

LA ENFERMEDAD DE MAREK

M.V.Z., M.S. K. A. Schat* y M.V.Z., J. GONZÁLEZ DEL ÁNGEL

*Departamento de Virología,
Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, SAG.
México, D.F.*

I.	Introducción	298
II.	Historia y clasificación	298
III.	Patología	299
IV.	Virología	300
	1. Aislamiento e identificación del agente causal	300
	2. Virus Herpes de pavo	301
	3. Cepas del virus de la enfermedad de Marek	302
	4. Susceptibilidad de los cultivos celulares	302
	5. Susceptibilidad <i>in vivo</i>	304
	6. Antígenos virales y anticuerpos	305
	7. Propiedades físicas y bioquímicas del VEM	306
	8. Reproducción <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	308
V.	Epizootiología	309
	1. Distribución de la enfermedad	309
	2. Trasmisión	310
	3. Factores predisponentes del huésped	311
	a) Edad y sexo	311
	b) Anticuerpos maternos	312
	c) Constitución genética	312
	4. Factores predisponentes del virus	312
	5. Factores predisponentes del ambiente	313
	a) Estado de tensión	313
	b) Asociación con otras enfermedades	313
	c) Alimentación	313

* Nueva Dirección: Department of Avian Diseases. New York Veterinary College. Cornell University., Ithaca, N.Y. E.U.

VI. Patogenia	314
1. Desarrollo de la viremia y de Ins antígenos	314
2. Desarrollo de las lesiones	314
3. Origen de las células en los linfomas	315
4. Mecanismo en la proliferación celular	315
VII. Prevención	
1. Casetas con aire filtrado	316
2. Desarrollo de líneas resistentes	316
3. Vacunación	317
a) Tipos de vacunas	317
b) Las cepas atenuadas	317
c) Virus apatógeno	317
d) Virus Herpes de pavo	318
e) Comparación de las tres vacunas	319
f) Mecanismo de protección	319
g) Futuro de las vacunas	320
4. Prevención y tratamiento mediante drogas	322
Referencias	322

I. Introducción

La enfermedad de Marek (EM) es un padecimiento de las aves que se caracteriza por tumores linfoides, parálisis de las patas o de las alas y por una difusión rápida en la parvada. Su importancia económica es considerable; en los Estados Unidos de Norteamérica se ha establecido que hay una pérdida anual de 150 millones de dólares (1).

Desde 1967 se sabe que el agente causal es un virus del grupo Herpes, que fácilmente se puede propagar *in vitro*. A partir del aislamiento del virus se han logrado progresos en su virología, patogenia, epizootiología y prevención. En esta revisión de la literatura nos limitaremos principalmente a esos aspectos, los lectores que requieran una información más amplia acerca de la patología deberán consultar algunas revisiones recientes (21, 49).

II. Historia y clasificación

En 1907, Marek (130) describió por primera vez en Hungría una enfermedad en las aves caracterizada clínicamente por parálisis

de las patas, alas y ocasionalmente de la molleja. Después se confirmó la existencia de este cuadro clínico en diferentes países del mundo, como en Holanda (229), Estados Unidos (163) y Japón (86). Además de las lesiones descritas se mencionó que en cierto número de los casos también se encontraron tumores linfoides en los ovarios (163).

En 1941, se inició la confusión sobre el concepto que se tenía de la EM, ya que en esa época no se distinguía de la leucosis, otra enfermedad tumoral de las aves, que según Jungherr (112) era causada por el mismo agente. La confusión aumentó después de la publicación en Benton y Cover (17) los que informaron de una enfermedad con tumores en las vísceras, piel y músculos en combinación con los síntomas clásicos de la EM, padecimientos que dieron en llamar linfomatosis visceral y que ocurre en pollos más jóvenes que los afectados por la leucosis aviar.

Subsecuentemente muchos autores hicieron diferentes cuadros de clasificación de las enfermedades tumorales de las aves, notándose claramente una divergencia de conceptos. El primer grupo, entre ellos Sevoian (199), decía que las dos enfermedades, la leucosis aviar y la enfermedad de Marek, tenían la misma etiología. El segundo pensó que existían dos etiologías diferentes, entre los que se encontraba Biggs (18, 19), quien propuso nombrar este padecimiento enfermedad de Marek. Posteriormente denominó como EM clásica a aquella que produce parálisis, como EM aguda a la enfermedad reportada por Benton y Cover (20).

III. Patología

La EM aparece generalmente entre las 6 y 20 semanas de edad, tanto en razas ligeras como pesadas. Se pueden encontrar 4 tipos de la EM; la forma clásica o nerviosa, visceral o aguda, ocular y cutánea. En la necropsia la EM aguda se caracteriza por los tumores en los órganos abdominales, como son el hígado, bazo, riñón, ovario o testículo, páncreas, proventrículo e intestinos, en los órganos torácicos como el corazón y pulmón. También se pueden encontrar tumores en los músculos del pecho y muslos. Microscópicamente se observa una infiltración de linfocitos de diferentes tamaños en donde predominan los pequeños linfocitos, muchos de ellos en estado degenerativo, se puede encontrar también las células típicas de la EM y células plasmáticas. La EM clásica se caracteriza por producir lesiones en los nervios tales como aumento de tamaño, pérdida de

las estrías transversales y cambio de coloración que va del blanco normal al gris amarillento. Histológicamente se observa una infiltración de linfocitos, la cual puede ser de dos tipos; una caracterizada por una infiltración linfocitaria pleomórfica y proliferativa. En el segundo tipo existe una ligera infiltración de pequeños linfocitos y células plasmáticas generalmente con edema interneural. En ambos tipos se puede encontrar desmielinización y degeneración de los axones.

La lesión neural también puede estar presente en la EM aguda. La EM cutánea se detecta normalmente en el rastro y presenta engrosamiento de los folículos y cambio del color de la piel. En los folículos se observa en la histopatología una degeneración celular de los estratos intermedios y germinativo.

IV. Virología

1. Aislamiento e identificación del agente causal

En 1967, Churchill y Biggs (61) aislaron un virus en células renales de pollo (CRP), que causó un efecto citopático (ECP) discreto, el cual consistió de células refractarias y redondas. Las células afectadas perdieron ocasionalmente el contacto con el monoestrato. Independientemente en los Estados Unidos se aisló un virus en fibroblastos de embrión de pato (FEPA) a partir de sangre de pollos enfermos. El ECP observado se caracterizó por focos de células refractarias que contienen células gigantes multinucleares, así como células triangulares con largas protrusiones (152, 214). Ambos grupos de investigadores informaron que el virus fue estrictamente asociado a las células y que las pirimidinas halogenadas inhibieron su crecimiento; estos factores indicaron que se trataba de un virus Herpes del grupo B. Todos los virus Herpes del grupo B se caracterizan por su asociación a las células, dentro de este grupo se encuentran otros virus oncogénicos, tales como el virus "Ebstein-Barr" y el virus "Lucké de la rana". Por otra parte, Wildly (231) rechazó la división del grupo Herpes en dos subgrupos: el que produce virus libre de células (VLC) *in vitro* y que no produce este tipo de virus, debido a que este fenómeno depende de los cultivos utilizados, como sucede con el virus de la EM (VEM), el que puede producir pequeñas cantidades de VLC en cultivos de fibroblastos de embrión de pollo (FEPO), pero no en FEPA (141). También la cepa puede causar diferencias en la cantidad de VLC producido.

Mediante los estudios de microscopía electrónica de cultivos celulares se observó la presencia de partículas virales desnudas que son típicas para una de las fases de crecimiento del virus Herpes (87, 147). Aunque los investigadores lograron aislar un virus Herpes, faltó la prueba definitiva para comprobar que este virus era el agente causal, ya que la reproducción de la EM solamente se logró inoculando pollitos con células intactas, lo que contrastó con la diseminación rápida de la EM en el campo. Todos estos acontecimientos llenos de interrogantes se esclarecieron con la detección de antígenos en las células del epiteliofolicular de las plumas (43) y subsecuentemente la extracción del virus completo e infeccioso a partir de estas células, con este VLC se reprodujo fácilmente la EM (42,153).

Por otra parte, solamente algunos investigadores han encontrado partículas virales en las células transformadas (48, 143, 225), mientras que otros han reportado la ausencia del virus en estas células tumorales (5, 51, 155, 198). Aunque sí se detectaron partículas virales en las células renales de origen epitelial (198). Finalmente, Nazerian *et al.*, (150) demostraron la presencia de ácido desoxiribonucleico(ADN) viral en el ADN celular aún en ausencia de partículas virales, comprobando que el virus se encuentra presente en las células tumorales como provirus.

Todas estas investigaciones indican que solamente el virus Herpes es el responsable de la EM. Por otra parte, existen informes de que se han aislado otros virus a partir de pollos afectados por la EM, como el virus sincitial del pollo (68), el cual se ha comprobado ser apatógeno (235). Recientemente, un grupo de investigadores (94, 174) informó que el virus asociado a Rous-2 (VAR-2) juega un papel importante en el desarrollo de tumores en la EM, llegando a la conclusión de que la cepa GA del VEM necesita la presencia del VAR-2 para inducir tumores. Pero esto no ha sido confirmado por otros investigadores.

2. *Virus Herpes de pavo (VHP).*

Durante los mismos años que se aisló el VEM, dos grupos de investigadores encontraron un virus Herpes asociado a las células en pavos sanos. Uno de ellos (117) halló ECP en cultivos de células renales de pavos. El otro grupo (237) aisló el mismo tipo de virus, después de haber inoculado sangre de pavos en FEPA y CRP. Este virus, muy similar al VEM es aparentemente apatógeno para pollos y pavos (232, 243) aunque recientemente se informó

que el VHP puede causar ligeras lesiones en los nervios de pollos altamente susceptibles para la EM (21). El VHP posee casi la misma estructura antigénica del VEM, sin embargo, se puede distinguir con facilidad entre los dos en los cultivos celulares. El VHP produce placas más grandes, crece más rápido y produce mayor cantidad de VLC que el VEM. Otras características del VHP serán descritas en la sección sobre VEM.

3. Cepas del virus de la enfermedad de Marek

Se conocen diferentes cepas del VEM, las que podemos dividir en tres grupos: patógena, poco patógena y apatógena. Las cepas patógenas producen la EM aguda, como ejemplos tenemos las cepas JM y GA. Existen otras, normalmente poco patógenas, que producen las lesiones en los nervios, como la cepa HPRS-14.

Rispens *et al.*, fueron los primeros en informar sobre la existencia de cepas naturalmente apatógenas (188), posteriormente se han encontrado más cepas apatógenas (26, 55, 196). Hasta la fecha no se han podido encontrar marcadores que permitan determinar *in vitro* la patogenicidad de una cepa. Se han observado ciertas diferencias, pero algunos de estos estudios fueron realizados con virus purificados. Se ha reportado que la pérdida del antígeno "A" corresponde a la pérdida de la patogenicidad (62), sin embargo, existen cepas apatógenas con el antígeno A (26, 189). También se sabe de la existencia de un virus patógeno, una clona de la cepa GA, que no posee el antígeno A (179). Mediante estudios de inmunofluorescencia se han detectado diferencias entre cepas patógenas y atenuadas. Cuando se atenúa una cepa, el antígeno localizado en la membrana se pierde, así como la capacidad de teñir las células alrededor de los ECP (52, 145). Biggs y Milne (26) han observado que las cepas apatógenas producen placas más chicas que las cepas patógenas, mientras otros investigadores encontraron lo contrario (56, 194), aunque no utilizaron CRP como en el trabajo de Biggs y Milne. Recientemente, se informó que una clona de la cepa GA puede producir virus completo en FEPA, este virus se encontró en gran cantidad en el medio (125).

4. Susceptibilidad de los cultivos celulares

El VEM crece en diferentes tipos de cultivos celulares de origen aviar entre los que podemos mencionar cultivos celulares preparados a partir de pollo, ganso y codorniz (180). Con respecto a las

células de pollo no se han detectado diferencias de susceptibilidad, las líneas de pollos susceptibles o las de pollos resistentes a la EM (207, 215). Los primeros trabajos desarrollados con el objeto de investigar si el VEM o el VHP crecían en cultivos celulares de mamíferos fueron negativos (46, 88, 132, 204). Recientemente se informó que tanto el VHP como el VEM, ya sea asociado o libre de las células, es capaz de multiplicarse en los cultivos primarios de riñón de hámster y cuye (12, 13, 14, 15). Después fue publicada una investigación sobre el crecimiento del VEM en cultivos renales y en células epiteliales de vejiga de hámster (84). Estos resultados no han sido confirmados por otros (104, 241). Witter y Sharma (241) reportaron que el VEM asociado a las células y el VHP asociado a las células sobrevivieron 10 pases en cultivos celulares de riñón de hámster, sin embargo el crecimiento del virus se limitó a las células de origen aviario empleadas en el inoculum.

El tipo de ECP que se produce al inocular el VEM es en general, independiente del tipo de células utilizadas. Sin embargo, pueden existir algunas diferencias según la cepa y tipo de células empleadas. Bajo una capa de agar el ECP es tridimensional (217): y el uso de bact-oagar con DEAE-dextrán o agar noble aumenta el tamaño de las placas (34, 194).

