



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**“Estudio prospectivo de Alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *Anas* spp.”**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

**PRESENTA**

OSCAR ABEL TORRES MEZA

Asesores

Dr. Gary García Espinosa

MVZ EPA María de la Luz Chavacán Avila

Ciudad Universitaria, Cd. Mx

Octubre 2017



I





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Dedicatoria

A mis padres, hermanos, sobrinas y gran amor: Abel, Mónica, Luis,  
Betzaida, Daniela, Ángela y Carolina.

## Agradecimientos

Después de un largo camino y muchos momentos oscuros y de lucidez quiero agradecer a las personas que hicieron posible llevar a buen puerto este trabajo.

Mis padres: Abel y Mónica que siempre han cuidado de mí con gran cariño y amor, por ser firmes cuando se debe. Los quiero con el corazón.

Mis hermanos: Luis y Betzaida con quienes siempre puedo contar y quienes me soportan a pesar de mis necesidades y errores. Mi sobrina Ángela que sin darse cuenta, por ahora, me llena de inspiración para trabajar.

A Carolina Manzano, luna de mi vida; por llegar a mí con sus latidos de violín que coordinan a los míos de piano, pintar mi vida al óleo y cantar su gran amor desde el inicio de este trabajo.

A Ernesto Méndez mi gran amigo, por haberme sacado de mi época más lúgubre y recordarme con blues como levantarme.

Al Dr. Gary García, por guiarme paso a paso desde el principio en la investigación, por la pronta respuesta a mis dudas y gran atención en cada corrección hecha. A la MVZ Adriana Correa que con su gran sabiduría me sacó del limbo y presentó con el Dr. Gary.

A la MVZ EPA María de la Luz Chavacán, madre académica, y el MVZ EPA Andrés Castro que día a día mantienen a flor de piel los colores de la UNAM y trabajan para hacer mejor a sus alumnos, en lo personal y académico.

A todos mis amigos de las generaciones 2011, 2012 y 2013 que por espacio no puedo mencionar en particular pero fueron un gran apoyo antes, durante y seguramente después de llevar a cabo el presente trabajo.

## Financiamiento

Se agradece el financiamiento del Programa de apoyo a proyectos de investigación e innovación tecnológica (PAPIIT) número IN218716 para la realización de esta tesis titulada “Estudio prospectivo de *Alloherpesvirus* encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *Anas* spp.”

## Contenido

Resumen.....	1
I. Introducción.....	2
II. Revisión sistemática.....	5
III. Análisis de la información	
IV.I. Ciénegas de Lerma y Unidades de Producción Acuícola (UPA).....	8
IV.II. Género <i>Cyprinivirus</i>	
IV.II.I. Enfermedades causadas por <i>Cyprinivirus</i> .....	13
IV.II.II. Genomas de <i>Cyprinivirus</i> .....	15
IV.II.III. Diagnóstico de <i>Cyprinivirus</i> .....	16
IV.III. Género <i>Ictalurivirus</i>	
IV.III.I. Enfermedades causadas por <i>Ictalurivirus</i> .....	21
IV.III.II. Genomas de <i>Ictalurivirus</i> .....	23
IV.III.III. Diagnóstico de <i>Ictalurivirus</i> .....	24
IV.IV. Género <i>Salmonivirus</i>	
IV.IV.I. Enfermedades causadas por <i>Salmonivirus</i> .....	30
IV.IV.II. Genomas de <i>Salmonivirus</i> .....	32
IV.IV.III. Diagnóstico de <i>Salmonivirus</i> .....	33
IV.V. Género <i>Batrachovirus</i>	
IV.V.I. Enfermedades causadas por <i>Batrachovirus</i> .....	39
IV.V.II. Genomas de <i>Batrachovirus</i> .....	41
IV.V.III. Diagnóstico de <i>Batrachovirus</i> .....	43
V. Conclusiones.....	44
VI. Referencias.....	45
VII. Figuras.....	55
VIII. Cuadros.....	56

## **I. Resumen**

En el invierno de 2016 se encontró material genético de Alloherpesvirus en contenido intestinal de patos migratorios del género *Anas* spp en el humedal de Atarasquillo, Toluca Estado de México. Debido a que SENASICA menciona en su “listado de enfermedades y plagas exóticas y endémicas de notificación obligatoria de los animales terrestres y acuáticos” tres especies que pertenecen a la familia Alloherpesviridae (*Ictalurid herpesvirus 1*, *Ranid herpesvirus 1* y Herpesvirus HV-1 ó *Cyprinid herpesvirus 1*) se llevó a cabo un estudio prospectivo de la familia *Alloherpesviridae* para analizar el tema en México y establecer las directrices de una línea de investigación con base a los hallazgos en los patos silvestres.

Consultando las páginas web correspondientes a los distintos Comités de Sanidad Acuícola en México se buscaron Unidades de Producción Acuícolas (UPAs) dedicadas a trabajar con huéspedes de Alloherpesvirus y ubicando los humedales prioritarios para conservación de aves acuáticas migratorias se encontró que el Lago de Chapala en Jalisco podría en teoría ser un lugar para iniciar una investigación epidemiológica y ecológica sobre Alloherpesvirus.

La revisión de bases de datos como NCBI, Scopus, Aquaculture Compendium, REDYLAC y artículos científicos publicados en revistas especializadas permitió coleccionar y analizar información sobre las diferentes enfermedades, genomas y métodos de diagnóstico correspondientes a las diferentes especies virales de la familia *Alloherpesviridae*.

Se propone a *Cyprinid herpesvirus 1* que infecta a las carpas (*Cyprinus carpio*) como el alloherpesvirus más probable de estar en las muestras de patos migratorios del género *Anas* spp.

