

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



“VIRUELA AVIAR EN GALLINAS COMERCIALES Y DE TRASPATIO”.

POR

EDGAR LÓPEZ LÓPEZ

MONOGRAFÍA

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN COAHUILA,

MAYO DE 2012.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



“VIRUELA AVIAR EN GALLINAS COMERCIALES Y DE TRASPATIO”.

POR

EDGAR LÓPEZ LÓPEZ

ASESOR

Dr. JOSÉ MONCEBÁEZ Y PÉREZ

MONOGRAFÍA

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

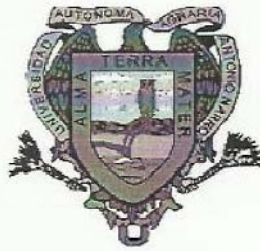
TORREON, COAHUILA

MAYO DE 2012.

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO
NARRO"**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**"VIRUELA AVIAR EN GALLINAS COMERCIALES Y DE
TRASPATIO".**

MONOGRAFÍA

**APROBADA POR EL COMITÉ PRESIDENTE DEL
JURADO**



Dr. JOSÉ MONCEBÁEZ Y PÉREZ

**COORDINADOR DE LA DIVISION REGIONAL DE CIENCIA
ANIMAL**



MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO



**Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

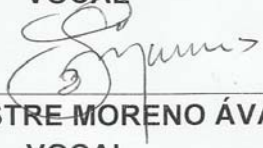
“VIRUELA AVIAR EN GALLINAS COMERCIALES Y DE TRASPATIO”.



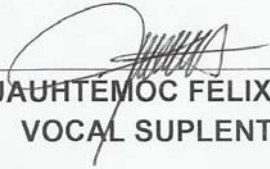
Dr. JOSÉ MONCEBÁEZ Y PÉREZ
PRESIDENTE



MVZ. JESÚS GAETA COVARRUBIAS
VOCAL



MVZ. SILVESTRE MORENO ÁVALOS
VOCAL



MVZ. CUAUHTÉMOC FELIX ZORRILLA
VOCAL SUPLENTE

TORREON, COAHUILA

MAYO DE 2012

AGRADECIMIENTOS

Especialmente a mi Dios:

Primeramente, por concederme la dicha y el grande privilegio de terminar mis estudios profesionales en esta grande institución que tanto amo y quiero, y también porque él me hizo estudiar la carrera que tanto me gusta y en mi opinión es la mejor de todas las que pueda haber.

A mi asesor:

El distinguido Dr. José Moncebáez y Pérez, por su disponibilidad y buena voluntad de apoyarme en esta monografía, dado a que he aprendido de su honestidad y compromiso en su trabajo que lo ha caracterizado como uno de los grandes profesores de nuestra “Alma Mater”.

A mis padres:

Porque por medio de ellos Dios me trajo a la vida, siempre confiaron en mí y me apoyaron en todos los momentos de mi carrera de forma moral, así como también económicamente.

A todos mis hermanos:

Por apoyarme económicamente y así lograr mi objetivo en la vida.

A todos mis amigos contemporáneos:

Luvín, Birzabith, Élmi Noel e Idahí, José Manuel, Emir Y a la fina. Julia Landeros por estar conmigo en las buenas y en las malas y por el apoyo incondicional que siempre me brindaron.

DEDICATORIAS

A mis queridos padres:

MIGUEL Y GERTRUDIZ

Les dedico este trabajo como muestra de mi gran afecto hacia ustedes, sin duda alguna se merecen esto y mucho mas por su gran amor y cariño que me han brindado a lo largo de mi existencia y por el hecho de estar conmigo en todo momento. Siempre he estado y estaré sumamente agradecido porque sé que siempre dieron su mejor esfuerzo y asta en muchas ocasiones se sacrificaron por darme siempre lo mejor, gracias a ustedes ahora soy lo que soy.

A mis hermanos:

ARMINDA, FILIBERTO,

EVA, ARELI, ELSA,

HILDA, TRÁNSITA y MARÍN.

CONTENIDO

Agradecimientos:.....	i
Dedicatorias:.....	ii
Contenido:.....	iii
Índice de figuras:.....	viii
1.- INTRODUCCIÓN:.....	1
2.- RESUMEN:.....	2
3.- HISTORIA:.....	3
3.1.- La viruela y la conquista de América:.....	4
3.2.- ¿Cuándo apareció la viruela?.....	7
3.3.- El papel de Edward Jenner en el inicio de la viruela:.....	7
4.- INCIDENCIA Y DISTRIBUCIÓN:.....	11
4.1.- Estacionalidad:.....	11
5.- IMPORTANCIA ECONÓMICA:.....	13
6.- ETIOLOGÍA:.....	13
6.1.- Definición:.....	13
6.2.- Sinonimia:.....	13
6.3.- Enfermedades que se confunden con Viruela Aviar:.....	13
6.4.- Clasificación:.....	14
7.- MORFOLOGÍA Y MORFOGÉNESIS:.....	15
7.1.- Estructura:.....	15
7.2.- Genoma:.....	16
7.3.- Host-virus de la interacción:.....	17
7.4.- Replicación:.....	18

7.5.- Morfogénesis:.....	19
7.6.- Patogenicidad:.....	21
7.7.- Antigénica y variabilidad genética entre APV:.....	22
7.8.- Filogenia:.....	23
8.- ESTABILIDAD Y DESINFECCIÓN:.....	24
9.- EPIZOOTIOLOGÍA:.....	26
9.1.- Distribución geográfica:.....	26
9.2.- Estacionalidad:.....	26
9.3.- Causa:.....	26
9.4.- Difusión:.....	27
9.5.- Transmisión:.....	28
10.- FACTORES PREDISPONENTES DEL HUÉSPED:.....	29
10.1.- Edad:.....	29
10.2.- Factores predisponentes del ambiente:.....	29
10.2.1.- Estado de estrés y asociación con otras enfermedades:.....	29
11.- PERIODO DE INCUBACIÓN:.....	30
12.- PATOGENIA:.....	30
13.- SIGNOS.....	30
13.1.- Clasificación de la Viruela Aviar de acuerdo a los signos:.....	30
13.1.1.- Presentación cutánea:.....	30
13.1.2.- Presentación diftérica.....	31
13.1.3.- Presentación cutáneo diftérica.....	32
14.- MORBILIDAD Y MORTALIDAD:.....	33

15.- HALLAZGOS MACROSCÓPICOS:	34
16.- HALLAZGOS HISTOLÓGICOS:	35
17.- PATOGÉNESIS:	37
18.- DIAGNOSTICO:	37
19.- DIAGNOSTICO DIFERENCIAL:	38
20.- MONITOREO Y PROGRAMA.....	39
20.1- Serología.....	39
20.2- Necropsias:.....	39
20.3- Muestras:.....	40
20.4.- Extracción y envío de material al laboratorio:.....	40
20.4.1.- Estudios Histopatológicos:.....	40
20.4.2.- Estudios Viroológicos:.....	41
20.4.4 Estudios Parasitológicos:.....	41
20.4.5 Estudios Serológicos:.....	42
21.- TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO:.....	42
21.1.- Identificación del agente:.....	42
21.1.1.- Técnica de frotis para la viruela aviar:.....	42
21.1.2.- Aislamiento del virus:.....	43
21.1.3.- Métodos moleculares:.....	43
21.2.- Pruebas serológicas:.....	44
21.2.1.- Neutralización vírica:.....	44
21.2.2.- Inmunodifusión en gel de agar:.....	44
21.2.3.- Hemaglutinación pasiva:.....	44
21.2.4.- Pruebas de inmunofluorescencia:.....	45
21.2.5.- Inmunoperoxidasa:.....	45

21.2.6.- Enzimoimmunoensayo:.....	45
21.2.7.- Inmunotransferencia:.....	46
22.- TRATAMIENTO:.....	47
23.- PREVENCIÓN Y CONTROL:.....	48
23.1 Vacunación:.....	48
23.2.- Tipos de vacunas:.....	49
23.2.1.- Vacuna de viruela aviar:.....	49
23.2.2.- Vacuna atenuada para viruela aviar.....	49
23.3.- Instructivo de vacunación:.....	49
23.4.- Sugerencias adicionales antes y durante un brote de viruela húmeda:.....	50
23.5.- Técnica de vacunación:.....	51
23.5.1.- Verificación post-vacunación:.....	52
23.6.- Indicaciones frente a un brote de viruela:.....	52
23.7.- Tipos de vacunas de acuerdo a la edad:.....	52
23.8.- Vías de administración y efectos patológicos:.....	53
24.- REQUISITOS PARA LAS VACUNAS Y LOS MATERIALES DE DIAGNÓSTICO:.....	55
25.1.- Control del inóculo:.....	55
45.1.1.- Características del inóculo:.....	55
24.1.2.- Método de cultivo:.....	55
24.1.3.- Validación como vacuna:.....	56
25.1.3.1).- Pureza:.....	56
25.1.3.2.- Inocuidad:.....	56

25.1.3.3.- Eficacia:.....	56
24.2.- Método de fabricación:.....	56
24.3.- Control del proceso:.....	57
24.4.- Control de lotes:.....	57
24.4.1.- Esterilidad:.....	57
24.4.1.- Inocuidad:.....	57
24.4.2.- Potencia:.....	57
24.4.3.- Duración de la inmunidad:.....	57
24.4.4.- Estabilidad:.....	57
24.4.5.- Conservantes:.....	58
24.4.6.- Precauciones (riesgos):.....	58
24.5.- Pruebas sobre el producto final:.....	58
24.5.1.- Inocuidad:.....	58
24.5.2.- Potencia:.....	58
25.- BIOSEGURIDAD:.....	59
25.1.- Consideraciones para mantener a las aves sanas:.....	59
26.- CONCLUSIÓN:.....	59
27.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:.....	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1.- Microscopía electrónica de una partícula de virus de viruela vista con la técnica de tinción negativa.....	3
Fig. 2.- Lesiones de viruela en humanos:.....	6
Fig. 3.- Retrato de Edward Jenner:.....	8
Fig. 4.- Distribución de los países en todo el mundo en el que la viruela aviar ha sido reportada en las aves:.....	12
Fig. 5.- Tinción negativa EM de una característica FWPV de partículas que se propaga en riñón de cría de hámster (BHK) a las 72 horas después de la infección:.....	15
Fig. 6.- A y B. Microscopía electrónica de transmisión de FWPV infectados:.....	20
Fig. 7.- A, B, C la morfología del virión avipoxvirus en las células fibroblastos de embrión de pollo (CEF):.....	21
Fig. 8.- A, B, C, D. Apreciación de lesiones de viruela aviar del tipo cutánea:.....	31
Fig. 9.- A, B, Lesiones de tipo diftérica a nivel de vías respiratorias, laringe, Faringe y Esófago:.....	32
Fig. 10.- A, B. Lesiones que se aprecian macroscópicamente de forma cutánea y diftérica:.....	34
Fig. 11.- A, B, C, D. Estudios histopatológicos de la viruela aviar en gallos:.....	36
Fig. 12.- Reacción de la vacuna o "toma", Cerca de los 6 días post-vacunación.....	50
Fig. 13.- Sitio donde se inocula la vacuna contra viruela aviar por la vía del pliegue del ala:.....	52

1.- INTRODUCCIÓN

Éste material recopilado y actualizado se basa en la necesidad de dar al lector, pequeños y grandes productores la información a detalle sobre un problema existente a nivel mundial y sobre todo en zonas rurales y me refiero a la enfermedad denominada “Viruela Aviar”.

Desde mi punto de vista muy personal aquí presento tres motivos importantes por el cual realicé éste trabajo: En primer lugar, en los últimos años me he familiarizado demasiado con las aves de traspatio y por lo consiguiente me gusta mucho el manejo, el cuidado que éstas requieren a tal punto de que quiero mucho y le tengo un cariño especial a todas las aves me refiero a gallinas comerciales y de traspatio. En segundo término, la viruela aviar para muchos es una enfermedad que ha sido erradicada en su totalidad y en gran parte es atinada la opinión pero desafortunadamente esta enfermedad (viruela aviar) suele presentarse de manera peligrosa y amenazadora para los pequeños productores de aves dado a que muchos de ellos no cuentan ni ejercen los métodos de bioseguridad específicos para prevenirla, aunado a eso, sin embargo, se considera que las más susceptibles a contraerla son las aves de corral o de traspatio (consideradas también aves domesticas) por no contar en gran parte con la capacitación adecuada de manera teórico-práctica y una minoría de las poblaciones del medio rural (pequeños productores) muestran no tener interés por darle solución a la enfermedad devastadora de la viruela en dichas aves.

Finalmente, a pesar de no contar con los medios adecuados y suficientes para la crianza de aves de doble propósito (postura y engorda) me he interesado tanto en las aves de traspatio a tal grado que cuento con una parvada de diferentes edades y tamaños y soy testigo de cómo las aves que he creado han sufrido severamente en dos ocasiones a mediados del año pasado por el virus de la viruela aviar, de las cuales la primera vez arrasó casi con la mayoría de aves entre 8 a 20 semanas de edad aproximadamente, y el segundo brote que se presentó afectó una tercera parte de la parvada gracias a algunos tratamientos que se hizo todavía a tiempo.

Precisamente por éstas razones, nace la elaboración de ésta monografía con el tema “viruela aviar en gallinas comerciales y de traspatio” a fin de proporcionar al lector información práctica y detallada sobre todo lo relacionado a ésta enfermedad y sobre todo proporcionar conocimientos básicos y necesarios para poder prevenir esta anomalía y mejorar la crianza de todo tipo de aves especialmente gallinas comerciales y de traspatio.

2.- RESUMEN

La viruela aviar es causada por un virus Pox, es una enfermedad común de las aves domésticas y se ha informado que la padecen más de 60 especies de aves silvestres y tiene una distribución mundial. No tiene importancia para la salud humana y por lo general casi no afecta a mamíferos, sin embargo existe un reporte de un poxvirus aviar aislado en un rinoceronte. Cuando la enfermedad es leve, la mortalidad suele ser baja, pero cuando la infección es generalizada (forma diftérica) o cuando se complica con otras infecciones o condiciones ambientales deficientes, la mortalidad es alta (Tripathy y Reed 2000).

Los virus de la viruela aviar, son miembros del género *Avipox* de la familia *Poxviridae* (Tripathy y Reed 2000), el virus es grande, oval, de 150 – 200 nm por 265- 350 nm, es un virus ADN revestido de una cubierta que se desarrolla en el citoplasma de las células infectadas, éstas células tienen grandes inclusiones intracitoplasmáticas (cuerpos de Bollinger) (Karstad 1977).

El virus de la viruela afecta primariamente a la piel y mucosas, destruyendo las células y estimulando la producción de linfa. La lesión comienza como vesículas de distintos tamaños, que sobresalen de la superficie y se llenan de un fluido rico en virus, la vesícula estalla en la superficie y la piel sobre ella se vuelve amarilla y necrótica, la linfa forma una costra que se une a las contiguas formando una corteza, las bacterias pueden contaminar estas lesiones y provocar una descarga purulenta y aumentar la necrosis (Arnall y Keymer 1975). La enfermedad puede presentarse en una forma diftérica que corresponde a lesiones fibrinonecroticas en las membranas mucosas, estas lesiones en boca, tráquea y esófago se caracterizan por la formación de laminas necróticas de células epiteliales, conocidas como membranas diftéricas. La mortalidad es baja cuando la enfermedad afecta sólo la piel (forma cutánea), en el caso de la forma diftérica las aves afectadas suelen morir, especialmente cuando estas lesiones se contaminan ya sea con hongos o bacterias; la presentación de la enfermedad puede ser con una o ambas formas combinadas; en este último caso se produce una septicemia con depresión 15 aguda, disnea, anorexia y muerte (Ritchie y Krip Carter 1995). Esta enfermedad rara vez se presenta en las aves acuáticas.

La transmisión es través de aves infectadas en forma latente y de insectos artrópodos. En muchas áreas los mosquitos sirven como los vectores mecánicos, de diferentes formas ya sea al picar a un ave infectada en el momento de la virémia o al posarse sobre las lesiones cuando la vesícula se rompe (Friend y Franson 1999). La transmisión directa del virus entre aves está directamente ligada a lesiones en la piel (Susan Lorena, 2006).

Palabras claves: Lesión diftérica, Viruela seca, Viruela, Ulcera en la piel, Viruela.

3.- HISTORIA

La viruela es una enfermedad infecto contagiosa producida por un virus de ADN de doble cadena (Fig.1) que pertenece a la familia de los Poxvirus, término que significa pústula. Se trata de una enfermedad endémica muy antigua temida por el hombre, presente en cualquier lugar con suficientes pobladores como para mantener su transmisión. No tiene un reservorio animal aunque existen poxvirus para varios mamíferos. La viruela por su carácter deformante y mortífero es una verdadera peste.

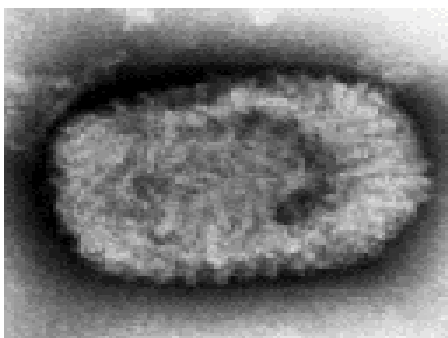


Fig. 1 Microscopía electrónica de una partícula de virus de viruela vista con la técnica de tinción negativa. El virión (partícula viral) tiene forma de ladrillo y aparece recubierto de aparentes filamentos. El virión se obtuvo de una lesión en piel humana que se recibió para su diagnóstico en el CDC en 1966. Aumento de la fotografía 150.000 veces. Autor Dr. Fred A. Murphy. School of Veterinary Medicine, University, of California, Davis, Estados Unidos.

Desde la óptica científica, los eventos asociados a la investigación con el virus de viruela cuyo nombre científico es Variola* mayor han sido pródigos en enseñanzas y marcaron hitos dentro del campo de la salud pública. Para mencionar los más resonantes, el virus de viruela y su noxa asociada provocó el descubrimiento de la técnica de vacunación, la aplicación de ésta permitió que el virus de viruela fuera el primer agente infeccioso erradicado del planeta por un esfuerzo mancomunado por numerosos países.

* Variola fue usada por primera vez por el Arzobispo Mario de Avenches en Suiza, la palabra deriva del latín varius que significa: manchado, grano o pústula.

3.1.- La viruela y la conquista de América.

En su lucha para persistir como entidad biológica entre los humanos, a los que necesita como huéspedes, el virus de viruela ha causado estragos en forma natural pero también cuenta con la ayuda de sus propias víctimas ya que se considera, junto a otros microorganismos, un arma bacteriológica ideal. La conquista de América ilustra el papel importante jugado por las enfermedades infecciosas en el éxito de la invasión española, se sabe que junto a Cristóbal Colón y las sucesivas misiones llegaron además de los cerdos y los caballos, la gripe porcina, el tifus, el sarampión y la viruela.

Mientras en Asia y Europa la viruela era endémica, los pueblos precolombinos carecían de inmunidad contra el virus y fueron devastados bajo su influjo.

Los Taínos, habitantes de las islas del mar Caribe, fueron el primer grupo de indígenas americanos en tomar contacto con los españoles, extraño privilegio o desgraciado destino. Porque cuando Cristóbal Colón, en 1492, arribó a la costa de la isla Bohío, que bautizó La Española - hoy Haití y Santo Domingo- vivían en el archipiélago varios millones de indígenas. En el transcurso de los siguientes 20 años quedaron apenas 50.000, diezmados por la gripe porcina, la viruela y el trato brutal de los ibéricos.

La Universidad de Indiana, Estados Unidos, se encuentra reconstruyendo la vida de los Taínos por haber descubierto en Santo Domingo un santuario arqueológico bajo el agua en una zona boscosa en la que se han hallado pinturas rupestres que muestran a los nativos ofreciéndoles pan a los españoles. Por los relatos de Bartolomé de las Casas se conoce que varios caciques le habían propuesto a los españoles un plan por el que se comprometían a alimentarlos para siempre a cambio de continuar con su vida tradicional pero los conquistadores no se conformaban con pan querían oro y plata y para obtenerlos los sometieron a brutales castigos que los condujo al holocausto ayudados por la introducción de la viruela a fines de 1518.

La viruela no sólo diezmó a los Taínos hizo estragos también entre Mayas y Aztecas sellando su suerte y siguiendo la ruta de la conquista hizo su paso por el Río de la Plata y se introdujo en las altas planicies de los Andes en el territorio de los Incas. En 1519 Tenochtitlán, la capital azteca, contaba con una población de 200 a 250 mil habitantes. Unas cuatro veces el tamaño de Sevilla o la ciudad de Génova que conoció Colón. En el intervalo que transcurrió entre la primera visita de Hernán Cortés y su retorno triunfal el 13 de agosto de 1521 la viruela había diezmado a los aztecas. Según se comenta en los libros de historia, la enfermedad fue llevada al Yucatán por la expedición de Pánfilo de Narváez, enviada para obligar a Cortés a regresar. Esa viruela pasó al norte por la zona central del Valle de México y en 1520 mató a más de la mitad de la población.

Cuando irrumpió en el Altiplano, 1524 -1525, la viruela mató al jefe inca, junto con sus herederos miles de guerreros, plebeyos, mujeres y niños, desastre que facilitó el éxito de la conquista del Perú por Francisco Pizarro.

La destrucción causada por la viruela no sólo contribuyeron a la conquista de América también permitieron el tráfico de esclavos africanos. Los indios debilitados morían por miles en el ambiente malsano de las minas, los negros africanos resultaban mejor negocio, en su niñez se habían enfermado con formas leves de viruela y por ello podían resistir por más tiempo el trabajo forzado y las pésimas condiciones de vida.

Mientras en el nuevo continente el virus mataba sin piedad a sus infectados, en el Viejo Mundo la viruela era endémica y permitía la sobrevivencia del 90 al 95 % de los infectados, principalmente niños, hasta que esta situación varió abruptamente en 1544 con la aparición en Nápoles de una viruela más letal llamada también viruela negra con un 30% - 50% de mortalidad. Comenzó entonces una época en que aparte de las formas benignas se alternaban brotes de las malignas convirtiéndose en una de las enfermedades más temidas que mataba o desfiguraba y para la que no existían tratamientos.

