

INVESTIGACIONES RECIENTES SOBRE LA ENFERMEDAD DE MAREK EN HOLANDA ¹

Dr. B.H. RISPENS ²

Drs. K.A. SCHAT ³

Drs. J. VAN VLOTEN ²

Drs. H.J. MAAS ²

Resumen

La enfermedad de Marek es una entidad nosológica producida por virus *Herpes* del grupo B, caracterizado por estar asociada a células.

En el presente trabajo se analizan los 3 métodos de vacunación desarrollados en Estados Unidos, Gran Bretaña y Holanda, con especial referencia a los avances logrados en este último país.

Son presentados trabajos originales de la investigación, con relación a la vacunación holandesa poniendo especial énfasis en las vacunaciones total y parcial (10%). Los resultados con la vacunación total son absolutamente satisfactorios en cuanto al control de la enfermedad. Se analizan algunos de los problemas existentes en la vacunación parcial y se indican dos caminos a seguir en la investigación.

El sistema de vacunación parcial, utilizando el 10% de pollitos vacunados y poniéndolos a las tres semanas, cuando estén eliminando el virus, en contacto con la parvada de un día de edad sin vacunar, presentará situaciones similares al sistema de vacunación futura, cuando se usen vacunas con virus libre de células.

La enfermedad de Marek (EM) es una enfermedad linfoproliferativa de los pollos. Se conocen dos formas: la enfermedad de Marek clásica con lesiones nerviosas periféricas y la aguda, que es altamente contagiosa, con tumores en las vísceras, músculos y en la piel. Esta última, descrita primero en los Estados Unidos por Benton y Cover (1957) existe en todos los países que poseen una industria avícola intensiva.

Biggs y Payne (1967) comprobaron que la enfermedad es causada por un agente presente en las células. Churchill y Biggs (1967) y Solomon *et al.* (1968), usando células de riñón de pollo y fibroblastos de embrión de pato, aislaron independientemente un virus

parecido a *Herpes* a partir de aves infectadas experimentalmente. Nazerian *et al.* (1968) estudiaron la ultraestructura de monoestratos de fibroblastos de embrión de pato infectados y encontraron que se trataba de un virus *Herpes*. Calnek, Adldinger y Kahn (1970) establecieron la relación entre la naturaleza altamente contagiosa de la enfermedad y el carácter de asociación celular del agente; ellos encontraron un virus *Herpes* completo de la EM, libre de células, en el epitelio del folículo de la pluma.

En México la EM parece ser una enfermedad importante. Fue descrita primero por Cuadra en 1964 (Cuadra y Correa, 1966); Bijlenga (1968) presentó una revisión de literatura sobre la EM en la I Conferencia Internacional de Avicultura, organizada por el INIP.

En Holanda, Maas, Bijlenga y Rispens (1968) señalaron que en 1964 se presentó el primer caso de EM. Los estudios virológicos se iniciaron a fines de 1967 con el propósito de aislar su agente etiológico, para lo cual emplearon monoestratos de fibroblastos de embrión de pato. Se siguieron las técnicas de Solomon *et al.* (1968) las cuales fueron ligeramente modificadas al agregar 15% de

Recibido para su publicación el 10. de julio de 1971.

¹ Trabajo presentado por el Dr. K. A. Schat en el tercer ciclo de conferencias internacionales de avicultura (Febrero, 1971), Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (INIP) SAG, Km. 15½ Carretera México-Toluca, Palo Alto, D. F.

² Centraal Diergeneeskunding Instituut, Dr. Poelstaan 35, Rotterdam, Holanda.

³ Investigador del Gobierno de los Países Bajos asignado al Depto. de Microbiología Experimental, INIP.

fluido amniótico de bovino al medio de mantenimiento. Esto se hizo con la finalidad de conservar las células en mejores condiciones (Rispen, Vloten y Maas, 1969). Un agente citopatogénico fue aislado en cultivos celulares, a partir de un alto porcentaje de aves, que presentaban signos clínicos agudos de la EM. Este efecto citopatogénico se caracteriza por un foco de células refractarias, que contienen numerosas células gigantes multinucleares, así como células triangulares con largas proyecciones. Fue posible infectar pollos mediante la inoculación intraperitoneal de suspensiones de células infectadas.