## II. INTRODUCCIÓN

Los humedales son ambientes de transición entre el territorio acuático y terrestre, que participan de modo activo en ciclos hídricos al captar excedente de agua en la superficie y dependiendo su ubicación geográfica permiten la recarga de acuíferos al descargar agua al subsuelo para mantenimiento del manto freático o permanencia de fuentes de agua en época de escasez. Cuentan con biodiversidad propia y con ello sirven de ecosistema para gran diversidad de peces, crustáceos, moluscos y aves acuáticas como patos silvestres.<sup>1</sup>

Los patos silvestres pertenecen al orden *Anseriforme* y a la familia *Anatidae*. La mayoría de los patos silvestres que viven en agua dulce de estanques o lagos y se alimentan de la superficie de la columna de agua pertenecen al género *Anas* donde se incluyen varias especies de patos con diferentes tamaños como son las cercetas de 37-41 cm de altura y los patos propiamente dichos de 48-58 cm de altura.<sup>2</sup>

Se conoce que los patos silvestres son reservorio de diferentes tipos de virus, entre los más importantes se encuentran el virus de la enfermedad de Newcastle (especie *Avulavirus 1 aviar*, género *Avulavirus*, familia *Paramyxoviridae*, orden *Mononegavirales*) e influenza aviar (especie *Virus de influenza A*, género *Influenzavirus A*, familia *Orthomyxoviridae*), pero también algunos virus patógenos para los patos como la enteritis viral del pato (especie *Anatid alphaherpesvirus 1*, género *Mardivirus*, Subfamilia *Alphaherpesvirinae*, familia *Herpesviridae*).<sup>3</sup>

En los últimos años se han realizado estudios en patos silvestres migratorios pertenecientes al género *Anas* spp debido a que son reservorio natural del virus de influenza tipo A, el cual se encuentra con mayor frecuencia en época reproductiva, crianza de juveniles y el momento previo antes de la migración.<sup>4</sup>

Recientemente un estudio realizado en las Ciénegas de Lerma (Toluca, Estado de México), se detectó la presencia de material genético (ácidos nucleicos) de virus de la familia *Alloherpesviridae* (orden *Herpesviridae*) en muestras de contenido

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

intestinal tomadas en la parte distal del intestino de patos silvestres migratorios del género *Anas* spp.<sup>5</sup>

Se ha determinado que la familia *Alloherpesviridae* causa enfermedad a diversos tipos de peces y anfibios. Los virus de esta familia son envueltos, esféricos o pleomórficos, con un tamaño de 150-200 nm de diámetro. Su material genético es DNA lineal de doble cadena (dsDNA) y su tamaño es de 134 – 148 kb.<sup>6</sup>

Por otra parte, la familia *Alloherpesviridae* pertenece al orden de los *Herpesvirales* y está conformada por los siguientes géneros con sus respectivas especies:<sup>7</sup>

- *Batrachovirus*
  - *Ranid herpesvirus 1*
  - *Ranid herpesvirus 2*
- *Cyprinivirus*
  - *Anguillid herpesvirus 1*
  - *Cyprinid herpesvirus 1*
  - *Cyprinid herpesvirus 2*
  - *Cyprinid herpesvirus 3*
- *Ictalurivirus*
  - *Acipenserid herpesvirus 1*
  - *Ictalurid herpesvirus 1*
  - *Ictalurid herpesvirus 2*
- *Salmonivirus*
  - *Salmonid herpesvirus 1*
  - *Salmonid herpesvirus 2*
  - *Salmonid herpesvirus 3*

El listado de enfermedades y plagas exóticas y endémicas de notificación obligatoria de los animales terrestres y acuáticos, publicado en el Diario Oficial de la Federación el día 4 de mayo 2016, menciona a las especies *Ictalurid herpesvirus 1*, *Ranid herpesvirus 1* y *Herpesvirus HV-1* (*Cyprinid herpesvirus 1*) como virus de notificación inmediata obligatoria a las dependencias oficiales de

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

salud animal y sanidad acuícola del país, al pertenecer al grupo 1 compuesto por enfermedades y plagas que no se encuentran en el territorio nacional o que han sido erradicadas del país.<sup>8</sup>

La evidencia del material genético de *Alloherpesviridae* en las muestras de contenido intestinal provenientes de los patos silvestres migratorios del género *Anas* sugiere la evidencia de Alloherpesvirus en México.

La cantidad de especies que conforman la familia *Alloherpesviridae* que pueden estar presentes en el contenido intestinal de los patos hace necesario un estudio prospectivo de esta familia viral en México y en el mundo con datos existentes sobre patogenia, epidemiología y diagnóstico en ambientes acuáticos para determinar cuál es la especie más probable en los patos. Los resultados de este estudio permitirán orientar la investigación sobre la posible presencia de algunas especies pertenecientes a la familia *Alloherpesviridae* en otros lugares de México y las pruebas diagnósticas que se pueden ocupar o desarrollar.

### III. REVISIÓN SISTEMÁTICA

El presente trabajo tiene como propósito la búsqueda de información publicada proveniente de fuentes de información especializadas y sobre las especies de Alloherpesvirus, tales como;

- A) Organización Mundial de Sanidad Animal, OIE, donde se enlistan las enfermedades de los animales con mayor importancia a nivel mundial, por lo que se determinó la de relevancia para la acuicultura que tienen las enfermedades causadas por la familia *Alloherpesviridae*.
- B) Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, SENASICA, que es la dependencia gubernamental de nuestro país encargada de proteger los recursos agrícolas, acuícolas y pecuarios de plagas y enfermedades de importancia cuarentenaria y económica; a partir de ella se tomó referencia las enfermedades de los animales con mayor importancia para el territorio mexicano.
- C) Comité Internacional en Taxonomía Viral, ICTV por sus siglas en inglés, de donde se tomó referencia a cerca de la clasificación de la familia *Alloherpesviridae* con sus respectivos géneros y especies.
- D) Centro Nacional de Información sobre Biotecnología (NCBI por sus siglas en inglés) donde se tiene información sobre avances científicos y en salud. A partir de esta fuente se recopiló información internacional sobre los Alloherpesvirus, haciendo énfasis en el material genético de las distintas especies de virus y así mismo una metodología de identificación molecular.
- E) Scopus, Base de datos especializada en información científica, técnica, ciencias médicas y sociales, incluyendo las artes y las humanidades. A través de esta plataforma se recopiló información sobre casos de Alloherpesvirus.
- F) Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal, REDALYC, siendo un sistema de información científica se utilizó como fuente de información latinoamericana, en donde se podrá obtener información acerca de casos relacionados a las especies de Alloherpesvirus.
- G) Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad, CONABIO; en la cual se obtuvo información sobre las especies que usan el humedal de

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

las Ciénegas de Lerma como hábitat y la presencia de huéspedes para especies virales pertenecientes a la familia *Alloherpesviridae*.

- H) Comisión Nacional de Pesca y Acuicultura, CONAPESCA; proporcionó información sobre las especies de peces que se producen en México con lo que se pudo evaluar los huéspedes que no se encuentran en el país.
- I) Dirección General de Bibliotecas de la UNAM proporcionó información a partir de tesis, acervo general, suscripción a bases de datos (revistas científicas), hemeroteca y recursos electrónicos.
- J) Los sitios web de los Comités de Sanidad Acuícola de los diferentes estados de la República Mexicana proporcionó información sobre el padrón de Unidades Productoras Acuícolas.