A finales del XVIII aproximadamente 400.000 personas morían en Europa a causa de la viruela y entre los sobrevivientes se encontraba el tercio de todos los individuos ciegos. (Fig.2)



Fig.2. A. Hombre con viruela. Public Health Library (PHIL) id # 131.Fuente: CDC/Barbra Rice. B. Lesiones de viruela en la piel. Tomada en Bangladesh en 1973. Public Health Images Library (PHIL) ID # 284. Fuente CDC /James Hicks. C. Lesiones faciales de un niño con viruela. PHIL ID # 3. CDC/Cheryl Tiron.

Existen formas de la enfermedad todavía más severas, como la viruela hemorrágica, que afecta a menos del 3% de los casos, los pacientes con este tipo de viruela mueren dentro de los primeros siete días de la enfermedad. Se las conoce con el nombre de viruela roja o negra. No existen antivirales contra el virus por lo que el tratamiento de la viruela consiste en una terapia de soporte con antibióticos para evitar las infecciones secundarias. Hay una variante del virus denominada Variola minor que produce una enfermedad más benigna que se conoce con el nombre de "Alastrin" y los relatos de nuestros mayores cuentan que se conocía también como "viruela boba". La mortalidad asociada a esta variante es del 1% o menos, fue descrita por primera vez en Sud África, luego en Estados Unidos, convirtiéndose en la variante prevalente en este último país, en Sud América, Europa y en áreas del sur de África.

3.2.- ¿Cuándo apareció la viruela?

Los historiadores especulan que la viruela emergió entre los habitantes de los primeros asentamientos agrícolas porque al no existir reservorios animales, el virus tenía que circular pasando de hombre a hombre, si esto fuera cierto su irrupción ocurrió algo así como unos 10.000 años AC. Evidencias más tangibles de la existencia de la viruela en tiempos antiguos se encuentran en las momias provenientes de la 18ava dinastía Egipcia (1580-1350 AC) o más claramente de la época de Ramsés V (1157 AC).

La viruela fue llevada probablemente por comerciantes egipcios a la India durante el primer milenio AC donde se estableció en forma endémica. No hay descripciones de los síntomas de la enfermedad entre los griegos y romanos a pesar que en la Biblia y en escritos grecorromanos se describen epidemias referidas a viruela. Fue el erudito islámico Al Razi quien en el año 910 describió una forma de viruela benigna aunque creyendo que la enfermedad formaba parte natural del engrosamiento de la sangre de los niños.

En China la viruela se conoció mucho antes que en Occidente ya que se reportó unos 1122 AC. Los sanadores de la antigua India y China observaron que un ataque de viruela confería protección (inmunidad) de por vida. Así es como concibieron la idea que un ataque leve de viruela podía proteger contra uno posterior más deletéreo y para ello procedieron a desarrollar un método protector que consistía en moler una costra de una pústula de un enfermo y soplar el polvo en una de las fosas nasales de un sujeto sano usando para esta operación un tubo de plata. Lo curioso de esta práctica, no siempre segura, era que si el individuo a proteger era hombre se lo inoculaba en la fosa izquierda y si era mujer en la derecha. La persona así tratada desarrollaba generalmente una forma suave de la enfermedad aún cuando el polvo infeccioso tuviera seis meses de almacenamiento. Un comerciante Joseph Lister, comunicó estas prácticas a un médico amigo de la Royal Society de Londres sin que su propuesta tuviera ninguna repercusión.

Los árabes, por su parte, habían desarrollado otro método de protección, realizaban pequeños cortes en el brazo sano de una persona y lo frotaban con material obtenido de una pústula. De esta forma se lograba una enfermedad leve protectora contra la infección natural más virulenta.

3.3.- El papel de Edward Jenner en el inicio de la viruela

Es tiempo de ocuparnos del accionar de Edward Jenner (fig.3) (1749-1823) el hacedor de la práctica más eficaz para prevenir una enfermedad viral ¡cien años antes que se descubrieran los virus! Jenner se dedicó desde muy joven a la

observación de las costumbres de las aves y a coleccionar diferentes especímenes en su pueblo natal, el condado de Gloucestershire en el oeste de Inglaterra. Amaba la música y podía tocar varios instrumentos, a los trece años emprendió el aprendizaje de la cirugía, que convalidó a los 18 años viajando a Londres dónde se convirtió en ayudante del reconocido cirujano John Hunter. Para esa época realiza un extraordinario descubrimiento que no trasciende debidamente, entre otras razones, por la naturaleza bondadosa de Jenner. Realizando la autopsia de un hombre que había muerto de angina de pecho descubre la calcificación de las coronarias y propone que la causa de esta enfermedad es la obstrucción de las arterias, lo que verifica luego de otras autopsias de individuos muertos en iguales circunstancias. Ese hallazgo que sólo comunica a sus amigos, porque su mentor Hunter, sufría de ese mal, sale a la luz y le vale su ingreso a la Royal Society una vez que Hunter muere por un ataque cardíaco.

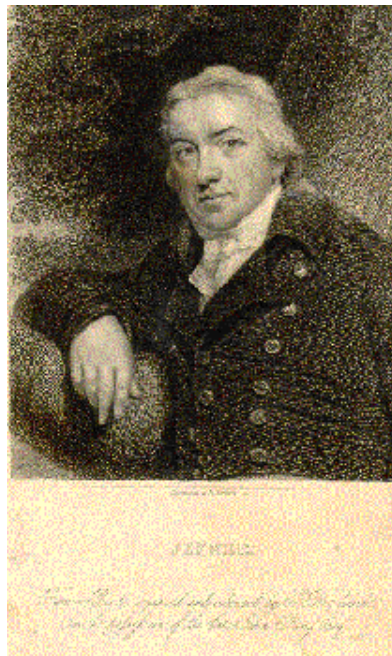


Fig. 3. Retrato de Edward Jenner. Retrato de la Colección de la Biblioteca Clendering. Universidad de Kansas. Centro médico.

A pesar de numerosas propuestas tentadoras para permanecer en Londres, Jenner vuelve a Gloucestershire después de unos años para desempeñarse el resto de sus días como médico rural y realizar el experimento fundacional de la vacunología. En el transcurso de su práctica médica Jenner observó que los animales de granja como vacas, equinos y cerdos sufrían enfermedades parecidas a la viruela que se conocían como la viruela de la vaca, viruela equina y viruela porcina y que dichas enfermedades podían transmitirse al hombre. Conocía también el hecho de que las ordeñadoras de vacas que sufrían de viruela desarrollaban unas pocas pústulas en sus manos, estaban protegidas contra la viruela, porque no enfermaban en un brote epidémico.

El memorable día del experimento fue el 14 de mayo de 1796, Jenner realizó dos incisiones en el brazo izquierdo de James después de sumergir su lanceta en el fluido vesicular de las pústulas de Sarah Nelmes que se había contagiado de la viruela de las vacas ordeñando su vaquita Blossom. A los ocho días más tarde aparecieron en la zona de la inoculación unas pocas pústulas y el niño tuvo una fiebre ligera. Pero el gran desafío se produjo en los primeros días de julio, Jenner varioliza a James con una dosis de viruela que debía enfermarlo. Sin embargo, nada ocurre, la viruela de las vacas protegió contra la viruela. ¡Había nacido la vacuna! Nombre que fue adoptado por el origen del material obtenido a partir de la vaca (*Vaccinus*, *vacca* en Latin), un siglo después Pasteur extendió el nombre de vacunación a la inmunización contra otros agentes cualquiera sea su origen es el virus que aplicado sistemáticamente ha permitido la erradicación de la viruela. (Química Viva, 2002)

Se estima también que 300 millones de personas murieron a causa de la viruela en el siglo 20. Esta enfermedad virulenta, que mata a un tercio de los que infecta, se sabe que han coexistido con los seres humanos durante miles de años.

La primera evidencia física de la viruela es la erupción pustulosa en el cuerpo momificado del faraón Ramsés V de Egipto, que murió en 1157 antes de Cristo. Los comerciantes llevaron la enfermedad desde Egipto hasta la India durante el 1er. milenio AC. A partir de ahí arrasó a China en el siglo primero y llegó a Japón en el siglo sexto.

La viruela fue particularmente exitosa en las poblaciones vírgenes. Los españoles sin darse cuenta le deben mucho de su éxito en la conquista de los aztecas y los incas en México en el siglo 16 a la viruela. A diferencia de los españoles, los indígenas no tenían inmunidad a la enfermedad, ya que nunca se encontró antes. Se acabó con un gran número de ellos. Un siglo más tarde los indios de América del Norte sufrieron una devastación similar. En el siglo 18 la viruela diezmó a los aborígenes cuando llegó a Australia, el último rincón del mundo que ha escapado de sus estragos. (Flight, 2011)

Pocos acontecimientos epidemiológicos están mejor documentados que la introducción de la viruela en el continente americano, pero con haber sido enormes sus consecuencias, la dispersión de la viruela entre los indígenas mexicanos es sólo parte de su historia epidemiológica. Estos antecedentes epidemiológicos demuestran el papel de los españoles, con sus animales domésticos y el de los negros importados de África en la introducción de enfermedades infecciosas en México. Hay que agregar que antes de la llegada de los españoles no había en América animales domésticos importantes, ni bestias de carga, ni transporte rodado, de ahí que fuera el hombre el que tuviera que llevar la carga y figuren como portadores de Cortés los indios, y sean los de Narváez negros, pues el caballo fue siempre considerado en la conquista como arma de guerra muy principal.

La diseminación de la viruela en México se inició el 30 de mayo de 1520 en Cempoála, Veracruz al día siguiente de haber hecho Cortés prisionero a Pánfilo de Narváez (c. 1480-1528). Durante la noche del asalto al campamento de éste, Gonzalo de Sandoval (1497-1528) uno de los mejores capitanes de Cortés, dio con el aposento de los portadores negros de Narváez, donde uno de ellos, llamado al parecer Francisco de Eguía, tenía viruela. De él se contagiaron los indios de Cempoála que luego con el trasiego de la guerra contaminaron a los tlaxcaltecas y al resto de los mexicanos.

Sucedió también que, en el ejército de Narváez había un negro con viruelas, y como el lugar de Cempoála era muy grande y de mucha gente, y las casas de los indios tan pequeñas que vivían muy apretados, fueron las viruelas pegándose con los indios de ésta manera y así murieron infinitos. Eran tantos los muertos que como no los enterraban, el hedor corrompió el aire y se temió gran pestilencia. Este mal de las viruelas se extendió por toda Nueva España y causó increíble mortandad y era cosa notable ver a los indios que se salvaron desfigurados en las manos y rostros, con los hoyos de las viruelas por causa de rascarse. Pudiera quedar, como hasta ahora la viruela, como la principal responsable de la muerte de los sitiados en Tenochtitlán. (Guerra, 1986)

4.- INCIDENCIA Y DISTRIBUCIÓN

La viruela aviar se ha observado en una variedad de huéspedes de todo el mundo aviar. La enfermedad es más común en la zona templada (tibia y zonas húmedas) del mundo y se observa generalmente en relación con los ciclos de mosquitos estacionales.

La viruela aviar se ha diagnosticado en aves de caza de montaña, aves canoras (duelo palomas y pinzones), aves marinas (los canarios y loros), pollos, pavos, aves de rapiña, ocasionalmente, pavos, de vez en cuando aves rapaces y rara vez en las aves acuáticas. En Michigan, ha sido diagnosticado el jilguero de América, paloma, halcón aludo, cuervo común, guajolote silvestre, cisne trompetero, el águila calva, gorrión común, American petirrojo, estornino pinto, la grúa y la duna cuervo de América. Viruela aviar ha sido identificado en las aves desde la historia más temprana pero sigue siendo en la actualidad considerada como una enfermedad emergente viral, por lo que en todo el Norte de Estados Unidos ha habido casos relativamente reciente. Michigan. (Wildlife Disease Manual, 2007)

La enfermedad se presenta en todas partes del globo. Los informes son esporádicos, con principalmente paseriformes y aves rapaces afectados y por lo general en los momentos de año y los lugares donde las aves están en alta densidad. Hoy poco se conoce sobre la prevalencia de la viruela aviar en poblaciones de aves silvestres. Algunos estudios han indicado que el virus de la viruela puede persistir a bajas tasas de infección en una población durante varios años. Esto probablemente cuenta de los múltiples informes de la infección por virus de la viruela en algunas especies. Los factores ambientales tales como temperatura, la humedad y la cubierta protectora, juegan un papel en la distribución de esta enfermedad. Estos factores afectan la supervivencia del virus fuera del lado del huésped del ave, además de la disponibilidad de vectores tales como moscas y mosquitos que se alimentan de las muchedumbres de aves.

4.1.- Estacionalidad

Aunque las infecciones por virus de la viruela en las aves silvestres se producen durante todas las estaciones del año, los brotes de enfermedades se han asociado con la aparición de las poblaciones de vectores, las condiciones ambientales y los hábitos de las especies afectadas. Evidencias que respaldan los estudios limitados mostraron que las tasas más bajas de prevalencia de la enfermedad para la codorniz de California en Oregón fueron en los meses secos del verano, en comparación con los más altos durante los meses de otoño e invierno. En Florida, los informes de la viruela aviar en pavos salvajes se produjo a finales del verano y principios del otoño, dado a que esa época correspondiente a la temporada de mosquitos. Se ha observado que las aves inmaduras son generalmente las más frecuente y severamente infectados con virus de la viruela. (Schwantje 2003)

En cuanto a la distribución geográfica del virus de la viruela aviar no hay duda que se presenta en todo el mundo, con la excepción de que no se han publicado los registros de las aves silvestres con esta enfermedad en el Ártico o la Antártida, o en algunas regiones más remotas del mundo (Fig. 4). La información publicada está muy inclinada geográficamente a las localidades donde los científicos han estado trabajando activamente con esta enfermedad (por ejemplo, América del Norte, Australia, Europa, Asia), por lo tanto, éstos son los pocos informes existentes publicados sobre las aves silvestres en gran parte de África y del Sur de América. El estado actual de nuestros conocimientos sobre la viruela en las poblaciones de aves silvestres por lo general revela una mayor prevalencia en las zonas templadas y cálidas del globo. Incluso dentro de los continentes, las distribuciones de la viruela aviar tienden a ser confinado a regiones localizadas. Por ejemplo, Forrester (1991) examinó la distribución de la viruela en los pavos salvajes (*Meleagris gallopavo*) y también en América del Norte y se encontró que la enfermedad se concentró en los Estados más húmedos y más cálidos como Unidos del sudeste, a pesar de que los pavos silvestres se producen en todos los estados excepto Alaska. Cuando la viruela aviar se ha introducido en las islas remotas (por ejemplo, Hawái, Galápagos, Islas Canarias), la enfermedad se propaga rápidamente, que resulta en la prevalencia más altas de la avifauna nativa que se produce entre las especies introducidas como las aves (Warner 1968, Vargas 1987; VanderWerf 2001; Van Riper et al. 2002, Atkinson et al. De 2005, Smits et al. 2005). (Van Riper III and Forrester, 2006)

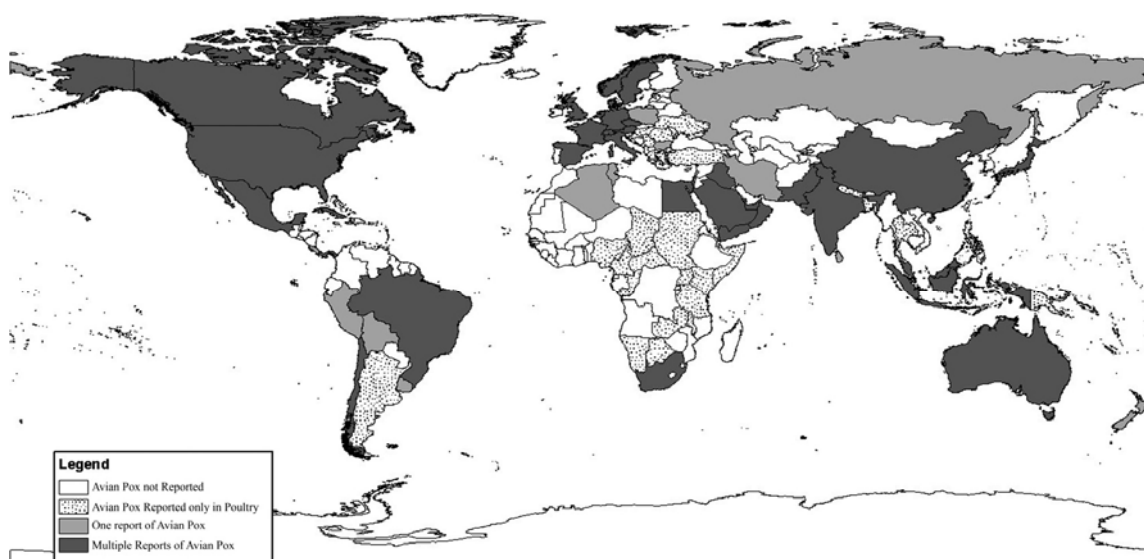


Figura 4. Distribución de los países en todo el mundo en el que la viruela aviar ha sido reportada. Los países con fuerte punteado son aquellos en los que la viruela aviar ha sido reportada en varias familias de aves, moderado indica punteado de informes a partir de un registro único y la ausencia de punteado indica que la viruela aviar no ha sido identificado positivamente en esos países.

5.- IMPORTANCIA ECONÓMICA

Esta enfermedad es importante dado a que tiende a reducir la producción de huevos, por el estado de inmunodepresión que provoca en las aves, retarda en gran manera el crecimiento y por los decomisos que pueda tener la parvada. La morbilidad: va a depender de la época del año, la cantidad de mosquitos presentes y la inmunidad de las aves. (Palma, 2010)

6.- ETIOLOGÍA

6.1.- Definición

La Viruela Aviar es una infección viral de lenta difusión en los pollos, y los pavos, que se caracteriza por lesiones proliferativas en la piel (forma cutánea) que progresan para formar costras gruesas y lesiones en el aparato digestivo y vías respiratorias superiores (forma diftérica). Se observa en todo el mundo.

El gran virus ADN (un avipoxvirus, familia poxviridae) es muy resistente y capaz de sobrevivir durante varios años en costras desecadas. Las cepas de campo y de vacuna solo presentan diferencias de poca importancia en sus perfiles genómicos, aunque pueden diferenciarse, hasta cierto grado, mediante análisis de restricción de la endonucleasa e inmunoblotting. El virus está presente en gran número en las lesiones y se transmite por contacto entre los compañeros de corral a través de las abrasiones presentes en la piel. Pueden ser vectores mecánicos varias especies de mosquitos y otros insectos chupadores. La transmisión dentro del grupo es rápida cuando los mosquitos son abundantes. (Merck, 2000)

6.2.- Sinonimia

La viruela aviar se conoce también con otros nombres tales como:

- ❖ .- Lesión diftérica
- ❖ .- Viruela seca
- ❖ .- Viruela
- ❖ .- Ulcera en la piel
- ❖ .- Viruela húmeda

6.3.- Enfermedades que se confunden con Viruela Aviar

- ❖ .- E.C.R.
- ❖ .- Bronquitis infecciosa
- ❖ .- Laringotraqueítis
- ❖ .- Enfermedad de Newcastle
- ❖ .- Inflamación diftérica (Merck, 1982)

6.4.- Clasificación

Los grandes descubrimientos realizados a mediados del siglo XIX permitieron importantes avances en virología y por ende sobre el tema viruela. Basado en el informe de Bollinger (1873) en las células infectadas en el virus de la viruela en los pollos, y el trabajo posterior de Fenner y Burnet (1957), APV y otros poxvirus se clasificaron en base a las características originales de acogida, de crecimiento y morfológicas en la CAM de los huevos embrionados o en cultivos celulares y en las manifestaciones clínicas en diferentes enfermedades de los seres humanos, aves y animales (Fenner 2000) en lugar de identidad genética, que puede proporcionar tanto un rápido y fiable identificación del virus (Huw 1997, Luschow 2004 y Weli 2004). Estos criterios tienen y sigue siendo la base para la posterior clasificación de APV a pesar del desarrollo de nuevas herramientas moleculares que tienen la capacidad de resolver la cuestión de la especificidad de especie de la APV. Los miembros del género avipoxvirus pertenecen a la subfamilia Chordopoxvirinae que comparte varias características biológicas con otros poxvirus (Afonso 2000 y Tulman 2004). En la actualidad, poco se conoce del número exacto de especies dentro del género. Aunque sólo diez cepas hasta ahora han sido identificados y clasificadas en todo el mundo. Infecciones por poxvirus aviar se ha informado que afectan a una amplia gama de especies de aves (Bolte 1999). Estas cepas varían en la especificidad de la virulencia y la de acogida, demostrando la urgente necesidad de nuevos análisis y caracterización de nuevos aislados.

7.- MORFOLOGÍA Y MORFOGÉNESIS

7.1.- Estructura

Avipoxvirus comparten varias características morfológicas, bioquímicas y las características físico-químicas con otros poxvirus. Las partículas de virus miden 270 x 350 nm y están compuestas de un electrón y un denso núcleo situado en el centro y dos cuerpos laterales que son visibles en fijo y posee teñidos cortes ultrafinos. En las preparaciones teñidas negativas, tal como ácido fosfotúngstico (PTA) de la membrana muestra una capa externa-compuesto de una disposición al azar de los túbulos (Carter 1981); Figura 5. APV partículas han sido demostrado ser resistentes al éter, pero sensible al el tratamiento con cloroformo (Andrews 1978), aunque también se ha reportado resistencia del virus de la viruela de paloma y dos mutantes del virus de viruela de paloma tanto por cloroformo y el éter (Tantwai 1979).