La mayoría de las aves infectadas a temprana edad, tenían viremia cuatro semanas después, y las sobrevivientes, continuaron positivas aún al principiar el periodo de postura. También fue posible encontrar portadores persistentes, responsables de la diseminación natural de la infección.

Un número de parvadas comerciales y de laboratorio que no habían tenido historia clínica de la EM, fueron examinadas con el objeto de establecer la presencia de un agente similar. De todas las parvadas fue posible aislar, en cultivos celulares, un agente con las mismas proporciones del virus Herpes de la EM. Una de las cepas aisladas mostró bajo grado de patogenicidad. No fue posible aislar el virus Herpes de Marek a partir de pollitos que nacieron en aislamiento. En estos pollitos se encontraron anticuerpos de la EM al final de la cuarta semana de edad; pero después de este tiempo fueron negativos. Hay una inmunidad materna durante las primeras semanas. Pollitos cuyos padres se mantuvieron en aislamiento, también fueron libres de anticuerpos maternos. El agente causal no se transmite a través del huevo. Esto ayuda tremendamente en los programas de vacunación, pues de otra manera la vacunación podría complicarse por la presencia de virus activo en pollitos de un día de edad. Los pollos fueron parcialmente protegidos contra la infección experimental cuando tenían anticuerpos maternos, mientras que casi todos los pollos carentes de dichos anticuerpos, murieron después de la infección.

Vacunas contra la enfermedad de Marek:

Hasta ahora sólo son usados tres tipos de vacuna contra la EM. En Estados Unidos se

prepara una vacuna, utilizando un virus Herpes aislado a partir de pavos sanos. En Inglaterra se está desarrollando una vacuna atenuada por pases de la cepa patógena a través de cultivos celulares. En Holanda se ha aislado una cepa, poco patógena, a partir de aves sanas de una parvada libre de la EM.

Vacuna de virus Herpes de pavo (vhp) desarrollada por el grupo Burmester en Estados Unidos:

Witter *et al.* (1970) aislaron un virus Herpes a partir de pavos sanos, este virus tiene similitudes con el virus Herpes de la EM, similitudes tales como: Los antígenos son parcialmente los mismos, pero no tienen el antígeno "A". El vhp no es patógeno para pollos y proporciona protección contra la EM en pollitos de un día de edad, después de la inoculación intraperitoneal (Okazaki, Purchase y Burmester, 1970). Los mismos autores (Purchase, Okazaki y Burmester, 1971 en prensa) han realizado pruebas de campo con una vacuna vhp después de pasarla en fibroblastos de embrión de pato. Sus resultados están resumidos en el Cuadro I. Debe mencionarse que los controles utilizados mostraron un bajo nivel de infección, lo cual significa que se debe tener cuidado en la interpretación de sus resultados. Anderson (1970), obtuvo resultados desfavorables debido a que usó dosis muy severas en la exposición.

Vacuna HPRS-16 atenuada por Churchill y Biggs en Inglaterra:

Biggs *et al.* (1965), aislaron en Inglaterra una cepa virulenta del virus Herpes causante de la EM. Conservaron esta cepa mediante pases en pollitos. Churchill y Biggs (1967) aislaron de estas aves un virus similar al Herpes el cual causó la muerte por EM al inocularlo en pollitos. Esta cepa al ser pasada en cultivos celulares perdió el antígeno "A". Este virus atenuado perdió su patogenicidad para pollitos (Churchill, Chubb y Baxendale, 1969).