La información se clasificó en cuadros por especie de virus, con énfasis en la localización geográfica del virus, huésped y método de identificación. Una vez realizada la búsqueda y la elaboración de cuadros se analizó la información para indicar cuáles son las especies virales reportadas en México y el mundo; así los siguientes puntos:

Lugares donde se han reportado las especies virales de la familia *Alloherpesviridae*.

Especies de huéspedes en las que se han reportado especies virales de la familia *Alloherpesviridae*.

Enfermedades que producen las especies virales de la familia *Alloherpesviridae* a sus respectivos huéspedes.

Genomas completos o parciales de la familia *Alloherpesviridae*

Técnicas empleadas en el diagnóstico de especies de la familia *Alloherpesviridae* en los lugares donde se han reportado.

Aunado a ello, se ubicaron las zonas geográficas donde se encontraron las especies de huéspedes para la familia *Alloherpesviridae* y se consultaron las páginas de internet de los distintos comités de sanidad acuícola correspondientes

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

a cada estado de la República Mexicana buscando Unidades de Producción Acuícola (UPAs). Las especies incluidas fueron: carpa en variedades koi y común (*Cyprinus carpio*), pez dorado (*Carassius auratus*), carpa prusiana (*Carassius gibelio*), anguila común (*Anguilla anguilla*), anguila japonesa (*Anguilla japonica*), bagre (*Ictalurus punctatus*), bagre azul (*Ictalurus furcatus*), esturión blanco (*Acipenser transmontanus*), esturión siberiano (*Acipenser baerii*), rana leopardo (*Lithibates pipiens*), salmón rojo (*Oncorhynchus nerka*), salmón masu (*Oncorhynchus masou*), salmón del pacífico (*Oncorhynchus kisutch*) y trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Posteriormente se elaboró un mapa indicando cada UPA así como los humedales prioritarios para la conservación de las aves acuáticas migratorias para obtener las distancias entre ellos.<sup>1</sup>

Finalmente, se utilizó el software “Google maps” para medir distancias en kilómetros lineales entre los tres cuerpos de agua que conforman las Ciénegas de Lerma (Almoloya del Río, Atarasquillo y Tultepec). Así mismo, los humedales prioritarios de conservación para aves silvestres migratorias y Unidades de Producción Acuícola (UPAs) que trabajan con huéspedes susceptibles a la familia *Alloherpesviridae*.

Este estudio es parte del proyecto PAPIIT IN218716 (2016-2018) del cual el Dr. Gary García Espinosa es responsable.

## IV. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

### IV.I. Ciénegas de Lerma y Unidades de Producción Acuícolas (UPA)

El humedal de Atarasquillo localizado en el Estado de México es un lugar que los patos silvestres migratorios del género *Anas* spp seleccionan como sitio de estancia durante la época invernal.<sup>9</sup> En el invierno de 2016 algunos de estos patos fueron evaluados en su diversidad viral y se obtuvo evidencia de ácidos nucleicos de Alloherpesvirus que son específicos para peces y un anfibio.<sup>5</sup> A través de consulta verbal con personas cercanas a los humedales, se menciona que en el humedal de Atarasquillo existen poblaciones de carpas, así como en los humedales de Tultepec y Almoloya del Río donde también hay presencia de patos silvestres migratorios que se localizan a 10 y 20 kilómetros lineales de distancia en relación al humedal de Atarasquillo, respectivamente (Google maps).

Una característica en los hábitos migratorios de los patos del género *Anas* spp es volar grandes distancias (miles de kilómetros) desde Canadá hasta México, como por ejemplo las cercetas.<sup>2</sup> En este estudio, la distancia de la interface humedal-UPA en México indica distancias cortas (<100 km) que las cercetas podrían cubrir, así mismo otros patos con menor distancia de vuelo. En el análisis particular con los cuerpos de agua que conforman las Ciénegas de Lerma, la distancia de aproximadamente 20 kilómetros se puede considerar cercana. Por lo tanto, el movimiento de patos en la región de humedales en el Estado de México, puede

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

considerarse teóricamente como un factor de riesgo a considerar, especialmente si existen UPAs a los alrededores de las Ciénegas de Lerma.

El presente modelo esquematiza la interacción espacial existente entre los componentes del ecosistema acuático como parte de la triada epidemiológica en el estudio realizado en las Ciénegas de Lerma, donde se ha mencionado la presencia de carpas en tres cuerpos de agua y en uno la presencia de ácidos nucleicos de Alloherpesvirus, sin evidencia científica de la enfermedad o el aislamiento del virus. Sin embargo, se puede suponer que con la presencia de los patos es posible el acarreo mecánico del patógeno a los cuerpos de agua donde se encuentra el huésped. Por lo que se deben realizar estudios que prueben la presencia del patógeno en los tres cuerpos de agua de las Ciénegas de Lerma (Figura 1).

En otros estudios también se han observado virus en especies que no son el huésped al que le causan enfermedad, como lo son estudios realizados por Ge y colaboradores <sup>10</sup> y Phan y colaboradores <sup>11</sup> sobre análisis metagenómico de virus en excremento de murciélagos insectívoros y la flora fecal de roedores salvajes, respectivamente. Ge y colaboradores encuentran una amplia variedad de especies virales en los murciélagos insectívoros: virus de insectos (*Aedes aegypti densovirus*, *Blattella germanica densovirus*, *Aedes aegypti Thai densovirus*, entre otros Densovirus, Dicistrovirus y Baculovirus), virus de vertebrados (*Canine parvovirus*, *Feline panleukopenia virus*, *Rat adeno-associated virus 1*, *Avian adeno-associated virus ATCC VR-865*, *Bat coronavirus HKU9-1*, *Caprine arthritis-encephalitis virus*, *Moloney murine leukemia virus*, entre otros Coronavirus,

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *Anas* spp.”**

Parvovirus y Retrovirus), plantas y virus de protozoarios (*Tobacco mosaic virus*, *Bamboo mosaic virus satellite RNA*, *Acanthamoeba polyphaga mimivirus*, entre otros) y fagos (*Enterobacter phage T4*, *Enterobacteria phage RB32*, *Enterobacteria phage T1*, *Pseudomonas phage 73*, *Enterobacter phage T3*, *Klebsiella phage K11*, entre otros).<sup>10</sup> Y por otra parte, Phan y colaboradores encuentran distintas familias de virus como: familias que afectan mamíferos (*Circoviridae*, *Parvovirinae*, *Papillomaviridae*, *Adenoviridae*, *Picobirnaviridae*, *Picornaviridae*, *Coronaviridae*, entre otras), familias que afectan plantas (*Geminiviridae*, *Nanoviridae*, *Mycovirus*, *Partitiviridae*, *Alphaflexviridae*, entre otras), familias que afectan insectos (*Nodaviridae*, *Dicistroviridae*, *Polydnaviridae*, *Baculoviridae*, entre otras) y otras familias (*Labyrnnaviridae*, *Phycodnaviridae* y *Mimiviridae*).<sup>11</sup>

Si bien los estudios anteriores se llevaron a cabo en mamíferos, la evidencia de virus en especies donde no causan enfermedad es extrapolable al estudio que se llevó a cabo con patos migratorios del género *Anas* spp, ya que los acarreadores mecánicos (patos, murciélagos y roedores) comparten su ambiente con las diferentes familia virales y sus respectivos huéspedes. La investigación de estudios sobre ecología de enfermedades ayuda a describir la dinámica que tienen algunos patógenos (en este caso virus) con otras especies distintas al huésped que muestra evidencia científica de la enfermedad.