La diseminación del virus en los monoestratos no se realiza por el VLC, el mecanismo más probable son los puentes de unión temporal entre las células (103). Aunque el VEM se encuentra estrictamente asociado a las células, Nazerian (141) observó que los FEPO producen pequeñas cantidades de virus libre de células. También se puede obtener VLC por destrucción de FEPO en agua desmineralizada (69) o mediante congelación y descongelación en un medio conteniendo 10% de Dimetil Sulfóxido (133). Los mejores resultados se obtuvieron mediante un tratamiento ultrasónico de las células en SPGA (45). El título del VLC se aumentó considerablemente por la adición de 0.2% de EDTA al medio, esto posiblemente se deba a que hay un mejor contacto entre las partículas virales y las células de FEPO (2). Este efecto no se encontró en el caso del VHP en su forma VLC.

El embrión de pollo también es susceptible al VEM al ser inoculado por vía del saco vitelino o por la membrana corionalantoidea, en donde el virus produce placas (25, 32, 33). Cuando los embriones han sido inoculados en la cavidad alantoidea, se observan lesiones tales como esplenomegalia con focos blandos de células reticulares proliferativas y focos necróticos en el hígado (90).

5. Susceptibilidad *in vivo*

El principal huésped del VEM es el pollo y aunque se ha encontrado una resistencia genética al desarrollo de las lesiones de la EM el virus se multiplica en todas las líneas. Se ha observado la presencia de lesiones semejantes a las de la EM en otras especies de aves, sin embargo, en estas ocasiones se realizaron solamente estudios patológicos. En Inglaterra (27) y en Holanda (228) se informó sobre la existencia de una enfermedad tumoral en pavos, la cual producía lesiones histológicas similares a la EM. Sin embargo, no se comprobó que esta enfermedad haya sido causada por un virus asociado con el VEM. Por otro lado, en los EUA, recientemente se aisló un virus a partir de pavos con tumores que no se pueden distinguir del VEM, con el cual se reprodujo la enfermedad tanto en pavos como en pollos (245). Un trabajo interesante al respecto fue realizado por Paul *et al.*, (167), quienes aislaron el virus de reticuloendoteliosis a partir de una parvada de pavos, la cual presenta tumores en diferentes órganos macroscópicamente difíciles de diferenciar de la EM. Los mismos autores mencionaron la reproducción de la EM en pavos con la cepa GA (168). También se ha logrado reproducir la EM en codornices (73), aunque otros han reportado que las codornices son refractarias a la infección (49). Schat *et al* (197) no detectaron anticuerpos ni virus de la EM en una parvada de codornices, en la cual se han presentado casos de tumores similares a los producidos por EM. También se pueden infectar patos, en donde se desarrollan anticuerpos y viremia, pero los patos no se enferman (10).

Los trabajos encaminados a reproducir el VEM o VHP en mamíferos, tales como ratas, hámster y diferentes razas de monos han sido negativos (49, 104, 189, 211). Los estudios epidemiológicos realizados en poblaciones humanas que están en contacto con las aves y aquellas que no están en contacto con esta bioindustria indicaron que no existe relación entre la presentación de tumores en humanos y el contacto con el VEM (176). Existen informes en donde se menciona la presencia de anticuerpos contra el VEM de bajos títulos en humanos, sin embargo es posible que se trate de reacciones cruzadas con el virus de Epstein Barr y otros tipos de virus Herpes (139, 140,210). En resumen hasta la fecha no existe evidencia de que el VEM o el VHP puede ser un problema para la salud pública.

6. Antígenos virales y anticuerpos

El aislamiento del VEM permitió desarrollar técnicas por medio de las cuales se puede detectar la presencia de antígenos y anticuerpos. La primera técnica utilizada fue la de difusión en gel de agar, empleando como antígeno células de riñón de pollo previamente infectadas con una gran dosis del virus y posteriormente destruidas mediante congelación y descongelación. En los cultivos que han sido infectados con el VEM, se pueden detectar por lo menos tres tipos de antígenos: el A, el B y el C. El primero es el antígeno soluble, que se detecta en el medio de los cultivos celulares (58) y que puede desaparecer durante el proceso de atenuación.

La purificación del antígeno A obtenido en FEPA reveló que se compone de una glucoproteína con un peso molecular de 75 000 a 90000 daltons y punto isoeléctrico entre pI 4.5 y 5.5 (191). Onuma *et al.*, (161) encontraron que el antígeno común del VEM que sería idéntico al antígeno A, tiene un peso molecular de 46000 ± 8000 daltons, con un punto isoeléctrico de 4.5. Las diferencias entre los antígenos encontrados por ambos grupos de investigadores pudieron haberse debido a que en la multiplicación del virus realizado por Onuma *et al.*, (161) se hizo en fibroblastos de embrión de codorniz. Estos autores creen que el antígeno común es una glucoproteína, que forma parte de la membrana exterior de la partícula viral. El mismo tipo de antígeno se puede extraer de las células del epitelio folicular de las plumas (43, 161).

Otra técnica para detectar antígeno y anticuerpo del VEM es la inmunofluorescencia (4, 177, 188, 219) en donde se usan como antígeno los cultivos celulares u órganos de pollos infectados. Inicialmente se detectaron tres tipos de antígenos, dos de ellos localizados en el citoplasma celular, uno con un aspecto granular y el otro de carácter difuso y el tercero en el núcleo (151, 177). Los estudios combinados de inmunofluorescencia y microscopía electrónica confirman que únicamente las células que contienen partículas virales son positivos a la inmunofluorescencia, pero los antígenos no correspondieron siempre a partículas virales (4, 151). Posteriormente se localizó un antígeno en la superficie de la membrana celular (52), se cree que este antígeno está relacionado con la proteína estructural del virus (148).

Desde que Calnek *et al.*, (42) descubrieron el método para extraer el virus libre de las células de la piel, surgió la posibilidad de aplicar la prueba de virus neutralización, tanto *in vitro* como *in*

vivo (41). El VHP se puede utilizar para detectar anticuerpos neutralizantes del VEM, la mezcla del virus y suero se incuba durante 30 minutos a 37°C (131). Los anticuerpos neutralizantes son diferentes a los anticuerpos precipitantes (40).

Se ha encontrado que existe otra clase de antígenos, como las aglutininas, que son detectadas mediante las pruebas de hemoaglutinación directas o indirectas (81, 248), otro antígeno es el que reacciona en la fijación de complemento (100). Con respecto a las aglutininas, Payne and Rennie (171) informaron haberlas encontrado tanto en los pollos infectados como en los pollos no infectados con el VEM.

Recientemente se encontró un antígeno extraído de tumores que es una glucoproteína, producido por el VEM tanto *in vitro* como *in vivo*, similar a los antígenos tumorales producidos por algunas formas de cáncer humano (127, 128).

Existen algunas reacciones cruzadas entre el VEM y otros virus del grupo Herpes, entre los que podemos mencionar el virus Epstein Barr, el virus del tumor Lucké de la rana, la pseudorrabia, el virus Herpes simplex tipo 1 y 2 (89, 160, 192, 205). Posiblemente el VEM y estos virus contienen un antígeno común, típico del grupo Herpes (120). Hasta la fecha aún no se ha observado ninguna relación antigénica entre los diferentes virus Herpes que afectan a las aves y el VEM a excepción del VHP (182).

7. Propiedades físicas y bioquímicas del VEM

Hasta la fecha existe poca información con respecto a las propiedades físicas tanto del VEM como del VHP, esto es consecuencia de la dificultad para obtener el virus en su forma libre de células. El VEM es susceptible al éter, formol (144) y a la tripsina (Schat, no publicado). La temperatura óptima para su crecimiento es de 39°C., el virus es poco estable a 25°C. y se inactiva a 4°C. en 24 horas (41, 144). Todos estos datos de la viabilidad del virus contrastan con su resistencia e infectividad en condiciones del campo (11,44, 113).

El VEM en su forma libre de células sedimenta con facilidad por centrifugación a 2000 g., en el sobrenadante el título se reduce hasta en un 51 % (131), mientras que a 5000 g., durante una hora no se encuentra virus en el sobrenadante, debido a que tiene la tendencia de hacer grumos, por lo tanto, antes de titular el VLC se

debe dispersar por sonicación durante 45 segundos (144). El virus no resiste un pH menor de 4 ni mayor de 10, pero es resistente al proceso de congelación y descongelación durante tres veces, así como al tratamiento ultrasónico durante 5 minutos (41).

Con respecto al ADN se ha determinado que tiene un peso molecular de 1.2×10^8 daltons (9, 124) y el caso de la cepa GA una densidad de flotación de 1.706 gr/cm^3 conteniendo un 46% de guanina y citosina (G + C) por mol., (36). Estos datos fueron confirmados con una purificación de la cepa GA (124). Los estudios realizados con la cepa JM atenuada han reportado resultados diferentes, inicialmente se informó que el ADN de esta cepa tenía una densidad de flotación de 1.716 gr/cm^3 con contenido de 56 a 57% mol de(G + C) (126). Posteriormente se dijo que tenía los mismos valores de la cepa. GA (9, 124). El ADN del VEM está formado por una doble cadena que contiene porciones en donde sólo se observa una cadena sencilla, semejando roturas que no son un producto del proceso de transformación del ADN (9). Con respecto al VHP se informó que tiene una densidad de flotación de 1.716 gr/cm^3 con un G + C de 56 a 57% mol., (114).

Chen *et al.*, (63) analizaron las proteínas estructurales del VEM y encontraron 8 proteínas virales (PV): PV I hasta PV (VIII). Las PV I y II forman la parte más importante con 35% del total, mientras que las PV V, VI y VIII se encuentran en un 33%. Las PV II y IV contienen glucosamina, que forma una parte de las glucoproteínas del virus. La PV I es comparable con la proteína estructural de mayor importancia de otros virus del grupo Herpes como el virus Herpes simple (162) y el virus de la pseudorrabia (212).

La estructura del VEM fue recientemente revisada por Nazerian (144) parece ser igual a cualquier otro virus del grupo Herpes. El cápside tiene un diámetro de 90 a 100 nm con 162 capsómeros situados en simetría icosaédrica. El núcleo viral es pleomórfico y mide de 40 a 50 nm, los capsómeros son huecos y miden $6 \times 9 \text{ nm}$. En el caso que la partícula viral contenga una cápsula el diámetro es de 220 a 250 nm, con prolongaciones en la superficie. La ultraestructura del VHP es semejante al VEM con la excepción de que contiene formaciones en el núcleo de una cruz (114, 149). Según informaciones recientes del núcleo del VEM contiene una estructura central que conecta los dos polos del cápside, mientras que el ADN se encuentra alrededor de esta estructura (146), posiblemente explicando las formaciones en cruz.

8. Reproducción *IN VIVO* e *IN VITRO*

Cuando se aísla el virus a partir de la sangre de pollos, normalmente se tarda entre 6 y 9 días para producir un ECP. Debido al carácter de asociación del virus a las células se conoce muy poco acerca del ciclo de crecimiento *in vitro*. El virus asociado a las células necesita 30 minutos para que un 50% del virus penetre a las células, mientras que el virus restante puede tardar en entrar hasta 192 horas (60, 206). En el caso de VLC del VEM más de la mitad del virus penetra en 30 minutos (144). El VEP en su forma libre de células entra en su totalidad en unas dos horas (164).

Para su multiplicación *in vitro* el aminoácido arginina es esencial para el crecimiento, ya que la ausencia de arginina inhibe la formación de las proteínas estructurales del virus (134).

El virus produce policariocitosis con formación de corpúsculos de inclusión del tipo A en el núcleo, que según estudios autorradiográficos corresponden con el sitio de la síntesis del ADN (159). Los corpúsculos de inclusión se detectan también en los núcleos de las células del epitelio folicular de las plumas en donde se encuentran partículas virales completas. Los cuerpos de inclusión localizados en el citoplasma solamente se observan en las células del epitelio folicular de las plumas que también contienen partículas virales completas (14, 143, 152). Los corpúsculos en el citoplasma se pueden detectar también en cultivos de células renales preparadas con ñones de pollos enfermos (198). El nucleocápside adquiere la membrana viral de la membrana interna del núcleo, formando vesículas en el núcleo que contienen las partículas virales completas (153). Generalmente sólo se encuentran algunas vacuolas con el virus en el citoplasma y no se sabe por qué el virus completo es incapaz de salir del núcleo de las células. Davis y Sharma (72) observaron que el virus degenera en el citoplasma.

También existen indicaciones que el virus puede obtener su membrana externa a partir del retículo endoplasmático (72, 143), estas partículas son más grandes que aquellas que reciben su membrana en el núcleo.

Recientemente, Hamdy *et al.*, (101) informaron que es posible detectar el antígeno de la fijación de complemento 5 horas post infección (PI), mientras que a las 8 horas PI ya hay partículas de 35 nm, que probablemente corresponden al ADN ensamblado. A las 10 horas pi aparecen los nucleocápsides, mientras que hasta las 18 horas es posible detectar las primeras partículas virales completas.

In vivo se pueden detectar los antígenos en diferentes órganos 5 días PI, pero únicamente en las células del epitelio folicular de las plumas aparecen grandes cantidades de virus completo y virus incompleto (3, 175). En pollitos susceptibles y libres de anticuerpos precipitantes se hallaron partículas virales completas y cuerpos de inclusión en el citoplasma de las células del timo (95).

La reproducción del virus en las células del epitelio folicular de las plumas únicamente se localiza en el tercer y cuarto estrato de células epiteliales junto al estrato córneo de la epidermis, durante el proceso de maduración del virus las células epiteliales degeneran (142). Las células germinativas del folículo se observan aparentemente normales y sin virus. El proceso de reproducción en la bolsa, aunque incompleto, causa degeneración en este órgano. En otros tejidos el virus puede existir en una forma incompleta sin causar degeneraciones. La reproducción del VHP en pavos es básicamente igual a la del VEM en pollos (239).