Investigaciones sucesivas señalaron que esta cepa llamada HPRS-16 atenuada, protegió pollitos altamente susceptibles, durante las pruebas de la vacuna (Churchill, Payne y Chubb, 1969b). Recientemente Biggs *et al.* (1970) han notificado los resultados de cuatro pruebas de campo; estos resultados parecen ser

CUADRO 1

Resumen de los resultados de las pruebas de campo de la vacuna del virus Herpes de pavo
contra la enfermedad de Marek

(Purchase, Okazaki y Burmester, 1971)

Tratamiento	Dosis de UFP por pollo	Núm. de pollos al comenzar	% del total de aves a las que se les hizo la necropsia	% total de mortalidad		% de mortalidad por enfermedad de Marek
				1er. mes	2-5 meses	
Vacunadas ¹	promedio 555	10,177	26.8	0.9	2.3	1.3
no vacunadas	0	17,427	33.5	1.1	3.7	2.8
controles	0	16,266	25.8	1.3	3.1	1.9
Vacunadas	promedio 1,896	15,563	72.9	2.5	3.2	1.2
no vacunadas	0	36,639	58.4	1.2	12.1	10.3
controles	0	12,372	46.2	1.6	9.0	6.4
Vacunadas	promedio 9,950	8,136	36.6	4.2	5.4	1.2
no vacunadas	0	12,870	57.0	2.5	12.4	9.3
controles	0	1,500				

¹ En todos los experimentos las aves vacunadas y no vacunadas fueron mezcladas en la misma caseta. Las aves controles fueron separadas en otra caseta de la misma granja.

CUADRO 2

Resumen de los resultados de pruebas de campo con dos tipos de vacuna
contra la enfermedad de Marek ¹

(Krasselt, 1970)

Periodo en que se verificó la mortalidad	VACUNADOS		NO VACUNADOS	
	Núm. de pollos de un día de edad	% de mortalidad	Núm. de pollos de un día de edad	% de mortalidad
HPRS-16/atenuada ²				
11-19 semanas	13,750	3.4	13,600	4.4
11-21 semanas	5,000	17.8	2,300	20.2
11-22 semanas	2,000	9.5	3,800	16.8
cepa CDI 988 ³				
11-17 semanas ⁴	3,000	3.16	19,100	10.9
11-19 semanas	3,600	0.9	23,900	9.4
11-21 semanas	2,500	3.0	5,000	11.9

¹ Aves controles y vacunadas, alojadas en la misma caseta.

² 800 UFP en 0.2 ml, vía intramuscular.

³ 1000 UFP en 0.2 ml, vía intramuscular.

⁴ Este experimento no se ha terminado hasta la fecha.

alentadores. En Holanda el Dr. M. Krasselt (1970) ⁴ realizó pruebas de campo con la vacuna holandesa cepa 988, comparándola con la vacuna atenuada HPRS-16 y encontró diferencias entre las dos cepas vacunales (Cuadro 2). Estos resultados fueron confirmados y notificados para la cepa HPRS-16, por Baxendale (1970).

Vacuna CDI cepa 988 de Holanda

Como ya se ha mencionado, esta cepa fue aislada a partir de pollos adultos, que no habían tenido historia clínica del EM y no fue patógena en aves inoculadas de manera experimental. Se vacunaron pollos de un día de edad con la cepa 988 y se expusieron con un virus Herpes virulento, los pollitos no mostra-

hasta el final de la segunda semana, a partir del epitelio folicular de la pluma. Se encontró que este virus produjo inmunización por contacto de los pollitos no vacunados (Rispen, Maas y Vloten, 1970). Con el fin de disminuir totalmente la poca patogenicidad de la cepa en aves susceptibles, se realizaron pases en fibroblastos de embrión de pato; esto se logró haciendo 35 pases en dichas células. A fin de examinar la posibilidad de que la cepa incrementara su virulencia después de los 35 pases, se efectuaron pasajes de la misma, en aves susceptibles de un día de edad carentes de anticuerpos maternos contra la EM. Hasta el séptimo pase no se han encontrado indicios de aumento en la virulencia, por lo tanto, parece ser que la vacuna es bastante estable en lo referente a virulencia.