De igual manera, se propone realizar estudios que investiguen otras maneras en las que pudo haber llegado el virus al cuerpo de agua de Atarasquillo, como son; la contaminación de dicho cuerpo de agua por productores acuícolas aledaños a

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

las ciénegas y el acarreo del virus mediante otras aves acuáticas distintas a los patos con hábitos alimenticios que incluyan la ingesta de peces (pudiendo ser peces de unidades de producción) que comparten los humedales como hábitat de las aves acuáticas.

En cuanto a la búsqueda de regiones geográficas donde se encuentren los huéspedes de Alloherpesvirus en el país la búsqueda resultó de la siguiente manera; no todos los Comités de Sanidad Acuícola tienen un padrón disponible en línea y únicamente se encontró información de UPAs dedicadas a producción o trabajos con carpas. No se encontró información sobre UPAs dedicadas a la producción de la demás especies huéspedes de Alloherpesviurs, así como tampoco dedicadas a ornato o silvestres (rana).

Las distancias lineales obtenidas entre los humedales prioritarios para conservación de las aves acuáticas migratorias, donde se incluyen las distintas especies de patos migratorios del género *Anas* spp en México y las Unidades de Producción Acuícola aledañas a estas zonas, permitieron identificar que la distancia más corta fue entre el Lago de Chapala localizado en el estado de Jalisco y el Centro Acuícola Tizapán del Alto con aproximadamente de 16.6 kilómetros lineales (Google maps). Mientras que la distancia más lejana corresponde entre el Lago de Chapala y Huascato (UPA) con 91.1 kilómetros lineales (Cuadro 1).

La zona de mayor cercanía entre humedales prioritarios para patos y UPAs en Jalisco se encuentra aledaña a una ruta migratoria que de modo natural vuelan los

**“Estudio prospectivo de alloverpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

patos (ruta del pacífico), siendo este un punto que puede representar zona de mayor riesgo.

En cuanto a la única especie huésped de Alloverpesvirus que no se produce en UPA (rana leopardo, *Lithobates pipiens*) se obtuvo información mediante comunicación personal vía correo electrónico con la bióloga Alicia Reséndiz, quien labora en el área de reptiles y anfibios de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Adicionalmente la bióloga envió la solicitud de información para el presente trabajo a la Dirección General de Análisis y Prioridades, quienes por medio del oficio DGAP/151/2017 respondieron vía correo electrónico con información del Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB) sobre *Lithobates pipiens*.

La información indica que la rana leopardo (*Lithobates pipiens*) tiene distribución en: Canadá y E.U.A. (Washington, Oregon, California, Arizona, New México, Nebraska, Ohio, Kentucky, Virginia, Maryland, Pennsylvania, New York).<sup>12</sup> Adicionalmente se reporta su presencia en Panamá.<sup>13</sup>

De acuerdo al SNIB el registro más actual que menciona la presencia de *Lithobates pipiens* en México fue en 1989 en Jalisco, en el municipio de Huejuquilla El Alto, en el Arroyo San José.<sup>14</sup>

Por otra parte, el “Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca” emitido por la Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (CONAPESCA) de 2013 informa sobre la producción de bagre en los estados de Aguascalientes, Coahuila, Chiapas, Chihuahua, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas. Mientras que la

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

producción de trucha se reporta en los estados de Campeche, Chiapas, Chihuahua, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Tamaulipas y Tlaxcala. No se reporta producción de esturión o anguila en ningún estado del país.<sup>15</sup>

Con el fin de poder realizar estudios más precisos sobre ecología de las enfermedades y epidemiología, se sugiere a las instituciones como CONAPESCA y SAGARPA realizar un censo que registre en la medida de lo posible la mayor cantidad de Unidades Productoras Acuícolas en el país y colocar esa información de manera transparente en su página de internet.

## **IV.II. Género *Cyprinivirus***

### **IV.II.I. Enfermedades causadas por *Cyprinivirus***

Los miembros virales del género *Cyprinivirus* afectan a peces de la familia *Cyprinidae*, con excepción del virus *Anguillid herpesvirus 1* que tiene como huésped a la *Anguilla anguilla* de la familia *Anguillidae*.

El virus *Cyprinid herpesvirus 1* afecta principalmente a *Cyprinus carpio* manifestándose de tres diferentes formas: 1) proliferación epidérmica crónica y benigna (también llamada viruela de la carpa), 2) septicemia aguda en carpas jóvenes y 3) infección latente. Se distribuye en Europa, Norte América (Estados Unidos) y países de Asia como: China, Japón, Israel y República de Corea. Aparece durante temperaturas bajas a moderadas desde finales del invierno hasta principios del verano y no es una enfermedad zoonótica.<sup>16</sup>

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

El virus *Cyprinid herpesvirus 2* causa la enfermedad conocida como necrosis hematopoyética que se presenta en *Carassius auratus* y *Carassius gibelio* causando alta mortalidad. La enfermedad se caracteriza por afectar tejido hematopoyético (riñón anterior y bazo) y epitelio branquial, pero algunos reportes inconsistentes menciona que afecta tejido intestinal, cutáneo y cardiaco.<sup>17,18</sup> La enfermedad se ha reportado en Norte América (Estados Unidos),<sup>19</sup> Europa (Reino Unido,<sup>20</sup> Italia<sup>21</sup> y Francia),<sup>22</sup> Taiwan<sup>23</sup> y Australia.<sup>24</sup>

El virus *Cyprinid herpesvirus 3* causa la enfermedad conocida como nefritis intersticial o necrosis de las branquias en *Cyprinus carpio* en dos variedades (koi y común) causando alta mortalidad y morbilidad. El virus se replica en branquias, intestino, intersticio, hígado, cerebro y riñón. La enfermedad ha sido enlistada como enfermedad de notificación por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) desde 2007.<sup>25</sup>

El virus *Anguillid herpesvirus 1* afecta a la *Anguilla anguilla* y *Anguilla japonica* provocando eritemas en piel y branquias; así como necrosis en piel, branquias e hígado con mortalidad de 1% y 6.8%.<sup>26</sup>

La información publicada hasta el momento menciona que cada uno de los cuatro virus del género *Cyprinivirus* afecta varios órganos y hasta ahora no se ha descrito de manera completa experimental o por caso clínico la patogenia de ninguna enfermedad, solamente se han observado y descrito lesiones en los diferentes órganos en cada caso clínico. El virus más estudiado hasta ahora ha sido el *Cyprinid herpesvirus 3* por causar alta mortalidad.