V. Epizootiología

1. Distribución de la enfermedad

La EM en su forma aguda se conoce a la fecha en todo el mundo, especialmente en aquellos países en donde la avicultura se explota en forma intensiva. Antes de haberse descubierto la vacuna, la tasa de mortalidad en las parvadas iban del 10 al 30% y en ocasiones llegaban a alcanzar hasta un 60%. La forma aguda de la enfermedad se presentó por primera vez en los EUA en 1956 (17). Subsecuentemente se propagó a otros países y además de atacar a gallinas ponedoras también empezó a producir problemas en el pollo de engorda, en México, Cruz *et al.*, (70) informaron que durante el periodo comprendido entre los años de 1970 y 1974 los decomisos por EM aumentaron siete veces. Esta misma situación se presentó en los EUA en donde los decomisos por EM aumentaron quince veces de 1960 a 1970 (233).

Existen muchas interrogantes con respecto a la variación de la patogenicidad sufrida por el VEM puesto que de ser una enfermedad de poca importancia, que produce generalmente ligeras lesiones en las aves afectadas, pasó a ser en pocos años uno de los primeros obstáculos de la avicultura. Existen algunas teorías que tratan de explicar esta situación. Una de ellas dice que el virus ha sufrido mutaciones, otra señala que las explotaciones intensivas han

traído como consecuencia un cambio radical en el manejo, y la tercera posibilidad indica que las nuevas líneas desarrolladas pueden ser más susceptibles a la EM.

La infección con el VEM casi siempre está presente en las parvadas, mientras que dentro de una granja la mayoría de los pollos están infectados o han tenido contacto con el virus (29, 58, 110). También se ha encontrado el virus en pollos de monte en Malaya (230) y en pollos criollos de Kenia (135) y Nigeria (246).

En el capítulo referente a la virología se mencionó que existen cepas con diferentes grados de patogenicidad, sin embargo poco se conoce sobre la distribución de los diferentes tipos de virus. Se pueden observar diferencias en la mortalidad por EM no sólo en una misma granja, sino también dentro de una caseta (23, 39). No se sabe si las diferencias se deban a la interferencia viral de cepas con diferentes grados de patogenicidad o si otros factores desconocidos juegan un papel importante. La presencia de la enfermedad en una granja depende del virus que infecta los pollitos. Normalmente la infección se establece en las primeras semanas de vida de las aves (23, 236). Una vez iniciada la infección persiste durante todo el tiempo que se mantiene la parvada y en muchos de los pollos persistirá toda su vida (244).

2. Transmisión

Por años no se supo la forma de transmisión, Cole y Hutt (66) informaron que no había evidencia de la transmisión vertical, mientras otros notaron que sí fue transmitido por el huevo (37). Estos informes se dificultaron en su interpretación, ya que en esta época no se diferenció la EM de la leucosis aviar. Sevoian (206) aisló el VEM, a partir del tejido embrionario inoculado en aves susceptibles, así como a partir de semen de gallos infectados (201). Sin embargo, el número de experimentos fue pequeño y el autor no consideró de importancia la transmisión vertical.

Por otra parte, Rispens *et al.*, (188, 189) informaron por primera vez que no fue posible detectar virus o anticuerpos fluorescentes en pollos criados en unidades de aislamiento, descendientes de padres que estaban infectados con el VEM. Tampoco fue posible de aislar el agente causal a partir de pollitos de un día de edad. Después, Solomón *et al.*, (215) trataron de aislar el VEM a partir de embriones de 16 días de edad, el 70% de los embriones eran productos de ponedoras con viremia. También cultivaron células de riñón de pollo

de un día de edad sin detectar en ninguna de sus pruebas la presencia del VEM. Estas publicaciones indican claramente que no existe transmisión vertical o que es de poca importancia.

Para buscar la fuente de transmisión se trató de infectar pollos con heces, hisopos tomados de la boca o nariz (118, 235). Los resultados fueron positivos pero fallaron con el líquido sobrenadante del material obtenido con el hisopo de la boca (118). Otra fuente es la cama de los pollos, se pensó en la posibilidad de que los escarabajos que viven en la cama (*Alphitobius diaperinus*) transmitan el virus (82), pero después se encontró que la ausencia o presencia de escarabajos no tenía influencia en la transmisión de la enfermedad (234). Se encontró que el polvo presente en las casetas es infectante durante 44 días (113), después la infectividad va a disminuir (11). Otros científicos también lograron transmitir la EM con descamación de piel. Con el hallazgo de que el pollo produce, el virus infeccioso en las células del epitelio folicular de las plumas se apoyó a estos estudios y se esclareció la transmisión por aerosoles, como había sido reportado anteriormente (67, 203). Con respecto al VEP se sabe que existe transmisión horizontal en los pavos y de éstos a los pollos (242, 243). La transmisión de pollo a pollo es muy rara y solamente parece ser posible en pollos muy susceptibles y libres de anticuerpos maternos (57). Hasta la fecha no se ha observado la transmisión del VHP en los huevos de pavos (66). La producción de virus completo en pavos se realiza en las células del epitelio folicular de las plumas, como sucede con el VEM en los pollos (239).

3. Factores predisponentes del huésped

a) Edad y sexo

Vielitz y Landgraf informaron que hay una íntima relación entre la edad de los pollos y la resistencia a la EM (226). Los estudios realizados en pollos SPF revelaron que los pollos eran más resistentes al desarrollo de lesiones, cuando se infectaron a las 12 semanas de edad o más (22, 61) aunque pollos infectados a una mayor edad presentaban viremia (6).

El mecanismo por medio del cual la edad interviene como factor importante para la presentación de la EM aún no se conoce, sin embargo se piensa que posiblemente hay una regresión de las lesiones (209, 240). Aparentemente la edad es un factor que contri-

buyó a la resistencia genética del ave contra la EM. Los pollos genéticamente resistentes no presentan lesiones, independientemente de la edad de infección, sucede lo contrario en las líneas susceptibles a la EM (204).

Se ha observado que las hembras generalmente son más susceptibles a la EM que los machos, pero en la actualidad tampoco se sabe cuál sea la causa (137, 178).

b) Anticuerpos maternos

Bajo las condiciones de campo las gallinas transmiten a los pollitos a través del huevo anticuerpos maternos contra la EM, que los protegen en forma parcial contra la infección (59, 222). En los pollitos sin anticuerpos maternos la infección con el VEM puede producir lesiones degenerativas, especialmente en la bolsa de Fabricio causando mortalidad temprana (39, 111). Bajo la influencia de los anticuerpos maternos la viremia después de la infección no tiene un desarrollo tan rápido ni tan intenso.

c) Constitución genética

Desde 1947 (108) se conoce que existen líneas resistentes y líneas susceptibles a la EM. Esto fue confirmado después mediante pruebas de selección bajo desafío constante (64, 65, 223). Parece que la resistencia contra la EM es dominante, proviniendo de un número de genes relativamente bajo (224). Por otra parte otros investigadores no han observado una relación entre el cruzamiento de líneas y la resistencia obtenida (102).

Calnek (49) informó que existen diferencias en la producción de anticuerpos neutralizantes entre pollos de líneas susceptibles y líneas resistentes, además de que estos anticuerpos determinan que el pollo puede sobrevivir una infección, estos resultados fueron confirmados por otros autores (106, 107).

4. Factores predisponentes del virus

Como fue mencionado anteriormente, el tipo de virus que infecta al pollo determina si el pollo se enferma o no. Cuando entra primero una cepa apatógena el pollo queda protegido contra una superinfección con una cepa virulenta.

5. Factores predisponentes del ambiente

4) Estado de tensión

El estado de tensión, por ejemplo, el corte del pico y movimiento de pollo afecta el desarrollo de la EM. Gross (99) encontró también que algunas líneas de aves producían una gran cantidad de esteroides que las hacen más susceptibles a la EM. La incidencia de lesiones por EM se redujo con un bloqueador de esteroides, obtenido de las glándulas adrenales.

b) Asociación con otras enfermedades

Desde hace mucho tiempo se ha pensado que la coccidiosis tema influencia sobre la presentación de la EM (24, 119). Sin embargo actualmente se sabe que la presencia de la EM en una parvada trae como consecuencia una baja de la resistencia de las aves a la coccidiosis. Se ha observado que la vacunación contra la EM puede disminuir la incidencia de la coccidiosis (Rispen, comunicación personal).

Se ha encontrado que la presencia del agente causal de la bursitis infecciosa hace que el VEM se manifieste en forma más virulenta (54). La infección con el VEM o el VHP disminuye la respuesta de producción de anticuerpos contra *Mycoplasma sinoviae*, sin que ésta determine que los pollos sufran más lesiones en los sacos aéreos (121).

La vacunación simultánea con las vacunas contra la EM y de la enfermedad de Newcastle (31) no influye sobre el desarrollo de inmunidad contra ambas enfermedades. Por otra parte, cuando se vacuna contra la EM y viruela al mismo tiempo la vacunación contra la EM no produce suficiente protección (98).

e) Alimentación

Se ha publicado que algunos ingredientes presentes en el alimento pueden influir en el desarrollo de las lesiones de la EM. Se ha encontrado que un exceso de vitamina A, en ocasiones, es responsable de lesiones más graves (129). También se ha demostrado que la adición de penicilina puede influir en el desarrollo de lesiones (136). Por último, se informó en Florida, EU., que la presencia de aflatoxina B₁ constituye un factor desencadenante de la EM (74).

VI. Patogenia

1. Desarrollo de la viremia y de los antígenos

Como se explicó en el capítulo de epizootiología, se cree que el virus penetra en el ave por vía respiratoria. Sin embargo, hasta la fecha este aspecto no ha sido estudiado a fondo. Phillips y Biggs (175) encontraron que el virus puede estar presente entre el primer día y los 4 días PI en el pulmón y en los órganos linfoides, estos órganos son los principales sitios de multiplicación, y principalmente el bazo. Se ha observado que las células alveolares fagocitarias del pulmón captan las partículas virales (3). Según estos investigadores los sitios principales de multiplicación son el timo, bazo y bolsa de Fabricio. Ambos grupos concuerdan en que posteriormente los linfocitos transportan el virus a otros órganos y que durante este periodo no se detecta VLC, además coincidieron en que antes de los 14 días el título del virus llega a su máximo.

Después de este periodo de 15 días, el título del virus disminuye, pero en los leucocitos circulantes la infección viral persiste durante toda la vida del ave (244), también se mantienen títulos elevados del virus asociado a las células en el pulmón, bazo, hígado y en los linfomas (244). Los anticuerpos maternos son importantes en el desarrollo de la viremia, ya que reducen el número de células infectadas, así como la distribución de virus en los tejidos (39).

2. Desarrollo de las lesiones

El desarrollo de las lesiones en la EM depende de la presencia de anticuerpos maternos. Cuando el pollo no tiene este tipo de anticuerpos, la infección puede causar lesiones degenerativas en el riñón, bolsa de Fabricio y otros órganos, lesiones en donde se pueden observar corpúsculos de inclusión en los núcleos de las células afectadas (39, 97, 111), los que pueden causar la muerte del ave entre los 10 y 17 días PI.

Cuando el ave nace con anticuerpos, lo que es común en condiciones de campo, la fase degenerativa puede pasar desapercibida. Bajo estas condiciones las primeras lesiones se caracterizan por la presencia de células mesenquimatosas primitivas (202), las que al proliferar se transforman en linfomas, causando la muerte del ave. Estas lesiones se pueden comparar con las lesiones de tipo A presentes en los nervios (170), que también son del tipo proliferativa.

Posteriormente se pueden detectar en los nervios, lesiones del tipo B o inflamatorias.

3. Origen de las células en los linfomas

Aunque se sabe que el VEM puede afectar la competencia inmunológica del sistema reticuloendotelial y especialmente de la bolsa y el timo (35, 172, 181), todavía no existe una prueba definitiva de que en estos lugares se inicie la transformación de las células.

Casi nunca se detectan lesiones proliferativas en estos órganos. Algunos trabajos han indicado que no es posible evitar la EM por medio de la bursectomía (35, 91, 172), resultados que no concuerdan con trabajos anteriores, en que se mencionó un incremento de la EM (138) o una disminución de la misma (93). Estos resultados diferentes posiblemente son debidos a una bursectomía incompleta. Tampoco se puede prevenir por completo el desarrollo de la EM por medio de timectomía (Payne y Rennie, datos no publicados, citado en 169). Este tratamiento en aves susceptibles disminuye el número de linfomas y de lesiones linfoproliferativas en los nervios, por otra parte, este tratamiento en pollos resistentes aumentó el número de linfomas. Histológicamente los linfomas presentan una estructura muy complicada con diferentes tipos de células. Últimamente se encontró que en los linfomas existen células de la bolsa (células B) y células del timo (células T) (173). Los estudios de inmunofluorescencia indican que los linfomas están formados por un 80% de células T y un 20% de células B (109). Los resultados concuerdan con los trabajos realizados con antisueros contra las células T y B (193). Estas investigaciones indican que el timo es un órgano muy importante en la patogenia de la EM.