CUADRO 3

Diferencia entre los tres tipos de vacuna usada contra la enfermedad de Marek

Vacuna	Aislada de	Pasajes en	Antígeno A	Grado de difusión por contacto	Dosis de UFP y ml aplicados
HPRS-16 atenuada	Aves con signos clínicos de enfermedad de Marek	Células de riñón de pollo	Probablemente negativo	Muy bajo	500/0.25 ml intraperitoneal
		Aves Células de riñón de pollo			
HVT FC 126	Pavos Normales	Fibroblastos de embrión de pato	Probablemente negativo	Muy bajo	555, 2,000 y 10,000/0.2 ml intraperitoneal
CDI 988	Pollos sin signos clínicos de enfermedad de Marek	Fibroblastos de embrión de pato	Positivo	Muy alto	3,000 UFP/0.5 ml intramuscular

ron signos de la EM después de 12 semanas de investigación. En pollos híbridos en Holanda, la cepa 988 produjo parálisis en algunas de las aves, sí como una ligera infiltración de linfocitos en los nervios periféricos. Cuando esta cepa fue inoculada en pollitos de un día de edad, que habían sido mantenidos en aislamiento, fue posible aislar el virus completo

El Cuadro 3 muestra las diferencias más importantes, entre los tres tipos de vacuna empleadas contra la EM.

En los experimentos realizados en Holanda, la vacuna ha sido aplicada intramuscularmente en dosis de por lo menos 1,000 unidades formadoras de placa, contenidas en 0.5 ml de diluyente. El Cuadro 4 muestra los resultados de las pruebas de las vacunas, donde la exposición por contacto fue ejecutada inme-

⁴ Comunicación personal.

CUADRO 4

Resultados de un experimento de exposición por contacto, realizado inmediatamente después de vacunar pollos de un día de edad con 1,000 UFP

(Parvadas de reproductoras de aves pesadas)

Número de pollos de un día de edad	Estado de los animales	Mortalidad debida a enfermedad de Marek hasta el final del octavo mes	Mortalidad por causa no determinada	Porcentaje de peso a los 8 meses de edad	Porcentaje de producción de aveo a los 8 meses de edad
96	Controles no vacunados	68	8	3,026 g	83%
100	1,000 UFP de virus aplicado en el músculo de la pierna	2	7	3,433 g	90%
98	1,000 UFP de virus aplicado por vía subcutánea en la región del cuello	20	6	3,300 g	85%

diatamente después de la vacunación. Los resultados fueron mucho mejores que aquellos obtenidos en los pollos inoculados con la vacuna de virus Herpes de pavo y expuestos de la misma forma. En los Cuadros 5a y 5b se resumen los resultados de las pruebas de campo, donde los pollos controles y vacunados fueron mantenidos en diferentes casetas de la misma granja. La alta mortalidad en el grupo control fue debido a la EM. En los Cuadros 6, 7 y 8 se observan los resultados de las pruebas de las vacunas contra la EM en un área problema (Rispen y Maas, 1970). Tomando como base estos resultados, se han iniciado ensayos de campo en cinco millones de aves reproductoras.

Vacunación del 10% de la parvada:

Se ha observado que la cepa 988 se difunde en forma muy efectiva después de inocular a los pollos. Por esta razón, solamente se necesita vacunar al 10% de la parvada. En pruebas de laboratorio, la vacunación del 10% da buenos resultados. El Cuadro 9 muestra los resultados de desafío de las aves vacunadas por contacto. En el grupo de aves vacunadas por contacto hay una disminución de la mortalidad cuando son expuestas a las 5 y 6 semanas de edad. Cuando la infección se hace a las siete semanas, hay una protec-

ción completa. En este experimento hay una seroconversión⁵ al final de la sexta semana. En otros experimentos la seroconversión es al final de la quinta semana. La protección contra la EM parece desarrollarse paralelamente con la aparición de anticuerpos humorales. En una prueba de campo realizada en una región de Holanda en donde la EM es un problema, se vacuna al 10% de las aves y los resultados son generalmente buenos, sin embargo, en algunas ocasiones se han observado fallas ya que en pruebas de campo con 17 granjas, antes de vacunar las 112,000 aves de dichas granjas, la mortalidad causada principalmente por la EM era de 15.7% y después del 10% de vacunación de 108,360 aves, hubo una disminución del 5.1% de mortalidad. Sin embargo, en tres granjas la EM persistió (Van der Kieft y Rispen, 1971).⁶

En otras pruebas de campo con un 10% de vacunación no hubo disminución de la EM, esto pudo haberse debido a una infección muy severa en las primeras semanas de vida. El problema consiste en proteger a los pollos durante el periodo en que desarrollan su inmunidad, o sea, durante las primeras 5 ó 6 y media semanas de vida.