#### IV.II.II. Genomas de *Cyprinivirus*

Los genomas completos de referencia encontrados en el GenBank para *Cyprinid herpesvirus 3* fueron tres, mientras que para el resto de virus que conforman este género (*Cyprinid herpesvirus 1*, *Cyprinid herpesvirus 2* y *Anguillid herpesvirus 1*) solo se encontró un genoma de referencia para cada uno.

El año de secuenciación de los genomas se encuentra entre 2007 y 2012, sin embargo; el aislamiento de los virus fue años antes entre 1981 y 2003. Los años de aislamiento y secuenciación tienen al menos cuatro años de diferencia y en el caso de *Cyprinid herpesvirus 1* son más de 30 años. Estos años de diferencia representan un lapso donde se desconocen los cambios genéticos que han ocurrido e impide identificar los cambios evolutivos.

Japón tiene más publicaciones de secuencias de nucleótidos de Cyprinivirus en el GenBank, con una de *Cyprinid herpesvirus 1*, 2 y 3, mientras que dos secuencias de *Cyprinid herpesvirus 3* son de Estados Unidos e Israel, respectivamente. La secuencia de *Anguillid herpesvirus 1* corresponde a Holanda. Japón es el país que tiene más problemas sanitarios de *Cyprinid herpesvirus 1*, 2 y 3 al tener mayor número de publicaciones e incluso tiene el genoma más antiguo, ya que reportó un virus aislado en 1981. Por lo que Japón podría ser el origen del virus desde hace 30 años.

En el caso de los virus *Cyprinid herpesvirus 1* y 3 se aislaron de *Cyprinus carpio* en dos variedades (carpa común y koi), mientras que *Cyprinid herpesvirus 2* se

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

aisló en *Carassius auratus* y el virus *Anguillid herpesvirus 1* fue aislado de *Anguilla anguilla*.<sup>27-30</sup>

El tamaño de los genomas varía dependiendo la especie, siendo *Cyprinid herpesvirus 3* el más grande con 295.15 kb y *Anguillid herpesvirus 1* el más pequeño con 248.53 kb. Así mismo, el número de marcos de lectura abiertos probables (ORF por sus siglas en inglés) y proteínas probables varían dependiendo la especie viral, por ejemplo, para *Anguillid herpesvirus 1* se estiman 134 ORF y proteínas probables, mientras que para *Cyprinid herpesvirus 3* se estiman 163 ORF y proteínas probables.<sup>27-30</sup> La diferencia entre el tamaño de genomas, número de ORF probables y proteínas probables, tiene que ver con mutaciones naturales dentro de cada especie viral a lo largo del tiempo y su especificidad para replicarse y causar enfermedad en huéspedes diferentes. Las diferencias más grandes se encuentran al comparar *Anguillid herpesvirus 1* con otro miembro de este género, *Cyprinid herpesvirus 3*.

El porcentaje de guanina-citocina más alto es de *Cyprinid herpesvirus 3* con 59.2 y el más bajo es de *Cyprinid herpesvirus 1* con 51.3 por ciento (Cuadro 2).

Hasta la fecha la cantidad de genomas de referencia es escasa y limita estudios filogenéticos, validación de pruebas moleculares para el diagnóstico y estudios de patogenicidad.

#### **IV.II.III. Diagnóstico de *Cyprinivirus***

Para el género *Cyprinivirus* se revisaron 59 casos publicados en 14 artículos científicos, de los cuales 54 pertenecen a *Cyprinid herpesvirus 3*, seguido de

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

*Cyprinid herpesvirus 2* y *Anguillid herpesvirus 1* con dos casos cada uno y por último *Cyprinid herpesvirus 1* con solo un caso. El continente Asiático reporta la mayor cantidad de los casos con 40, seguido de Europa con 18 y por último América con 1, pero hay que resaltar que existen reportes de Irlanda (2007)<sup>31</sup> y Francia (2014)<sup>22</sup> cuyas carpas fueron importadas de Asia (Singapur en el caso de Irlanda). Solo dos de los casos revisados se reportaron en el siglo pasado, mientras que los 57 casos restantes fueron reportados entre los años 2001 a 2014. La evidencia con base a las publicaciones de casos del género *Cyprinivirus* sugiere que las especies que lo conforman podrían tener su origen en Asia, debido a que el 67.79 % de los casos revisados han sido reportados en ese continente, además de dos importaciones de Asia. Sin embargo es importante realizar estudios de filogenia para predecir el ancestro común.

Los órganos analizados para la detección de los virus *Cyprinid herpesvirus 1, 2 y 3* son variados, sin embargo en todos los casos se incluyeron branquias<sup>22,31-38</sup> y sólo en el caso reportado en Inglaterra se menciona que el virus obtenido de branquias produce efecto citopático *in vitro*.<sup>31</sup> Por el contrario, el resto de los casos no mencionan los resultados obtenidos por cada órgano o los órganos fueron mezclados antes de ser procesados en el laboratorio.<sup>22,31,33-38</sup> En los casos clínicos donde está involucrado *Anguillid herpesvirus 1*, la colecta fue la piel.<sup>39, 40</sup>

La colecta y homogenizado de muestras denota el desconocimiento de los órganos donde se replica el virus y hay mayor carga viral en los huéspedes. Esto tiene implicaciones directas en los resultados cuando se realiza el diagnóstico de

**“Estudio prospectivo de alloverpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

las enfermedades virales que comprenden este género, pudiéndose obtener resultados falsos negativos.

