna de las vacunas actuales previenen la infección con MDV y la mayoría de ellas son asociadas a células y por tanto costosas de producir y manipular así como difíciles de administrar.

DESARROLLO DE POLLOS TRANSGÉNICOS

Numerosos intentos de desarrollar pollos transgénicos se han hecho en los últimos años sin que se hayan conseguido resultados satisfactorios. En general existen dos alternativas para la construcción de

pollos transgénicos resistentes a MD: inserción de genes del MDV que interfieren con la patogenicidad del MDV e inserción de genes del pollo que incrementen la respuesta inmune frente al MDV. El papel que los pollos transgénicos tendrán en las estrategias futuras para el control de MD no está demasiado claro. Por una parte las técnicas de desarrollo de transgénicos tienen que mejorar hasta el punto de que producir animales transgénicos sea rentable. Por otra es necesario que el consumidor acepte el empleo de animales transgénicos para consumo humano y eso puede que no llegue a ocurrir.

¿QUÉ SE NECESITA HACER EN INVESTIGACIÓN PARA MEJORAR LAS ESTRATEGIAS DE CONTROL?

Para que se puedan desarrollar nuevas vacunas o mejorar la resistencia genética de los animales de forma racional es necesario incrementar el conocimiento básico de la interacción entre el MDV y el hospedador. Al día de hoy no se conocen aún los genes del MDV involucrados en la virulencia del virus ni los mecanismos inmunes que protegen frente a la enfermedad.

Aunque numerosos trabajos se han realizado para entender mejor el mecanismo de acción de las vacunas de MD, la realidad es que se conoce muy poco de cómo las vacunas inducen protección frente a la enfermedad. Se sabe que muchos antígenos de MDV pueden inducir respuesta inmune *in vitro* (39) pero no está claro cuáles son los antígenos de MDV que inducen la respuesta inmune *in vivo*. La activación de linfocitos T es un aspecto crítico en la patogenia de MD que necesita ser estudiado en mayor detalle. Por una parte los linfocitos T activados son las células diana para la latencia y transformación pero por otra son las células efectoras de la respuesta inmune y las vacunas más eficaces frente a MD se caracterizan por inducir una activación precoz de los linfocitos T (25).

La identificación de los genes del MDV responsables de la patogenicidad es un punto crucial en el desarrollo de nuevas técnicas de control. La mayoría de los laboratorios dedicados al estudio de MD se dedican en la actualidad al estudio de la función de los genes del MDV, en su mayoría mediante la construcción de virus mutantes. Los resultados obtenidos hasta el momento muestran que la patogenia de MD es muy compleja y ponen en evidencia las deficiencias del método empleado. Por lo general los genes del MDV están involucrados en más de una función biológica y la delección de genes relevantes en oncogenicidad del virus también afectan severamente la replicación o la antigenicidad del mismo. Además, la delección de genes cruciales en la oncogenicidad por lo general resulta en disminución pero no eliminación del potencial oncogénico del MDV (18, 23, 41). El estudio de expresión génica y la interacción entre proteínas del MDV y del hospedador seguramente aportaran información adicional que ayude a entender los resultados obtenidos con los virus mutantes.

Otro aspecto de la MD que necesita ser estudiado en mayor detalle para mejorar los sistemas de control es la patogenia de MD desde el punto de vista molecular. En particular hay tres puntos críticos que necesitan ser estudiados en detalle: mecanismos moleculares involucrados en la latencia del virus (recientemente revisado por Morgan y col. (33)); mecanismos moleculares involucrados en la oncogenicidad (5) y mecanismos por los que MDV infecta células, se replica en el epitelio del folículo de la pluma y se transmite a otros animales.