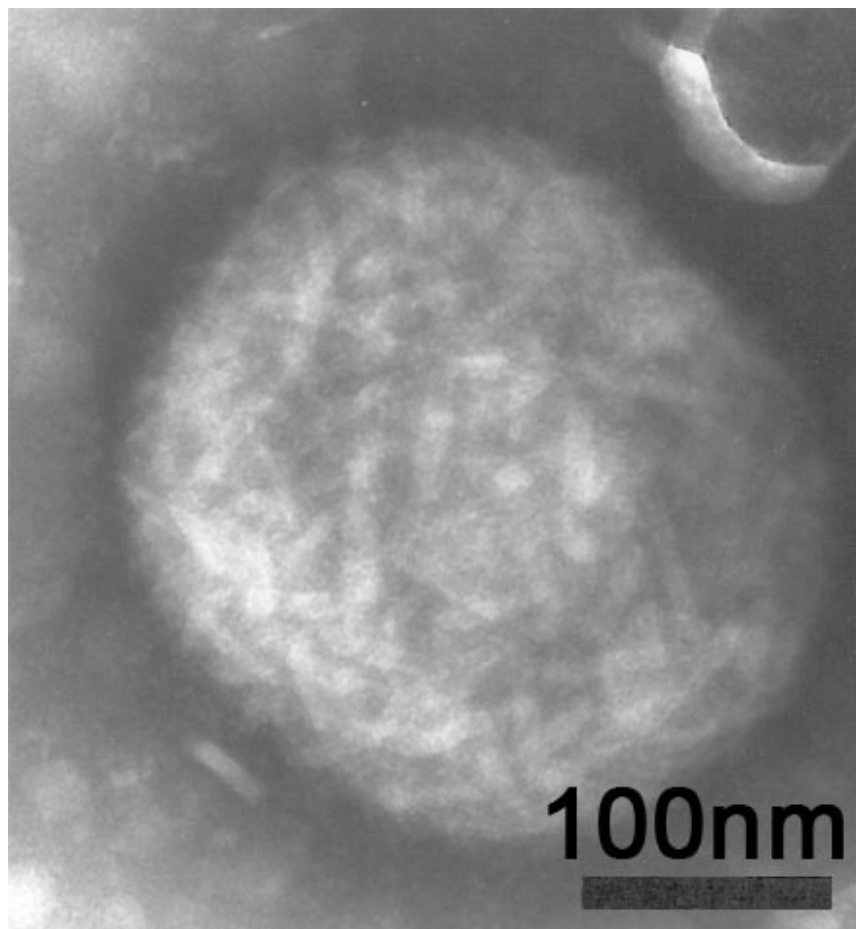


Fig. 5 Tinción negativa EM de una característica FWPV de partículas que se propaga en riñón de cría de hámster (BHK) a las 72 horas después de la infección.

7.2.- Genoma

Avipoxvirus tienen bajo contenido de G + C (30 a 40%) y constan de una sola molécula lineal de doble cadena ADN de entre 260-365 kb. La región central del genoma está flanqueada por dos terminales invertidas idénticas que se repite (RTI), que se unen covalentemente por la horquilla bucles y contiene varios cientos abiertos poco espaciados que se observa en el marco de lectura (Afonso 2000). La región central contiene aproximadamente de 90-106 genes homólogos que se involucran en la replicación a base de mecanismos, incluyendo la transcripción viral y la modificación de ARN, la replicación del ADN vírico, y las proteínas implicadas en la estructura y el montaje de viriones intracelulares maduros y viriones extracelulares envueltos (Tulman 2004).

En general, los genes localizados en esta región tienen en común funciones moleculares y están relativamente conservadas entre poxvirus. Esto está en contraste con las demás variables, los genes situados terminalmente se ha demostrado que puede codificar una gran variedad de proteínas implicadas en la acogida restricción del rango (Tulman 2004). Genomas completos de los dos más estudiados APV, FWPV EE.UU. (FP-exposición al virus; servicios de Inspección de Sanidad Animal del Centro de Biológicos Veterinarios, Ames Iowa, EE.UU.) y una virulenta CNPV cepa (C93 Wheatley, American Type Culture Collection; ATCC VR-111) se han secuenciado (Fener y Burner 2000 Y Laidlaw 4004). Aunque nucleótidos y aminoácidos ácidos secuenciales de estos dos virus ya se sabe, las funciones de algunos genes putativos y proteínas permanecen para ser completamente asignados. Comparación de la cepa FP9 con FWPV EE.UU. reveló 118 diferentes; de ellos, 71 genes que se vieron afectados por la eliminación (26 de 1-9334 pb), inserción (15 de 1-108 pb), la sustitución, el cese o en un marco de cambio (Laidlaw 4004). La cepa FP9 es un derivado de Europa FWPV HP1 que se obtuvo a través de más de 400 pasajes en fibroblastos de embrión de pollo (CEF). Análisis de FWPV HP1 secuencias en los lugares en que las diferencias existen entre FP9 y FWPV EE.UU. muestran que 68 de 118 loci difieren de los EE.UU. FWPV, pero eran idénticos a FP9. Así pues, esto indica que más de la mitad de las diferencias entre los linajes geográficas FWPV hay dos representadas diferencias entre la matriz del virus virulentos FWPV HP1 y EE.UU. FWPV (Laidlaw 4004). Además de la comparación molecular, hay datos que muestran que los aminoácidos FWPV CNPV tiene alta participación de identidad, la secuencia de importantes genes reordenados, deleciones e inserciones. El genoma CNPV es de aproximadamente 80-100 kpb más grande que los genomas FWPV. Tanto FWPV y CNPV puede expresar genes celulares homólogos con inmunomoduladores funcionales, que podrían ser responsables de su virulencia diferente y un rango de hospedantes (Tulman 2004), pero CNPV muestra un tropismo de tejido más amplio en huéspedes permisivos aviares (Sadasiv 1985) que FWPV. CNPV tiene una secuencia adicional de más 75 kpb, 39 genes que carecen de homólogos y FWPV aproximadamente el 47% de aminoácidos divergentes (Tulman 2004). Estas divergencias se encuentran principalmente en las regiones terminales no conservadas. Los genes localizados en las regiones conservadas son más propensos a la mutación y recombinación y están

implicados en el rango de hospederos, la inmunomodulación y la patogénesis (Afonso 2000 y Tulman 2004) y puede ser responsable en algunos aspectos de la celda y / o tejido o tropismo de realizar otras funciones celulares (Tulman 2004). Genes de virulencia son por lo general cuando no conservan la naturaleza e influyen en el perfil patológico de los virus en un huésped infectado. Estos genes son importantes en la evolución viral y se han utilizado en estudios para proporcionar una visión de tal forma que algunos virus de la viruela puedan desarrollar estrategias para asegurar su replicación (Johnston 2004). Muchas de estas estrategias posiblemente se remontan a los descubrimientos hechos con nocaout virus (KO), en el que una alteración dirigida de un gen viral específico produce cambios fenotípicos de reflexión de la función normal biológica de su producto proteico. Eliminaciones de algunos genes no conservados también han resultado en defectos condicionales de replicación en determinados tipos de células (Perkus 1990), tales como la demostración de la eliminación espontánea de alojar los genes del área de distribución de los virus de la vacuna resultantes de la comprometida célula de crecimiento de mamífero (Drillien 1978). El K1L y los genes de virus de vacuna C7L han demostrado ser esencial para la finalización del ciclo de replicación de virus de la vacuna en las células humanas (Gillard 1986 y Gilard 1985). En un experimento de octavos de final, la vacunación del virus no pudo completar su ciclo de replicación en ovario de hámster chino (CHO), puesto que la replicación se ha cancelado poco después de la unión del virus y la entrada, en la fase intermedia de la expresión génica (Ramsey 1998). A través del uso de estas técnicas, ahora tenemos una mejor comprensión de la biología de la vacuna y otros poxvirus, incluyendo su sede de la restricción del rango. Aunque algunos avances importantes se han hecho en la secuenciación del genoma e in vitro caracterización de la APV (Boulanger 2000), los estudios sobre el APV genes del huésped del área de distribución son escasos. Una amplia gama de genes homólogos con las posibles funciones de acogida del área de distribución, tales como las células NK receptores, quimiocinas, los inhibidores de la proteasa de serina y homólogos de los genes implicados en la apoptosis, el crecimiento celular, tropismo tisular y rango de huésped aviar, se han identificado en la APV, lo que sugiere una adaptación significativa viral en el huésped aviar (Afonso 2000). Los estudios moleculares knock-out que se dirigen a la identificación y caracterización adicional de los genes virales implicados en la regulación de la proliferación celular, la cromatina remodelación, la virulencia y la apoptosis, en diferentes APV-infectadas células de mamíferos y aves son necesarios para comprender mejor el tropismo tisular y la gama de huéspedes características de APV, incluyendo la infección abortiva en células de mamífero.

7.3.- Host-virus de la interacción

En comparación con otros poxvirus, tales como el virus de la vacuna, representan mecanismos que para la patogénesis de APV es poco conocido. APV se han desarrollado una variedad de elegantes mecanismos para entregar sus genes y accesorios como proteínas en las células huésped. Al igual que muchos otros virus de ADN, APV, probablemente dedica gran parte de sus genes para que

pueda evadir la respuesta inmune del huésped. Tales genes virales comúnmente codifican proteínas que son críticos para que los virus sufran una transformación molecular que conduce a éxito la fusión de membranas, la penetración y transportes intracelulares. Estos incluyen genes que codifican proteínas que actúan en las primeras vías innatas como las vías de participación de interferón (Mann 2008), los receptores de reconocimiento de patrones como Toll-like receptor (TLR) (Bowie 2008), quimiocinas (Alcamí 2007) y citoquinas (Alcamí Y Smith 1992), así como las vías que actúan en las siguientes respuestas de adaptación (Antoniu 2008). La infección de una célula por un virus es un proceso complejo, durante el cual el virus tiene que superar varios factores del huésped así como puntos de restricción y la respuesta inmune del huésped. Anfitrión de interacción de proteínas redes y vías bioquímicas son en la mayoría de los casos alterada por las proteínas virales que liberar el virus de la normal controles celulares y permiten el metabolismo de nucleótidos en Las células que han cerrado la síntesis de ADN (Boehmer 1997). Por lo tanto, la comprensión de las funciones virales de proteínas y sus interacciones con proteínas del huésped es un requisito previo, no sólo para comprender la biología e infección del sistema huésped-virus, sino también para el desarrollo racional diana de las vacunas, en base a antígenos específicos y posiblemente factores inmunomoduladores, así como antivirales compuestos.

7.4.- Replicación

Desde el primer aislamiento de APV en el cultivo celular, los virus han sido reconocidos como altamente específicos de acogida. Se cree que se replican sólo en células de aves, en particular en fibroblastos de embrión de pollo (CEF; American Type Cultura Colección; ATCC, Rockville, Maryland, EE.UU.; CRL-1590) (Paoletti 1996). Células CEF tiene una buena relación de división en comparación con otras líneas celulares, y son por tanto útiles en gran escala en la propagación del virus, tales como la producción de antígeno para vacunas o como una herramienta de diagnóstico. APV también ha sido muestra de que puede replicarse en embrión de pollo y riñón, La dermis del embrión de pollo (Schnitzlein 1998) y las líneas celulares de codornices, como las del intervalo QT 35, aunque la presencia de virus del herpes endógeno son viables y el virus de la enfermedad de Marék (MDV) en células QT-35, limita su uso para la preparación de vacunas (Yamaguchi 2000). APV han aislado una ocasión en un mamífero. En 1969, FWPV fue aislado en un rinoceronte en enfermedad terminales. El aislado fue identificado como FWPV atípico, basado en características patológicas, virológicas y serológicas (Mayr 1970). Nelson (1941) reportó leve patología en los ratones después de la inoculación intranasal con FWPV, sin replicación del virus. Estudios recientes también han demostrado replicación de APV en cultivos de células de mamíferos, tales como embrionarias, células traqueales de la especie bovina y células de riñón de hámster recién nacido que se definen por la presencia de

partículas virales infecciosas y CPE (Weli 2004). Estos estudios plantean preguntas acerca de la especificidad de especie y los mecanismos de que restringen estos virus a determinados hosts, y el desafío sobre la hipótesis de que APV no puede sufrir una replicación completa en el ciclo de las células de mamífero.

7.5.- Morfogénesis

La entrada y salida celular de APV se complica por la existencia de al menos dos formas distintas del virus que pueden infectar productivamente las células, a saber, el virus intracelular maduro (IMV) y el virus envuelto extracelular (EEV). Estas dos formas están rodeadas por membranas lipídicas diferentes y de superficie proteica que son aún plenamente caracterizados. Después de la unión del virus a las membranas celulares, pasa a una fusión, que es generalmente poco conocido y los resultados son la liberación del núcleo del virión en el citoplasma de la célula (Boulanger 2000). El núcleo liberado, contiene endógeno ARN-polimerasa y los factores de transcripción, inicia la primera onda de la transcripción temprana del gen viral mediante la síntesis ARNm viral bajo el control de los primeros promotores virales. Esto es seguido por la etapa uncoating, aquí se da la liberación de ADN viral en el citoplasma donde sirve como un precursor para la replicación del ADN viral, así como la fuente de la transcripción de genes intermedios y finales de la parte viral. Como productos finales de los genes virales se acumula, el virus sufre una unión y morfogénesis de las partículas virales infecciosas. Durante la morfogénesis, APV induce la formación de cuerpos de inclusión en el citoplasma de las células infectadas (Figura 6A y 6B). Las inclusiones, que también pueden ser denominadas fábricas virales, viroplasmas o complejos de replicación viral, generalmente se cree que son los sitios de replicación viral activa y el conjunto de partículas dentro de células infectadas (Sadashiv 1985). Un modelo para la función viral de cuerpos de inclusión es que actúen para concentrar proteínas, secuestrar ácidos nucleicos y otras moléculas pequeñas esenciales para los procesos virales. En las células permisivas, las primeras estructuras virales detectables por la microscopía electrónica son la forma de media luna (Figura 7A), que consta de una membrana con espículas sobre la superficie convexa (Boulanger 2000). Estas estructuras se convierten en no infecciosas inmaduras de los virus esféricos (IV) (Figura 7B) de la cual el virus intracelular maduro (IMV) y está formada por una serie de pasos de maduración (Figura 7C). El IMV representa a la mayoría de las enfermedades infecciosas progenie de cada célula infectada (Hatano 2001). Existen tres mecanismos posibles por los cuales los poxvirus son liberados de las células huésped, dependiendo de la cepa del virus, el tipo de células y el tiempo después de la infección. Ellos pueden ser liberados por citólisis, en cuyo caso IMV se liberan cuando la célula se somete a lisis como resultado de la CPE en la etapa avanzada

de la infección. La tercera forma de liberación es por gemación, en cuyo caso IMV migra fuera de la fábrica de virus a través de la membrana plasmática. Estos son los pasos de formación de los virus inmaduros y se muestra estar desprovisto de una alteración en la expresión del gen temprano (Stannard et al 1998), lo que indica que este bloqueo no puede ser asociada con los receptores celulares. El tropismo Poxvirus no puede ser dependiente de receptores de superficie celular específica, sino más bien en la capacidad de una célula dada para proporcionar factores intracelulares que complementan la replicación necesaria del virus productivo, y en la capacidad específica del virus para manipular con éxito de forma intracelular las redes de señalización celular que regulan el antiviral en los procesos siguientes a la entrada del virus (Seet 2003).

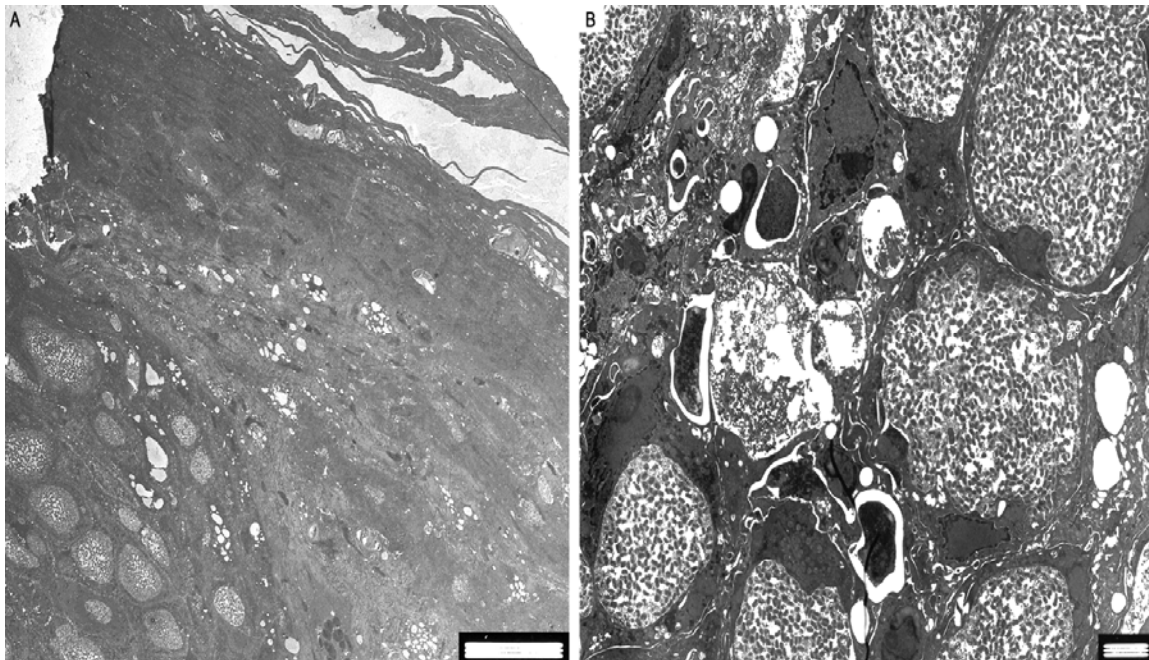


Figura 6 A y B. Microscopía electrónica de transmisión (TEM) de FWPV infectados (A) tejidos de la piel de aves que muestra las capas externas de la epidermis, con típicos cuerpos de inclusión (cuerpos de Bollinger) en la dermis (barra = 20 m) y (B) células características con cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos que contienen partículas virales (bar = 2 m).

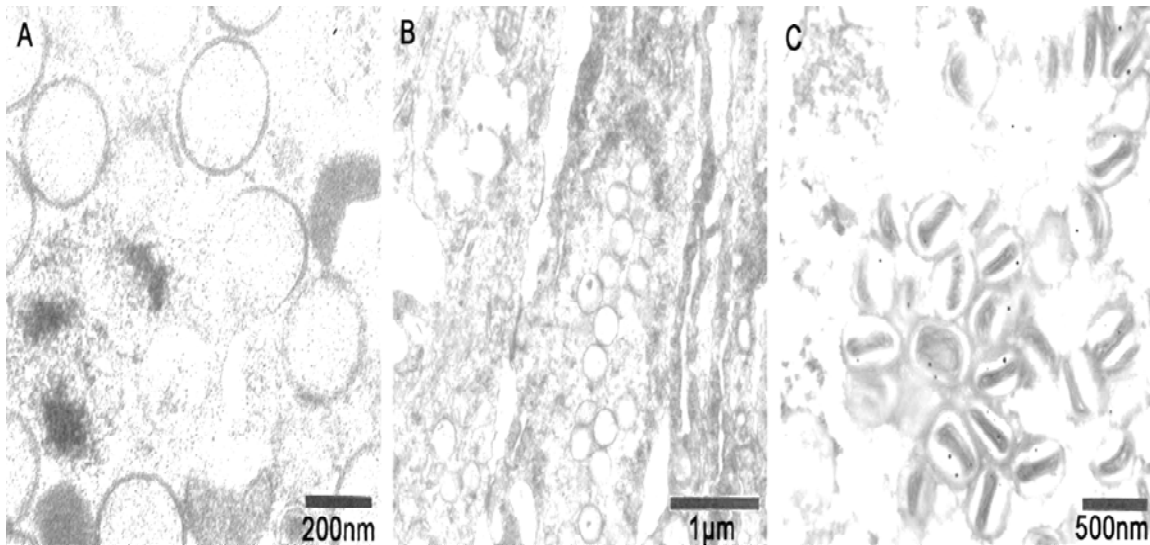


Figura 7 A, B, C y la morfología del virión avipoxvirus en las células fibroblastos de embrión de pollo (CEF). (A) Microscopía electrónica que muestra la forma de media luna de las estructuras que consisten en una membrana con espículas sobre la superficie convexa, (B) esféricas no infecciosas de los virus inmaduros (IV) que dan lugar a la formación de (C) viriones maduros intracelulares (IMV) por una serie de pasos de maduración.

APV tienen grandes genomas que les permitan expresar colecciones únicas de las proteínas virales que actúan como factores de alcance de acogida, que se dirigen específicamente y manipulan de acogida las vías de señalización para establecer las condiciones óptimas celulares para la replicación viral. Sin embargo, en algunas células, especialmente células de mamífero, la replicación de APV se bloquea. Este puede ser debido a la capacidad de APV para activar específicamente las vías de señalización o los mediadores, por ejemplo, las vías de interferón, en esas células. El papel de los mediadores e inmunopatología de la APV es complejo y difícil de entender. Sin embargo, teniendo en cuenta los numerosos pasos implicada en la morfogénesis de APV, es importante tener en cuenta que estos virus inducen varios mediadores que permiten sobrevivir e interactuar con las células huésped. Algunos mediadores potenciales se han identificado (Afonso 2000) y son en espera de la caracterización funcional adecuada. Estas moléculas por sí solas no pueden explicar plenamente los hechos que tienen y han documentado en células de mamíferos que han apoyado la replicación del APV [54]. Por lo tanto, la identificación de nuevos mediadores que están arriba o hacia abajo-regulado en respuesta a APV infectadas por células de mamíferos y aves podría ayudar a avanzar en el conocimiento de la respuesta inmune contra la APV y la patología relacionada con la inmunidad mediada por células tropismo. Es de vital importancia investigar estas características aún más, especialmente para los tipos de células que se han demostrado recientemente para apoyar la APV en la replicación (Sainova 2005).