4. Mecanismo en la proliferación celular

Existen dos hipótesis que tratan de explicar cuál es el estímulo de la proliferación. La primera teoría indica, que la proliferación se inicia por estímulos intrínsecos, queriendo decir que dichos estímulos se encuentran dentro de la célula, por ejemplo, que el virus dentro de la célula transforma las características biológicas de la misma, adquiriendo la capacidad de ser neoplásica. Uno de los hechos que contradicen esta hipótesis es que es difícil de demostrar la presencia del virus en células linfomatosas, aunque estas células pueden infectar pollitos. Por otra parte, pudiera ser que el genoma del virus

estuviera presente, idea que fue apoyada al detectar el virus en los linfocitos, después de haber sido transformados por fitohemaglutininas (50). Otra evidencia es el hallazgo de provirus en los linfomas (150). Se ha sugerido que se trata de una enfermedad autoinmune lo que apoya la hipótesis de los estímulos intrínsecos (193).

La segunda hipótesis dice que los estímulos llegan del exterior de las células. Según esta teoría la proliferación de los linfocitos sería causada por un antígeno tal como pueden ser células infectadas, virus libres de células o antígenos originados por el huésped. Sin embargo, ambas teorías aún no han sido confirmadas y por lo tanto, no se puede decir cuál de las dos explique el mecanismo de proliferación.

VII. Prevención

1. Casetas con aire filtrado

Con el conocimiento de que la transmisión del VEM se realiza por aerosoles se empezó a mantener los pollos en casetas ventiladas con aire filtrado bajo presión positiva. Se observó que pollos de engorda mantenidos durante las primeras tres semanas bajo estas condiciones tenían un decomiso menor por EM, que pollos mantenidos en casetas convencionales (7). El tipo de filtro utilizado necesita de un poder de retención por lo menos del 93 % para partículas de 300 micras (38), resultados confirmados por Calnek y Hitchner (44), quienes además recomendaron una desinfección adecuada aplicando amonio cuaternario, iodo orgánico o sosa en combinación con una fumigación con formol.

2. Desarrollo de líneas resistentes

Tal como se discutió anteriormente, se pueden desarrollar líneas resistentes. Sin embargo, con la introducción de las vacunas, este aspecto de control de la EM ha pasado a segundo término. Por otro lado los resultados preliminares indican que tanto en el pollo de engorda como en la polla para la producción de huevo se pueden obtener líneas resistentes sin que se reduzcan las cualidades económicamente importantes (96, 122).

3. Vacunación

a) Tipos de vacunas

Se han desarrollado tres tipos de vacunas, una de ellas preparada a partir del VHP, mientras que las otras se han elaborado a partir del VEM, ya sea mediante cepas atenuadas o cepas de campo naturalmente apatógenas. El VHP se utiliza en dos tipos de vacunas: la vacuna congelada con virus asociado a las células y la vacuna liofilizada o libre de células. Todas las vacunas se necesitan aplicar al primer día de edad por vía intramuscular o subcutánea.

b) Las cepas atenuadas

Churchill *et al.*, (62) lograron atenuar la cepa HPRS-16 del VEM mediante pases en cultivos celulares y pollos. La cepa atenuada (HPRS-16 Att.) perdió el antígeno A y la capacidad de difundir de pollo a pollo. Al ser inoculada en los pollos los protegía contra la EM cuando los pollos se desafiaron entre las 2 y las 4 semanas después de la vacunación (63). Los resultados obtenidos en las pruebas de campo fueron satisfactorias (22, 28). No se encontraron diferencias entre el peso de los pollos controles y de los vacunados a las 4 y 16 semanas de edad, pero a las 8 semanas de edad los pollos vacunados pesaron más que los controles (22). También la producción de huevo fue mejor en las gallinas vacunadas, pero por otra parte estas pollas consumieron más alimento. Spencer *et al.*, (221) inmunizaron diferentes líneas de pollos con la cepa atenuada BC-1, cuando se vacunó a los 23 días de edad todos los pollos quedaron protegidos, pero en cambio, si vacunaba los pollitos entre el primero y segundo día de edad había variaciones en la protección. Los pollos de líneas más susceptibles recibieron menos protección. Posteriormente estos investigadores publicaron que cuando los pollitos tienen anticuerpos maternos, la vacuna hecha a partir de una cepa atenuada no protege en una forma efectiva (220). Blaxland *et al.*, (30) utilizaron una cepa apatógena, sin embargo esta cepa fue atenuada artificialmente y perdió el antígeno A y su capacidad de transmitirse de pollo a pollo.

e) Virus apatógeno

Esta vacuna fue desarrollada en Holanda por Ripens *et al.*, (187, 189, 190). La cepa apatógena se aisló a partir de una parvada sana

y sin historia de la EM. Este virus posee el antígeno A y se transmite de pollo a pollo. Por lo último, este tipo de vacuna se puede utilizar, en principio, para vacunaciones parciales. Los resultados obtenidos con la vacunación del 10% de la parvada dependen mucho de las condiciones prevalentes en la granja, debido a que se necesitan de 4 a 5 semanas para que los pollos vacunados por contacto queden protegidos (184). Ese periodo se puede acortar si se vacunan pollitos de un día de edad (aproximadamente el 10% del total de los pollos que se van a introducir a la granja) y 3 semanas más tarde se introduce el resto de la parvada de un día de edad en las mismas casetas. Estos pollitos se vacunan por contacto al mezclarse con los pollos vacunados (187). En general los pollitos vacunados con este tipo de vacuna resisten el desafío poco después de haber sido vacunados (187, 196). Zander *et al.*, (249) utilizaron como vacuna la sangre de pollos SPF, previamente infectados con una cepa apatógena, obteniendo buenos resultados. En pollos de engorda ellos aplicaron la vacuna al uno por ciento de la parvada e introdujeron el resto de la parvada 1 a 2 semanas después con el resultado de una disminución considerable en el número de decomisos por EM (248).

d) Virus Herpes de pavo

Hasta la fecha se utiliza en mayor escala la vacuna elaborada a partir de la cepa FC 126 del VHP (156), pero se han obtenido los mismos resultados al utilizar otras cepas del VHP (16, 75). Originalmente se utilizó únicamente la vacuna congelada, pero después de que se publicó el método para obtener el VHP liofilizada (45) se inició el uso de este tipo de vacuna.

Los primeros informes de que esta cepa protegía satisfactoriamente a las aves contra la exposición de cepas patógenas de 2 a 3 semanas después de la vacunación, datan de 1970 (75, 156). En las pruebas del campo también se observó que confería buena protección (76, 123, 154, 182 entre otros). El uso de la vacuna retarda la aparición de la viremia y reduce la multiplicación del VEM (183). Se ha observado mediante pruebas que duraron 18 meses, que la protección conferida por la vacuna persiste durante toda la vida comercial del ave. Las gallinas vacunadas alcanzan en menos tiempo el 50% de producción de huevo y lograron una mayor producción de huevo en comparación con gallinas no vacunadas (185).

En las pruebas de campo realizadas en pollos de engorda se ha mencionado que no únicamente se reducen los decomisos por la

EM, si no que también hay mayor ganancia de peso, mejor conversión de alimento y mayor viabilidad del pollo (78, 154). Por otra parte, estos efectos no han sido observados en Europa (Krasselt, comunicación personal).

Con respecto a la vacuna liofilizada de VHP se dijo que los anticuerpos maternos contra VHP pueden interferir en el desarrollo de una buena inmunidad (47, 165). Sin embargo, otros no han encontrado problemas de este tipo (80, 227), bajo condiciones de campo estos anticuerpos aparentemente no juegan un papel importante (16, 71, 79). Una unidad infecciosa es la dosis necesaria para inducir viremia, que se puede detectar después de 6 días (165, 250), pero bajo las condiciones del campo se necesita aumentar considerablemente las dosis para evitar problemas. Las fallas que se presentan en la vacunación no son causadas por posibles cepas del VEM antigénicamente diferentes, sino por aplicación de dosis bajas, mala técnica de inyección o la entrada precoz de virus muy patógeno, antes de que se haya establecido la inmunidad (158).

e) Comparación de las tres vacunas

Las cepas apatógenas del VEM dan mejores resultados que las vacunas del tipo VHP bajo condiciones de desafío por contacto precoz, después de la vacunación (189, 196). Por otra parte, las cepas del VEM atenuadas no son tan eficaces como el VHP (30, 187). En Holanda, los avicultores prefieren vacunar a sus aves con cepas apatógenas, no obstante que la vacuna elaborada a partir del VHP es un poco más económica que la cepa vacunal holandesa (8).

f) Mecanismo de protección

En la actualidad el mecanismo de protección no ha sido aclarado. Se sabe que las vacunas reducen la incidencia de lesiones pero no previenen la viremia y la producción de virus infectante (77, 157). La protección se obtiene poco después de la vacunación prácticamente antes de que existan anticuerpos neutralizantes. Se informó que los pollos bursectomizados, incapaces de producir anticuerpos humorales, resistieron el desafío después de haber sido vacunados con una cepa atenuada del VEM (85). La hipótesis para aclarar el mecanismo de protección fue, que el timo y sus derivados linfoides pueden ser responsables de una inmunidad a nivel celular. Por otra parte se reportó que los pollitos bursectomizados con cyclophospha-

mida (CP) no resistieron un desafío 3 semanas después de haber sido vacunados con el VHP (186). Los autores no excluyeron la posibilidad que el CP haya afectado también el tejido del timo, pero la más probable es que el tratamiento eliminó la producción de anticuerpos, que actúan contra las células tumorales o células infectadas con el virus. Hong y Sevoian (105) mencionaron que el interferón inducido por el VHP en pollitos puede ser el responsable de una rápida protección. Por otra parte, algunos investigadores no encontraron al VHP capaz de inducir interferon *in vivo* (116) e *in vitro* (115, 195).

Otro posible mecanismo de protección es la interferencia viral, tal como fue propuesto por Ripens *et al.*, (188), después Smith y Calnek sugirieron que esta interferencia puede ser responsable de la protección, basada en sus experimentos con cepas patógenas y apatógenas (213).

g) Futuro de las vacunas

Uno de los inconvenientes de las vacunas existentes es su alto costo en relación con las demás vacunas para aves, esto es debido al carácter de asociación del virus a las células, lo que limita la obtención de títulos elevados. Otra de las razones que encarece el producto es su conservación en nitrógeno líquido, que fue solucionado con la introducción de las vacunas liofilizadas de VHP. Sin embargo su estabilidad es relativamente baja, además se pierde bastante virus durante el proceso de liofilización.

Otro inconveniente es la aplicación por inyección, a lo que todavía no existe alternativa. Eidson mencionó durante el XV Congreso Mundial de Avicultura en Nueva Orleans (1974) haber obtenido resultados positivos con una aplicación por aspersión utilizando el VHP. Por otra parte Krasselt (comunicación personal, 1974) y Caughy (comunicación personal, 1975) no observaron ninguna protección en pollitos vacunados con aerosoles de VHP. Schat, González y Solórzano (datos no publicados) observaron que el VHP sobrevivió al proceso de aspersión positiva con DEe Vilbiss No. 15 y en nebulizador No. 40 *in vitro*. Se obtuvieron resultados con el VEM, cepa PA-3, al usar el aspersor De Vilbiss No.15. La solución del costo de producción y el método de aplicación serán metas por alcanzar en beneficio de la avicultura.

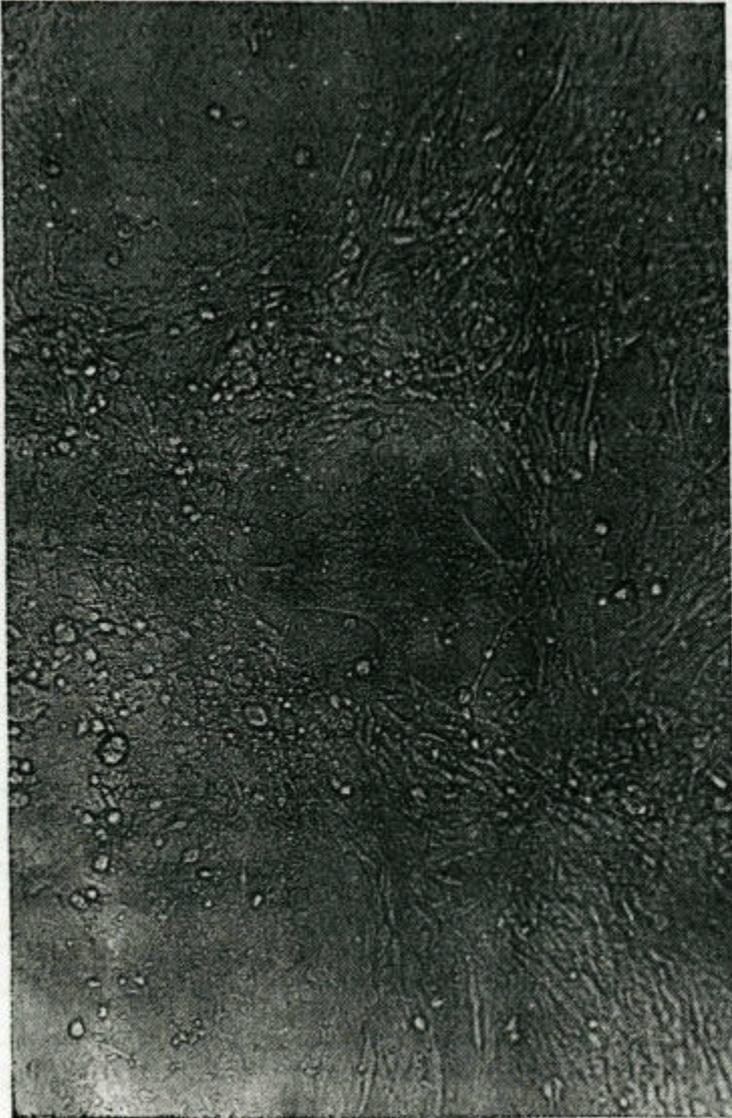


FIG. 1 Efecto citopático de una cepa (PA-5) del virus de la enfermedad de Marek en fibroblastos de embrión de pato.