Futuro en el control de MD

El control de la MD en el futuro seguirá basado en el empleo de vacunas, medidas de bioseguridad y resistencia genética. Se podría decir que las estrategias de control en el futuro pasarán por dos etapas. La primera etapa consiste en optimizar las medidas de control que existen en la actualidad. Estas incluyen adecuadas medidas de bioseguridad, buenas prácticas de vacunación y buen

control de otras enfermedades inmunosupresoras (CIVA, IBDV, REV). La segunda etapa sería el desarrollo de mejores métodos de control que inhiban la evolución del MDV hacia formas más virulentas (vacunas que prevengan la sobreinfección o pollos transgénicos resistentes a la infección), reduzcan los costes asociados a la vacunación (vacunas libres de células eficientes) o confieran mejor protección frente a los virus más virulentos.

El control eficiente de MD requiere del compromiso de diferentes segmentos de la avicultura. Las instituciones de investigación deberán desarrollar el conocimiento básico, nuevas tecnologías y estrategias. Las compañías de genética tendrán que continuar sus esfuerzos para seleccionar pollos con mejor resistencia innata y mejor respuesta a las vacunas. Además, serán las responsables de almacenar y administrar las vacunas de forma apropiada y de aconsejar pautas de manejo a los productores. Las empresas de biológicos serán las responsables de desarrollar la nueva generación de vacunas.

Las perspectivas en el control futuro de MD parecen por tanto muy buenas. Se sabe qué es lo que hay que hacer y se tienen las herramientas para llevarlo a cabo. La realidad sin embargo no es tan optimista. MD no es una enfermedad que actualmente esté produciendo problemas en aquellos países que invierten en investigación, y por lo tanto no es una enfermedad prioritaria y hay pocos recursos para investigar sobre ella. Debido al coste bajo de la enfermedad, no resulta rentable para las compañías financiar líneas de investigación y desarrollo o invertir en mejorar resistencia genética o buscar nuevas vacunas. Finalmente, es posible que algunas de las herramientas para el control de MD, como es el caso de los pollos transgénicos, no sean aceptadas nunca por el consumidor.

Parece pues que el futuro en el control de MD dependerá de cómo evolucione el MDV. Si la incidencia de MD permanece insignificante es poco posible que se intente desarrollar nuevas estrategias de control y en ese caso se podría considerar que el sistema actual de control es suficientemente eficaz. Si MDV sigue evolucionando hacia formas más virulentas será necesario el desarrollo de nuevas formas de control como se ha indicado en este trabajo. Sólo cabe esperar que de ser así todavía quede personal especializado y suficientes recursos para una respuesta apropiada.

Referencias

1. **Ameli, H., J. S. Gavora, J. L. Spencer, and R. W. Fairfull.** 1992. Genetic resistance to two Marek's disease viruses and its relationship to production traits in chickens. *Canad.J.Anim.Sci.* **72**:213-225.
2. **Bacon, L. D., H. D. Hunt, and H. H. Cheng.** 2001. Genetic resistance to Marek's disease, p. 121-142. *In* K. Hirai (ed.), *Current Topics in Microbiology and Immunology*. Springer-Verlag, Berlin.
3. **Bacon, L. D., and R. L. Witter.** 1993. Influence of B-haplotype on the relative efficacy of Marek's disease vaccines of different serotypes. *Avian Dis.* **37**:53-59.
4. **Bacon, L. D., R. L. Witter, and R. F. Silva.** 2001. Characterization and experimental reproduction of peripheral neuropathy in White Leghorn chickens. *Avian Pathol.* **30**:487-499.
5. **Baigent, S. J., and F. Davison.** 2004. Marek's disease virus: biology and life cycle, p. 62-77. *In* F. Davison and N. Venugopal (ed.), *Marek's disease: An evolving pathogen*. Elsevier, Compton.
6. **Benton, W. J., and M. S. Cover.** 1957. The increased incidence of visceral lymphomatosis in broiler and replacement birds. *Avian Dis.* **1**:320-327.
7. **Biggs, P. M.** 1961. A discussion on the classification of the avian leucosis complex and fowl paralysis. *Brit.Vet.J.* **117**:326-334.
8. **Biggs, P. M., H. G. Purchase, B. R. Bee, and P. J. Dalton.** 1965. Preliminary report on acute Marek's disease (fowl paralysis). *Vet.Rec.* **77**:1339-1340.
9. **Biggs, P. M., R. J. Thorpe, and L. N. Payne.** 1968. Studies on genetic resistance to Marek's disease in the domestic chicken. *Brit.Poult.Sci.* **9**:37-52.
10. **Bublot, M., and J. M. Sharma.** 2004. Vaccination against Marek's disease, p. 168-185. *In* F. Davidson and N. Venugopal (ed.), *Marek's disease: An evolving problem*. Elsevier, Compton.
11. **Buscaglia, C., J. L. Garbi, and M. Risso.** 1996. Studies of Marek's disease vaccination failures in Argentina. II part, p. 442-447. *In* R. F. Silva, H. H. Cheng, P. M. Coussens, L. F. Lee, and L.