En cuanto a las cinco líneas celulares que se han ocupado para el aislamiento de *Cyprinid herpesvirus 1, 2 y 3* la línea celular de aletas koi (KF-1) es la más utilizada por ser evidente el efecto citopático (los autores no indicaron cálculo de titulación).<sup>22,31-38</sup> Para los virus *Anguillid herpesvirus 1* se han probado 13 líneas celulares: tres de ellas son de mamíferos (L-929 tejido adiposo de ratón, VERO riñón de mono verde africano y FL bazo de ratón) y no se observó efecto citopático; una línea de anfibios (A-6 línea celular *Xenopus laevis*) donde no se observa efecto citopático; y nueve de peces, donde solo se ha encontrado efecto citopático en seis líneas celulares.<sup>39,40</sup> Se ha mostrado que las líneas celulares EK-1 y EO-2 son susceptibles a la replicación viral y es donde se observa mejor el efecto citopático con un alto título viral aproximado entre  $10^8$ - $10^9$  TCID<sub>50</sub>/ml.<sup>40</sup> La disponibilidad de distintas líneas celulares susceptibles a la replicación del virus permitirá además del diagnóstico por aislamiento la titulación del virus para futuros estudios de patogenicidad.

En 58 de los 59 casos clínicos el diagnóstico se llevó a cabo mediante pruebas moleculares, donde destaca de manera importante el uso de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) que amplifica diferentes regiones del genoma.<sup>22,31-39</sup> Como parte complementaria a la PCR se utilizó la secuenciación completa o parcial del genoma y su posterior comparación con secuencias genómicas (laboratorio de referencia OIE en Weymouth, Gene Bank y Laboratorio de enfermedades veterinarias acuáticas en Gainesville,

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

Florida).<sup>31,33-35</sup> La prueba más utilizada para el diagnóstico de Cyprinivirus en peces es la PCR y la secuenciación completa o parcial del genoma debido a que ya existen genomas de referencia en las bases de datos del GenBank.

En cuatro casos clínicos se incluyó la microscopía electrónica como complemento al diagnóstico (Estados Unidos 2003, Israel 1998, Taiwan 2002 y Japón 1985)<sup>34,39,40</sup> y donde se observó la nucleocápside viral y en el caso particular de un caso clínico en Japón se observó cuerpos de inclusión intranucleares en la línea celular de EK-1.<sup>40</sup> En el caso de microscopía electrónica de *Anguillid herpesvirus 1*<sup>34</sup> se han descrito cuerpos de inclusión intranucleares que es una característica importante que no se ha reportado para otros Cyprinivirus, aunque esto es una característica común en el orden de los *Herpesvirales*<sup>7</sup> es necesario realizar estudios que incluyan microscopía electrónica para comprobar que este Cyprinivirus también presenta esta propiedad.

En cuatro casos se incluyeron infecciones experimentales de *Cyprinid herpesvirus 3* en carpas.<sup>34,37,38</sup> Un estudio en Estados Unidos mostró mortalidad de 100% a los 9 días post-inoculación intraperitoneal y 80% de mortalidad para carpas que fueron expuestas al virus en el agua del estanque,<sup>34</sup> Israel mostró 100% de mortalidad a los 13 días y 24 días, post-inoculación intraperitoneal y post-exposición de virus en el agua del estanque, respectivamente.<sup>34</sup> Polonia reporta infección con una titulación de virus en suspensión de  $4 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub>/ml<sup>38</sup> y Japón reporta mortalidad de 57% con titulación de  $10^{1.7}$  TCID<sub>50</sub>/ml en carpas expuestas al virus en el agua del estanque por una hora y 50% de mortalidad con titulación de  $10^{3.7}$  TCID<sub>50</sub>/pez en inoculación intraperitoneal.<sup>37</sup> Es necesario estandarizar el título

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

del virus y la vía de aplicación para la infección de las carpas, con el objetivo de tener mayor certeza en la morbilidad y mortalidad de cada cepa viral utilizada.

Sólo dos estudios realizaron pruebas con antisueros hacia *Cyprinid herpesvirus* (sin especificar la especie viral) en cultivos celulares de la línea KF-1 que mostraron efecto citopático, pero no se han reportado pruebas que utilicen anticuerpos monoclonales.<sup>34, 40</sup> Por otra parte, no se han descrito serotipos para ninguna especie perteneciente a este género.

El único caso que evidenció la presencia del virus *in situ* fue el caso de Taiwan en 2002, al usar la secuencia genómica P1 y P2 como sonda marcada con fluoresceína que fue incorporada a la muestra de tejido fijada previamente en la laminilla.<sup>40</sup>

En un estudio en Japón se comparó el efecto de neutralización cruzada de tres antisueros específicos para cada uno de los tres virus (*Anguillid herpesvirus 1*, *Cyprinid herpesvirus 1* y *Onchotynchus masou* virus) en cultivo celular. Los antisueros no mostraron neutralización cruzada en ningún caso, pero si al virus homólogo (Cuadro 3).<sup>40</sup>

El uso de las pruebas complementarias como microscopía electrónica, hibridación *in situ*, virus suero neutralización e infecciones experimentales otorgan información valiosa para argumentar la presencia de las diferentes especies virales, siempre y cuando los anticuerpos y sonda sean homólogos al virus que se quiere identificar de lo contrario se perderá la especificidad y se comprometería el resultado. Por otra parte, al no haber reporte de serotipos se desconoce el grado de virulencia de este género. Por lo tanto, es necesario realizar estudios de patogenicidad donde

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

se lleven a cabo infecciones experimentales para la descripción detallada y completa de la enfermedad, como son: vías de entrada al huésped, órganos principales de replicación viral, periodo de incubación, descripción de signos, descripción de lesiones macroscópicas e histológicas, vías de eliminación del virus, cantidad de virus excretado, porcentaje de morbilidad, porcentaje de mortalidad y sobrevivencia.

El género *Cyprinivirus* está conformado por cuatro especies de virus, pero solo *Cyprinid herpesvirus 3* está en la “Lista de Enfermedades de Notificación” de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), por lo que existe un documento que describe la enfermedad y los métodos de diagnóstico que se pueden usar para esta especie viral como son el aislamiento en las líneas celulares KF-1 o CCB y PCR con los iniciadores TK y Sph.<sup>41</sup>

### **IV.III. Género *Ictalurivirus***

#### **IV.III.I. Enfermedades causadas por *Ictalurivirus***

Dentro de los virus pertenecientes al género *Ictalurivirus* se encuentran los *Ictalurid herpesvirus 1* e *Ictalurid herpesvirus 2* que afectan algunos peces de la familia *Ictaluridae*, por otra parte el virus *Acipenserid herpesvirus 2* afecta a peces de la familia *Acipenseridae*.