4-. Prevención y tratamiento mediante drogas

Aunque muchos investigadores han realizado estudios con drogas antivirales, hasta la fecha se han obtenido pocos resultados. Una de las sustancias con acción antiviral es el Virazole (1-B-D-ribofuranoryl-1,2,4-, -trazole-3, carboxamide), que, *in vitro*, inhibe a diferentes grupos de virus, entre los que se encuentran miembros del grupo Herpes (216). Stein *et al.*, citado en 83) reportaron que el componente P-amino-P-ureidodiphenyl sulfone (AUS) redujo la mortalidad y las lesiones de la EM al utilizarse en el alimento al 0.002%. Recientemente se informa del afecto del Virazole y del AUS *in vitro* e *in vivo* contra la cepa GA del VEM. Se observó que el Virazole fue efectivo contra el VEM *in vitro*, su aplicación *in vivo*: disminuyó la presencia de tumores en los pollos, con el inconveniente de que se necesita aplicar un gran número de dosis. Se confirmó que el AUS en el alimento a una concentración de 0.002% es muy efectivo contra la EM (83). Estos conocimientos todavía no tienen aplicación en el campo, debido al hecho de que este tratamiento es más costoso y es menos efectivo que el uso de las vacunas.

REFERENCIAS

1. AAAP Report, Report of the American Association of Avian Pathologists Sponsored Leucosis Workshop. *Avian Dis.* 11: 694-702, 1968.
2. Adldinger, H. K., and Calnek B. W. An improved *in vitro* assay for cells-free Marek's disease virus. *Arch. ges Virusforsch.* 34: 391-395; 1971.
3. Adldinger, H. K., and Calnek, B. W. Pathogenesis of Marek's disease: Early distribution of virus and viral antigens in infected chickens. *J. Natl. Cancer Inst.* 50: 1287-1298, 1973.
4. Ahmed, M., Jensen, K. E., Slattery, S. M., Leech, T. B., and Schidlovsky, G. Detection of Marek's disease herpesvirus antigen by fluorescent and coating antibody. *Avian Dis.* 14: 349-363, 1970.
5. Ahmed, M., and Schidlovsky, G. Electron microscopic localization of herpesvirus type particles in Marek's disease. *J. Virol.* 2: 1443-1457, 1968.
6. Anderson, D. P., Eidson, C. S., and Richey, D. J. Age susceptibility of chickens to Marek's disease. *Am. J. Vet. Res.* 32:935-938. 1971.
7. Anderson, D. P., King, D. D., Eidson, C. S., Kleven, S. H. Filtered positive pressure (F APP) brooding of broiler chickens *Avian Dis.* 16: 20-26. 1972.
8. Anon. Dutch pharmaceutical company developed a new vaccine against Marek's disease. *Agric. Newsl. Netherlands.* 8: 4-5, 1974.
9. Bachnheimer, S. L., Kieff, E. O., Lee, L. F., and Roizan, B.

- Comparative studies of DNAs of Marek's disease and herpes simplex viruses. In: *Oncogenesis and herpesviruses*. Ed: P.M. Biggs, G. de Thé, and L.N. Payne. Int. Ag. Cancer Res. Lyon. pp. 74-81, 1972.
10. Baxendale, W. Preliminary observations on Marek's disease. in ducks and other avian species. *Vet. Rec.* 85:341-342, 1969.
 11. Brasley, J. N., Patterson, L. T., and McWade, D. H. Transmission of Marek's disease by poultry house dust and chicken dander. *Am. j. Vet. Res.* 31 :339-344, 1970.
 12. Bedigian, H. G., and Sevoian, M. Susceptibility of mammalian (hamster) cell culture to infection with herpesvirus of turkeys. *Appl. Microbiol.* 24:275-280, 1972.
 13. Bedigian, H. and Sevoian, M. Susceptibility of mammalian (hamster) cells culture to infection with cellular and cell-free type II leukosis (Marek's disease) virus. *J. Natl. Cancer Inst.* 50: 129-135, 1973.
 14. Bedigian, H. G., and Sevoian, M. Susceptibility of guinea pig cultures to infection with cell-bound and cells-free herpesvirus of turkeys. *Infect. Immunol.* 8:482-487, 1973.
 15. Bedigian, H. G., and Sevoian, M. Susceptibility of guinea pig cell cultures to infection with cell-bound and cell-free Marek's virus (JM strain). *Avian Dis.* 17:816-823, 1973.
 16. Bengelsdorff, von H-J., Keller, A. L., und Bernhardt D. Wirksamkeitsprüfungen von Vaccinen gegen die Marek'sche Krankheit. *Dtsch. Tierarztl. Wschr.* 80:417-120, 1973.
 17. Benton, W. J., and Cover, M. S. The increased incidence of visceral Lymphomatosis in broiler and replacement birds. *Avian Dis.* 1: 320-327, 1957.
 18. Biggs, P. M. A discussion on the classification of the avian leukosis complex and fowl paralysis. *Brit. Vet. J.* 117:326-334, 1961.
 19. Biggs, P. M. Some observations on the properties of cells prior to the lesions of Marek's disease and Lymphoid leukosis. *Proc. 13th. Symposium Colston Res. Soc. Bulterworth's Scient. Publ. Lond.* 83, 1962.
 20. Biggs, P. M. Avian transmissible tumors. *World Vet. Poultry Ass. III International Congress.* Paris. 61, 1965.
 21. Biggs, P. M. Marek's disease. In: *The Herpesviruses*. Ed. A. S. Kaplan. Academic Press. New York. 557-594, 1973.
 22. Biggs, P. M., Jackson, C. A. W., Bells, R. A., Lancaster, F. M. and Milne B. S. A vaccination study with an attenuated Marek's disease virus. In: *Oncogenesis and herpesviruses*. Ed P.M. Biggs, G. de-Thé and L. N. Payne. Int. Ag. Cancer Res. Lyon. 139-146, 1972.
 23. Biggs, P.M., Jackson, C. A. W., Powell, D. F. The epizootiology of Marek's disease 2. The effect of supply flock, house and production house on the incidence of Marek's disease. *Avian Path.* 2: 127-134, 1973.
 24. Biggs, P. M., Long., P. L. Kenzy, S. G., and Rootes, D. G. Relationship between Marek's disease and coccidiosis I. The effect of Marek's disease on the susceptibility of chickens to coccidial infection. *Vet. Rec.* 83: 284-289, 1968.
 25. Biggs, P. M., and Milne, B. S. Use of the embryonating egg in studies on Marek's disease. *Am. f. Vet. Res.* 32: 1795,1809, 1971.

26. Biggs, P. M., and Milne, B. S. Biological properties of a number of Marek's disease virus isolates In: *Oncogenesis and herpesviruses*. Ed. P. M. Biggs, G. de-Thé, and L. N. Payne. Int. Ag. Cancer. Res. Lyon 88-94, 1972.
27. Biggs, P. M., Milne, B. S., Frazier, J. A., McDougall, I. S., and Stuart, J. C. Lymphoproliferative disease in turkeys. *Proc. XV World Poultry Congress New Orleans*, 55-57, 1974.
28. Biggs, P. L. Payne, L. N., Milne, B. S., Churchill, A. E., Chubb, R. C., Powell, D. G., and Harris, A. H. Field trials with an attenuated cell-associated vaccine for Marek's disease. *Vet. Rec.* 87: 704-709, 1970.
29. Biggs, P. M., Powell, D. G., Churchill, A. E., and Chubb, R. C. The epizootiology of Marek's disease. I. Incidence of antibody, viremia vaccine. *Vet. Rec.* 90:431-437, 1972.
30. Blaxland, J. D., Macleod, A. J., Baxendale, W., and Hall, T. Observations on field trials with an experimental attenuated Marek's disease and Marek's disease in six flocks, *Avian Path.* 1: 5-25, 1972.
31. Box, P. G., Furminger, J. G. S., and Warden, D. Immunization against Newcastle disease in the presence of Marek's disease virus. *Vet. Rec.* 89:475-479, 1971.
32. Bülow, von V. Marek'sche Hühnerlähmung: Reaktionen in experimentell infizierten embryonierten Ei. *Zbl. Vet. Med. B.* 16:97-114, 1969.
33. Bülow, von V. Diagnosis and certain biological properties of the virus of Marek's disease. *J. Am. Vet. Res.* 32: 1275-1288, 1971.
34. Bülow, von V., and Lorenz, R. J. Plaque assay of turkey herpesvirus and attenuated Marek's disease virus. *Zbl. Vet. Med. B.* 20: 161-165, 1973.
35. Burg, R. W., Feldbush, T., Morris, C. A., and Maag, T. A. Depression of thy mus-and bursa-dependent immune systems of chicks with Marek's disease *Avian Dis.* 15: 662-671, 1971.
36. Burg, R. W., Morris, C. A., Adler, S. A., and Maag, T. A. Characterization of DNA synthesized in duck embryo cells infected with the herpes-like virus of Marek's disease. *Bact. Proc.* pp. 170, 1970.
37. Burmester, B. R., Gentry, R. F., and Waters, N. F. The presence of the virus o lymphomatosis in embryonated eggs of normal appearing hens. *Poultry Sci.* 34: 609-617, 1955.
38. Burmester, B. R., and Witter, R. L. Efficiency of commercial air filters against Marek's disease virus. *Appl. Microb.* 23:505-508, 1972.
39. Calnek, B. W. Effects of passive antibody on early pathogenesis of Marek's disease; *Infect. Immunol.* 6: 193-198, 1972.
40. Calnek, B. W. Antibody development in chickens exposed to Marek's disease virus. In: *Oncogenesis and herpesviruses*. Ed. P. M. Biggs, G. de-Thé, and L. N. Payne. Int. Ag. Cancer Res. Lyon. 129-136, 1972.
41. Calnek, B. W. and Adldinger, H. K. Some characteristics of cell-free preparations of Marek's disease virus. *Avian Dis.* 15: 508-517, 1971.
42. Calnek, B. W., Adldinger, H. K., and Kahn, D. E. Feather follicle epithelium: a source of enveloped and infectious cell-free virus from Marek's disease. *Avian Dis.* 14:219-233, 1970.

43. Calnek, B. W., and Hitchner, S. B. Localization of viral antigen in chickens infected with Marek's disease herpesvirus. I *Natl. Cancer Inst.* 43:935-949, 1969.
44. Calnek, B. W., and Hitchner, S. B. Survival and disinfection of Marek's disease virus and the effectiveness of filters in preventing airborne dissemination. *Poultry Sci.* 52: 35-43, 1972.
45. Calnek, B. W., Hitchner, S. B., and Adldinger, H. K. Lyophilization of cell-free Marek's disease herpesvirus and a herpes virus from turkeys. *Appl. Microb.* 20: 723-726, 1970.
46. Calnek, B. W., Madin, S. M., and Kniazeff, A. J. Susceptibility of cultured mammalian cells to infection with a herpesvirus from Marek's disease and T-virus from reticuloendotheliosis of chickens. *Am. J. Vet. Res.* 30: 1403-1412, 1969.
47. Calnek, B. W., and Smith, M. W. Vaccination against Marek's disease with cell-free turkey herpesvirus. Interference by maternal antibody. *Avian Dis.* 16:954-957, 1972.
48. Calnek, B. W., Ubertini, T., and Adldinger, H. K. Viral antigens, virus particles, and infectivity of tissues from chickens with Marek's disease. *J. Nat. Cancer Inst.* 45:341-351, 1970.
49. Calnek, B. W., and Witter, R. L. Marek's disease In: *Diseases of Poultry*. Ed. M. S. Hofstad. *et al.* Iowa State Univ. Pres, Ames, Iowa. 6th. ed 470-502, 1972.
50. Campbell, J. G., and Woode, G. N. Demonstration of a herpes type virus in short term cultured blood lymphocytes associated with Marek's disease. *J. Med. Microbiol.* 3:463-473, 1970.
51. Cauchy, L. La maladie de Marek. Histologie, ultrastructure des cellules et des particules virales. *Ann. Rech. V. étér.* 2: 5-32, 1971.
52. Chen, J. H., and Purchase, H. G. Surface antigens on chick kidney cells infected with the herpes virus of Marek's disease. *Virology.* 40: 410-412, 1970.
53. Chen, J. H., Lee, L. F., Nazerian, K., and Burmester, B. R. Structural proteins of Marek's disease virus. *Virology.* 47: 434-443, 1972.
54. Cho, B. R., Experimental dual infection of chickens with infectious bursal and Marek's disease agents. I. Preliminary observation on the effect of infectious bursal agent on Marek's disease. *Avian Dis.* 14: 665-475, 1970.
55. Cho, B. R., and Kenzy, S. G. Isolation and characterization of an isolate (HN) of Marek's disease virus with low pathogenicity. *Appl. Microb.* 24:299-306, 1972.
56. Cho, B. R., and Kenzy, S. G. Dual infection of chickens with acute and mild strains of Marek's disease herpesvirus. *Avian Dis.* 17: 390395, 1973.
57. Cho, B. R., Kenzy, S. G., and Haider, S. A. Horizontal transmission of turkey herpesvirus to chickens. I. Preliminary observation. *Poultry Sci.* 50: 881-887, 1971.
58. Chubb, R. C., and Churchill, A. E. Precipitating antibodies associated with Marek's disease. *Vet. Rec.* 83: 4-7. 1968.
59. Chubb, R. C., and Churchill, A. E. Effect of maternal antibody on Marek's disease. *Vet. Rec.* 85: 303-305, 1969.