- F. Velicer (ed.), Current Research on Marek's Disease. American Association of Avian Pathologists, Inc., Kennett Square, Pennsylvania.
12. **Calnek, B. W., and R. L. Witter.** 1997. Marek's disease, p. 369-413. *In* B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, L. R. McDougald, and Y. M. Saif (ed.), Diseases of Poultry, 10th ed. Iowa State University Press, Ames.
 13. **Campbell, J. G.** 1956. Leucosis and fowl paralysis compared and contrasted. *Vet.Rec.* **68**:527-528.
 14. **Campbell, J. G.** 1961. A proposed classification of the leucosis complex and fowl paralysis. *Brit.Vet.J.* **117**:316-325.
 15. **Churchill, A. E.** 1968. Herpes-type virus isolated in cell culture from tumors of chickens with Marek's disease. I. Studies in cell culture. *J.Natl.Cancer Inst.* **41**:939-950.
 16. **Churchill, A. E., and P. M. Biggs.** 1968. Herpes-type virus isolated in cell culture from tumors of chickens with Marek's disease. II. Studies in vivo. *J.Natl.Cancer Inst.* **41**:951-956.
 17. **Churchill, A. E., R. C. Chubb, and W. Baxendale.** 1969. The attenuation with loss of oncogenicity of the herpes-type virus of Marek's disease (Strain HPRS-16) on passage in cell culture. *J.Gen.Virol.* **4**:557-564.
 18. **Cui, X., L. F. Lee, R. W.M., and S. M. Reddy.** 2003. Presented at the XIII Congress of the World Veterinary Poultry Association, Denver, 2003.
 19. **Cui, Z., Z. Zhang, S. Jiang, and J. Zhou.** 2003. Presented at the XIII Congress of the World Veterinary Poultry Association, Denver.
 20. **Davidson, I., Y. Weisman, S. Perl, and M. Malkinson.** 1998. Differential diagnosis of two paralytic conditions affecting young chickens with emphasis on PCR findings. *Avian Path.* **27**:417-419.
 21. **Eidson, C. S., R. K. Page, and S. H. Kleven.** 1978. In vivo and in vitro studies on the effect of gentamicin sulfate on the efficacy of the turkey herpesvirus vaccine. *Poult.Sci.* **57**:1519-1525.
 22. **Fabricant, C. G., D. P. Hajjar, H. K. Mishra, and J. Fabricant.** 1981. Herpesvirus infection enhances cholesterol and cholesteryl ester accumulation in cultured arterial smooth muscle cells. *Amer.J.Pathol.* **105**:176-184.
 23. **Gimeno, I. M., H. D. Hunt, R. L. Witter, U. Neumann, R. M. Reddy, and R. F. Silva.** 2003. Presented at the XIII Congress of the World Veterinary Poultry Association, Denver.
 24. **Gimeno, I. M., R. L. Witter, A. M. Fadly, and R. F. Silva.** 2005. Novel criteria in the diagnosis of Marek's disease. *Avian Pathology in press.*
 25. **Gimeno, I. M., R. L. Witter, H. D. Hunt, S. M. Reddy, and W. M. Reed.** 2003. Biocharacteristics shared by highly protective vaccines against Marek's disease. *Avian Pathol.* **33**: 59-68.