7.6.- Patogenicidad

Infecciones de APV están asociadas con niveles significativos de la morbilidad y la mortalidad en las poblaciones de aves domésticas y silvestres

(Tripathy y Red 2003). La mayoría de las investigaciones informó casos que se basan en APV aislados individuales, lo que hace difícil abordar la patogenicidad de APV en diferentes especies de aves. Los pollos se utilizan comúnmente para determinar la patogenicidad de nuevos aislados, pero los pollos puede no ser el anfitrión ideal, puesto que APV de las aves silvestres no pueden multiplicarse en los pollos. En un intento de identificar y caracterizar la patogenicidad de la APV, Tripathy y otros encontraron que las cepas silvestres de Hawái el virus de la viruela del cuervo tenía una patogenicidad generalmente leves en los pollos, caracterizada por lesiones relativamente menores de corta duración en los sitios de inoculación, que estaban en contraste con la capacidad general de cepas FWPV para producir extensas lesiones proliferativas (Bailey 2002). En otro estudio experimental, dos aislados obtenido a partir de APV en aves silvestre en peligro de extinción en Hawái, el ganso de Hawái (*Branta sandvicensis*) y el palila (*Loxioides bailleui*), se compararon con FWPV en específico en pollos libre de patógenos. Las respuestas inmunes fueron medidas por la prueba de ELISA antes y después de la inmunización con la APV de Hawái y después del desafío con FWPV. En los dos aislamientos de Hawái las aves desarrollaron sólo una lesión localizada de corta duración en el sitio de inoculación en pollos y no proporcionó protección contra el desafío subsiguiente con FWPV virulenta, en el que se observaron lesiones graves. El virus de las palomas produce una infección leve en los pollos y pavos, pero es más patógena para las mismas palomas (Boosinger 1982). Aislamientos de virus de la viruela de las urracas (*Pica pica*) y el carbonero común (*Parus major*) no infectan a pollos jóvenes, sin embargo, aislado del virus de la viruela de la urraca (*Gymnorhina tibicen*) produce lesiones en los pollos. Estos estudios se basaron en las manifestaciones clínicas en los pollos y sugieren la especificidad del huésped y la patogenicidad. A pesar de la prevalencia mundial de las infecciones de APV, hay estudios experimentales de infección en las aves que utilizan APV teniendo centrado aislamientos virales relativamente pocos. Los análisis de variación se han centrado esencialmente en una cepa FWPV denominada prototipo, mientras que una minoría de los estudios experimentales a investigado sobre CNPV, la viruela de codorniz, enfermedad provocada por el virus de la viruela aviar y es similar a la misma y viruela de la paloma) aislados del virus. La importante naturaleza de la APV, se ha utilizado con éxito durante los mandatos de desarrollo de vacunas que con un mayor número de cepas de virus deben ser analizados tanto para la consideración de la patogénesis y la determinación de las correlaciones inmunitarias de protección (Ghildyal 1989).

7.7.- Antigenicidad y variabilidad genética entre APV

Nuestra actual comprensión de la variación antigénica de APV se ha basado en un número limitado de aislados de virus en los ensayos que incluye fijación del complemento, hemaglutinación pasiva, precipitación en gel de agar, inmunoperoxidasa, virus de la neutralización e inmunofluorescencia (Chung 1977). Además de la variación de ensayos inmunológicos, la APV también se ha abordado a través de ensayos de la genética, tales como el análisis de enzimas de restricción. Genomas de Aislamientos del virus de la viruela de codorniz FWPV se compararon mediante la utilización de BamHI, EcoRI, HindIII y endonucleasas

distintas donde se observaron patrones de fragmentos entre los aislados. Los patrones de tres cepas de virus fueron la de viruela de codorniz similar entre sí con una alta proporción de fragmentos de comigrating. Sin embargo, cuando las proteínas inmunogénicas de tres FWPVs, dos virus de viruela de codorniz, y un virus de la viruela de paloma fueron examinados por inmunotransferencia, compartida, así como antígenos únicos fueron detectados. La mayor disparidad se observó entre el virus de la viruela de codorniz y FWPV, lo que indica que una amplia variación entre el virus y viruela de codorniz FWPV podría predecir diferencias en la inmunogenicidad y antigenicidad, incluyendo la sensibilidad de neutralización. La secuencia de nucleótidos a base de estudios para la identificación rápida del virus de la viruela de la especie PCR con cebadores específicos y la hibridación están bien establecidos. Estos enfoques se concentraron en los genes individuales o porciones de los genes de variaciones en su secuencia de exposiciones y son importantes para un análisis rápido de la variabilidad genética (Luschow 2004).

7.8.- Filogenia

La comprensión de la filogenia de APV es esencial para la comprensión de especificidad del huésped y la virulencia, pero también para proporcionar información sobre la variación de los diferentes virus. A pesar de las secuencias del genoma completo de FWPV y CNPV aun están disponibles y se sabe poco sobre la filogenia de APV. Esto es probablemente debido a la dificultad en la identificación del género específico de la especie cebadores que pueden ser utilizados para amplificar los genes diferentes. La locus de PCR más común utilizado hasta ahora ha sido el lugar P4b. Recientes estudios filogenéticos de los aislados de APV basado en este locus (Weli 2004) indicó que la mayoría de los aislados están agrupados en torno a cualquiera de CNPV o FWPV, mientras que otro estudio basado en el mismo locus ha demostrado un tercer grupo, de las aves psitácidas [66]. Amano y compañeros de trabajo demostraron que el locus CNPV timidina kinasa se separaron altamente de la FWPV. El grado de esta divergencia se ilustra además por el hecho de que la similitud de aminoácidos entre CNPV y FWPV orthologue P4b era sólo del 64,2% (Amano 1999). Un estudio reciente, basado en tres genes diferentes, incluyendo la P4b, reveló que el virus de la viruela del pingüino, aislado a partir de lesiones en todo los ojos de los pingüinos africanos (*Spheniscus demersus*), fue más estrechamente relacionados con el virus de la viruela del pavo, el virus de la viruela de avestruz y el virus de la viruela de paloma. (Weli y Tryland, 2011)

8.- ESTABILIDAD Y DESINFECCIÓN

Los datos del virus de la vacuna más comunes de éste informe, el de Tanabe y Hotta (1976), Hahon y Kozikowski (1961) permiten una comparación aproximada de la descontaminación y la estabilidad térmica de la viruela aviar.

El virus de la vacuna es un virus que se caracteriza porque se ha cultivado ampliamente en una variedad de líneas celulares, como es las de mono y células de hámster renales o fibroblastos de embrión de pollo. Sobre la base de búsquedas en la literatura, el virus de la viruela aviar se cultiva por lo general en la enseñanza primaria de fibroblastos de embrión de pollo de las células (CEF). La viruela aviar se puede cultivar en una línea de CEF inmortalizada, la línea celular UMNSAH/DF-1. Los virus altamente purificados se inactivan más rápidamente que los extractos crudos de virus. Las perezas de los virus de la vacuna y viruela aviar son comparables, como los métodos de recolección de virus eran muy similares a los métodos descritos por Tanabe y Hotta.

Los datos aquí mencionados son de un estudio que sugieren que el virus de la viruela aviar es un simulador de descontaminación adecuado para la viruela importante cuando se utilizan desinfectantes con toda su fuerza (ya que normalmente se usa). El virus de la viruela aviar y virus de la vacuna son inactivadas en menos de 1 minuto cuando se utilizan los siguientes desinfectantes: 70% de etanol, 50% de alcohol isopropílico, 0,5% de hipoclorito de sodio, 30% de formaldehído, 10% de cloruro de benzalconio, 6,67% de una mezcla de cloruro de cetiltrimetilamonio y 3,33% cloruro de benzalconio, una mezcla de 1,75% de yodo y 10% de éter de polietilenglicol nonilfenil.

En la reactivación no genética, una partícula de virus de la viruela es contagiosa capaz de reactivar una segunda partícula poxvirus inactivada. En segundo lugar, los poxvirus (como muchos otros virus) tienen tendencia a acumularse en las soluciones. Los virus agregados que no pueden ser neutralizados por los anticuerpos son llamados fracción persistente o fracción nonneutralizable (Wallis 1967). Estudios han demostrado que el virus de la vacuna tratados con mostaza nitrogenada bis (β -cloroetil) metilamina (mostaza nitrogenada), es un producto químico para la inactivación del virus, que permite sobrevivir al tratamiento con este agente cuando las partículas se agregan. Así, la reacción de segundo orden puede ser debido al hecho de que las partículas de la viruela aviar de virus en el centro de un agregado viral puede ser protegida contra el desinfectante y tienen la capacidad de reactivar las partículas de la viruela aviar genéticamente intactos, pero de virus inactivado. Sin embargo, los virus de la vacuna y viruela aviar tratados con 0,05% de yodo y 0,3% de éter de polietilenglicol nonilfenil y 40% de etanol muestran grandes diferencias en los valores. Estas diferencias observadas podría ser debido al hecho de que cuando se trataron con 40% de etanol, vaccinia se somete a una reacción de primer orden y la viruela aviar se somete a una reacción de segundo orden. Cuando se tratan

con 0,05% de yodo y 0,3% de éter de polietilenglicol nonilfenil, los datos sugieren que el virus de la viruela aviar es más estable que en el desinfectante.

Se puede concluir que la viruela aviar es un simulador de descontaminación adecuado para la variola mayor cuando se utilizan los siguientes desinfectantes a las concentraciones utilizadas para la cinética de inactivación: 0,1% de yodo y 5,7% de éter de polietilenglicol nonilfenil, 0,025% hipoclorito de sodio, 0,05 % de hipoclorito de sodio y cloruro de cetiltrimetilamonio 0,1% y 0,05% de cloruro de benzalconio. Sin embargo, la viruela aviar no es un simulador de descontaminación adecuado para la variola mayor cuando se utiliza el yodo 0,05% y el 0,3% de éter de polietilenglicol nonilfenil y el 40% de etanol. Las diferencias en orden de reacción para los dos virus de 40% de etanol son factores importantes. Además, la vacuna es de dos veces más estable que el desinfectante en la viruela aviar. Virus de la viruela aviar es 20 veces más estable que el virus de la vacuna en 0,05% de yodo y 0,3% de éter de polietilenglicol nonilfenil. Los estudios que se han hecho en los últimos años sugieren que la viruela aviar es un simulador de descontaminación adecuados para la variola mayor utilizando los siguientes desinfectantes sin diluir: 70% etanol, 50% de alcohol isopropílico, 0,5% de hipoclorito de sodio y 30% de formaldehído, un 10% de cloruro de benzalconio y una mezcla de cloruro de cetiltrimetilamonio 6,67% y 3,33% de cloruro de benzalconio y una mezcla de 1,75% de yodo y 10% de éter de polietilenglicol nonilfenil. Virus de la viruela aviar es también una inactivación adecuada simulante cinética cuando se tratan con los siguientes productos químicos: 0,1% de yodo y 5,7% de éter de polietilenglicol nonilfenil, 0,025% de hipoclorito de sodio, 0,05% de hipoclorito de sodio y 0,1% de cloruro de cetiltrimetilamonio y 0,05% de cloruro de Conociendo las similitudes genéticas, la descontaminación de la vacuna de viruela mayor y de otros estudios que se han hecho, el virus de la viruela aviar se ha demostrado que es un simulador adecuado de variola mayor a través de resultados de descontaminación idénticos utilizando virus de vacuna como el vínculo común entre los estudios.

Al igual que los estudios de descontaminación, el virus de la vacuna sirvió como nexo común entre los virus de la viruela y virus de la viruela aviar para los estudios de estabilidad térmica. Hahon y Kozikowski (1976) determinó el ΔH y ΔS del virus de la variola mayor, en varios tampones a temperaturas de 40 ° C a 55 ° C. Estos estudios sugieren que la viruela aviar puede servir como un simulador de estabilidad térmica para variola mayor en 0,85% de solución salina, pH 4,5, PBS, pH 7,4, 10% de leche descremada, y el caldo de infusión de corazón a temperaturas que van desde 40 ° C a 55 ° C. A temperaturas superiores de 55 ° C, la viruela aviar no parece ser tan estable como el virus vaccinia. (E. Chambers Amanda et al. 2009)

9.- EPIZOOTIOLOGÍA

9.1.- Distribución geográfica

La viruela aviar está extendida por todo el mundo. En Austria era la afección mas frecuente de los órganos respiratorios antes de la segunda guerra mundial, pero en la actualidad es allí muy rara. También es rara en el sur de Alemania, mientras que sigue afectando con intensidad aun a las partes septentrional y occidental. (Dorn 1973)

La viruela aviar se ha reportado en todo el mundo. Y es considerada como una enfermedad endémica en las aves. Debido a la mayor frecuencia de denuncias de casos de nuevas especies que también se ha visto se considera como una enfermedad emergente. Los mosquitos y aves que actúan como portadores pueden transmitir la enfermedad en comederos de aves y a través de las rutas migratorias.

9.2.- Estacionalidad

La infección de la viruela aviar puede ocurrir durante todo el año. Los factores ambientales, la actividad de los mosquitos, y los hábitos de las especies afectadas por la viruela aviar pueden por lo regular ser los responsables cuando se producen brotes. (Miller et al 2003)

Aunque las infecciones por virus de la viruela de las aves silvestres se producen durante todas las estaciones del año, los brotes de enfermedades se han asociado con el surgimiento de las poblaciones de vectores, las condiciones del medio ambiente y los hábitos de las especies afectadas. Evidencias que respaldan los estudios limitados mostraron que las tasas más bajas de prevalencia de la enfermedad para la codorniz de California en Oregón fueron en los meses secos del verano, en comparación a lo más alto durante los meses de otoño e invierno. En Florida, los informes de la viruela aviar en pavos salvajes se produjo a finales del verano y principios del otoño, correspondiente a la temporada de mosquitos. Se ha observado que las aves inmaduras son generalmente las más vulnerables y frecuentemente son infectados con el virus de la viruela. Los pájaros que se mantienen en las estaciones de invierno por motivos de alimentación han sido la principal fuente de los brotes del virus de la viruela aviar, en varios estados de los EE.UU. dado a la transmisión por contacto del virus por su estrecha relación de muchas especies de aves. (Schwantje 2003)

9.3.- Causa

La enfermedad es causada por el virus de la Viruela Aviaria, el cual pertenece al género Avipox de la familia Poxviridae; existe relación estrecha con otros virus de viruela aviaria en los que se incluyen virus de pavos, palomas y canarios. Estos virus son muy resistentes. La relación exacta entre los virus de viruela de las diferentes especies aviarias es incierta y se ha mostrado

experimentalmente que el virus de un tipo de viruela puede dar lugar a la enfermedad en otra especie y que la infección con uno puede estimular protección contra otro. Por ejemplo, es posible adaptar una cepa del virus de viruela de la gallina a la paloma mediante pasajes seriados, infectar artificialmente gallinas y palomas con virus aislados de un brote que ocurrió naturalmente en faisanes y producir una viruela grave en pollos artificialmente infectados con virus de viruela de los pavos. Algunos pueden ser capaces de infectar a más de un huésped y aunque el virus de viruela de las palomas no se pasa naturalmente a pollos, es capaz de inmunizar pollos contra viruela aviar.

9.4.- Difusión

Aunque la enfermedad puede ser aguda en aves individuales, ésta por lo general se difunde relativamente con lentitud a través de una parvada y la mayor frecuencia es por lo común en la última parte del otoño e invierno. El periodo de incubación varía de 4-14 días y un brote puede persistir en una parvada durante 2-3 meses. Las aves que se recuperan son inmunes, pero no hay evidencia de que dichas aves sean portadoras. La infección no puede penetrar la piel o epitelio intacto de las aves. Se asume que en la mayor parte de los casos la infección ocurre a través de pequeñas abrasiones en la región bucal o por heridas en la cresta, barbillas o piel, como resultado de peleas, picoteo, u otras heridas. Se ha demostrado también que el virus de la viruela puede ser llevado y transmitido por huéspedes intermediarios como mosquitos y otros insectos chupadores de sangre. Garrapatas de las aves, moscas que pican, y piojos, también han mostrado que transmiten la enfermedad. Explotaciones intensivas y amontonamientos, aumentan el riesgo de lesiones. Aunque todas las razas y ambos sexos son igualmente susceptibles a la infección artificial, en la práctica los machos de las razas ligeras más excitables con grandes crestas son más comúnmente afectados.

El virus puede permanecer viable en costras secas durante periodos excepcionalmente largos, experimentalmente hasta 10 años. Obviamente por esto, condiciones sanitarias malas, particularmente bebederos y alimentos contaminados, pueden aumentar la difusión de un brote. Aunque todas las edades son susceptibles, la enfermedad se observa principalmente en lotes de 5-12 meses de edad pero con frecuencia se presenta en aves más jóvenes en países tropicales y subtropicales. Los brotes en aves jóvenes son raros, aunque un brote grave en pollitos fue encontrado donde las lesiones estaban asociadas con corte de dedos de la pata. (Gordon y Jordán 1985)

Un virus filtrable es la causa de la viruela de las aves. Aunque no es posible ver a este agente patógeno a simple vista, sin embargo, si podemos observarlo con la ayuda de la mayor ampliación de un microscopio compuesto, los estudios se han llevado a cabo con suspensiones que contienen el virus. Cuando el virus está presente en una lesión, la costra puede resistir el secado durante un período prolongado de tiempo. Se ha observado que el virus permanece vivo por mucho tiempo en costras secas que se muelen a un polvo fino. El virus de la

Viruela de las aves se ha mantenido vivo en secas costras intactas más de dos años cuando se mantiene bajo refrigeración en un tapón de botella. Por otro lado, el virus muere con bastante rapidez cuando las costras de viruela aviar están expuestas a la humedad, la descomposición bacteriana, y la desintegración de la materia orgánica. Así, las posibilidades de que la viruela de las aves sobreviva en los gallineros y corrales pueden variar mucho. Bajo condiciones normales, no es probable que el virus de la viruela aviar habría de permanecer viables en el gallinero o en el patio de un año a otro.

9.5.- Transmisión

La tasa de propagación de la viruela de las aves y la gravedad de las lesiones entre los pollos y pavos en diferentes parvadas puede variar. Probablemente, la principal influencia en esta variación es el hecho de que el virus de la viruela en las aves de corral se establece y produce lesiones sólo donde las células de la piel o mucosa de la membrana se dañan con rasguños, cortes, contusiones u otras lesiones. (Dickinson 1942)

La transmisión del virus de la viruela aviar puede ocurrir de muchas maneras. La enfermedad puede propagarse a través de vectores mecánicos, principalmente por especies de mosquitos. La transmisión ocurre cuando el mosquito se alimenta de un ave infectada que tiene una virémia (virus de la viruela que circula en la sangre) o en virus cargados de secreciones de una lesión de la viruela y luego pasa a alimentarse de un ave infectada.

Los mosquitos pueden portar y transmitir el virus durante un mes o más después de alimentarse de un ave infectada. Experimentalmente, moscas de los establos han demostrado la capacidad de ser capaz de transmitir el virus de la viruela y hasta hoy no se sabe si los ácaros y pulgas pueden ser capaz de transferir el virus entre las aves.

La viruela aviar también puede transmitirse por contacto directo entre las aves infectadas y susceptibles. En este caso, el virus se transmite a través de la piel erosionada o cortada, mediante la conjuntiva (mucosa de la membrana que cubre la superficie anterior del globo ocular) u otras mucosas de las membranas. En su forma Indirecta la transmisión del virus de la viruela también puede producirse a través de la ingestión, cuando las fuentes de alimentos y el agua son contaminadas con el virus que contienen las costras desprendidas de las lesiones de un ave infectada. El virus de la viruela es altamente resistente a la desecación y pueden sobrevivir meses o años en las costras secas. En la forma indirecta la transmisión de la viruela también puede ocurrir a través de la inhalación de la caspa de infectados con el virus, los restos de plumas y las partículas de aire. Condiciones de humedad y fuentes de agua en la colonia pueden ser medios adicionales de contaminación y los fuertes vientos son responsables para transferir el virus a través de partículas aéreas contaminadas y el derramó costras. Por otro lado las aves silvestres son las responsables de los brotes más grandes que se ha producido. (Department of Agriculture 2006)

El virus se transmite básicamente por contacto directo, de un animal a otro o por medio del alimento o agua de bebida. Los zancudos u otros insectos que chupan sangre podrían ser transmisores de esta enfermedad entre aves y galerones. Los animales que han padecido la enfermedad y se recuperan, quedan como portadores del virus, por lo que se recomienda eliminarlos o al menos no mezclarlos con animales más jóvenes y sanos. (Téllez 2008)

En las aves de traspatio el gallo desempeña un papel decisivo en la transmisión del virus al sujetar en el coito la cresta de las gallinas con el pico. Cuando contacta con gallinas infectadas, el propio gallo enferma con la forma mucosa de la viruela, que se asemeja en su cuadro clínico a la difteria del hombre. Por ello también se le ha aplicado a este cuadro el nombre de difteria aviar.

Por otro lado, el virus de la viruela en una población aviar se produce ordinariamente al adquirir gallinas reproductoras. Sin embargo, como las gallinas de los establecimientos industriales se crían sin gallo y por otra parte las granjas de cría reciben las aves en forma de pollitos muy jóvenes, en estos centros la viruela aviar está prácticamente erradicada, (Woernle 1994)

10.- FACTORES PREDISPONENTES DE HUÉSPED

10.1.- Edad

Es frecuente observar brotes en pollitas desde 15 días de edad; o bien entre las 6 y 10 semanas. En pollos de engorde ha sido reportada una forma atípica de viruela en áreas emplumadas del cuerpo. Con frecuencia se reportan brotes en gallinas ponedoras vacunadas; la patología de estas lesiones se describe como una dermatitis necrótica proliferativa. Estos brotes se han atribuido a variantes del virus debido a un incremento de virulencia producto de la integración del virus de la retículo-endoteliosis aviar en su genoma. (Matzer et al 2008)

10.2.- Factores predisponentes del ambiente

10.2.1.- Estado de estrés y asociación con otras enfermedades

Algunas de las aves afectadas pueden volverse portadoras y la enfermedad puede ser reactivada por el estrés (por ejemplo, muda) o por una inmunodepresión ocasionada por otras infecciones. (Merck, 2000)

11.- PERIODO DE INCUBACIÓN

El período de incubación varía de 4 a 20 días. (Important Poultry Diseases 2009)

12.- PATOGENIA

- ❖ Afecta principalmente a pollos de todas las edades
- ❖ Este virus se observa mejor en las épocas de otoño invierno
- ❖ Periodo de incubación de 4-10 días
- ❖ Signos leves con lesiones cutáneas focales o graves, también virémia transitoria
- ❖ Se observan erupciones en la cresta, carnosidad que cuelga del cuello, patas y ano
- ❖ Lesiones alrededor de los ojos que obliga a cerrarlos
- ❖ Lesiones en la boca, laringe, tráquea y esófago en forma diftérica
- ❖ En animales enfermos disminuye la producción y retarda el crecimiento
- ❖ La mortalidad varia llega hasta un 50%
- ❖ La transmisión es por contacto directo e indirecto o transferencia mecánicas por artrópodos
- ❖ Los géneros Culex o Aedes transmiten el virus extrínsecamente, también pueden ser moscas chupadoras de sangre, pulgas y garrapatas
- ❖ Ocasiona hiperplasia epitelial local
- ❖ Por examen histológico las células epiteliales muestran degeneración hidrópica, inclusiones intracitoplasmática y cuerpos elementales

13.- SIGNOS

13.1.- Clasificación de la Viruela Aviar de acuerdo a los signos

Existen tres formas de la enfermedad, y los síntomas de cada una de ellas son diferentes:

13.1.1.- Presentación cutánea

También conocida como viruela seca. Se presentan costras como mezquino encontrada en los apéndices faciales, crestas, barbillas, ojos y lóbulos del oído. Puede haber pérdida del apetito, y decaimiento. Disminuye la producción de huevo y daña la fertilidad. En la mayor parte de los casos se presenta poca mortalidad del tipo de viruela aviar cutánea.