⁵ Cambio de negativo a positivo.

⁶ Comunicación personal.

CUADRO 5 A

Resultados de la vacunación con cepa 988 contra la enfermedad de Marek en una granja de reproductoras proveedoras de pollos de engorda, en donde la enfermedad de Marek era un problema

Fecha de iniciación, 30 de agosto de 1969

Caseta A: No vacunados	Gallinas Pl. Rock	Gallos Pl. Rock	Gallinas Wh. Corn	Gallos Wh. Corn
Número de pollos de un día de edad	3,500	525	1,075	205
Mortalidad de los pollos hasta las 8 semanas	67	33	44	8
Selección del criador a las 8 semanas	(584)	(157)	(199)	(92)
MORTALIDAD				
en noviembre de 1969	52	37	24	6
en diciembre de 1969	333	83		
en enero de 1970	101	33	70	31
% de mortalidad hasta fines de enero de 1970	16.9	35.4	12.8	21.9
Promedio del % de mortalidad hasta fines de enero de 1970			21.8	
Promedio del % de mortalidad hasta fines de agosto de 1970			42.5	

CUADRO 5 B

Resultados de la vacunación con cepa 988 contra la enfermedad de Marek en una granja de reproductoras proveedoras de pollos de engorda

Fecha de iniciación, 30 de agosto de 1969

Caseta B: Vacunados	Gallinas Pl. Rock	Gallos Pl. Rock	Gallinas Wh. Corn	Gallos Wh. Corn
Número de pollos de un día de edad	3,520	598	1,020	259
Mortalidad de los pollos hasta las 8 semanas	50	16	33	5
Selección del criador a las 8 semanas	(553)	(211)	(168)	(127)
MORTALIDAD				
en noviembre de 1969	12	6	14	3
en diciembre de 1969	15	14	8	8
en enero de 1970	16	15	12	8
% de mortalidad hasta fines de enero de 1970	2.6	8.5	6.6	9.3
Promedio del % de mortalidad hasta fines de enero de 1970			6.8	
Promedio del % de mortalidad hasta fines de agosto de 1970			10.5	

Durante las primeras semanas el porcentaje de infección puede ser muy alto, si no se efectúan desinfección y aislamiento muy rígidos. El virus, localizado en las células del foliculo de la pluma y en el polvo, es rico en

lipoides, por lo tanto, su destrucción es muy difícil. Si el exterior de las casetas, tubos y paredes no están completamente limpios, el polvo contaminado localizado en estos lugares puede causar inmediatamente la infección

de las nuevas aves que sean introducidas en esa caseta. Al usar el método del 10% de vacunación, es esencial que las casetas estén muy limpias tanto por dentro como por fuera y que las aves sean mantenidas en estricto aislamiento.

Una segunda forma para mejorar el método del 10% de la vacunación es el vacunar

siste, en que las aves vacunadas deben ser mantenidas en estricto aislamiento, para evitar las probabilidades de infección con virus de campo de la EM.

En Holanda se iniciaron en el mes de enero de 1971 las primeras pruebas de campo con el procedimiento del 10% de vacunación y también con la modificación que antes fue

CUADRO 6

Mortalidad en parvadas de pollos vacunados con cepa 988 durante subsecuentes periodos de crianza (22 semanas) en granjas donde la enfermedad de Marek era un problema