 26. **Gimeno, I. M., R. L. Witter, and W. M. Reed.** 1999. Four distinct neurologic syndromes in Marek's disease: Effect of viral strain and pathotype. *Avian Diseases* **43**:721-737.
 27. **Jungherr, E., and L. Dmochowski.** 1959. The Avian Leukosis Complex, p. 393-442. *In* H. E. Biester and L. H. Schwarte (ed.), Diseases of Poultry, 4 ed. Iowa State University Press, Ames.
 28. **Karpathy, R. C., G. A. Firth, and G. A. Tannock.** 2002. Derivation, safety and efficacy of a Marek's disease vaccine developed from an Australian isolate of very virulent Marek's disease virus. *Aust.Vet.J.* **80**:39-44.
 29. **Karpathy, R. C., G. A. Firth, and G. A. Tannock.** 2003. Field evaluations of safety and efficacy of an Australian Marek's disease vaccine. *Aust.Vet.J.* **81**:222-225.
 30. **Kross, I.** 1996. Isolation of highly lytic serotype 1 Marek's disease viruses from recent field outbreaks in Europe, p. 113-118. *In* R. F. Silva, H. H. Cheng, P. M. Coussens, L. F. Lee, and L. F. Velicer (ed.), Current Research on Marek's Disease. American Association of Avian Pathologists, Inc., Kennett Square, Pennsylvania.
 31. **Marek, J.** 1907. Multiple Nervenentzündung (Polyneuritis) bei Hühnern. *Deut.Tierarztl.Woch.* **15**:417-421.
 32. **Morgan, R. W., J. Gelb, Jr, C. S. Schreurs, D. Luttkick, J. K. Rosenberger, and P. J. A. Sondermeijer.** 1992. Protection of chickens from Newcastle and Marek's diseases with a recombinant herpesvirus of turkeys vaccine expressing the Newcastle disease virus fusion protein. *Avian Dis.* **36**:858-870.
 33. **Morgan, R. W., Q. Xie, J. L. Cantello, A. M. Miles, E. L. Bernberg, J. Kent, and A. Anderson.** 2001. Marek's disease virus latency, p. 223-244. *In* K. Hirai (ed.), Current Topics in Microbiology and Immunology. Springer-Verlag, Berlin.
 34. **Nazerian, K., R. L. Witter, L. F. Lee, and N. Yanagida.** 1996. Protection and synergism by recombinant fowl pox vaccines expressing genes from Marek's disease virus. *Avian Dis* **40**:368-376.
 35. **Okazaki, W., H. G. Purchase, and B. R. Burmester.** 1970. Protection against Marek's disease by vaccination with a herpesvirus of turkeys. *Avian Dis.* **14**:413-429.
 36. **Payne, L. N., and P. M. Biggs.** 1967. Studies on Marek's disease. II. Pathogenesis. *J.Natl.Cancer Inst.* **39**:281-302.
 37. **Rispens, B. H., J. Van Vloten, N. Mastenbroek, H. J. L. Maas, and K. A. Schat.** 1972. Control of Marek's disease in the Netherlands. I. Isolation of an avirulent Marek's disease virus (strain CVI 988) and its use in laboratory vaccination trials. *Avian Dis.* **16**:108-125.
 38. **Schat, K. A., B. W. Calnek, and J. Fabricant.** 1982. Characterization of two highly oncogenic strains of Marek's disease virus. *Avian Pathol.* **11**:593-605.