Ésta forma se manifiesta por la aparición de nódulos localizados principalmente en las regiones desnudas (Sin plumas). Por ejemplo, en los canarios, se localizan con mayor frecuencia en las extremidades de los dedos; en

otras especies de aves, la región de la comisura del pico y la región peri-ocular son las más afectadas.

En las patas, la lesión inicial brota alrededor de la uña y se presenta como una proliferación epitelial de coloración blanquecina con aspecto húmedo (fig. 8 A, B, C, D. A medida que la enfermedad avanza, se transforma en un nódulo que adquiere grandes proporciones. (Briseño 2011)



Fig. 8 A, B, C, D. Apreciación de lesiones de viruela aviar del tipo cutánea. A. lesiones en cara y cresta, B. lesiones a nivel de las patas, C. lesiones en áreas desprovistas de pluma alrededor de los ojos. D. Lesiones en vías respiratorias externas.

13.1.2.- Presentación diftérica

Conocida también como viruela húmeda, se presentan lesiones amarillentas, ulcerosas y caseosas en las superficies húmedas de la boca, lengua, esófago, conductos nasales, y algunas veces el buche. Cuando tales lesiones se desprenden se produce una hemorragia profusa. (Fig. 9 A y B)

Hay dificultad en la respiración por los exudados y las aves se pueden asfixiar. Se retrasa la producción de huevo, en las aves en postura; la fertilidad es disminuida. La mortalidad es más alta con el tipo diftérico que con el cutáneo. (Merck y Donald 1993)

La forma diftérica se caracteriza por la formación de pequeñas pseudo membranas localizadas en la cavidad bucal, faringe y laringe.

La lesión inicial se presenta como una pequeña placa redondeada de color blanca. En seguida surgen nuevas lesiones que acaban por unirse y aparecen extensas membranas que están fuertemente adheridas a la mucosa, provocando sangrado en caso de ser removidas. Unos de los grandes problemas de la forma diftérica en los pájaros es el taponamiento de la laringe, por la membrana, provocando asfixia y muerte.



Fig. 9 A, B, Lesiones de tipo diftérica a nivel de vías respiratorias, laringe, Faringe y Esófago.

13.1.3.- Presentación cutáneo-diftérica.

Esta forma es menos común, y en ella hay asociaciones de lesiones en la piel y de las pseudo membranas en la mucosa.

En la forma cutánea, los signos iniciales dependen de la locación de los nódulos en el cuerpo del ave. Si ellos están localizados en los pies, el ave tendrá dificultad para apoyarse en el posadero, y deberá mantener uno de los pies en el aire. La proporción de nódulos crece, aparentemente el dolor también aumenta y muchas veces el ave desciende para el fondo de la jaula y allí permanece apoyada sobre los tarsos.

Si las lesiones están localizadas en la región del pico, el ave procurara ingerir los alimentos blandos, dejando de lado aquellos que puedan provocar dolor, tales como los granos de semillas duros.

Cuando los nódulos están localizados alrededor de los ojos, o en otras regiones de la cabeza, el ave tentara refregarlos en las rejillas de la jaula o también en el palo, es muy común que haya contaminación secundaria en las lesiones cutáneas por bacterias, principalmente staphylococcus aureus, apareciendo la formación de pus.

Cuando los nódulos se localizan en las proximidades de los ojos, pueden adquirir grandes proporciones, en este caso pueden perder la visión. Muchos animales perecen cuando sufren de esta forma de dolencia, pues no consiguen alimentarse, una vez que la deficiencia visual impide que ellas encuentren su alimento.

En la forma diftérica, los síntomas se relacionan con la localidad bucal, faringe y laringe, afligiendo también otras partes del tracto digestivo, las perturbaciones orgánicas digestivas y respiratorias son frecuentes. Uno de los primeros problemas que el ave afectada por la forma diftérica presenta es la dificultad para ingerir alimentos. Las placas blanquecinas generalmente se extienden por toda la cavidad bucal, inclusive la lengua y el paladar. En la fase final de la dolencia, toda la mucosa de la boca se muestra tomada por extensas camadas de tejido de coloración blanquecina. Las aves padecen de gran sufrimiento y cuando las pseudo membranas se sitúan en la laringe, la disnea se presenta; es inicialmente discreta y de poco se va agravando causando la muerte por asfixia.

Durante el curso de la enfermedad las aves se presentan soñolientas, abatidas, pierden el apetito, enflaquecen y muchas veces sufren de diarrea. Las perturbaciones del tracto respiratorio se traducen por: secreción nasal acentuada, estertores, y disnea. Cuando ha comprometido los senos infraorbitarios hay concomitantemente edemas de cara y cabeza. (Bloggervrt 2010)

14.- MORBILIDAD Y MORTALIDAD

La morbilidad va a depender de la época del año, la cantidad de mosquitos presentes y la inmunidad de las aves

Las manifestaciones cutáneas de la viruela suelen ser leves aunque a veces con el paso del tiempo tiende a empeorarse y a veces terminar en una recuperación sin complicaciones. Sin embargo, el tipo de infección diftérica, puede causar una mortalidad más o menos alta entre las aves, la tasa de mortalidad también puede influir mucho de acuerdo a la edad y de las condiciones generales de salud en la parvada. Otro dato igual es que, la tasa de mortalidad es mayor entre los pollos en la producción de huevos. Sin embargo, las complicaciones con otras enfermedades de naturaleza debilitante se dan en base a la mala alimentación, malas condiciones de vivienda, el mal tiempo, o incluso una moderada infestación parasitaria pesada aumentará las pérdidas. No hay estadísticas auténticas que estén disponibles sobre la pérdida económica para la industria avícola ocasionada por esta enfermedad. Por otro lado, se ha estimado que brotes incontrolados puede costarle a los avicultores desde \$ 30 a \$ 70 por ciento de las aves. Las pérdidas producidas como son mortalidad, como el tiempo, el trabajo y el equipo utilizado en el aislamiento y "el tratamiento de las aves enfermas, la pérdida de la vitalidad de las aves enfermas, la supresión de la producción de huevos en las aves, tales perdidas no regresan a la producción

óptima ni en un buen número de meses y algunos nunca recuperan la producción normal. (Bunyea, 1942)

15.- HALLAZGOS MACROSCÓPICOS

Lesiones cutáneas en cabeza, cuello o patas, que siguen una secuencia de pasos a saber: pápulas, nódulos, hemorragia y costra. En general, en las aves predominan las lesiones populosas costrosas. (Fig. 10 A)

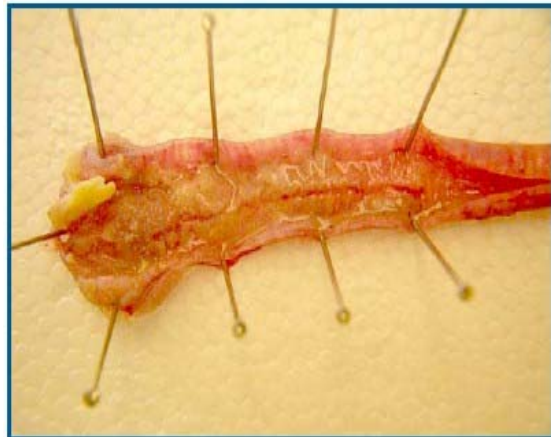
Presencia en áreas fibrinonecróticas en las mucosas: boca, senos, cavidad nasal, conjuntiva, faringe, laringe, tráquea y esófago.

Forma atípica semejante a coriza infecciosa.

En los pavos la lesión más común es la cutánea, con una marcada proliferación del tejido, formando nódulos, principalmente en la cabeza.

En las palomas la presentación más típica es la diftérica, con lesiones en boca, laringe y laringe. Fig. 10 B)

En los canarios la presentación es muy grave, llegando a morir hasta el 100 % de los animales, muchas veces sin lesiones macroscópicas; cuando los animales permanecen vivos por un tiempo, pueden aparecer lesiones cutáneas alrededor de los ojos, pico y patas. (SENASA)



La viruela húmeda en la tráquea, engruesa las paredes con la membrana necrótica.

Fig. 10.- A, B. Lesiones que se aprecian macroscópicamente de forma cutánea y diftérica. A. Lesiones cutáneas de viruela aviar a nivel de la cresta. B. Lesiones diftéricas de la viruela aviar a nivel de la tráquea.

16.- HALLAZGOS HISTOLÓGICOS

Giasuddin et al (2002) realizó estudios histopatológicos en gallos enfermos con viruela aviar donde, al momento de la autopsia encontró que había lesiones generalizadas y tumor benigno en la piel.

Desde el Punto de vista histopatológico, en la epidermis se había marcado hiperplasia (acantosis) causada por la hinchazón y el aumento de las células en el estrato espinoso. Estas células mostraron degeneración del globo y contenía diversos tamaños de pálidos cuerpos de inclusión eosinófilos en el citoplasma, que fue característica de la viruela aviar en tinción y el citoplasma se encontraba sin mancha, con la tinción de PAS. Los linfocitos y la infiltración de histiocitos se observó también en la dermis. De vez en cuando, proliferación de fibroblastos y fibrosis se observaron en las áreas como se muestra en las figuras siguientes (Fig. 11 A, B, C, D) de acuerdo a las observaciones de la obra de Jorge Oros et al (1997).

En las secciones teñidas con toluidene azul reveló cuerpos intracitoplasmáticos de inclusión. Las células afectadas tenían reducción degenerativa de los núcleos citoplasmática de los orgánulos, como las mitocondrias y los cuerpos de Golgi. Los viriones maduros miden un promedio de 240 - 367 nm en sección transversal, reconocibles por su nucleoides en forma de ladrillo, se agregaron. Los viriones contienen una ubicación céntrica bicóncava nucleoide y dos cuerpos laterales en cada concavidad y envoltura. Calnek (1997) y Jorge Oros et al (1997) también informó la observación morfológica similar acerca de la viruela aviar. Sobre la base de los hallazgos clínicos, los hallazgos histopatológicos y ultraestructurales como, lesiones en la piel, los organismos de inclusión intracitoplásmica (Bollinger) y las características morfológicas de viriones, éste estudio reveló que la enfermedad que se rompió en una bandada de gallos en 1989, fue la viruela aviar.

Fig. 11 A, B, C, D. Estudios histopatológicos de la viruela aviar en gallos.



Fig. 11 A: Numerosos nódulos asociados con erosiones y costras en la cresta, barbilla un párpados.

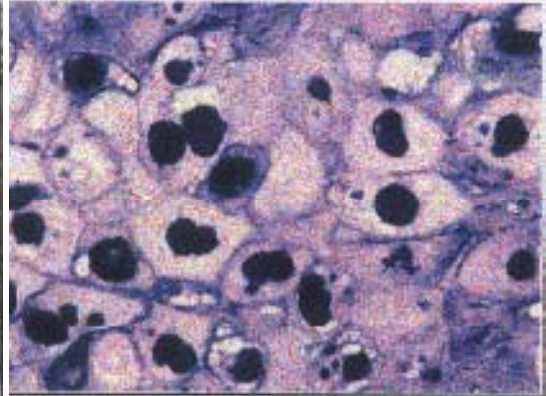


Fig. 11 B: Sección de piel oscura que muestra los cuerpos de inclusión en manchas de color.

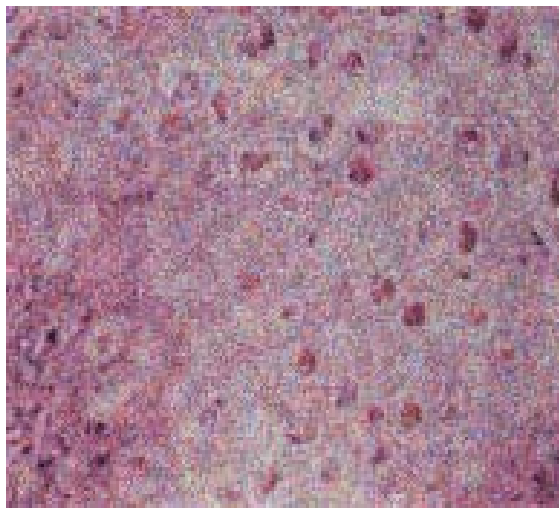


Fig. 11 C: Sección de la piel que muestra manchas denominada cuerpos citoplasmáticos de inclusión.

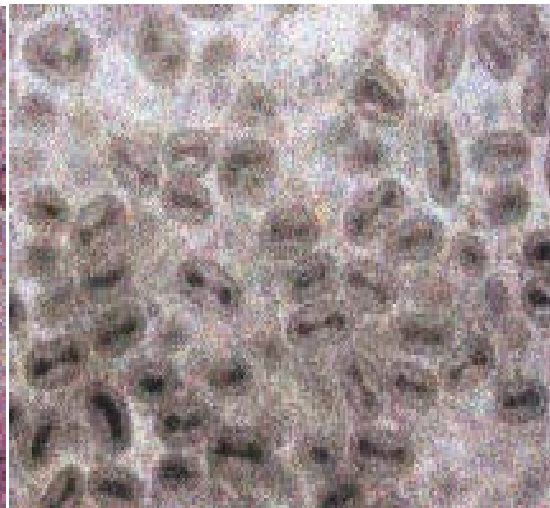


Fig. 11 D: alta magnificación de micrografía electrónica que muestra numerosas partículas virales dentro de las vacuolas en el citoplasma.

17.- PATOGÉNESIS

El virus entra en la célula epitelial y después se disemina de una célula a otra en la región; la producción del factor de crecimiento epidérmico favorece el proceso, ya que causa la proliferación de las células. Algunos virus penetran a la sangre y ocasionan virémia; otros se diseminan a órganos internos, aunque no hay cambios patológicos macroscópicos evidentes. No obstante, es probable que se presente cierta replicación viral en algunos órganos, como hígado y bazo, y se produzca una virémia secundaria. El virus puede relocalizarse en el epitelio y producir una enfermedad generalizada, aunque esta es relativamente rara. (Jordan y Pattison 1998)

18.- DIAGNÓSTICO

Las infecciones cutáneas por lo general producen lesiones características macroscópicas y microscópicas. Cuando sólo las pequeñas lesiones están presentes, a menudo es difícil para distinguirlas de las abrasiones causadas por la las peleas entre las aves. En los exámenes microscópicos de los tejidos afectados teñidas revela cuerpos de inclusión citoplasmáticos eosinófilos. Inclusiones citoplasmáticas también son detectables por anticuerpos fluorescentes y los métodos inmunohistoquímicos. Los cuerpos elementales en los cuerpos de inclusión se pueden detectar en los frotis de las lesiones teñidas por el método de Giménez. Las partículas virales de morfología típica de poxvirus puede ser demostrada por microscopía electrónica de tinción negativa, así como en las secciones ultrafinas de las lesiones. El virus puede ser aislado mediante la inoculación de la membrana corioalantoidea en el desarrollo de embriones de pollo, aves susceptibles o cultivos de células de origen aviar. Embriones de pollo (9-12 días) son el huésped preferido y más conveniente para el aislamiento del virus.

Aislamientos de campo y las cepas de vacuna de virus de la viruela aviar pueden ser comparados mediante análisis con endonucleasas de restricción de los genomas virales. Este método es útil para comparar los genomas de ADN estrechamente relacionadas. Sin embargo, debido al gran tamaño del genoma, pequeñas diferencias son difíciles de detectar por este método. Análisis genético detallado revela diferencias entre las cepas vacunales y cepas de campo responsables de los brotes de viruela aviar en pollos vacunados previamente. Mientras que las cepas vacunales del virus de la viruela aviar contienen restos de repeticiones terminales largas del virus de la reticuloendoteliosis (REV), la mayoría de las cepas de campo de larga duración contienen REV en su genoma.

Las sondas de ácido nucleico derivadas de fragmentos genómicos clonados del virus de la viruela aviar también pueden utilizarse para el diagnóstico. Este procedimiento es especialmente útil para la diferenciación de la forma diftérica de

la viruela aviar (que implica la tráquea) de la laringotraqueítis infecciosa. PCR puede ser utilizado para amplificar secuencias de ADN genómico de diversos tamaños utilizando cebadores específicos. Este procedimiento es útil cuando una cantidad extremadamente pequeña de ADN vírico está presente en la muestra. PCR se ha utilizado con eficacia para diferenciar las cepas de campo y de la vacuna del virus de la viruela aviar.

Recientemente, 2 anticuerpos monoclonales que reconocen diferentes antígenos del virus de la viruela aviar se han desarrollado. Estos anticuerpos monoclonales pueden ser utilizados para la diferenciación de la cepa por inmunotransferencia.

La secuencia completa del genoma del virus de la viruela aviar ha sido identificado recientemente y es útil para comparar las secuencias de genes seleccionados de otros poxvirus aviares. (Merck 2011)

19.- DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Laringotraqueítis infecciosa.
Coriza infecciosa.
Avitaminosis A.

El diagnóstico se realiza generalmente a través de la presentación clínica y las lesiones, sin embargo, un diagnóstico diferencial que debe ser considerado para la forma seca es la infección por estafilococo o Bumblefoot. La viruela aviar se puede confirmar mediante la identificación histológica de cuerpos de inclusión eosinofílicos intracitoplasmáticos (cuerpos de Bollinger) (Shoemaker 1998). Las extensiones y los tejidos se deben preparar con Wright, Giemsa, o manchas similares. Hematoxilina y eosina suele también utilizarse. Los queratinocitos degenerados se amplían o se dispara con un citoplasma vacuolado claro. (Pledger 2005)

20.- MONITOREO Y PROGRAMA

La toma de muestras para el laboratorio será necesaria para la evaluación de la siguiente manera:

20.1.- Serología

Las pruebas de serología sirven para detectar la inmunidad humoral contra diferentes antígenos; las pruebas usualmente detectan anticuerpos séricos pero eventualmente pueden ser utilizadas para detectar anticuerpos en yema o en cualquier líquido corporal. Una prueba positiva indica que el ave posee anticuerpos contra el antígeno evaluado, lo que puede tener significados diversos.

Las pruebas de serológicas pueden ser cuantitativas o cualitativas. En las pruebas cualitativas, como la aglutinación en placa y la inmunodifusión en gel de agar, el resultado se expresa como positivo ó negativo, suelen ser poco sensibles y el suero no se diluye para ser procesado. Las pruebas cuantitativas permiten detectar la cantidad de anticuerpos que hay en la muestra, en este caso los sueros se diluyen en diluciones dobles seriadas y el resultado usualmente se expresan como el "título de la muestra", que indica la dilución mayor en la que se observa una reacción positiva, el título es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos que hay en la muestra, tal es el caso de la inhibición de la hemaglutinación, la micro aglutinación y la virus suero neutralización; el resultado se expresa como la dilución, ej. 1:256 o su inverso ej. 256, también se pueden expresar en Logaritmo base 2 ej. $1:256 = \text{Log}_2 8$. En otros casos, como en las pruebas de ELISA, el suero sólo es diluido una vez antes de ser procesado y el título del mismo es calculado matemáticamente haciendo una comparación con los títulos de los controles positivos y negativos de la prueba. (Valladares 2010)

20.2- Necropsias

La necropsia es la acción de examinar un cadáver. La necropsia tiene como objetivo confirmar, rectificar o establecer el diagnóstico sobre el ave muerta. Hace un llamado a la observación, al conocimiento de la salud y la patología, utiliza la técnica de la disección.

Es únicamente en el curso de la necropsia donde se tiene la posibilidad de examinar a detalle todos los órganos, y rápidamente, darse una precisa idea de su estado. Por lo tanto el examen de la necropsia ofrece las mejores facilidades para el establecimiento del diagnóstico.

Ante la falta de lesiones macroscópicas el operador tiene la posibilidad de extraer muestras para realizar exámenes complementarios que ayuden al diagnóstico. Cuando se trate de establecer el diagnóstico en un grupo de animales, el estudio de las lesiones en conjunto permitirá arribar a un diagnóstico preciso.

La necropsia se efectúa sobre un ave muerta en forma espontánea o sobre un ave enferma o supuestamente enfermo que se ha sacrificado para tal fin, por lo tanto existe el riesgo de favorecer la liberación de elementos patógenos al medio ambiente. Es por esto que la necropsia nunca deberá realizarse hasta no estar seguro de la ausencia de riesgos de contaminación del medio ambiente y del operador.

20.3- Muestras

Uno de los objetivos de la necropsia es tomar y enviar muestras al laboratorio que debe ser representativa del lote en el cual se va a realizar el diagnóstico. Se requiere un mínimo de tres a cinco animales.

Esto puede variar según la edad de las aves y la cantidad que compone el lote. Se deben tomar aves que presenten la enfermedad y no las retrasadas en su crecimiento, esta mala selección de las muestras puede llevarnos a un diagnóstico erróneo y a una medicación innecesaria.

Las aves deben llegar al laboratorio preferentemente vivas, el objetivo de esta premisa es la de poder realizar una buena inspección externa y observar la sintomatología de las mismas. Al mismo tiempo, esto nos permite extraer sangre para la obtención de suero y realizar distintas pruebas serológicas.

Las aves que se envíen muertas al laboratorio deberán remitirse refrigeradas, una mala conservación, sobre todo en época estival, no solo dificulta la tarea de observación de las alteraciones pos-mortem, sino que impide la realización de pruebas complementarias como por Ej. Bacteriología, virología, etc.