60. Churchill, A. E., Herpes-type virus isolated in cells culture from tumors of chickens with Marek's disease I. Studies in cell culture. *J. Natl. Cancer Inst.* 41: 939-950, 1968.
61. Churchill, A. E., and Biggs, P. M. Agent of Marek's disease in tissue culture. *Nature (Lond)*. 215:528-530, 1967.
62. Churchill, A. E., Chubb, R. C., and Baxendale, W. The attenuation, with loss of oncogenicity, of the herpes-type virus of Marek's disease (Strain BPRS-16) on passage in cell culture. *J. Gen. Virol.*4:557-563, 1969.
63. Churchill, A. E., Payne, L. N., and Chubb, R. C. Immunization against Marek's disease using a live attenuated virus. *Nature (Lond)*. 221: 744-747, 1969.
64. Cole, R. K. Studies on genetic resistance to Marek's disease. *Avian Dis.* 12: 9-28, 1968.
65. Cole, R. K. The genetics of resistance to Marek's disease. In: *Oncogenesis and herpesviruses*. Ed. P. M. Biggs, G. de-Thé, and L. N. Payne. Int. Ag. Cancer Res. Lyon. 123-128, 1972.
66. Cole, R. K., and Bu:!, F. B. Evidence that eggs do not transmit leucosis. *Poultry Sci.* 30:205-212, 1951.
67. Colwell, W. M., and Schmittle, S. C. Studies on acute Marek's. disease. VII Airborne transmission of the GA-isolate. *Avian Dic.* 12: 724-729, 1968.
68. Cook, M. K. Cultivation of a filterable agent associated with Marek'. disease. *J. Natl. Cancer Inst.* 43-203-212, 1969.
69. Cook, M. K. and Sears, j. F. Preparation of infectious cell-free herpes type virus associated with Marek's disease. *J. Virol.* 5: 258-261, 1970.
70. Cruz, A., Mota, R., González, J., Schat, K. A. Importancia económica de la enfermedad de Marek en el Valle de México. *Veterinaria.* 4: en prensa, 1974.
71. Dangschat, von M., Rapp, W., and Bengelsdorff, M. J. Ergebnisse eines vergleichenden Feldversuches mit tiefgefrorener und liophilisierter Putenherpes virus- Vaccine zum Schutz gegen die Marek'sche Krankheit. *Berl. Mùch. Tierärztl. Wschr.* 36:450-453, 1973.
72. Davis, W. C., and Sharma, J. M. Ultrastructural comparison of morphogenesis and fate of Marek's disease and infectious laryngotracheitis viruses in chicken kidney cells. *J. Am. Vet. Res.* 34:873-880, 1973.
73. Dutton, R. L., Kenzy, S. C., and W. A. Becker. Marek's disease in the Japanese quail. (*Coturnix coturnix japonica*). *Poultry Sci.* 52: 193143, 1973 .
74. Edds, G T., Nair, K. P. C., and Simpson, C. F. Effect, of Aflatoxin B1 on resistance in poultry against cecal coccidiosis and Marek's disease. *Am. j. Vet. Res.*, 34: 819-826, 1973.
75. Eidson, C. S., and Anderson, D. P. Immunization against Marek's. disease. *Avian Dis.* 15: 68-81, 1971.
76. Eidson, C. S., Anderson, D. P., Kleven, S. B., and Brown, J. Field trials of vaccines for Marek's disease. *Avian Dis.*, 15: 312-222, 1971.
77. Eidson, C. S., Fletcher, O. J., Kleven, S. B., and Anderson, D. P. Detection of Marek's disease antigen in feather follicle epithelium of

- chickens vaccinated against Marek's disease. *J. Natl. Cancer Inst.*, 47: 113-120, 1971.
78. Eidson, C. S., King, D. D., Connell, H. E., Anderson, D. P., and Kleven, S. H. Efficacy of turkey herpesvirus vaccine against Marek's disease in broilers. *Poultry Sci.*, 52: 1482-1491, 1973.
 79. Eidson, C. S., and Kleven, S. H. Vaccination of chickens against Marek's disease with cell-free herpesvirus of turkeys vaccine. *Am. J. Vet. Res.*, 35: 1449-1453, 1974.
 80. Eidson, C. S., Kleven, S. H., and Anderson, D. P. Efficacy of cell-free and cells-associated herpesvirus turkey vaccines in progeny from vaccinated parent flocks. *Am. J. Vet. Res.*, 34:869-872, 1973.
 81. Eidson, C. S., and Schmittle, S. C. Studies on acute Marek's disease. XII. Detection of antibodies with a tannic acid indirect hemagglutination test. *Avian Dis.*, 13: 774-782, 1969.
 82. Eidson, C. S., Schmittle, S. C., and Goode, R. B., and La!, J. B. Induction of Leukosis tumors with the beetle *Alphitobius diaperinus*. *Am. J. Vet. Res.*, 27: 1053-1057, 1966.
 83. Eidson, C. S., Than, V. T., and Kleven, S. H. *In vitro* and *in vivo* effect of chemotherapeutic agents on Marek's disease herpesvirus of chickens. *Poultry Sci.*, 53: 1533-1538, 1974.
 84. Elliot, A. Y., Stein, N., Fraley, E. E., and Cleveland, P. H. Replication of herpesvirus of turkeys in hamster urogenital cells cultures. *Am. J. Vet. Res.*, 34:427-429, 1973.
 85. Else, R. W. Vaccinal immunity to Marek's disease in bursectomised chickens. *Vet. Rec.*, 95: 182-187, 1974.
 86. Emoto, O., and Myamoto, K. J. Jap. Soc. Vet. Sci. 9:3009. Cited por Kottaridis, S. D. Marek's disease: a review *World's Poultry Sci. J.* 25: 35-45, 1969.
 87. Epstein, M. A., Achong, B. G. Churchill, A. E., and Biggs, P. M. Structure and development of the herpes type virus of Marek's disease. *J. Natl. Cancer Inst.* 41: 805-811, 1968.
 88. Esposito, J., Lukert, P. D., and Eidson, C. S. Marek's disease herpesvirus: growth and detection *in vivo* and *in vitro*. *Am. J. Vet. Res.*, 33: 171-175, 1972.
 89. Evans, D. L., Barnett, J. W., Bowen, J. M., and Dmochowski, L. Antigenic relationship between the herpesvirus of infectious bovine rhinotracheitis. Marek's disease and Burkitt's lymphoma. *J. Virol.*, 10: 277, 1972.
 90. Evans, D. L., Patterson, L. T., and Beasley, J. N. Pathological response of the chicken embryo to an agent which causes acute leukosis (Marek's disease). *Appl. Microb.*, 21 :321-326,1971.
 91. Fernando, W. W. D., and Calnek, B. W. Influence of bursa of Fabricius on infection and pathological response of chickens exposed to Marek's disease herpesvirus. *Avian Dis.*, 15:467-476.
 92. Fletche, O. J., Edison, C. S., and Page, R. K. Pathogenesis of Marek's disease induced in chickens by contact exposure to GA isolate. *Am. J. Vet. Res.*, 32:1407-1416, 1971.
 93. Foster, A. G., and Moll, T. Effect of immunosuppression of clinical

- and pathologic manifestations of Marek's disease in chickens. *Am. J. Vet. Res.* 29: 1831-1835, 1968.
94. Frankel, J. W., Farrow, W. M., Prickett, C. O., Smith, M. E., Campbell, W.F., and Groupé, V. Responses of isolator-derived and conventional chickens to Marek's disease herpesvirus and avian leukosis virus. *J. Natl. Cancer Inst.* 52: 1491-1497, 1974.
 95. Frazier, J. A., and Biggs, P. M. Communication: Marek's disease herpesvirus particles in tissues from chickens free of precipitating antibodies. *J. Natl. Cancer Inst.* 48: 1519-1523, 1972.
 96. Friars, G. W., Chambers, J. A., Kennedy, A., and Smith, A. D. Selection for resistance to Marek's disease in conjunction with other economic traits in chickens. *Avian Dis.* IG:2-10, 1972.
 97. Fujimoto, Y., Okada, K., Kakihata, K., Matsui, T., Narita, M., Onuma, M., and Mikami, T. Initial lesions in chickens infected with JM strain of Marek's disease virus. *Jap. J. Vet. Res.* 22: 80-94, 1974.
 98. Gentry, R. F. interference of Marek's disease immunity following simultaneous application of Marek's disease and fowlpox vaccines *Abstracts AVMA Congress Denver, 136, 1974.*
 99. Gross, W. B. Effect, of social stress on occurrence of Marek's disease in chickens. *Am. J. Vet. Res.* 33:2275-1279, 1972.
 100. Hamdy, F., and Sevoian, M. Complement fixation reaction for the diagnosis of type II avian (Marek's) leukosis. *App/. Microbiol.* 20: 356-361, 1970.
 101. Hamdy, F., Sevoian, M., Holth, S. C. Biogenesis of Marek's disease type II leukosis) virus *in vitro*: electron microscopy and immunological study. *Infect. Immunol.* 9: 740-749, 1974.
 102. Han, P. F. S., Smyth, J.R., Sevoian, M., and Dickinson, F. N. Genetic resistance to leukosis caused by the JM virus in the fowl *Poultry Sci.* 48:76-87, 1969.
 103. Hlozanak, I. The influence of ultraviolet-inactivated Sendai virus on Marek's disease virus infection in tissue culture. *J. gen. Virol.* 9:45-50, 1970.
 104. Hlozanek, I., and Sovova, V. Lack of pathogenicity of Marek's disease herpesvirus and herpes virus of turkeys for mammalian cell cultures. *Folia Biol.* 20:51-58, 1974.
 105. Hong, C. C., and Sevoian, M. interferon production and host resistance to type avian Marek's leukosis virus. (JM strain.) *Appl Microb.* 22: 818-820, 1971.
 106. Hong, C. C., and Sevoian, M. Serologic studies of type II leukosis (Marek's) infection in susceptible (S-line) and resistant (K-line) strains of chickens by indirect hemagglutination test. *Avian Dis.* 16:997-1010, 1972.
 107. Hong, C. C., and Sevoian, M. Serum neutralizing antibody development and host resistance in chickens exposed to Marek's disease infection. *Poultry Sci.* 53:1110-1113, 1974.
 108. Hutt, F. B., and Cole, R. K. Genetic control of lymphomatosis in the fowl *Science.* 106-379-384, 1947.
 109. Hudson, L., and Payne, L. N. Analysis of T and B cells of Marek's disease lymphomas of the chicken. *Nature New Bio/.* 241 :52-53, 1973.

110. Ianconesco, M., and Samberg, Y. Etiological and immunological studies in Marek's disease II. Incidence of Marek's disease precipitating antibodies in commercial flocks and in eggs. *Avian Dis.* 15:177-186, 1971.
111. Jakowski, R. M., Fredrickson, T. N., Chomiak, T. W., Luginbulh, R. E., and Helmboldt, C F. Early changes in bursa of Fabricius from Marek's disease. *Avian. Dis.* 13:215-222, 1969.
112. Jungherr, E., Doyle, P., and Johnson, E. P. Tentative pathologic nomenclature for disease and or for the diagnosis complex variously designated as fowls leucemia, fowl leukosis, etcetera. *Am. J. Vet. Res.*, 2: 116, 1941.
113. Jurajda, V., and Klimes, B. Presence and survival of Marek's disease agent in dust. *Avian Dis.* 14: 188-190, 1970.
114. Kaaden, O., ad Dietzschold, B. Some characteristics of a herpesvirus of turkeys and its DNA in: *Oncogenesis and herpesviruses*. Ed: P.M. Biggs, G. de-Thé and L. N. Payne. Int. Ag. Cancer. Res. Lyon, 82-87, 1972.
115. Kaleta, E. F., and Bankowski, R. A. Production of interferon by the Cal-1 and turkey herpesvirus strains associated with Marek's disease. *Am. J. Vet. Res.* 33:567-571, 1972.
116. Kaleta, E. F., and Bankowski, R. A. Production of circulating and cell-bound interferon by type 1 and type 2 plaque-producing agents of the Cal-1 strain of Marck's disease herpesvirus and herpesvirus of turkeys. *Am. J. Vet. Res.* 33:537-577, 1972.
117. Kawamura, H. D., King Jr. J., and Anderson, D. P. A herpesvirus isolated from kidney cell cultures of normal turkeys. *Avian Dis.* 13: 853-863, 1969.
118. Kenzy, S. G., and Biggs, P. M. Excretion of the Marek's disease agent by infected chickens. *Vet. Rec.* 80:565-568, 1967.
119. Kenzy, S. G., Long, P. L., and Biggs, P. M. Relationship between Marek's disease and coccidiosis. III. Effects of infection with *Eimeria mivati* on Marek's disease in the chicken. *Vet. Rec.* 86: 100-104, 1970.
120. Kirkwood, J., Geering, G., and Old, L. J. Demonstration of group and type specific antigens of herpesvirus. En: *Oncogenesis and herpesviruses*. Ed: P. M. Biggs, G. de-Thé, and L. N. Payne. Int. Ag. Cancer Res. Lyon. 479, 1972.
121. Kleven, S. H., Eidson, C. S., Anderson, D. P., Fletcher, O. J. Decrease of antibody response to *Mycoplasma synoviae* in chickens infected with Marek's disease herpesvirus. *Am. J. Vet. Res.* 33: 2037--042, 1972.
122. Krosisk, von C. M., McClary, C. F., Vielitz, E., and Zander, D. V. Selection for resistance to Marek's disease and its expected effects on other important traits in white leghorn strain crosses. *Avian Dis.* 16: 11-19, 1972.
123. Lancaster, J. E., Barr, W. K., and Bartlett, B. R. A Marek's disease accination trial. *Poultry Sci.* 52: 1450-1454, 1973.
124. Lee, L. F., Kieff, E. D., Bachenheimer, S. L., Roizman, B., Spear, P. G., Burmester, B. R., and Nazerian, K. Size and composition of Marek's disease vinls deoxyribonucleic acid. *J. Virol.* 7: 289-294, 1971.
125. Lee, L. F., Nazerian, K., Purchase, H. G., and Burmester, B. R.