39. **Schat, K. A., and C. J. Markowski-Grimsrud.** 2001. Immune responses to Marek's disease virus infection, p. 91-120. *In* K. Hirai (ed.), *Current Topics in Microbiology and Immunology*. Springer-Verlag, Berlin.
40. **Sharma, J. M., and B. R. Burmester.** 1982. Resistance to Marek's disease at hatching in chickens vaccinated as embryos with the turkey herpesvirus. *Avian Dis.* **26**:134-149.
41. **Silva, R. F., B. Lupiani, and S. M. Reddy.** 2002. The effect of deleting or inverting the 132 base pair repeats in a pathogenic MDV. *Workshop on molecular pathogenesis of Marek's disease and Avian Immunology*:49.
42. **Spencer, J. L.** 2001. Presented at the XII International Congress of the World Poultry Association, Cairo.
43. **Spencer, J. L.** In press. Public health implications related to spread of pathogens in manure from livestock and poultry operations. Humana Press, Totowa, New Jersey.
44. **Spencer, J. L., J. S. Gavora, A. A. Grunder, A. Robertson, and G. W. Speckmann.** 1974. Immunization against Marek's disease: Influence of strain of chickens, maternal antibody and type of vaccine. *Avian Dis.* **18**:33-44.
45. **Tischer, B. K., D. Schumacher, M. Beer, J. Beyer, J. P. Teifke, K. Osterrieder, V. Zelnik, F. Fehler, and N. Osterrieder.** 2002. Efficacy of a BAC DNA vaccine against Marek's disease. *Workshop on molecular pathogenesis of Marek's disease and Avian Immunology*:46.
46. **Venugopal, K., A. P. Bland, L. J. N. Ross, and L. N. Payne.** 1996. Pathogenicity of an unusual highly virulent Marek's disease virus isolated in the United Kingdom, p. 119-124. *In* R. F. Silva, H. H. Cheng, P. M. Coussens, L. F. Lee, and L. F. Velicer (ed.), *Current Research on Marek's Disease*. American Association of Avian Pathologists, Kennett Square, PA.
47. **Witter, R. L.** 1991. Attenuated revertant serotype 1 Marek's disease viruses: safety and protective efficacy. *Avian Dis.* **35**:877-891.
48. **Witter, R. L.** 1998. Control strategies for Marek's disease: a perspective for the future. *Poult Sci* **77**:1197-1203.
49. **Witter, R. L.** 1997. Increased virulence of Marek's disease virus field isolates. *Avian Dis.* **41**:149-163.
50. **Witter, R. L.** 1992. Influence of serotype and virus strain on synergism between Marek's disease vaccine viruses. *Avian Pathol.* **21**:601-614.
51. **Witter, R. L.** 1982. Protection by attenuated and polyvalent vaccines against highly virulent strains of Marek's disease virus. *Avian Pathol.* **11**:49-62.
52. **Witter, R. L.** 1988. Very virulent Marek's disease viruses: importance and control, p. 92-97, *Proceedings of the 18th World's Poultry Congress*, Nagoya, Japan.
53. **Witter, R. L., and A. M. Fadly.** 1980. Characteristics of some selected Marek's disease virus field isolates, p. 181-191. *In* P. M. Biggs (ed.), *Resistance and Immunity to Marek's disease*. Commission of the European Communities, Luxembourg.
54. **Witter, R. L., I. M. Gimeno, W. M. Reed, and L. D. Bacon.** 1999. An acute form of transient paralysis induced by highly virulent strains of Marek's disease virus. *Avian Dis.* **43**:704-720.
55. **Witter, R. L., K. Nazerian, H. G. Purchase, and G. H. Burgoyne.** 1970. Isolation from turkeys of a cell-associated herpesvirus antigenically related to Marek's disease virus. *Amer.J.Vet.Res.* **31**:525-538.
56. **Zanella, A., and F. Lombardini.** 1996. Marek's disease in Italy: current strategies for control, p. 104-112. *In* R. F. Silva, H. H. Cheng, P. M. Coussens, L. F. Lee, and L. F. Velicer (ed.), *Current Research on Marek's Disease*. American Association of Avian Pathologists, Inc., Kennett Square, Pennsylvania.
57. **Zhang, Y., and J. M. Sharma.** 2001. Early posthatch protection against Marek's disease in chickens vaccinated in ovo with a CVI988 serotype 1 vaccine. *Avian Diseases* **45**:639-645.