20.4.- Extracción y envío de material al laboratorio

20.4.1 Estudios Histopatológicos

Estos estudios tienen mucha importancia en aquellas enfermedades que no presentan lesiones macroscópicas, o si las presentan son muy similares a otras. Todos los especímenes deben ser fijados antes de ser remitidos al laboratorio. Se entiende por fijación, la prevención de cambios post-mortem, la preservación de los componentes celulares y la conversión de la consistencia celular semifluida a una semisólida permanente con endurecimiento del tejido.

Los trozos de órganos deben ser fijados en formol neutro al 10%. Se debe procurar extraer tejido lesionado abarcando parte de tejido normal, los cortes no deben exceder los 6 a 7 milímetros de espesor para favorecer la penetración del fijador hasta las zonas centrales.

Se deben colocar en frascos de boca ancha y cierre hermético, en una proporción de 1 parte de tejido y 9 de formol neutro.

Se debe asegurar la penetración del formol en las vísceras huecas, como por ejemplo, intestino. Si las muestras flotan, tejido adiposo, pulmón, conviene cubrirlas con un poco de algodón o papel absorbente.

Conviene cortar el cerebro y el cerebelo en mitades por su plano sagital. Resulta aconsejable fijar los nervios periféricos plegados o enrollados en un solo plano.

20.4.2 Estudios Viroológicos

Cuando se sospecha de enfermedades de origen viral y se tenga la certeza de que el material no tardará más de 48hs en arribar al laboratorio, el mismo se puede enviar refrigerado o congelado. En caso contrario se debe enviar en glicerina estéril al 60%, la que conserva los virus por varios días sin necesidad de refrigeración, ejerciendo a su vez una acción bactericida.

20.4.3.- Estudios Bacteriológicos

El envío de órganos para aislamiento bacteriológico debe hacerse en forma refrigerada, tratando que el material sospechoso llegue al laboratorio lo antes posible. La refrigeración evita la proliferación de bacterias contaminantes y la putrefacción del material. Ante la imposibilidad de enviar al material refrigerado, se lo debe enviar en glicerina estéril al 33%, en esta concentración ejerce una acción bacteriostática.

20.4.4 Estudios Parasitológicos

Los parásitos deben enviarse en formol al 5% o alcohol 70°, si se envía intestino o raspado de mucosa se hará en dicromato de potasio al 2%.

20.4.5 Estudios Serológicos

Para realizar pruebas serológicas se debe extraer sangre de un número representativo de aves, (No menos de 25 sueros). Se extrae 1 o 2 ml de sangre a cada animal colocándolos en tubos en forma individual, los mismos se deben colocar en forma inclinada, lo que facilita la coagulación y extracción del suero.

Si la muestra va a tardar más de 24hs. en llegar al laboratorio se debe separar el suero del coágulo, enviando el suero solo, refrigerado o congelado.

21.- TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

21.1.- Identificación del agente

El virus de la viruela aviar se multiplica en el citoplasma de las células epiteliales formando grandes cuerpos de inclusión intracitoplásmica (cuerpos de Bollinger) que contienen cuerpos elementales más pequeños (cuerpos de Borrel). Las inclusiones se pueden demostrar en cortes de lesiones cutáneas y diftéricas utilizando tinción con hematoxilina y eosina (H&E), con naranja de acridina o con Giemsa (Tripathy 1973). Los cuerpos elementales se pueden detectar en frotis de lesiones, por ejemplo, por el método de Giménez (Tripathy 1976) que se describe más adelante. Se puede utilizar la microscopía electrónica para demostrar las partículas víricas con morfología típica de los poxvirus, mediante tinción negativa o en cortes ultrafinos de tejidos infectados (Doane 1987).

21.1.1.- Técnica de frotis para la viruela aviar

I) Colocar en un porta limpio una gota de agua destilada y la lesión (cutánea o diftérica). Preparar un frotis fino presionando la lesión con otro porta limpio y rotando varias veces el porta superior.

II) Secar al aire y fijar el frotis con cuidado a la llama.

III) Teñir el frotis durante 5–10 minutos con colorante recién preparado (8 ml de solución stock¹ de fucsina básica mezclada con 10 ml de tampón fosfato², pH 7,5, y filtrado por papel de filtro Whatman número 1).

IV) Lavar cuidadosamente con agua del grifo.

V) Colorear para tinción de contraste con verde malaquita (0,8% en agua destilada) durante 30–60 segundos.

VI) Lavar el frotis con agua del grifo y secar a continuación.

VII) Examinar el frotis con aceite de inmersión. Los cuerpos elementales aparecen rojos y de un tamaño aproximado de 0,2–0,3 μm .

21.1.2.- Aislamiento del virus

El virus de la viruela aviar se puede aislar inoculando el material sospechoso en huevos embrionados. Se inoculan las membranas corioalantoideas (MCAs) de embriones de pollo de 9–12 días de desarrollo con aproximadamente 0,1 ml de suspensión del tejido cutáneo o de la lesión diftérica con la concentración adecuada de antibióticos. Los huevos se incuban a 37°C durante 5–7 días y después se examinan para aparición de focos blancos de lesiones o un engrosamiento generalizado de las MCAs. El examen histológico de las lesiones en la MCA revelará cuerpos de inclusión intracitoplásmicos y eosinófilos tras tinción con H&E (Tripaty 1973).

Para propagar el virus de la viruela aviar también pueden emplearse fibroblastos primarios de embrión de pollo, células renales de embrión de pollo, células dérmicas de embrión de pollo o la línea celular permanente QT–35 de codorniz (Ghildyal 1989). La adaptación de las cepas de virus a los cultivos celulares es un requisito importante para la formación de placas o calvas, y no todas las cepas formarán inicialmente placas.

21.1.3.- Métodos moleculares

El análisis de los productos de endonucleasas de restricción es un método útil para comparar ADN de genomas estrechamente relacionados y puede utilizarse para comparar aislamientos naturales y cepas vacunales del virus de la viruela aviar (Schnitzlein 1988).

1 Solución stock: Se añade lentamente una solución de fucsina básica (5 g) en etanol al 95% (100 ml) a una segunda solución de fenol cristalino (10 g) en agua destilada (900 ml). Esta solución stock se mantiene en una botella de cristal con tapón de rosca bien cerrada y se incuba durante 48 horas a 37°C; luego se mantiene a temperatura ambiente.

2 Tampón fosfato, pH 7,5: En 1000 ml de agua destilada se añade $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2,47g) y Na_2HPO_4 (11,65 g) y se mantiene a 4°C.

Los fragmentos genómicos clonados del virus de la viruela aviar se pueden emplear con eficacia como sondas de ácido nucleico para el diagnóstico. El ADN vírico aislado de lesiones puede detectarse por hibridación con sondas genómicas, marcadas radioactivamente o sin marcar. Este método es especialmente útil para diferenciar infecciones de viruela aviar y de laringotraqueítis cuando se presentan lesiones traqueales (Fatunmbi 1995).

Por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se pueden amplificar secuencias genómicas de ADN de varios tamaños utilizando cebadores específicos

(Lee 1997). Recientemente se ha descrito una prueba de PCR anidada para la detección de la viruela aviar (Fallavena 2002). Esta técnica es útil cuando solo se dispone de una cantidad muy pequeña de ADN vírico en la muestra.

21.2.- Pruebas serológicas

Aunque en las infecciones por poxvirus tanto la inmunidad mediada por células (IMC) como la inmunidad humoral desarrollan un papel importante, no resulta conveniente utilizar pruebas de la IMC para uso rutinario. Por tanto, se usan pruebas serológicas para medir la respuesta de anticuerpos humorales específicos, del tipo de la neutralización vírica (NV), inmunodifusión en gel de agar (IGDA), hemaglutinación pasiva y pruebas con anticuerpos fluorescentes así como enzimoimmunoensayos. La evidencia de una inmunización favorable por la vacuna se puede demostrar examinando una bandada a los 7–10 días de la vacunación para "tomas". Una toma consiste en un hinchamiento de la piel o una costra en el sitio de inoculación de la vacuna, y su presencia denota una inmunización acertada.

21.2.1.- Neutralización vírica

Después de la interacción virus/suero, la actividad del virus residual puede probarse en huevos embrionados o en cultivos celulares (Morita 1973). Esta prueba es técnicamente exigente y puede no resultar conveniente para diagnósticos rutinarios. Solo unas cuantas cepas de virus tienen capacidad para formar placas en células de embrión de pollo. Los anticuerpos neutralizantes aparecen a las 1–2 semanas de la infección.

21.2.2.- Inmunodifusión en gel de agar

Los anticuerpos precipitantes se pueden detectar haciendo reaccionar los sueros con los antígenos víricos. El antígeno puede derivar de lesiones de piel infectada o de lesiones de MCA después de la sonicación y homogenización, así como de cultivos celulares infectados tratados como se describe en la Sección B.2.f. más adelante. Se centrifuga la suspensión lisada y el sobrenadante se utiliza como antígeno. El medio de difusión se prepara con 1% de agar, 8% de cloruro sódico y 0,01% de tiomersol. El antígeno vírico se coloca en el pocillo central y los sueros problema en los pocillos periféricos. Es importante incluir un control de suero negativo y suero positivo. Las placas se incuban a temperatura ambiente y las líneas de precipitación aparecen a las 24–48 horas después de la incubación del antígeno con el anticuerpo contra cepas homólogas o estrechamente relacionadas. La prueba es menos sensible que el ELISA o que la prueba de hemaglutinación pasiva (Winterfield 1965).

21.2.3.- Hemaglutinación pasiva

Los eritrocitos de oveja o caballo se sensibilizan con un antígeno parcialmente purificado de la viruela aviar (Tripathy 1970). El antígeno se prepara de MCAs

infectadas o de células como se describe en la Sección B.2.f. más adelante. La hemaglutinación pasiva es más sensible que la IGDA. La prueba origina reacciones cruzadas entre los poxvirus aviares.

21.2.4.- Pruebas de inmunofluorescencia

Las pruebas de inmunofluorescencia directa o indirecta revelan una fluorescencia intracitoplásmica específica en células infectadas. La prueba indirecta es de uso común y consta de dos pasos: el anticuerpo contra el virus de la viruela aviar reacciona primero con el antígeno en las células infectadas y después con un anticuerpo secundario marcado con isotiocianato de fluoresceína contra la gammaglobulina de pollo (por ejemplo, suero anti-pollo obtenido en cabra). Estos anticuerpos marcados están comercializados. A este respecto, para pruebas con anticuerpo fluorescente se pueden utilizar con eficacia los cortes de tejidos fijados con formalina.

21.2.5.- Inmunoperoxidasa

La tinción específica de las inclusiones citoplásmicas es el resultado de la reacción de un anticuerpo policlonal específico contra la viruela aviar, que está conjugado con peroxidasa de rábano, y los cortes hidratados de tejidos (MCA o piel) o de cultivos fijados e infectados con viruela aviar. Se obtienen resultados similares cuando se utilizan anticuerpos policlonales o monoclonales en una prueba indirecta. Una ventaja de la técnica es que los cortes se pueden observar por microscopía de luz visible y se pueden guardar durante mucho tiempo sin pérdida de color (Tripathy 1973).

21.2.6.- Enzimoimmunoensayo

Se han desarrollado ELISAs para detectar anticuerpos humorales contra el virus de la viruela aviar. Son capaces de detectar anticuerpos 7–10 días después de la infección (Buscaglia 1985), pero estas pruebas todavía no se han comercializado.

Los antígenos del virus de la viruela aviar se preparan de monocapas de células QT–35 infectadas, o de lesiones de MAC. Las células QT infectadas se precipitan (700 **g** durante 10 minutos a 4°C), se lavan con tampón isotónico (Tris 10 mM, pH 8,0, NaCl 150 mM, etilén diamino tetra–acético [EDTA] 5 mM), y se lisan en tampón hipotónico (Tris 10 mM, pH 8,0, KCl 10 mM, EDTA 5 mM) con Triton X–100 al 0,1% y beta– mercaptoetanol al 0,025%. Los núcleos y los restos celulares se eliminan por centrifugación a baja velocidad (500 **g** durante 5 minutos a 4°C) y el sobrenadante se utiliza como fuente de antígenos del virus de la viruela aviar para ELISA o para inmunotransferencia. Para aislar antígeno vírico de lesiones de MCA, se necesita una dispersión inicial de las lesiones mediante tratamiento con detergentes como se describió anteriormente. También se ha empleado como antígeno el virus propagado en fibroblastos o en células dérmicas

de embrión de pollo. La preparación del antígeno es como la descrita para las células QT.

Los pocillos de la placa de microtitulación se antígenizan con 1 µg de antígeno soluble vírico de la viruela aviar en 100 µl de tampón de recubrimiento (Na₂CO₃ 15 mM, NaHCO₃ 35 mM, pH 9,6) y se incuban durante toda la noche a 4°C (Buscaglia 1985). Cada pocillo se lava después una vez con solución de lavado (NaCl 0,29 M, Tween 20 al 0,05%) y se bloquea con solución salina tamponada con fosfato (PBS, pH 7,4), que contenga 3% de seroalbúmina bovina (BSA), durante 1 hora a 37°C. Después de un lavado, se añaden a los pocillos diluciones seriadas de los sueros problema en PBS con 1% de BSA. Tras agitar durante 2 horas a 37°C, los pocillos se lavan tres veces antes de añadir 100 µl/pocillo de anticuerpos IgG (H+L) anti-pollo obtenidos en cabra conjugados con peroxidasa de rábano³, a una dilución recomendada en PBS. Después de 2 horas de incubación a 37°C y tres lavados subsiguientes, se añaden a cada pocillo 100 µl del sustrato de la peroxidasa TBM3. Las reacciones se terminan por adición de ácido fosfórico 1 M y se registra la absorbencia a 450 nm utilizando un lector de placas ELISA4.

21.2.7.- Inmunotransferencia

Las variaciones antigénicas que ocurren entre las cepas del virus de la viruela aviar pueden determinarse por medio de inmunotransferencia. En este método, los antígenos se separan por SDS-PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato sódico) y reaccionan con anticuerpos policlonales o monoclonales contra el virus de la viruela aviar ((OIE Terrestrial manual, 2008)

22.- TRATAMIENTO

No hay tratamiento eficaz para la viruela aviar, en tanto tratándose de aves de compañía, podemos tentar la recuperación del animal suministrándole vitaminas "A" a la regeneración epitelial, el uso de antibióticos que actúen bien sobre bacterias gram positivas es útil cuando hay infección por staphylococcus aureus.

En situaciones en cautividad, hay una variedad de tratamientos que se han utilizado junto con la atención de apoyo para el tratamiento de las lesiones de viruela y para prevenir infecciones secundarias en diversas especies de aves. Estos tratamientos consisten en la eliminación de lesiones de la piel con la utilización de bicarbonato de sodio o solución de Lugol de lavados de yodo, la eliminación de la membrana diftérica de la boca y la garganta se hace frotando la superficie con una solución de yodo de Lugol, el baño de los ojos con una solución salina 1-2%, y elevando la temperatura ambiental. En todos los casos, la prestación de asistencia para la recuperación puede contagiar la infección a otras partes de la piel o de otras aves.

23.- PREVENCIÓN Y CONTROL

Debido a que no existe una cura efectiva para la viruela aviar, la prevención y el control son vitales para el mantenimiento de las parvadas sanas. A continuación se mencionan algunas sugerencias que ayudan a reducir el impacto de la viruela aviar en una parvada o granja:

- ❖ Las partículas de virus se puede encontrar en el medio ambiente y desechos que se encuentran en los gallineros, por lo tanto el control del polvo y la desinfección del medio ambiente son importantes.
- ❖ Un programa de control eficaz contra insectos debe estar en lugar oportuno o en un tablero.
- ❖ Debe implementarse un programa de bioseguridad para prevenir la anomalía en el movimiento de los materiales y equipos que podrían estar contaminados con el virus de la viruela.
- ❖ Se aplica la vacunación y revacunación sobre la base de la historia de la exposición, si es necesario, se puede hacer frente a un brote de viruela, porque la difusión de las infecciones suelen ser lentas.
- ❖ En el caso de un brote, utilizar desinfectante líquido como el yodo (utilizado para la desinfección de las tuberías de agua) se añade al agua dado a que parece ayudar en la reducción de la mortalidad.
- ❖ Crear una solución de reserva mediante la adición de 30 a 45 ml / L de desinfectante de yodo (4 a 6 onzas / galón) en agua.
- ❖ Añadir la solución de reserva a la línea de agua a través de un medicador a una concentración de 8 ml/l (1 onza / galón) de agua potable.
- ❖ Rocía la caseta o galpón con un desinfectante para reducir la exposición.

23.1 Vacunación

La vacunación debe completarse antes de la exposición esperada del virus de la viruela aviar. En las áreas donde hay presencia de mosquitos durante todo el año a menudo se establecen 2 vacunaciones, una a principios del año y una después para tener protección "permanente".

23.2.- Tipos de vacunas

23.2.1.- Vacuna de viruela aviar

Ésta es una vacuna de tipo virulento. Por ser un virus vivo, es capaz de diseminar la enfermedad, razón por la que nos e usa con frecuencia.

- a).- Las aves deben tener cinco semanas de edad o más, debido a su virulencia.
- b).- las aves no deben estar bajo estrés cuando es administrada.
- c).- la vacuna de viruela aviar puede usarse al mismo tiempo que las siguientes, pero la vacunación de viruela debe inocularse separadamente en:

Vacunación de laringotraqueítis

La segunda vacunación de enfermedad de Newcastle.

23.2.2.- Vacuna atenuada para viruela aviar

Ésta constituye una forma leve de vacuna para la viruela aviar y da buena inmunidad sin muchos de los efectos colaterales de la vacuna virulenta. (Nort y Bel 1993)

23.3.- Instructivo de vacunación

- ❖ En un artículo denominado Hy-Line 2010 afirma que los pollitos pueden ser vacunados tan pronto como al día de edad. El origen de cultivo de tejidos (TCO) de vacunas ($\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{2}$ dosis por pollo) se puede utilizar al nacimiento, ya sea por una sola aplicación con aguja en la membrana del ala, o en combinación con la vacuna contra la enfermedad de Marék. Este tipo de vacuna no protege toda la vida del ave, pero debe proteger adecuadamente hasta la segunda vacunación que se administre.
- ❖ Para la protección permanente, las aves tienen que ser vacunados después de las 8 a 10 semanas mayores de edad con una vacuna de origen de embrión de pollo (CEO).
- ❖ Use los aplicadores de aguja de 2 dientes suministrados de la vacuna. Esto permite que la piel se rompe y queda expuesta al virus de la vacuna 2 veces y suministra una dosis completa de vacuna.
- ❖ La verificación llamada "toma" (un pequeña hinchazón o presencia de costra en el sitio de inoculación) suele presentarse a los 6 días después de la vacunación (Fig. 13).
- ❖ Asegúrese de que la cantidad de la vacuna utilizada sea correcta y sea registrada para cada lote.



Fig. 12.- Reacción de la vacuna o "toma", Cerca de los 6 días post-vacunación.

23.4.- Sugerencias adicionales antes y durante un brote de viruela húmeda.

- ❖ En las zonas de alto desafío o riesgo, las aves pueden necesitar 2 vacunaciones en la fase de crecimiento, una vacunación temprana de 3 a 6 semanas de edad y una segunda de 8 a 14 semanas de edad. Vacunaciones adicionales pueden ser añadidas, dependiendo del grado e incidencia del virus.
- ❖ Una mejor respuesta a la vacunación se produce rompiendo la piel en cuatro sitios. La piel puede ser perforada cuatro veces con una aplicación por pegado 2 de los aplicadores de vacunas juntos. Se requieren que el diluyente de vacuna adicional proporcione 1,25 dosis por ave. La cantidad de vacuna que se usa por parvada debe ser verificada y registrada.
- ❖ En las parvadas que reciben vacunaciones múltiples de viruela a un día mayor de su edad, el porcentaje de "toma" o el grado de reacción a la vacuna de las vacunas posteriores será menor del 99 al 100% porque algunas aves seguirán siendo todavía protegidas y no responden a la vacuna. "Toma" aún debe ser verificada y registrada después de cada vacunación.
- ❖ No existe ninguna prueba serológica de rutina para determinar la inmunidad de la viruela, pero una manera de comprobar la inmunidad es tomar de 200 a 300 aves de 18 a 20 semanas de edad que hayan sido previamente vacunados y revacunar con una dosis completa de la viruela aviar. A los 6 días post-vacunación, verifique la "toma". Debemos esperar 99 a 100% de estas aves que no muestran ninguna "toma". Una "toma" en este momento significa que no estaban protegidos con anterioridad y eran susceptibles a

algún brote del virus. La mayoría de las aves de esta edad (bajo el desafío grave) que no muestran al menos el 95% de protección puede ser necesario volver a vacunarse. (Hy-Line 2010)

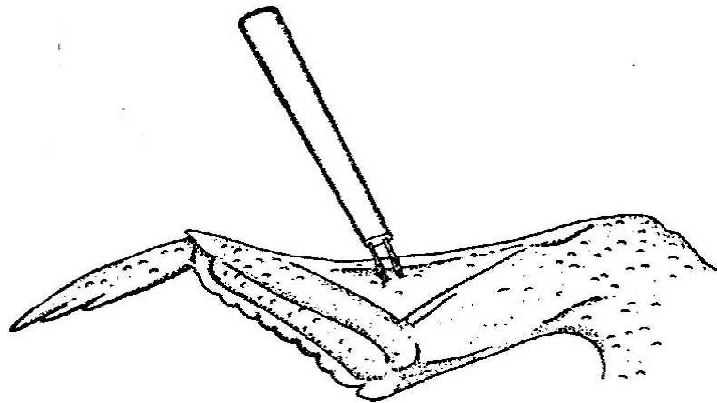
Por otro lado, también se sugiere que la vacuna contra la enfermedad de viruela aviar se debe administrar a todos los pollos de 12-16 semanas de edad.

Un alto porcentaje de pollos que muestran la reacción (toma) indica una vacunación satisfactoria. La ausencia de una "toma" podría ser el resultado de una vacunación incorrecta durante la administración de la misma, por el uso de una vacuna con potencia insuficiente (incorrectamente almacenado o utilizado después de la fecha de expiración) o una vacuna que se aplica a un ave inmune.