Clave de la granja	Número de pollos vacunados		Mortalidad		Selección de la cría a las 8 semanas		Sacrificados	Principales causas de mortalidad y aves sacrificadas
	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra		
70-1	740	5,275	7.0%	3.4%	27%	0.7%	—	misceláneas
70-2	685	4,675	5.5%	6.3%	32%	1%	—	enteritis + enfermedad de las codornices
70-3	900	6,200	5.5%	6.6%	30.5%	1%	—	enfermedad de las codornices y cabeza negra
70-4	940	6,325	7.3%	3.1%	30%	1%	—	misceláneas
70-5	925	6,300	7.5%	6.5%	31%	3.5%	Enf. de Marek + 60 gallos	alta mortalidad
70-6	1,805	12,040	3.5%	3.7%	31%	0.5%	—	misceláneas
70-7	730	5,360	4.9%	2.9%	23%	3.0%	—	misceláneas
70-8	965	6,330	6.5%	5.0%	34.6%	3.0%	—	misceláneas
70-9	745	5,275	5.0%	7.5%	27%	1.0%	—	enfermedad de las codornices + alta mortalidad temprana
70-10	1,540	11,630	5.0%	5.0%	27%	0.5%	—	misceláneas
70-11	950	6,600	5.3%	3.6%	26%	—	—	misceláneas

un grupo de pollos, de un día de edad; esperar a que éstos tengan tres semanas de edad, para entonces estarán excretando virus; en ese momento serán mezclados con aves de un día de edad, en proporción de uno por cada diez pollitos. En esta forma los pollitos serán vacunados durante el primer día de vida, por el virus vacunal excretado por los pollos de tres semanas de edad.

En pruebas de laboratorio terminadas en diciembre de 1970 se demostró que la seroconversión de los pollos vacunados por contacto, se inició a las tres semanas y alcanzó al cien por ciento de las aves en cuatro semanas. De esta manera es posible disminuir el periodo crítico con 2 ó 3 semanas. La única dificultad de este sistema de vacunación con-

descrita. Esto se combina con diferentes métodos de desinfección.

Virus Herpes de enfermedad de Marek libre de células:

Recientemente se han informado varios trabajos sobre la producción de virus libre de células, en monoestratos de fibroblastos de embrión de pollo previamente inoculados, el virus completo siempre tuvo bajo título (Nazerian, 1970). Mikami y Bankowski (1970) trataron de conservar el virus completo mediante congelación y descongelación y por adición de 10% de Dimetil sulfóxido, con o sin suero fetal de becerro. Calnek, Hitchner y Addinger (1970) encontraron

CUADRO 7

Mortalidad en parvadas de cría, vacunadas con cepa 988 y no vacunadas en la misma granja, donde la enfermedad era un problema

Clave de la granja	No. de gallinas	Mortalidad de 0-22 semanas %	Principales causas de mortalidad	Clave de la granja	No. de gallinas	Mortalidad de 0-22 semanas %	Principales causas de mortalidad
70-14	6,730	24.0	enfermedad de Marek + coccidiosis	70-1	5,275	3.4	misceláneas
70-15	8,450	10.5	enfermedad de Marek	70-2	4,675	6.3	enfermedad de las codornices
70-16	3,450	19.6	enfermedad de Marek	70-3	6,200	6.6	enfermedad de las codornices + enfermedad de Gumboro
70-17	7,250	11.0	enfermedad de Gumboro + enfermedad de Marek	70-4	6,325	3.1	misceláneas
70-18	12,500	8.0	sinovitis	70-5	6,300	6.5	mortalidad alta temprana
70-19	4,600	35.0	enfermedad de Marek	70-6	12,040	3.7	misceláneas

CUADRO 8

Problemas de mortalidad por enfermedad de Marek en una granja, inmediatamente antes y después de la vacunación con cepa 988

Clave de la granja	No vacunadas			Vacunadas		
	No. de pollos de un día de edad	Mortalidad de 0-22 semanas %	Principales causas de mortalidad	No. de pollos de un día de edad	Mortalidad de 0-22 semanas %	Principales causas de mortalidad
70-2	10,000	22.0	EM ¹	4,675	6.3	enfermedad de las codornices
70-3	5,000	30.6	EM	6,200	6.6	enfermedad de las codornices
70-4	8,250	24.4	EM	6,325	3.1	misceláneas
70-5	11,000	12.5	EM	12,040	3.7	misceláneas

¹ EM, Enfermedad de Marek.

que el título del virus libre de células se incrementó, después del tratamiento ultrasónico y liofilización en buffer SPGA, descrito por Bovarnick, Miller y Snijder (1950) los que

con Ethyleno diamino tetraacetato y SPGA encontraron un aumento posterior.