- Released and extracted virions of Marek's disease virus. *Avian Dis.* 17: 338-346, 1973.
126. Lec, L. F., Roizman, B., Spear, P. G., Kieff, E. D., Burmester, B. R., and Nazerian, K. Marek's disease herpesvirus: a cytomegalovirus. *Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.)*. 64:952-956, 1969.
 127. Makari, J. G. Association between Marek's virus and human cancer. I. Detection of cross-reacting antigens between chicken tumors and human tumors. *Oncology* 28: 164-175, 1973.
 128. Makari, J. G. Association between Marek's herpesvirus and human tumors. In Detection of structural viral antigens in chicken tumor and human cancer. *Oncology* 28: 177-183, 1973.
 129. March, B. E., and Biely, J. The effect of vitamin A on tumor development and regression in chickens infected with Marek's disease and Rous sarcoma virus. *Poultry Sci.* 51 :557-564, 1972.
 130. Marek, J. M. Multiple Nervenentzündung (Polyneuritis) bei Hühnern. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 15:417-421, 1907.
 131. Melchior, Jr. F. W., Fredrickson, T. N., and Luginbuhl, R. E. Neutralization studies with Marek's disease virus and turkey herpesvirus. *Appl. Microb.* 26: 925-933, 1973.
 132. Meulemans, G., Halen, P., and Schyns, P. Susceptibility of mammalian and avian cell cultures to infection with cell-free turkey herpesvirus. *J. Comp. Path.* 83: 605-608, 1973.
 133. Mikami, T., and Bankowski, R. A. Plaque types and cell-free virus from tissue cultures infected with Cal-I strain of herpesvirus associated with Marek's disease. *J. Natl. Cancer Inst.* 45:319-333, 1970.
 134. Mikami, T., Onuma, M., and Hayashi, T. T. A. Requirement of arginine for the replication of Marek's disease herpesvirus. *J. gen. Virol.* 22:115-128, 1974.
 135. Morgan, H. R. Antibodies for Marek's disease virus in sera from domestic chickens and wild fowl in Kenya. *Avian. Dis.* 15:611-613, 1971.
 136. Morris, J. A., Aulisio, C. G., Mason, B., Shaw, C. W., and Reisinger, R. C. Accelerated clinical course of Marek's disease in chickens fed penicillin. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 144:478-482, 1973.
 137. Morris, J. R., Ferguson, A. E., and Jerome, F. N. Genetic resistance and susceptibility to Marek's disease. *Can. J. Anim. Sci.* 50: 69-81, 1970.
 138. Morris, J. R., Jerome, F. N., Reinhart, B. S. Surgical bursectomy and the incidence of Marek's disease in chickens. *Poultry Sci.* 48: 1513-1515, 1969.
 139. Naito, M., Ono, K., Doi, T., Kato, S., and Tanabe, S. Antibodies in human and monkey sera to herpes-type virus from a chicken with Marek's disease and to EB virus detected by the immunofluorescence test. *Biken J.* 14: 161-166, 1971.
 140. Naito, M., Ono, K., Tanabe, S., Doi, T., and Kato, S. Detection in chicken and human sera of antibody against herpes type virus from a chicken with Marek's disease and EB virus demonstrated by the immunofluorescence test. *Biken J.* 13:205-212, 1970.
 141. Nazerian, K. Attenuation of Marek's disease virus and study of its

- properties in two different cell cultures. *J. Natl. Cancer Inst.* 44: 12571267, 1970.
142. Nazerian, K. Site of replication of Marek's disease virus. En: *Comp. Leukemia Res.* 1969. Ed. R. M. Dutcher Karger, Basel/Miünchen/ Paris/New York. pp. 210-212, 1970.
 143. Nazerian, K. Further studies on the replication of Marek's disease virus in the chicken and in cell culture. *J. Natl. Cancer Inst.* 17:207217, 1971.
 144. Nazerian, K. Virology and immunology of Marek's disease. A review. En: *Oncogenesis and herpesviruses.* Ed. P. M. Biggs, G. de-Thé and L. N. Payne. Int. Ag. Cancer. Res. Lyon. pp. 59-73, 1972:
 145. Nazerian, K. Studies on intracellular and membrane antigens induced by disease virus. *J. gen. Virol.* 21: 193-195, 1973.
 146. Nazerian, K. DNA configuration in the core of Marek's disease virus. *J. Virol.* 13:1148-1150, 1974.
 147. Nazerian, K., and Burmester, B. R. Electron microscopy of a herpesvirus associated with the agent of Marek's disease in cell culture. *Cancer Res.* 28: 2454-2462, 1968.
 148. Nazerian, K., and Chen, J. H. immunoferritin studies of Marek's disease virus directed interacellular and membrane antigens. *Arch. gesammte Virusf.* 41 :59-65, 1973.
 149. Nazerian, K., Lee, L. F., Witter, R. L., and Burmester, B. R. Ultrastructural studies of a herpesvirus of turkeys antigenically related to Marek's disease virus. *Virology* 43:442-452, 1971.
 150. Nazerian, K., Lindahl, T., Klein, G., and Lee, L. F. Deoxyribonucleic acid of Marek's disease virus in virus induced tumors. *J. Virol.* 12: 841-846, 1973.
 151. Nazerian, K., and Purchase, H. G. Combined fluorescent antibody and electron microscopy study of Marek's disease virus infected cell cultures. *J. Virol.* 5: 79-90, 1970.
 152. Nazerian, K., Solomon, J. J. Witter, R. L., and Burmester, B. R. Studies on the etiology of Marek's disease. II. Finding of a herpesvirus in cell culture. *Proc. Soc. exptl. Biol. Med.* 127: 177-182, 1968.
 153. Nazerian, K., and Witter, R. L. Cell-free transmission and *in vivo* replication of Marek's disease virus. *J. Virol.* 5 :388-397, 1970.
 154. Norcross, M. A., and Rankin, A. D. Experience with Marek's disease vaccine. *Poultry Sci.* 52:836-841, 1973.
 155. Okada, K, and Fujimoto, Y. Pathological studies of Marek's disease. In Electron microscopic observation of the cellular lesions in the peripheral nerves. *Jap. J. Vet. Res.* 19:64-72, 1971.
 156. Okazaki, W., Purchase, H. G., and Bunnester, B. R. Protection against Marek's disease by vaccination with a herpesvirus of turkers. *Avian Dis.* 14- 413-429, 1970.
 157. Okazaki, W., Purchase, H. G., and Burmaster, B. R. The temporal relationship between vaccination with the herpesvirus of turkeys and challenge with virulent Marek's disease virus. *Avian Dis.* 15: 753-761, 1971.
 158. Okazaki, W., Purchase, H. G., and Bunnester, B. R. Vaccination against Marek's disease: possible causes of failure of herpesvirus of

- turkeys (strain FC 126) to protect chickens against Marek's disease. *Am. J. Vet. Res.* 34:813-817, 1973.
159. Ono, K., Kato, N., and Doi, T. Autoradiographic and cytochemical studies on nuclear and cytochemical studies on nuclear and cytoplasmic inclusions of duck embryo fibroblasts infected with herpes type virus isolated from chickens with Marek's disease *Biken J.* 13:53-57, 1970.
 160. Ono, K., Tanabe, S., Naito, M., Dol, T., and Kato, S. Antigen common to a herpes type virus from chickens with Marek's disease and EB virus from Burkitts lymphoma cells. *Biken J.* 213-217, 1970.
 161. Onuma, M., Mikami, T., and Hayashi, T. T. A. Properties of the common antigen associated with Marek's disease herpesvirus and turkey herpesvirus infections. *J. Natl. Cancer Inst.* 52: 805-813, 1974.
 162. Olshevsky, U., and Becker, Y. Herpes simplex virus structural proteins. *Virology* 40: 948-960, 1970.
 163. Pappenheimer, A. M., Dunn, L. C., and Cone, V.A. Study of fowl paralysis (Neurolymphomatosis gallinarum). *Storrs agric. exp. Stat. Bull.* No. 143-186-290, 1926.
 164. Patrascu, I. V., and Calneck, B. W. In vitro assay of cell-free turkey herpesvirus. *Avian Dis.* 16:397-413, 1972.
 165. Patrascu, I. V., Calnek, B. W., and Smith, M. W. Vaccination With lyophilized turkey herpesvirus (HVT): minimum infective and protective doses. *Avian Dis.* 16: 86-93, 1972.
 166. Paul, P., Larsen, C. T., Kumar, M. C., and Pomeroy, B. S. Preliminary observations on egg transmission of turkey herpesvirus (HVT) in turkeys. *Avian Dis.* 16: 27-33, 1972.
 167. Paul, P. S., Pomeroy, K. A., Shanna, P. S., Jonhson, K. H., Barnes, D. M. Kumar, M. C. Pomeroy, B. S. Transmission of naturally occurring reticuloendotheliosis in turkeys. *Abstracts AV MA Congress Denver*, 136, 1974.
 168. Paul, P., Sautter, J. H., and Pomeroy, B. S. Susceptibility of turkeys to GA isolate of Marek's disease virus. *JAVMA* 163:1200. 1973.
 169. Payne, L. N. Pathogenesis of Marek's disease. A review. En: *Oncogenesis and herpesviruses*. Ed. P. M. Biggs, G. de-Thé, and L. N. Payne. Int. Ag Cancer Res Lyon. 21-37, 1971
 170. Payne, L. N., and Biggs, P. M. Studies on Marek's disease. II. Pathogenesis. *J. Natl Cancer Inst* 39: 281-302, 1967.
 171. Payne, L. N., and Rennie, M. Presence of natural hemagglutinins to sheep erythrocytes in sera from chickens free from Marek's disease. *Vet. Rec.* 87: 109-110, 1970.
 172. Payne, L. N., and Rennie, M. Lack of effect of bursectomy on Marek's disease. *J. Natl Cancer Inst.* 45: 387-397, 1970.
 173. Payne, L. N., and Roszhowski, J. The presence of immunologically uncommitted bursa and thymus dependent lymphoid cells in the lymphomas of Marek's disease. *Avian Path.* 1: 27-34, 1972.
 174. Paters, W. P., Kufe, D., Frankel, J. W., Priekett, C. O., Groupé, V, and Spiegelman, S. Etiological and biochemical evidence for an interaction between Marek's disease herpes virus and avian leukosis virus *in vivo*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 70:3175-3178, 1973.
 175. Phillips, P. A., and Biggs, P. M. Course of infection in tissues of

- susceptible chickens after exposure to strains of Marek's disease virus and turkey herpesvirus. *J. Natl. Cancer Inst.* 49: 1367-1373, 1972.
176. Priester, W. A., and Masan, T. J. Human cancer mortality in relation to poultry population, by cancer, in 10 southeastern states. *J. Natl. Cancer Inst.* 53:45-49, 1974.
 177. Purchase, H. G. Immunofluorescence in the study of Marek's disease. I. Detection of antigen in cells culture and an antigenic comparison of eight isolates. *J. Virol.* 3 :557-565, 1969.
 178. Purchase, H. G., and Biggs, P. M. Characterization of five isolates of Marek's disease. *Res Vet. Sci.* 8:440-449, 1967.
 179. Purchase, H. G., Burmester, B. R., and Cunningham, C. H. Pathogenicity and antigenicity of clones from strains of Marek's disease virus and the herpesvirus of turkeys. *Infect. Immunol.* 3: 295-303, 1971.
 180. Purchase, H. G., Burmester, B. R., and Cunningham, C. H. Responses of cells cultures from various avian species to Marek's disease virus and herpesvirus of turkeys. *Am. J. Vet. Res.* 32: 1181-1 823, 1971.
 181. Purchase, H. G., Chubb, R. e, and Biggs, .P. M. Effect of lymphoid leikasis and Marek's disease an the immunological responsiveness of the chicken. *J. Natl. Cancer Inst.* 40: 583-592, 1968.
 182. Purchase, B., Maré, C. J., and Burmester, B. R. Antigenic comparison of avian and mammalian herpesviruses and protection test against Marek's disease. *Proc. 76th Anual Meeting, U.S. Animal Health Association.* 484-492, 1972.
 183. Purchase, H. G., and Okazaki, W. Effect of vaccination with herpesvirus of turkeys (HVT) an horizontal spread of Marek's disease herpesvirus. *Avian Dis.* 15:391-397, 1971.
 184. Purchase, H. G., Okazaki, W., and Burmester, B. R. Field trials with the herpesvirus of turkeys (HVT) strain FC 126 as a vaccine against Marek's disease. *Poultry Sci.* 50:775-783, 1971.
 185. Purchase, H. G., Drazaki, W., and Burmester, B. R. Long-term field trials with the herpesvirus of turkeys vaccine against Marek's disease. 16:57-71, 1972.
 186. Purchase, H. G., and Sharma, J. M. Amelioration of Marek's disease and absence of vaccine protection in immunologically deficient chickens. *Nature.* 248:419-421, 1974.
 187. Rispens, B. H., Schat, K. A., van Vloten, J., y Maas, H. J. Investigaciones recientes sobre la enfermedad de Marek en Holanda. *Téc. Pec. Méx.* 18:74-83, 1971.
 188. Rispens, B.H., van Vloten, J., and Baas, H. J. L. Same virological and serological observations an Marek's disease: a preliminary report. *Br. Vet. J.* 125:445-463, 1969.
 189. Rispens, B. H., van Vloten, H., Mastenbroek, N., Maas, H. J.L. and Schat, K. A. 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: 109-125, 1972.
 190. Rispens, B. H., van Vloten, H., Mastenbroek, N., Maas, H. J. L., and Schat, K. A. Control of Marek's disease in the Netherlands. II. Field trials on vaccination with an avirulent strain (CVI 988) of Marek's disease. *Avian Dis.* 16: 126-138, 1972.