Los huéspedes reportados hasta la fecha para *Ictalurid herpesvirus 1* e *Ictalurid herpesvirus 2* son *Ictalurus punctatus* e *Ictalurus furcatus*, indistintamente,<sup>42</sup> causando alta morbilidad y mortalidad. La enfermedad se caracteriza por presentar hemorragias en piel, aletas y músculos; en algunos casos se observa ascitis. La enfermedad se distribuye en países de América como Estados Unidos y

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

Honduras, en Europa se ha reportado en Rusia y el Reino Unido <sup>42</sup> y recientemente en Malasia.<sup>43</sup>

Por su parte, el virus *Acipenserid herpesvirus 2* tiene como huéspedes a *Acipenser transmontanus* y *Acipenser baerii*, causando un síndrome agudo necrótico en piel que predispone a infecciones secundarias por hongos, protozoarios y bacterias. La presentación con alta mortalidad se ha reportado en Estados Unidos <sup>44,45</sup> y Rusia. <sup>46,47</sup>

La especie *Ictalurid herpesvirus 1* es el virus más estudiado de los Ictalurivirus, debido a que se han detallado la vía de entrada del virus al huésped por medio de branquias, los signos y las lesiones anatómicas e histopatológicas en los trabajos de Plumb y colaboradores 1973 y 1974, <sup>48, 49</sup> además del estudio realizado por Nusbaum y colaboradores en 1987 donde encuentra grandes cantidades de virus en riñón en su parte posterior. <sup>50</sup> Todavía hacen falta estudios que describan la dosis mínima infectiva y concentraciones de excreción viral. En cuanto al *Ictalurid herpesvirus 2* se menciona que su comportamiento es similar al *Ictalurid herpesvirus 1* pero no cuenta con estudios específicos que hablen de su patogenia.

En contraste el virus *Acipenserid herpesvirus 2* tiene más de 10 años de haber sido descubierto en un caso en Rusia <sup>51</sup> y hasta ahora solo se han descrito lesiones anatómicas e histológicas. Por lo que es necesario realizar estudios de patología con este virus y poder tener información que ayude en aspectos de medicina preventiva y diagnóstico.

#### IV.III.II. Genomas de *Ictalurivirus*

El género *Ictalurivirus* está conformado por tres especies, <sup>7</sup> pero solamente se encuentra un genoma completo de referencia en el GenBank que pertenece a *Ictalurid herpesvirus 1* secuenciado en el año de 1992, <sup>52</sup> mientras que para *Acipenserid herpesvirus 2* se encontró un genoma parcial que fue aislado y secuenciado en 2008. <sup>42</sup>

La única secuenciación completa de referencia que pertenece a *Ictalurid herpesvirus 1* tiene fecha de secuenciación en el siglo pasado, con 25 años de tiempo en relación a la fecha del presente trabajo y con ello una brecha temporal donde se presentarán de modo normal cambios en la estructura genética del virus que pueden llegar a modificar regiones específicas del genoma. Por ello este dato es importante cuando se requiera tomar como referencia esta secuencia genómica.

En el caso de *Acipenserid herpesvirus 2* fue aislado en Estados Unidos a partir de un esturión blanco y, por otra parte, la publicación sobre el genoma *Ictalurid herpesvirus 1* no manifiesta lugar de origen ni huésped del cual fue aislado el virus, pero el autor hace referencia al bagre (*Ictalurus punctatus*) (Cuadro 4).

La cantidad de material genético conocido en la secuencia parcial de *Acipenserid herpesvirus 2* representa entre 20.32 y 44.69% con respecto a los genomas completos de virus pertenecientes a la familia *Alloherpesviridae*.

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

Por último, no se encontró genoma parcial o completo de *Ictalurid herpesvirus 2*, sin embargo existen secuencias de nucleótidos de algunos genes como la proteína asociada al tegumento, ADN polimerasa y terminasa.<sup>54</sup>

La información disponible sobre el genoma en este género viral es limitada, por lo que reduce la posibilidad de llevar a cabo estudios de filogenética, validación de pruebas moleculares para el diagnóstico y estudios de patogenicidad.

#### **IV.III.III. Diagnóstico de *Ictalurivirus***

Se revisaron 41 casos reportados de *Ictalurivirus* publicados en 10 artículos científicos, 36 casos de *Ictalurid herpesvirus 1*, cinco casos de *Acipenserid herpesvirus 2* y ningún caso de *Ictalurid herpesvirus 2* debido a que no se encontró un artículo científico en NCBI, Compendium aquaculture, Scopus, Journal of Aquatic Animal Health, Journal of Fish Disease, Virology, REDALYC y en la red de biblioteca de la Universidad Nacional Autónoma de México (incluyendo acervo general, suscripción a bases de datos y revistas científicas), sólo se obtuvo referencia de un boletín emitido por la Asociación Europea de Patólogos en Peces, 1996.<sup>55</sup> La falta de casos reportados para *Ictalurid herpesvirus 2* revela falta de diagnóstico preciso en acuicultura, ya que la falta de casos reportados podría significar omisión de brotes o un mal diagnóstico.

El continente americano reporta mayor número de casos con 37 (todos los casos en Estados Unidos a excepción de uno en México durante 2007 de *Ictalurid herpesvirus 1*),<sup>56</sup> tres de ellos de *Acipenserid herpesvirus 2* en Estado Unidos en 1980<sup>57</sup> y 1984.<sup>58, 59</sup> Europa reporta solo dos casos de *Acipenserid herpesvirus 2*

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

que se dieron en Rusia durante 2006<sup>46</sup> y 2017,<sup>47</sup> por último Asia reporta solo un caso en Malasia en 2010.<sup>43</sup> Solo 5 casos se han reportado en este siglo, mientras que 36 fueron reportados en los años comprendidos entre 1984 y 1992.

La región de Norte América, específicamente Estados Unidos, es donde se reporta el mayor número de casos documentados para el género *Ictalurivirus* con 36 de 41 revisados en este estudio. La información sugiere que el virus podría tener su origen en esta región de América, sin embargo se deben realizar estudios filogenéticos para confirmar esta hipótesis.

Dentro de los casos de *Ictalurid herpesvirus 1* es importante resaltar que se reportó un caso en México durante 2007 en Tamaulipas, ya que en ese momento SENASICA no tenía incorporadas enfermedades de organismos acuáticos a su lista de enfermedades de notificación obligatorio en el territorio de los Estados Unidos Mexicanos, esto ha cambiado con la actualización de esta lista en 2016 al colocar este virus en la lista número uno de reporte obligatorio inmediato de enfermedades exóticas. Con la presencia de este caso, el tiempo transcurrido desde su publicación y las condiciones de sanidad acuícola del país es posible que este no sea el único caso clínico en el territorio mexicano.