En Holanda ya se iniciaron investigaciones en la producción de virus libre de células con

CUADRO 9

Resultados de las pruebas de vacunación por contacto usando cepa 988
(periodo de observación: 22 semanas)

Número de animales	Momento de la exposición días	Pretratamiento	MORTALIDAD		No de aves negativas a las 22 semanas	% de aves positivas
			Por causa indeterminada	Por enfermedad de Marek		
50	1	ninguno	1	27	22	55
40	21	"	—	26	14	65
39	28	"	2	26	11	70
23	35	"	—	18	5	78
38	42	"	1	15	22	41
37	49	"	2	10	25	29
37	56	"	1	14	22	39
39	21	Vacunación por contacto	3	28	7	80
35	23	"	1	22	12	65
27	35	"	—	10	17	37
39	42	"	1	5	33	13
39	49	"	2	0	37	ninguno
34	56	"	2	0	32	ninguno

la cepa CDI-988. Se espera que esta cepa, con sus buenas propiedades de difusión, dará una vacuna muy efectiva con virus libre de células y que pueda ser fácilmente aplicada. Para obtener título suficientemente alto para liofilización, se planea utilizar diferentes medios, sin embargo, todavía no existen resultados al respecto.

Posibilidades futuras de vacunación:

El problema de una vacunación práctica contra la EM, puede solamente ser resuelto con una vacuna que contenga virus libre de células y que se difunda de forma tal que no sea necesaria la vacunación individual. Al usar el virus libre de células, puede encontrarse con otro problema: la infección natural de un virus Herpes virulento de la EM, antes de que los pollos alcancen un alto grado de inmunidad. Este problema es el mismo que

se tiene en Holanda al utilizar el método de un día de edad, en una caseta con virus vacunal libre de células procedentes de pollos vacunados de tres semanas. Cuando exista un virus de laboratorio libre de células, para ser utilizado en la vacunación, sucederá lo mismo que cuando los pollitos de un día de edad son mezclados con los pollos de tres semanas de edad, ya que en este último caso, también son vacunados con virus completo. Se espera que los resultados de las pruebas de campo recientemente iniciadas en Holanda, en las que se emplea el 10% de vacunación y programas de desinfección, den la información necesaria respecto a la vacunación de virus libre de células.

Summary

Marek is a disease caused by a Herpes virus of the B group, which is characterized by being associated to the cells.

In the present study the three vaccination methods developed in the USA, England and Holland were analyzed with special reference to the advances obtained in the latter.

Original studies concerning the Netherland vaccine are presented, emphasizing the total and partial (10%) vaccination.

Total vaccination gave very satisfactory results for disease control. Several existing problems with the partial vaccination were discussed and two research pathways are proposed.

It was found that partial vaccination by using 10% of vaccinated chicks, at the time they are spreading the virus (3 weeks of age) together with non vaccinated one day old chicks, would lead to similar results as those obtainable with the future vaccination method, when free-cell virus vaccines will be employed.

Literatura citada

ANDERSON, D., 1970, A seminar: progress in the control of Marek's Disease, *Vox tec.*, Salsbury Laboratories, Charles City, Iowa, U.S.A., 1(4).

BAXENDALE, W. J. and M. S. COVER, 1957, The increased incidence of visceral lymphomatosis in broiler and replacement birds, *Avian Dis.*, 1:320.

BIGGS, P. M., H. G. PURCHASE, B. R. BEE and P. J. DALTON, 1965, Preliminary report on acute Marek's Disease in Great Britain, *Vet. Rec.*, 77:1339.

BIGGS, P. M. and L. N. PAYNE, 1967, Studies on Marek's Disease I, experimental transmission, *J. Nat. Cancer Inst.*, 39: 267-280.