Se deben tomar precauciones cuando se administre la vacuna contra la viruela, dado a que es un tipo de vacuna de virus vivo. Debido a que la vacuna contra la viruela produce una forma leve de la enfermedad, sólo aves sanas deben ser vacunadas. Se recomienda sumamente que todas las aves de una caseta o galpón sean vacunadas el mismo día. La vacuna debe ser aplicada únicamente en el sitio de la vacunación, y tomar precauciones para evitar la contaminación de otras partes del ave, las instalaciones y el equipo. El control de mosquitos también debe ser parte del programa preventivo. (Butcher 2012)

23.5.- Técnica de vacunación

Primeramente se recomienda leer todas las instrucciones por lo menos 1 a 2 días antes de que se vaya a vacunar. Una vez que la vacuna es mezclada con el diluyente se cuenta con aproximadamente 2 a 2 ½ horas para usar la vacuna. Después de ese momento la mayoría de la vacuna es muerta por lo que se recomienda desechar el contenido restante siguiendo estrictamente las instrucciones del fabricante. Después de sujetar al ave se procede a sumergir la aguja especializada de doble vertiente en la vacuna recién mezclada. Una vez teniendo la aguja cargada de vacuna inmediatamente hay que insertarla en la parte inferior del ala hasta que cruce toda la membrana de la base de la misma y luego retire la aguja y vuelva a cargarla y hacer lo mismo con el resto de las aves hasta que todas las aves han sido vacunadas (Fig. 14). Asegurarse de no golpear a las estructuras óseas en el ala durante la vacunación. Esta vacuna contra la viruela aviar no se pueden administrar en el agua potable.



13.- Sitio donde se inocula la vacuna contra viruela aviar por la vía del pliegue del ala.

23.5.1.- Verificación post-vacunación

Aproximadamente 7 días después de la vacunación contra viruela, se sugiere verificar o examinar el sitio de inoculación de la vacuna (en la membrana o pliegue del ala) para revisar la señal o cicatriz denominada toma. Esto se verá como una pequeña costra o un golpe en el lugar donde la aguja fue insertada en la piel de la base del ala. La falta de toma puede indicar que la vacunación no tuvo éxito, esto puede ser debido a la deficiente técnica de vacunación, manejo inadecuado de la vacuna o almacenamiento inadecuado. También puede significar que las aves habían sido vacunadas antes y aún tienen algo de inmunidad o de que las aves pueden haber tenido la exposición natural a la viruela antes de la vacunación y por lo tanto van a tener una cierta inmunidad.

23.6.- Indicaciones frente a un brote de viruela

Inmediatamente comenzar a vacunar a todas las aves que no muestren síntomas de la viruela, y el trabajo hacia aquellos que tienen la viruela, pero no vacunar a las aves que presenten síntomas de la enfermedad, dado a que esto tiende a empeorar las cosas y probablemente, causa de mortalidad. A las aves que manifiestan lesiones de viruela se recomienda poner un antibiótico general en el agua potable, así como una buena vitamina y el paquete de electrolitos, ya que puede prevenir cualquier infección bacteriana secundaria que a menudo acompañan a un brote de viruela aviar.

23.7.- Tipos de vacunas de acuerdo a la edad

Existen dos vacunas diferentes contra la viruela aviar:

La primera se utiliza en las aves de 1 día de vida hasta cerca de 5 semanas de edad y la otra vacuna contra la viruela es para aves adultas y se utiliza en las aves de 8 semanas de edad en adelante. Los nombres de las vacunas y el calendario de edad varían según el criterio del fabricante, pero si se proceden

vacunar a las aves con una vacuna de ave joven o en crecimiento posteriormente debe seguirse más tarde con la vacuna de aves adultas con el fin de obtener la inmunidad a largo plazo. De lo contrario, se adquieren aves más vulnerables a una epidemia de viruela dado a que existen las condiciones adecuadas.

Durante un brote de viruela aviar se recomienda limpiar las llagas o formación de costras con yodo dado a que ha demostrado acortar el curso de la enfermedad. Poner oxine en el agua potable o empañar con oxine el gallinero o caseta también será de beneficio. También puede ser importante vacunar a todas las aves con la vacuna contra la viruela de aves jóvenes y nuevamente volver a revacunar para obtener mayor inmunidad a largo plazo. Este enfoque ha ayudado a bastantes propietarios a superar la enfermedad con el virus de la vacuna contra la viruela para aves jóvenes por lo que es muy suave y generalmente no causaran la enfermedad después de su uso. (Brown 2012)

23.8.- Vías de administración y efectos patológicos

Hay dos métodos convencionales de vacunación contra la viruela aviar. El virus es comúnmente inoculado en la piel por lo general usando una aguja bifurcada (vía de administración en la membrana del ala) o arrancando las plumas del ave, usualmente en la parte superior del muslo, y el virus es cepillado en los folículos expuestos. Mayr et al. (1971) y Mayr y Danner (1976) han demostrado que el virus de la viruela aviar atenuado ya sea en el agua potable o por administración oral, puede proteger a los pollos contra el brote con una cepa patógena, tomando únicamente en cuenta las vías tanto en la membrana del ala o por vía intravenosa. Dutko et al. (1980) y Sikachina (1981) han demostrado también que el virus de la viruela de paloma puede administrarse por vía aerosol y proteger contra una cepa patógena del virus de la viruela aviar administrándolo subcutáneamente también. Liu y Ding (1985) utilizaron exitosamente un virus de codorniz adaptado para viruela aviar y Mikhalskii (1977) propuso un virus atenuado de la viruela aviar cuya vacunación en aerosol tenía el fin de conseguir una protección.

Según investigadores (Mockett et al 1987) demostraron varias vías o formas de administrar la vacuna de viruela aviar en un trabajo de investigación. Se Vacunaron a pollos frente a la viruela aviar empleando como vías de inoculación el pliegue del ala, la oral, el agua de bebida o la ruta por aerosol. Empleando dos inoculaciones del virus, a los 5 y 26 días de edad, se indujo una inmunidad protectora en los pollos que resistieron la exposición a un virus de la viruela aviar patógeno inoculado en el pliegue del ala o por vía endovenosa a los 46 días de edad. La vacunación por aerosol y por el pliegue del ala indujo una inmunidad protectora ligeramente superior a la del agua de bebida o a la de la vacunación oral. Se detectó virus en las células pulmonares de los pollos vacunados por vía oral, por aerosol o a través del agua de bebida. También se recuperó virus de los pulmones de estos pollos, obteniéndose el título máximo a los 6 días post vacunación. Aunque existió una reacción histológica marcada en el pulmón, no se observaron signos clínicos en los pollos.

Estos estudios se compararon con el fin de determinar cual resultaba ser la más eficaz para producir inmunidad protectora en condiciones experimentales. Utilizando una cepa del virus de la viruela aviar

Los resultados presentados en dicha investigación mostraron que todas las vías de inoculaciones como por aerosoles, agua potable, oral y en la membrana del ala fueron eficaces en la producción de la inmunidad protectora. Sin embargo, los aerosoles y la inoculación por la membrana del ala resulto dar una protección un poco mejor, especialmente si el virus se administra por la vía de la membrana del ala. Mayr y Danner (1976) utilizaron una sonda intravenosa del virus de la viruela aviar que resultó en lesiones generalizadas en las partes de la piel sin plumas.

Los efectos patológicos producidos por el virus de la viruela aviar en la tráquea han sido examinados por Tanizaki et al (1987). Se encontró que los grupos de las células epiteliales proliferaron amplia y abundantemente y se observo la formación parecida a papilomas. La mayor parte de las células alargadas en la zona afectada contenía los cuerpos de inclusión citoplasmáticos. El virus fue administrado a través del saco aéreo torácico posterior. Una de las observaciones es de que el virus de la viruela aviar se replican en cultivos de órgano traqueal (sin publicar). La razón por la que no se pudo detectar cualquier virus en la tráquea no está clara. FPV, inoculados por vía intratraqueal, se ha demostrado previamente para replicar en el pulmón (Minbay y Kreier, 1973; Singh et al, 1987). En nuestro experimento de la replicación del virus en el pulmón inducida por un anfitrión anti-viral de la inmunidad que actuó como protector, incluso si el virus de desafío fue inoculada por la vía de la membrana del ala. La administración por la vía oral y en el agua potable también se replica en el pulmón, aunque en menor medida. Esto podría ser un factor en la inmunidad protectora inferior inducida por estas vías.

Los cambios histopatológicos en el pulmón son relativamente graves después de la vacunación con aerosoles, sin embargo, los pollos parecieron clínicamente normales. Al parecer, la función pulmonar se mantuvo intacta.

El interés en el virus de la viruela aviar ha aumentado debido a la posibilidad de utilizarlo como un vector viral recombinante, dado a que contienen genes que codifican el inmunógeno protector(s) a partir de diversos patógenos aviares. El recombinante se administra por la vía de la membrana del ala.

Estos experimentos han demostrado que la vacunación por vía de administración de aerosol suele ser muy eficaz para la viruela aviar. Un número de patógenos aviares pueden entrar al huésped por la vía respiratoria (virus de la bronquitis infecciosa, el virus de la enfermedad de Newcastle, virus de la enfermedad de Marék, las enfermedades infecciosas como laringotraqueítis y el virus de la gripe aviar). El virus de viruela aviar recombinante propuesta por la vía de aerosol se espera que dé lugar a la inmunidad local y esto puede ser un factor importante en la limitación de la propagación de los patógenos aviares. Por lo

tanto, la vía de aerosol sigue siendo una alternativa práctica junto con la vía de la membrana del ala. (Mockett et al 1990)

24.- REQUISITOS PARA LAS VACUNAS Y LOS MATERIALES DE DIAGNÓSTICO

Los estudios iniciales indicaron la posibilidad de proteger a los pollos de la viruela aviar mediante la utilización de virus de la viruela de paloma o de gallina. La vacunación se recomienda en áreas donde la viruela aviar es endémica o en instalaciones donde se ha diagnosticado previamente la enfermedad. Se han comercializado vacunas vivas de poxvirus de gallina y de paloma y también vacunas en vectores que protegen contra la enfermedad. Estas vacunas proceden de embriones de pollo o de cultivos de células aviares. Las directrices para la producción de vacunas veterinarias se presentan en el Capítulo I.1.7. Principios de producción de vacunas veterinarias. Las normas dadas aquí y en el Capítulo I.1.7. son de naturaleza general y pueden suplementarse con requisitos nacionales o regionales.

Debe tenerse en cuenta la inmunidad adquirida pasivamente durante la vacunación de la descendencia de bandadas que han sufrido una infección natural reciente o que se han vacunado recientemente. Como la inmunidad pasiva (durante 2–3 semanas) puede interferir la multiplicación del virus vacunal, la descendencia solo debería vacunarse tras el descenso de los anticuerpos de adquisición pasiva. La vacuna contra la viruela aviar se aplica por el método de la punción en la membrana alar.

24.1.- Control del inóculo

24.1.1.- Características del inóculo

Se debe establecer un inóculo primario o maestro de virus (MSV) y usarlo según un sistema de lotes de siembra. Se debe mantener un registro de su origen, historia de pases y características. Los virus pueden ser de viruela aviar o de viruela de paloma. El MSV se debe propagar en servicios adecuados, con materiales que cumplan estándares aprobados y debe probarse respecto a ausencia de contaminantes así como para identidad y pureza.

24.1.2.- Método de cultivo

El MSV debe propagarse en embriones de pollo libres de patógeno específico (SPF), utilizando las MCAs, o en cultivos celulares aviares, como fibroblastos primarios de embriones de pollo, riñón o dermis de embrión de pollo.

24.1.3.- Validación como vacuna

24.1.3.1.- Pureza

Antes de probarlo para pureza, el MSV se puede neutralizar con un suero hiperinmune específico. Debido a la dificultad de neutralizar el poxvirus aviar, se acepta tratar el MSV por centrifugación a 1.000 g durante 20 minutos y después filtrarlo por un filtro de 0,2 µm. El MSV neutralizado o filtrado se usa luego en pruebas para demostrar la ausencia de agentes extraños. Estas pruebas deben realizarse en huevos embrionados o en cultivos celulares aviares para demostrar la inexistencia de replicación vírica y en pollos SPF para demostrar la ausencia de anticuerpos frente a agentes extraños.

24.1.3.2.- Inocuidad

Las vacunas solo deben prepararse de una cepa de virus estable y atenuado o de aislamientos naturales de baja virulencia.

La vacuna debe ser inocua por la ruta de administración recomendada, que es por punción en la membrana alar, a todas las edades en aves susceptibles. Una prueba adecuada es tomar 10 pollos SPF e inocular cada uno pinchando la membrana alar con una aguja mojada en la vacuna. Las aves se observan durante 7–10 días para evidencia de "tomas" y para la ausencia de efectos adversos atribuibles a la vacuna. Una "toma" es una inflamación de la piel o una costra en el sitio de aplicación de la vacuna e indica una vacunación adecuada. La prueba de inocuidad debe repetirse después de al menos seis pases seriados del virus en pollos SPF, para mostrar que no ha habido reversión a la virulencia.

24.1.3.3.- Eficacia

Deben obtenerse datos utilizando el nivel de pases más alto y el título más bajo de virus que se va a utilizar en el producto final: se da una dosis de vacuna por el método recomendado a 20 pollos SPF de la edad menor indicada para la vacunación. Estos pollos, junto con otros 20 no vacunados de la misma edad y origen, son inoculados en desafío 3 semanas después por escarificación con una cepa virulenta de virus de la viruela aviar. Las aves se observan durante 3 semanas. El noventa por ciento de las aves control deben presentar lesiones debidas al virus de desafío y al menos el 90% de las aves vacunadas deben estar libres de tales lesiones.

24.2.- Método de fabricación

La vacuna se fabrica por un sistema de lotes de inóculo con el MSV validado. Esto debe realizarse en instalaciones aprobadas y diseñadas para evitar el riesgo

de contaminación. Todos los medios y cultivos celulares deben probarse para asegurar la ausencia de contaminación.

24.3.- Control del proceso

Durante el proceso de validación como vacuna, se deben comparar los datos de eficacia con el contenido del virus de la vacuna. Se puede establecer así una potencia adecuada. La vacuna debe dispensarse en los recipientes finales para asegurar que cada recipiente tiene virus suficiente para alcanzar la potencia especificada.

24.4.- Control de lotes

24.4.1.- Esterilidad

Las pruebas para esterilidad y ausencia de contaminación de los materiales biológicos se pueden encontrar en el Capítulo I.1.5.

24.4.1.- Inocuidad

Para cada lote de vacuna se debe utilizar la prueba de inocuidad que se describe en la Sección C.1. c.ii anterior, exceptuando el requisito de seis pases en pollos SPF.

24.4.2.- Potencia

Deben realizarse pruebas sobre el contenido vírico en al menos tres recipientes. Las diluciones deben abarcar un rango de infectividad de 0–100%, usando saltos de dilución de 1/5 y siete réplicas por dilución. Si es posible, la prueba debe llevarse a cabo en paralelo con una vacuna estándar. Cada lote de vacuna se titula en el diluyente suministrado para dicho uso. Normalmente, el título de virus no debe ser mayor que 1/10 de la dosis a la que se ha demostrado que la vacuna es segura ni inferior al título determinado en la prueba de eficacia. Una potencia adecuada para una vacuna viva contra la viruela aviar suele estar en la zona de 10⁵ EID₅₀ (dosis infectiva del 50% para embriones) por ml.

24.4.3.- Duración de la inmunidad

La prueba de eficacia presentada en la Sección C. 1. c. iii puede usarse para determinar la duración de la inmunidad (aproximadamente 6–12 meses) mediante pruebas a intervalos después de la vacunación, usando grupos distintos de aves en cada prueba.

24.4.4.- Estabilidad

Para justificar la caducidad, deben presentarse evidencias sobre la estabilidad. Éstas deben basarse en titulaciones víricas realizadas periódicamente hasta 3

meses más allá de la caducidad propuesta y verificadas en, por lo menos, seis lotes de vacuna mantenidas en las condiciones recomendadas de almacenamiento.

24.4.5.- Conservantes

No se utilizan conservantes en vacunas vivas.

24.4.6.- Precauciones (riesgos)

Normalmente se recomienda no vacunar a las aves que están de puesta. Se debe evitar el contacto de la vacuna viva con el hombre. La vacuna estándar contra la viruela aviar no se usa con palomas, que pueden vacunarse con la vacuna contra el poxvirus de las palomas. En muchos países, la vacuna de las palomas se ha visto reemplazada por la vacuna viva atenuada contra la peste aviar diseñada para utilizar en pollos de un día de edad. Estos productos se han utilizado con seguridad en palomas a falta de vacuna disponible contra el poxvirus de las palomas.

24.5.- Pruebas sobre el producto final

24.5.1.- Inocuidad

En cada lote se emplea la prueba de seguridad que se describe en la Sección C.1.c.ii.

24.5.2.- Potencia

En cada lote se emplea la prueba de potencia descrita en la Sección C.4.c. (OIE Terrestrial manual, 2008)

25.- BIOSEGURIDAD

Las prácticas adecuadas y constantes de bioseguridad son la mejor manera de evitar que enfermedades avícolas, tal como la enfermedad viruela aviar, se propaguen dentro de una parvada, al incluir la bioseguridad como rutina diaria en el cuidado de aves, tendrá como resultado reducir la posibilidad de que las aves contraigan esta enfermedad.

25.1.- Consideraciones para mantener a las aves sanas

- Se recomienda limpiar y desinfectar el equipamiento de céspedes, jardines o aves que haya estado en contacto con las aves o sus excrementos antes de trasladarlo a otro lugar. Hacer lo mismo en caso de ingresar equipamiento a la propiedad. Retirar todo el estiércol antes de colocar el desinfectante. El desinfectante mata los virus de aves de corral que permanece en las superficies.
- Únicamente permitir que las aves estén en contacto con las personas que están a su cuidado. Los cuidadores no deben tener aves comerciales, aves mascota o aves silvestres, ya que éstas en ocasiones son portadoras de la viruela aviar que pueden propagarse en la propiedad y contagiar a todas las aves.
- No prestar o pedir prestado equipamiento, ya que el mismo podría portar virus de viruela aviar. En caso de prestar equipamiento a otras personas, asegurarse de que esté limpio y desinfectado cuando sea devuelto. Los desinfectantes sólo funcionan en superficies sin estiércol u otros materiales. Ciertos elementos tales como paletas de madera, maples de cartón para huevos u otros artículos porosos no pueden limpiarse y desinfectarse adecuadamente y, por lo tanto, no debe prestarse en ninguna circunstancia.

67.- CONCLUSIÓN

Mucho más trabajo de investigación hace falta por hacer sobre el presente tema antes de que se tengan todas las respuestas de cómo prevenir la viruela aviar. Pero actualmente se conoce a ciencia cierta que es posible reducir las pérdidas por viruela aviar haciendo lo siguiente: vacunar por la vía y método apropiado. Alojarse a los pollitos en instalaciones o gallineros debidamente limpios, desinfectados y sin ningún índice de humedad alguna dado a que por ello se propagan los mosquitos y son principalmente los portadores

27.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Afonso CL, Tulman ER, Lu Z, Zsak L, Kutish GF, Rock DL. The genome of fowlpox virus. *J Virol.* 2000;74:3815–3831. doi: 10.1128/JVI.74.8.3815-3831.2000. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Alcami A. New insights into the subversion of the chemokine system by poxviruses. *Eur J Immunol.* 2007;37:880–3. doi: 10.1002/eji.200737215. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Alcamí A, Smith GL. A soluble receptor for interleukin-1 beta encoded by vaccinia virus: a novel mechanism of virus modulation of the host response to infection. *Cell.* 1992;71:153–67. [[PubMed](#)]

Alerta de enfermedades de animales, *Bioseguridad para las aves* 2004 [Fecha de consulta: 02 de marzo de 2012]. Disponible en: http://www.co.fresno.ca.us/uploadedFiles/Departments/Public_Health/Divisions/CH/content/Public_Health_Emergency_Preparedness_Programs/content/BiosecurityAlertSpanish.pdf

Amano H, Morikawa S, Shimizu H, Shoji I, Kurosawa D, Matsuura Y, Miyamura T, Ueda Y. Identification of the canarypox virus thymidine kinase gene and insertion of foreign genes. *Virology.* 1999;256:280–290. doi: 10.1006/viro.1999.9648. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Andrews C, Pereira HG. *Virus vertebrates.* 4. Wildy publishing Tindall, London; 1978. pp. 356–389. 1978.

Arnall L y Keymer I. 1975. *Bird Diseases.* Ed. T.F.H. Publications, Estados Unidos.

Antoniou AN, Powis SJ. Pathogen evasion strategies for the major histocompatibility complex class I assembly pathway. *Immunology.* 2008;124:1–12. doi: 10.1111/j.1365-2567.2008.02804.x. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Atkinson, C.T., J.K. Lease, R.J. Dusek, and M.D. Samuel. 2005. Prevalence of pox-like lesions and malaria in forest bird communities on leeward Mauna Loa Volcano, Hawaii. *Condor*107:537–546.

Bailey TA, Silvanose C, Manvell R, Gough RE, Kinne J, Combreau O, Launay F. Medical dilemmas associated with rehabilitating confiscated houbara bustards (*Chlamydotis undulata macqueenii*) after avian pox and paramyxovirus type 1 infection. *J Wildl Dis.* 2002;38:518–32. [[PubMed](#)]

Bloggervrt *VIRUELA AVIAR* 2010. Disponible en: <http://jennifer-bloggervrt.blogspot.com/2010/10/v-behaviorurldefaultvmlo.html> [Fecha de consulta: 27 de enero de 2012]

Boehmer PE, Lehman IR. Herpes simplex virus DNA replication. *Annu Rev Biochem.* 1997;66:347–84. doi: 10.1146/annurev.biochem.66.1.347. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Bollinger O. Ueber Epithelioma contagiosum beim havshuhn und die Sogenannten pocken des Geflugels. *Archive fur pathologische Anatomie und Physiologie und fur klinische medizine.* 1873;58:349–361. doi: 10.1007/BF02105254. [[Cross Ref](#)]

Boosinger TR, Winterfield RW, Feldman DS, Dhillon AS. Psittacine poxvirus: virus isolation and identification, transmission and cross-challenge studies in parrots and chickens. *Avian Dis.* 1982;26:437–444. doi: 10.2307/1590119. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Boulanger D, Smith T, Skinner MA. Morphogenesis and release of fowlpox virus. *J Gen Virol.* 2000;81:675–87. [[PubMed](#)]

Bowie AG, Unterholzner L. Viral evasion and subversion of pattern-recognition receptor signalling. *Nature Reviews Immunology.* 2008;8:911–922. doi: 10.1038/nri2436. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Briseño de León Miguel Ángel, *Viruela Aviar – Prevención y Control* 2011. Disponible en: http://www.mexicogallero.net/index.php?option=com_content&view=article&id=64:viruela-aviar-prevencion-y-control&catid=36:interesante&Itemid=78 [Fecha de consulta: 29 de enero de 2012].