191. Ross, L. J. N., Biggs, P. M., and Newton, A. A. Purification and properties of the "A" antigen associated with Marek's disease virus infections. *J. gen. Virol.* 18:291-304, 1973.
192. Ross, L. J. M., Frazier, J. A., and Biggs, P. M. An antigen common to some avian and mammalian herpesviruses. In: *Oncogenesis and herpesviruses* Ed.M. M. Biggs, G. de-Thpe, and L. N. Payne. Int. Ag. Cancer Res. Lyon. 480-484, 1972.
193. Rouse, B. T., Wels, R. J. H., and Warner, N. L. Proportion of T and B lymphocytes in lesions of Marek's disease: theoretical implications for pathogenesis. *J. Immunol.* 110:534-539, 1973.
194. Schat, K. A., González, J., and Solórzano, A. Behaviour of Marek's disease herpesvirus under different agaroverlay mediums. *Proc. XV World Poultry Congress. New Orleans.* pp. 49-50, 1974.
195. Schat, K. A., González, J., and Solórzano, A. Interferon production by strains of herpesvirus associated with Marek's disease. *Avian Dis.* 18:531-535, 1974.
196. Schat, K. A., González, J., y Solórzano, A. Inocuidad y antigenicidad de la cepa PA-3 del virus de la enfermedad de Marek. *Téc. Pec. Méx.* en prensa.
197. Schat, K. A., González, J., Solórzano, A., and Avila, E. A tumorlike disease in the japanese quail. *Proc. 24th. Western Poultry Disease Conference. Davis, Cal.* en prensa, 1975.
198. Sehidlovsky, G., Ahmed, M., and Jensen, K. E. Herpesvirus in Marek's disease tumors. *Science.* 164:959-961, 1969.
199. Sevoian, M. On the terminology and classification of the avian leukosis complex. *Avian Dis.* 11 :98-103, 1967.
200. Sevoian, M. Egg transmission studies of type II leukosis infection (Marek's disease). *Poultry Sci.* 47:1644-1645, 1968.
201. Sovoian, M. Transmission of type II (Marek's disease) leukosis with semen from infected roosters. *Poultry Sci.* 50: 1531-1532, 1971.
202. Sevoian, M., and Chamberlain, D. M. Avian lymphomatosis. IV. Pathogenesis. *Avian Dis.* 8:281-309, 1964.
203. Sevoian, M., Chamberlain, D. M. and Larose, R. N. Avian lymphomatosis. V. Air-borne transmission. *Avian Dis.* 7: 102-105, 1963.
204. Sharma, J. M. *In vitro* cell association of Marek's disease herpesvirus. *Am. J. Vet. Res.* 32:291-301, 1971.
205. Sharma, J. M., Burger, D., and Kenzy, S. G. Serological relationship among herpesviruses. Cross reaction between Marek's disease virus and pseudorabies as detected by immunofluorescence. *Infect. Immunol.* 5: 406-411, 1972.
206. Sharma, J. M., Kenzy, S. G., and Rissberger, A. Propagation and behaviour in chicken kidney cultures of the agent associated with classical Marek's disease. *J. Natl. Cancer Inst.* 43: 907-916, 1969.
207. Sharma, J. M., and Purchase, H. G. Replication of Marek's disease virus in cell-cultures derived from genetically resistant chickens. *Infect. Immunol.* 9: 1092-1097, 1974.
208. Sharma, J. M., and Stone, H. A. Genetic resistance to Marek's disease. Delineation of the response of genetically resistant chickens to Marek's disease virus infection. *Avian Dis.* 16:894-906, 1972.

209. Shanna, J. M., Witter, R. L., and Burmester, B. R. Pathogenesis of Marek's disease in old chickens-lesion regression as basis for age related resistance. *Infect. Immunol.* 8: 715-724, 1973.
210. Sharma, J. M., Witter, R. L., Burmester, B. R., and Landon, J. C. Public health implications of Marek's disease virus and herpesvirus of turkeys. Studies on human and subhuman primates. *J. Natl. Cancer, Inst.* 51:1123-1128, 1973.
211. Sharma, J. M., Witte, R. L., Shramek, G., Wolfe, L. G., Burmester, B. R., and Deinhardt, F. Lack of Pathogenicity of Marek's disease virus and herpesvirus of turkeys in Marmoset Monkeys. *J. Natl. Cancer, Inst.* 49: 1191-1197, 1972.
212. Shimono, H., Ben-Porat, T., and Kaplan, A. S. Studies of proteins in cells infected with herpesvirus. I. Structural proteins. *Virology.* 37: 49-55, 1969.
213. Smith, M. W., Calnek, B. W. High-virulence Marek's disease virus infection in chickens previously infected with low-virulence virus. *J. Natl. Cancer Inst.* 52: 1595-1603, 1974.
214. Solomon, J. J., Witter, R. L., Nazerian, K., and Burmester, B. R. Studies on the etiology of Marek's disease. I. Propagation of the agent. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 127:173-177, 1968.
215. Solomon, J. J., Witter, R. L., Stone, H. A., and Champion, L. R. Evidence against transmission of Marek's disease virus. *Avian Dis.* 14: 752-762, 1971.
216. Sidwell, R. W., Huffman, J. H., Allen, L. B., Witkowski, J. T., and Robins, R. K. Broad-spectrum antiviral activity of virazole: 1-B-Dribofuranosyl-1- β , 2, 4-triazole-3-carboxamide. *Science.* 177: 705-706, 1972.
217. Spencer, J. L. Marek's disease herpesvirus: comparison of foci (macro) in infected duck embryo fibroblasts under agar mediums with foci (micro) in chicken cells. *Avian Dis.* 14:566-578, 1970.
218. Spencer, J. L. Marek's disease herpesvirus: *in vivo* and *in vitro* infection of kidney cells of different genetic strains of chickens. *Avian Dis.* 13:753-761, 1969.
219. Spencer, J. L., and Calnek, B. W. Marek's disease: application of immunofluorescence for detection of antigen and antibody. *Am. J. Vet. Res.* 31: 345-358, 1970.
220. Spencer, J. L., Gavora, J. S., Grunder, A. A., Robertson, A., and Speckman, G. W. Immunization against Marek's disease. Influence of strain of chickens, maternal antibody and type of vaccine. *Avian. Dis.* 18:33-44, 1974.
221. Spencer, J. L., Grunder, A. A., Robertson, A., and Speckmann, G. W. Attenuated Marek's disease herpesvirus: protection conferred on strains of chickens varying in genetic resistance. *Avian Dis.* 16:94-107, 1972.
222. Spencer, J. L., and Robertson, A. Influence of maternal antibody on infection with virulent or attenuated Marek's disease herpesvirus. *Am. J. Vet. Res.* 33: 393-400, 1972.
223. Stone, H. A. Investigations of the genetic control of Marek's disease. *Poultry Sci.* 48: 1879; 1969.
224. Stone, H. A., Holly, E. A., Burmester, B. R., and Coleman, T. H.

- Genetic control of Marek's disease. *Poultry Sci.* 49: 1441-1442, 1970.
225. Thakur, H. N. Marek's disease herpesvirus in ovary tumor of chicks . Electron-microscopic study of MD lesion (letter). *Current Sci.* 42: 687-688, 1973.
 226. Vielitz, von E., und Landgraf, H. Beitrag zur Epidemiologie und Kontrolle der Marek'schen Krankheit. *Dtsche tierärztl. Wschr.* 77: 357-362, 1970.
 227. Vielitz, Von E., und Landgraf, H. Der Einfluss homologer Autikörper auf die Impfung mit dem Puten-Herpes Virus. (PHV). *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 81: 182-185, 1974.
 228. Voute, E. J., en Wagenaar-Schaafsma, A. E. Een op de ziekte van Marek'lijkende afwijking bij mestbloenen in Nederland. *Tijdschr. Diergeneesk.* 99: 166-169, 1974.
 229. Walle, van der N., and Winler-Junius, E. De neuritis epizootie bij kippen te Barneveld in 1921. *Tijdschr. Vergelijk. Geneesk.* 10: 34-50, 1924.
 230. Weiss, R. A., and Diggs, P. M. Leukosis and Marek's disease viruses of feral red jungle fowl and domestic fowl in Malaya. *J. Natl. Cancer Inst.* 49: 1713-1725, 1972.
 231. Wildly, P. Herpes: history and classification. In: *The herpesviruses*. Ed. A. S. Kaplan. Academic Press. New York. 1-25, 1973.
 232. Witter, R. L. Turkey herpesvirus: lack of oncogenicity for turkeys. *Avian Dis.* 16:566-670, 1972.
 233. Witter, R. L. Epidemiology of Marek's disease. A review. In *Oncogenesis and herpesviruses*. Ed. P. M. Biggs, e. de-The and L. N. Payne Int Ag. Cancer Res. Lyon. 111-122, 1972.
 234. Witter ,R. L., Burgoyne, G. H., and Burmester, B. R. Survival of Marek's disease agent in litter and droppings. *Avian Dis.* 12: 522-530, 1968.
 235. Witter, R. L., and Burmester, B. R. Transmission of Marek's disease with oral washings and feces from infected chickens. *Proc. Soc. exptl. Bio/ Med.* 124:59-62, 1967.
 236. Witter, R. L., Moulthrop, J. I. .Jr., Burgoyne, e. H., and Connell, H. C. Studies on the epidemiology of Marek's disease herpesvirus in broiler flocks. *Avian Dis.* 14:255-267, 1970 ..
 237. Witter, R. L., Nazerian, K., Purchase, H. e. and Burgoyne, G. H. Isolation from turkeys of a cell-associated herpesvirus antigenically related to Marek's disease virus. *Am. J. Vet. Res.* 31 :525-538, 1970.
 238. Witter, R. L., Purchase, H. G., and Burgoyne, G. H. Peripheral nerve lesions similar to those of Marek's disease in chickens inoculated witch reticuloendotheliosis virus. *J.Natl. Cancer Inst.* 45-567-577, 1970.
 239. Witter, R. L., Nazerian, K., and Solomon, J. J. Studies on the in the in vivo replication of turkey herpesvirus. *J.Natl. Cancer Inst.* 49: 1121-1130, 1972.
 240. Witter, R. L., Sharma, J. M., Solomon, J. J., and Champion, L. R. An age-related resistance of chickens to Marek's disease: some preliminary observations. *Avian Path.* 2: 43-54, 1973.
 241. Witter, R. L., and Sharma, J. M. Transient infection and heterokaryon formation in hamster cell- cultures inoculated with cell-associated Marek's

- disease virus and herpesvirus of turkeys. *J. Natl. Cancer Inst.* 53: 1731-1742, 1974.
242. Witter, R. L., and Solomon, J. J. Epidemiology of a herpesvirus of turkeys: possible sources and spread of infection in turkey flocks. *Infect. Immunol.* 4:356-361, 1971.
243. Witter, R. L., and Solomon, J. J. Experimental infection of turkeys and chickens with a herpesvirus of turkeys. (HVT). *Avian Dis.* 16: 34-44, 1972.
244. Witter, R. L., Solomon, J. J. Champion, L. R., Nazerian, K. Long term studies of Marek's disease infection in individual chickens. *Avian Dis.* 15: 346-365, 1971.
245. Witter, R. L., Solomon, J. J., and Sharma, J. M. Response of turkeys to infection with virulent Marek's disease viruses of turkey and chicken origins. *J. Am. Vet. Res.* 35: 1325-1332, 1974.
246. Woode, G. N., and Campbell, J. G. Observations on the epidemiology of classical Marek's disease. En: *Oncogenesis and herpesviruses*. Ed. P. M. Biggs, G. de-Thé and L. N. Payne. Int. Ag. Cancer Res. Lyon. 137-138, 1972.
247. Zacharia, T. P., and Sevoian, M. Detection of agglutinins in chickens infected with JM leukosis virus. *Appl. Microbiol.* 19: 71-72, 1970.
248. Zander, D. V. Head start and concurrent infection of a small percentage of birds with a naturally occurring mild Marek's disease virus to reduce leukosis condemnations in broilers. *Proc. 22nd Western poultry disease conference*. Davis, Cal., 48-49, 1973.
249. Zander, D. V., Mill, R. W., Raymond, R. G., and Balch, R. K. The use of blood from selected chickens as an immunizing agent for Marek's disease. *Avian Dis.* 16:163-178, 1972.
250. Zygraich, N., and Huygelen, C. Inoculation of one-day-old chicks with different strains of turkey herpesvirus. II. Virus replication in tissues of inoculated animals. *Avian Dis.* 16: 793-798, 1972.