BIGGS, P. M., L. N. PAYNE, B. S. MILNE, A. E. CHURCHILL, R. C. CHUBB, D. C. POWELL and A. H. HARRIS, 1970, Field trials with an attenuated cell associated vaccine for Marek's Disease, *Vet. Rec.*, 87: 704-709.

BILENGA, G., 1968, Enfermedad de Marek. Primer ciclo de conferencias internacionales sobre avicultura. *INIP México*, 45-52.

BOVARNICK, M. R., J. C. MILLER and J. C. SNIJDER, 1950, The influence of certain salts, amino acids, sugars and proteins on the stability of Rickettsiae, *J. Bact.*, 59: 509-522.

CALNEK, B. W., S. B. HITCHNER and H. K. ADL-DINGER, 1970, Lyophilization of cell free Marek's Disease Herpesvirus and a herpes virus from turkeys, *Appl. Microbiol.* 20: 723-726.

CALNEK, B. W., H. K. ADL-DINGER and D. E. KAHN, 1970, Feather follicle epithelium: a source of enveloped and infectious cell-free

herpes virus from Marek's Disease, *Avian Dis.*, 14: 219-233.

CHURCHILL, A. E. and P. M. BIGGS, 1967, Agent of Marek's Disease in tissue culture, *Nature*, 215: 528-530.

CHURCHILL, A. E., R. C. CHUBB and W. BAXENDALE, 1969a, The attenuation with loss of oncogenicity of the herpes-types virus of Marek's Disease, *J. gen. Virol.*, 4: 557-564.

CHURCHILL, A. E., L. M. PAYNE and R. C. CHUBB, 1969b, Immunization against Marek's Disease using a live attenuate virus, *Nature*, 221: 744-747.

CUADRA, A. G. y P. CORREA G., 1966, Trabajos presentados en la Mesa Redonda sobre Reticulosis de las aves, México, mayo 1966, 1-51.

MAAS, H. J. L., G. BILENGA and B. H. RISPENS, 1968, Acute Marekse Ziekte I. Terminologie, Klassificatie en voorkomen, *Tijdschr. Diergeneesk.*, 93: 1947.

MIKAMI, T. and R. A. BANKOWSKY, 1970, Plaque types and cell-free virus from tissue cultures infected with Cal-1 strain of herpes virus associated with Marek's Disease, *J. Nat. Cancer Inst.*, 45: 319-333.

NAZERIAN, K., J. J. SOLOMON, R. L. WITTER and B. R. BURMESTER, 1968, Studies on the etiology of Marek's Disease. II Findings of a herpes virus in cell culture, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 127: 177-214.

NAZERIAN, K., 1970, Attenuation of Marek's Disease virus and study of its properties in two different cell cultures, *J. Nat. Cancer Inst.*, 44: 1257-1268.

OKAZAKI, W., H. G. PURCHASE and B. R. BURMESTER, 1970, Protection against Marek's Disease by vaccination with a herpes virus of turkeys, *Avian Dis.*, 14: 413-429.

RISPENS, B. H., J. VAN VLOTEN and H. J. L. MAAS, 1969, Some virological and serological observations on Marek's Disease: a preliminary report, *Br. Vet. J.*, 125:445-453.

RISPENS, B. H., H. J. L., MAAS, en J. VAN VLOTEN, 1970, De Ziekte van Marek; enkele kanttekeningen met betrekking tot de bestrijding, *Tijdschr. Diergeneesk.*, 95: 971-980.

RISPENS, B. H. and H. J. L. MAAS, 1970, Control of Marek's Disease by means of vaccination, *Leucaemy Congress 1970*, Sofia, Bulgaria.

SOLOMON, J. L., R. L. WITTER, K. NAZERIAN and B. R. BURMESTER, 1968, Studies on the etiology of Marek's Disease. I. Propagation of the agent in cell-culture, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 127: 173-177.

WITTER, R. L., K. NAZERIAN, H. G. PURCHASE and G. H. BURGOYNE, 1970, Isolation from turkeys of a cell-associated herpes virus antigenically related to Marek's Disease virus, *Am. J. Vet. Res.*, 31: 525-538.