Brown Peter J. first state veterinary supply 2012 Fecha de consulta: 01 de febrero de 2012]. Disponible en: <http://www.firststatevetssupply.com/content/view/20/43/>

Bunyea Hubert. *Yearbook of Agriculture*, 1942. Disponible en: <<http://naldc.nal.usda.gov/download/IND43893894/PDF>> [fecha de consulta: 23 de febrero, 2012].

BUSCAGLIA C., BANKOWSKI R.A. & MIERS L. (1985). Cell-culture virus neutralization test and enzyme-linked immunosorbent assay for evaluation of immunity in chickens against fowlpox. *Avian Dis.*, **29**, 672–680.

Butcher Gary D., D.V.M. and Rossi Fred, Prevention and Control of Fowl Pox in Backyard Chicken Flocks 2012. [Fecha de consulta: 07 de febrero de 2012]. Disponible en: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/files/VM/VM02100.pdf>

Calnek, B. W., H. J. Barnes, C. W. Beard, L. R. McDougald and Y. M. Saif, 1997. Diseases of Poultry. 10th edition. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 50014. USA. P. 643-659.

Carter JKY, Cherville NF. Isolation of surface tubules of fowlpoxvirus. Avian Dis. 1981;25:454–462. doi: 10.2307/1589937. [PubMed] [Cross Ref]

Cátedra de Patología de Aves y Pilíferos, *Técnica de Necropsia y Toma de Muestra* 2008. [Fecha de consulta: 25 de marzo de 2012]. Disponible en: <http://old.fcv.unlp.edu.ar/sitios-catedras/9/material/Tecnica%20de%20necropsia%20y%20toma%20de%20muestras.pdf>

Chung YS, Spradbrow PB. Studies on poxvirus isolated from a magpie in Queensland. Australian. Vet J. 1977;53:334–336. doi: 10.1111/j.1751-0813.1977.tb00243.x. [Cross Ref]

Department of Agriculture 2006. Disponible en: <http://www.falklandsconservation.com/wildlife/penguins/AvianPox2006Report.pdf> [Fecha de consulta: 13 de marzo de 2012]

Dickinson E. M. *Fowl-pox in Domestic Poultry* 1942, Disponible en: <http://ir.library.oregonstate.edu/xmlui/bitstream/handle/1957/15182/StationBulletin411.pdf?...> [Fecha de consulta: 12 de marzo de 2012]

DOANE F.W. & ANDERSON N. (1987). Electron Microscopy in Diagnostic Virology: A Practical Guide and Atlas. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Dorn P. (1973) Manual de Patología Aviar, Editorial Acribia Zaragoza (España) Pág. 64 y 65.

Drillien R, Spehner D, Kirn A. Host range restriction of vaccinia virus in Chinese hamster ovary cells: relationship to shutoff of protein synthesis. J Virol. 1978;28:843–850. [PMC free article] [PubMed]

Dutko, Yu S, Chernyshev, V.V., Burtsev, V.I. and Bondarenko, I.M. (1980). Aerosol vaccination of poultry against pox. *Veterinariya, Moscow*, 5: 38-

E. Chambers Amanda, M. Dixon Melissa and P. Harvey Steven. *International Journal of Microbiology*, 2010. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2817860/>

FALLAVENA L.C., CANAL C.W., SALLE C.T., MORAES H.L., ROCHA S.L. & PEREIRA DA SILVA A.B. (2002). Presence of avipoxvirus DNA in avian dermal squamous cell carcinoma. *Avian Pathol.*, **31**, 241–246.

FATUNMBI O.O., REED W.M., SCHWARTZ D.I. & TRIPATHY D.N. (1995). Dual infection of chickens with pox and infectious laryngotracheitis (ILT) confirmed with specific pox and ILT DNA dot-blot hybridization assays.

Avian Dis., **39**, 925–930.

Fenner F. Adventures with poxviruses of vertebrates. *FEMS Microbiology Reviews*. 2000;24:123–133. doi: 10.1111/j.1574-6976.2000.tb00536.x. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Fenner F, Burnet FM. A short description of the poxvirus group (vaccinia and related viruses) *Virology*. 1957;4:305–314. doi: 10.1016/0042-6822(57)90065-X. 1957. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Flight Collette, Smallpox: Eradicating the Scourge, 2011. Disponible en: <http://www.bbc.co.uk/history/british/empire_seapower/smallpox_01.shtml> [fecha de consulta: 16 de enero, 2012].

Forrester, D.J. 1991. The ecology and epizootiology of avian pox and malaria in Wild Turkeys. *Bulletin of the Society for Vector Ecology* 16:127–148.

Ghildyal N, Schnitzlein WM, Tripathy DN. Genetic and antigenic differences between fowl pox and quail pox viruses. *Arch Virol*. 1989;106:85–92. doi: 10.1007/BF01311040. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Giasuddin M. Takashi Yoshikkawa and Alam J. Histopathological Studies of Fowl Pox in Bantams. *International Journal of Poultry Science* [en línea] 2002 [Fecha de consulta: 29 de enero de 2012]. Disponible en: <http://www.pjbs.org/ijps/fin38.pdf>

Gillard S, Spohner D, Drillien R, Kim A. Localization and sequence of a vaccinia virus gene required for multiplication in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1986;83:5573–5577. doi: 10.1073/pnas.83.15.5573. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Gillard S, Spohner D, Drillien R. Mapping of a vaccinia host range sequence by insertion into the viral thymidine kinase gene. *J Virol*. 1985;53:316–318. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]

Gordon R.F. (q. e. p. d.) y Jordán F.T.W. Enfermedades de las Aves, Segunda Edición, Editorial El Manual Moderno S.A. DE C.V. 1985. Pág.109.

Guerra, Francisco: “La logística sanitaria en la conquista de México”, Quinto Centenario, *Madrid*, 10, 1986.

Hahn N, Kozikowski E. Thermal inactivation studies with Variola virus. *The Journal of Bacteriology*. 1961;81:609–613.

Hatano Y, Yoshida M, Uno F, Yoshida S, Osafune N, Ono K, Yamada M, Nii S. Budding of fowlpox and pigeonpox viruses at the surface of infected cells. *J Electron Microsc (Tokyo)* 2001;50:113–24. doi: 10.1093/jmicro/50.2.113. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Huw Lee L, Hwa Lee K. Application of the polymerase chain reaction for the diagnosis of fowl poxvirus infection. *J Virol Methods*. 1997;63:113–9. doi: 10.1016/S0166-0934(96)02119-2. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Hy-Line International Online Management Guide. *Hy-Line International Online Management Guide 2010*. [Fecha de consulta: 27 de marzo de 2012]. Disponible en: http://www.hyline.com/redbook/Health/Prevention_FowlPox.html

Important Poultry Diseases 2009. Disponible en: http://www.canadianpoultry.ca/cms_pdfs/Important%20Poultry%20Diseases%200058%20-%20CPC%20website.pdf [Fecha de consulta: 25 de enero de 2012]

Johnston JB, McFadden G. Technical knockout: understanding poxvirus pathogenesis by selectively deleting viral immunomodulatory genes. *Cell Microbiol*. 2004;9:695–705. doi: 10.1111/j.1462-5822.2004.00423.x. [[Cross Ref](#)]

Jordán F.T.W. y Patisson M. *Enfermedades de las Aves*, Tercera Edición, Editorial El manual Moderno S.A. de C.V. 1998. Pág. 163.

Karstad L 1977. Viruela. En: Anderson, R Davis, J Karstad, L y Trainer, D. (eds). *Enfermedades infecciosas y parasitarias de las aves silvestres*. Pp 34-41. Ed. Acribia, España.

Laidlaw SM, Skinner MA. Comparison of the genome sequence of FP9, an attenuated, tissue culture-adapted European strain of Fowlpox virus, with those of virulent American and European viruses. *J Gen Virol*. 2004;85:305–22. doi: 10.1099/vir.0.19568-0. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

LEE L.H. & LEE K.H. (1997). Application of the polymerase chain reaction for the diagnosis of fowlpoxvirus infection. *J. Virol. Methods*, **63**, 113–119.

Liu, G.B. and Ding, C.B. (1985). Mixed vaccination with B1 Newcastle disease vaccine and quail-adapted fowlpox vaccine. *Chinese Journal of Veterinary*

Leonart Roca Francesc, Roca Cifuentes Enric, Callis Feliu Mireia, Gurri Lloveras Albert y Pontes Pontes Miguel. *Higiene y Patología Aviaries*, 1991.

Luschow D, Hoffmann T, Hafez HM. Differentiation of avian poxvirus strains on the basis of nucleotide sequences of 4b gene fragment. *Avian Dis*. 2004;48:453–462. doi: 10.1637/7111. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Mann BA, Huang JH, Li P, Chang HC, Slee RB, O'Sullivan A, Anita M, Yeh N, Klemsz MJ, Brutkiewicz RR, Blum JS, Kaplan MH. Vaccinia virus blocks Stat1-dependent and Stat1-independent gene expression induced by type I and type II interferons. *J Interferon Cytokine Res.* 2008;28:367–80. doi: 10.1089/jir.2007.0113. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Matzer N., F. Richter y L. Bamaca. *Aislamiento de un virus de viruela aviar e importancia de la vacunación 2008.* Disponible en: <http://cmvz.wordpress.com/2008/08/26/aislamiento-de-un-virus-de-viruela-aviar-e-importancia-de-la-vacunacion/> [Fecha de consulta: 27 de enero de 2012].

Mayr, A. and Danner, K. (1976). Oral immunization against pox. Studies on fowlpox as a model. *Developments in Biological Standardization*, 33: 249-259

Mayr A, Mahnel H. Characterization of a fowlpox virus isolated from a rhinoceros. *Arch Gesamte Virusforsch.* 1970;31:51–60. doi: 10.1007/BF01241665. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Mayr, A., Rath, M. and Danner, K. (1971). Perorale Immunisierung gegen Pocken. 1. Mitteilung: Untersuchungen über eine Schluckimpfung gegen Hühnerpocken mit dem attenuierten HStamm HP-1. *Zentralblatt für Veterinärmedizin, B18: 347-358.*

Merck O. Nort / Donald D. Bel, Manual de Producción Avícola, tercera Edición, Editorial El Manual Modero S.A. de C.V. 1993. Pág. 738.

Merck O. Nort, El Manual de Merck, quinta edición en español. editorial OCEANO. Barcelona, España 2000. Pág. 2205.

Michigan Wildlife Disease Manual, *Indiana Wildlife Disease News* [en línea], volume 2, Número 2, Abril 2007, [fecha de consulta: 17 de enero, 2012]. Disponible en: http://extension.entm.purdue.edu/newsletters/IWDNApr_07.pdf.

Mikhalskii, GA. (1977). Aerosol vaccination of poultry against fowlpox by turbulent aerosol nozzle. *Problemy Veterinarnoi Sanitarii*, 58: 29-3

Miller M.J.R., Dawson R.D. and Schwantje H. *Manual of Common Diseases and Parasites of Wildlife in Northern British Columbia* 2003. Disponible en: http://www.unbc.ca/nlui/wildlife_diseases_bc/bc_wildlife_disease.pdf [Fecha de consulta: 13 de marzo de 2012]

Minbay, A. and Kreier, J.P. (1973). Pathogenesis of fowlpox infection in chickens. *Avian Diseases*, 17:532-539.

Mockett, A.P.A., Southee, D.J., Tomley, F.M. and Deuter, A. (1987). Fowlpox virus: its structural proteins and immunogens and the detection of viral-specific antibodies by ELISA. *Avian Pathology*, 16: 493-504.

Mockett, A. Deuter y Debra J. Southee, *Avian Pathology, Fowlpox vaccination: Routes of inoculation and pathological effects*, 1990. [Fecha de consulta: 17 de febrero de 2012]. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/03079459008418717>

MORITA C. (1973). Studies on fowlpox viruses. II. Plaque neutralization test. *Avian Dis.*, 17, 93–98.

MSc. Téllez Flores José Ariel, *Manual de gallinas de patio 2008*, Disponible en: <http://ebookbrowse.com/renl70t275-pdf-d212811442> Managua Nicaragua. Pág. 22.

Nelson JB. The behaviour of poxviruses in respiratory tract: IV. The nasal instillation of fowlpoxvirus in chickens and in mice. *J Exp Med.* 1941;31:203–12. doi: 10.1084/jem.74.3.203. [[Cross Ref](#)]

Nort Merck O. y Bel Donald D. (1993), *Manual de Producción Avícola*, tercera Edición, Editorial El Manual Moderado S.A. de C.V. Pág. 739 y 740.

OIE Terrestrial manual (2008), http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.03.10_Fowlpox.pdf, Pág. 532-536.

Orios, J. F. Rodriguez, J. L. Rodriguez, C. Brava and A. Fernandez, 1997. Debelitating Cutaneous Poxvirus Infection in a Hodgson's Grandala (Grandala coelicolor). *Avian Dis.*, 41: 481-483.

Palma Salas Héctor, *Slideshare*, 2010. Disponible en: <<http://www.slideshare.net/hecpasa09/viruela-aviar-5207608>> [fecha de consulta: 22 de febrero, 2012]. Pledger Alison. *Avian pox virus infection in a mourning dove. The Canadian Veterinary Journal* [en línea] 2005 [Fecha de consulta: 22 de marzo de 2012]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1288422/>

Paoletti E. Application of pox virus vectors: an update. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996;93:11349–11353. doi: 10.1073/pnas.93.21.11349. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Perkus ME, Goebel SJ, Davis SW, Johnson GP, Limbach K, Norton EK, Paoletti E. Vaccinia virus host range genes. *Virology.* 1990;179:276–286. doi: 10.1016/0042-6822(90)90296-4. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Química Viva [Versión en línea]. Universidad de Buenos Aires Buenos a Aires, Argentina 2002, - [fecha de consulta: 16 de enero, 2012]. Disponible en: quimicaviva@qb.fcen.uba.ar ISSN: 1666-7948

Ramsey-Ewing A, Moss B. Apoptosis induced by a postbinding step of vaccinia virus entry into Chinese hamster ovary cells. *Virology*. 1998;242:138–149. doi: 10.1006/viro.1997.8985. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Ritchie, B y Kripcarter, C.1995. *Avian Viruses, Function and Control*. Ed. Wingers Publishing, Florida.

Sadasiv EC, Chang PW, Gulka G. Morphogenesis of canary poxvirus and its entrance into inclusion bodies. *Am J Vet Res*. 1985;46:529–35. 1985. [[PubMed](#)]

Sainova IV, Kril AI, Simeonov KB, Popova TP, Ivanov IG. Investigation of the morphology of cell clones, derived from the mammalian EBTr cell line and their susceptibility to vaccine avian poxvirus strains FK and Dessau. *J Virol Methods*. 2005;124:37–40. doi: 10.1016/j.jviromet.2004.10.006. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Schnitzlein WM, Ghildyal N, Tripathy DN. A rapid method for identifying the thymidine kinase genes of avipoxviruses. *J Virol Methods*. 1988;20:341–352. doi: 10.1016/0166-0934(88)90137-1. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Schoemaker NJ, Dorrestein GM, Lumeij JT. An avipoxvirus infection in a goshawk (*Accipiter gentiles*) *Avian Pathol*. 1998;27:103–106.

Schwantje H. *WILDLIFE HEALTH FACT SHEET*, 2003. Disponible en: http://www.env.gov.bc.ca/wld/documents/wldhealth/avian_pox_fs.pdf. [fecha de consulta: 22 de febrero, 2012].

Seet BT, Johnston JB, Brunetti CR, Barrett JW, Everett H, Cameron C, Sypula J, Nazarian SH, Lucas A, McFadden G. Poxviruses and immune evasion. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:377–423. doi: 10.1146/annurev.immunol.21.120601.141049. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Sikachina, V.I. (1981). Experimental aerosol immunization of chicks against fowlpox. *Veterinariya, Kiev*, 53: 28-30.

Singh, G.K, Singh, N.P. and Garg, S.K.C. (1987). Studies on pathogenesis of fowlpox: Virological study. *Acta Virologica*, 31: 417-423.

Smits, J.E., J.L. Tella, M. Carrete, D, Serrano, and G. Lopez. 2005. An epizootic of avian pox in endemic short-toed larks (*Calandrella rufescens*) and Berthelot's Pipits (*Anthus berthelotti*) in the Canary Islands, Spain. *Vet. Pathology* 42:59–65.

Stannard LM, Marais D, Kow D, Dumbell KR. Evidence for incomplete replication of a penguin poxvirus in cells of mammalian origin. *J Gen Virol*. 1998;79:1637–46. [[PubMed](#)]

Susan Lorena Díaz Pérez, (2006)
<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2006/fvd542d/doc/fvd542d.pdf> Pág. 14 y 15.

Tanabe I, Hotta S. Effect of disinfectants on Variola virus in cell culture. *Applied and Environmental Microbiology*. 1976;32(2):209–212. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]

Tanizaki, E, Kotani, T. and Odagiri, Y. (1987). Pathological changes of tracheal mucosa in chickens infected with fowlpox virus. *Avian Diseases*, 31:169-175.

Tantwai HH, Al Falluji MM, Shony MO. Heat-selected mutants of pigeon poxvirus. *Acta Virol*. 1979;23:249–252. [[PubMed](#)]

The Merck Veterinary Manual 2011. [Fecha de consulta: 21 de marzo de 2012]. Disponible en: <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/204801.htm>

Tripathy, D y Reed W. 2000. Viruela Aviar. En: Calnek, B (eds). *Enfermedades de las aves*. Pp 659-671 2° ed. Ed. El mundo moderno, México Df.

TRIPATHY D.N. (1993). Avipoxviruses. *In: Virus Infections of Vertebrates –Virus Infections of Birds*, Vol. 4, McFerran J.B. & McNulty M.S., eds. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, the Netherlands, 5–15.

TRIPATHY D.N. & HANSON, L.E. (1976). A smear technique for staining elementary bodies of fowlpox. *Avian Dis.*, **20**, 609–610

TRIPATHY D.N., HANSON L.E. & KILLINGER A.H. (1973). Immunoperoxidase technique for detection of fowlpox antigen. *Avian Dis.*, **17**, 274–278.

TRIPATHY D.N., HANSON L.E. & MYERS W.L. (1970). Passive hemagglutination test with fowlpox virus. *Avian Dis.*, **14**, 29–38.

Tripathy DN, Reed WM. *In: Diseases of Poultry*. Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE, editor. Iowa State University Press, Ames, IA; 2003. Poxvirus; pp. 253–269.

Tulman ER, Afonso CL, Lu Z, Zsak L, Kutish GF, Rock DL. The genome of canarypox virus. *J Virol*. 2004;78:353–66. doi: 10.1128/JVI.78.1.353-366.2004. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Valladares de la Cruz Juan Carlos, *Elementos requeridos para un diagnóstico de Laboratorio* [en línea] 2010. [Fecha de consulta: 25 de marzo de 2012]. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-avicultura/manejo/articulos/elementos-requeridos-diagnostico-laboratorio-t2905/p0.htm>

Van Riper Charles III and Forrester Don . *Infections Diseases of Wild Birds, 2006*. Disponible en: http://www.charlesvanriper.com/papers/Avion_Pox.pdf. [fecha de consulta: 26 de febrero, 2012].

Van Riper, C. III, S.G. van Riper, and W. Hansen. 2002. The epizootiology and effect of avian pox on Hawaiian forest birds. *Auk* 119:929–942.

VanderWerf, E. 2001. Distribution and potential impacts of avian poxlike lesions in 'Elepaio at Hakalau Forest National Wildlife Refuge. In *Studies in Avian Biology*, Vol. 22, J.M. Scott, S. Conant, and C. van Riper III (eds.). Allen Press, Lawrence, Kansas, U.S.A., pp. 247–253.

Vargas, H. 1987. Frequency and effect of pox-like lesions in Galapagos Mockingbirds. *Journal of Field Ornithology* 58:101–102.

Wallis C, Melnick JL. Virus aggregation as the cause of the non-neutralizable persistent fraction. *Journal of Virology*. 1967;1(3):478–488. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)]

Warner, R.E. 1968. The role of introduced diseases in the extinction of the endemic Hawaiian avifauna. *Condor* 70:101–120.

Weli and Tryland: *Avipoxviruses: infection biology and their use as vaccine vectors*. *Virology Journal* 2011. Disponible en: <<http://www.virologyj.com/content/pdf/1743-422X-8-49.pdf>> [fecha de consulta: 22 de enero, 2012].

Weli SC, Nilssen O, Traavik T. Avipoxvirus multiplication in a mammalian cell line. *Virus Res*. 2005;109:39–49. doi: 10.1016/j.virusres.2004.10.009. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]

Weli SC, Traavik T, Tryland M, Coucheron DH, Nilssen O. Analysis and comparison of the 4b core protein gene of avipoxviruses from wild birds: evidence for interspecies spatial phylogenetic variation. *Arch Virol*. 2004;149:2035–2046. [[PubMed](#)]

WINTERFIELD R.W. & HITCHNER S.B. (1965). The response of chickens to vaccination with different concentrations of pigeon pox and fowlpox viruses. *Avian Dis.*, 9, 237–241.

Woernle Hellmut (1994) *Enfermedades de las Aves*, Editorial Acribia, S.A. de C.V. Zaragoza, España. Pág. 92 y 93

Yamaguchi T, Kaplan SL, Wakenell P, Schat KA. Transactivation of latent Merak's disease herpesvirus gene in QT35, a quail fibroblast cell line, by herpesvirus of turkeys. *J Virol*. 2000;74:10176–10186. doi: 10.1128/JVI.74.21.10176-10186.2000. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)]