Los órganos reportados para detección de *Ictalurid herpesvirus 1* son en su totalidad órganos internos, siendo el riñón el órgano que se tomó como muestra en todos los casos.<sup>55-57,59</sup> Ningún caso reporta resultados por órgano, sin embargo solo el caso de Malasia procesó sus muestras homogenizándolas y a su vez fue el único caso reportado de *Ictalurid herpesvirus 1* en *Pangasius hypophthalmus*.<sup>43</sup>

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

En cuanto a los órganos analizados para detectar *Acipenserid herpesvirus 2* se colectan branquias en el 60% de los casos revisados. <sup>46, 47</sup>

En la colecta de muestras relacionadas con *Ictalurid herpesvirus 1* se observa que los estudios han delimitado la selección de órganos de manera eficiente, esto se observa claramente al comparar los casos reportados en el siglo pasado que eligieron gran parte de órganos internos del pez y, en cambio, el caso más reciente en Malasia <sup>45</sup> colectó únicamente riñón. Por otra parte, los casos que reportan *Acipenserid herpesvirus 2* no muestra este tipo de delimitación en cuanto al muestreo de órganos. Aún con el avance en *Ictalurid herpesvirus 1* se deben realizar estudios de patogenia donde se investigue el ó los órganos blancos, órganos para la replicación viral, principales vías de excreción viral y cantidades excretadas, al igual que en *Acipenserid herpesvirus 2*.

Dentro de la metodología aplicada en los casos revisados de *Ictalurid herpesvirus 1* todos los que incluyeron aislamiento en cultivo celular utilizaron la línea celular ovario de bagre (Channel Catfish Ovary, CCO por sus siglas en inglés), <sup>57-59</sup>, en el 66.6 % de los casos se obtuvo efecto citopático <sup>57,59</sup> y el otro 33% no se encontró la información disponible, lo que muestra una moderada eficiencia en la línea celular CCO para aislar *Ictalurid herpesvirus 1*, además 33.3% añadió linfocitos de la muestra sanguínea al cultivo celular <sup>57</sup> y con ello se puede considerar una variante en la metodología de aislamiento.

En cuanto a las líneas celulares ocupadas en el aislamiento de *Acipenserid herpesvirus 2* los respectivos casos ocuparon cuatro líneas: bazo de esturión blanco-2 (WSS-2, White Sturgeon Spleen-2), piel de esturión blanco-1 (WSSK-1,

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

White Sturgeon SKin-1), homogenizado de células de hígado/bazo/riñón de esturión siberiano-2 (SSO-2, Siberian Sturgeon Organs-2) y aleta de esturión siberiano-2 (SSF, Sturgeon Siberian Fin-2).<sup>44,46,47</sup> En todos los casos en que se llevó a cabo el aislamiento se obtuvo efecto citopático y solo en Estados Unidos en el año 1992 se especificó que en la línea celular WSSK-1 se observó efecto citopático.<sup>44</sup>

El uso de una sola línea celular para el aislamiento de *Ictalurid herpesvirus 1* muestra la estandarización en el procedimiento, ya que el 66% de los casos que ocuparon la línea celular ovarios de bagre (CCO) reportan obtener efecto citopático en sus aislamientos. En cambio el aislamiento en cultivo celular para *Acipenserid herpesvirus 2* muestra el uso de cinco líneas celulares que pueden ocuparse como primera elección y de esta manera tener más opciones.

Para el diagnóstico de *Ictalurivirus* los 41 casos reportan distintos métodos; 24 usaron pruebas serológicas, de los cuales 22 usaron suero de referencia<sup>57</sup> y 2 con suero tomado a partir de peces infectados experimentalmente,<sup>44</sup> 10 casos usaron la prueba de Southern blot con una sonda de 2800 pb (pares de bases),<sup>52</sup> cuatro usaron la prueba molecular de PCR con sus respectivos iniciadores,<sup>45,46,56,57</sup> un caso en Rusia en el 2006 diagnosticó mediante la replicación de la enfermedad<sup>45</sup> y en dos casos no se tuvo disponible la información (Tabla 5).<sup>58</sup>

El diagnóstico para los *Ictalurid herpesvirus 2* incluyó prueba molecular de PCR y debido a la existencia de un genoma completo de referencia en el GenBank (29/04/2017 última fecha de revisión) la técnica molecular puede hacerse más

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

precisa. Respecto a las pruebas serológicas el uso de antisuero de referencia brinda otra prueba como opción para el diagnóstico.

De igual manera las pruebas para *Acipenserid herpesvirus 2* incluyeron prueba de PCR y se tiene un genoma de referencia parcial en el GenBank (29/04/2017 última fecha de revisión).

Para los casos que reportaron *Ictalurid herpesvirus 1* no se informa sobre el uso de otra herramienta para complementar el diagnóstico como microscopía electrónica, solamente un estudio que compara los virus aislados de Italia en 1996 y Estados Unidos en 1980,<sup>58</sup> en el cual se realizó infección experimental. En dicho estudio se demostró diferencia patológica entre ellos mediante la comparación en la producción de efecto citopático en diferentes líneas celulares de peces (cyprinidas, ictalúricas y centrarchida), tamaño genómico, cantidad y tamaño de proteínas y mortalidad acumulada en peces infectados experimentalmente.<sup>58</sup>

En contraste con los casos de *Ictalurid herpesvirus 1* los estudios de casos de *Acipenserid herpesvirus 2* llevaron a cabo pruebas complementarias para su diagnóstico, como; infecciones experimentales en los casos de Estados Unidos (1992),<sup>45</sup> y Rusia (2006)<sup>47</sup> (2017)<sup>46</sup> y microscopía electrónica, en la cual se evidencia presencia de partículas virales en células de piel de esturión (WSSK-1)<sup>45</sup> y aleta de esturión siberiano (SSF-2),<sup>47</sup> respectivamente.

El caso de *Acipenserid herpesvirus 2* en Estados Unidos (1992) estudió la patogenicidad de dos virus de la misma región, WSHV-1 (White Sturgeon Herpesvirus 1) y WSHV-2 (White Sturgeon Herpesvirus 2). Se comparó el crecimiento en cultivo celular y se observaron diferencias, WSHV-1 creció mejor

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

en células de piel y WSHV-2 tuvo predilección de crecimiento en células de gónada al observarse concentraciones de 9.2 TCID<sub>50</sub>/célula<sup>-1</sup> en WSSK-1 (Piel de esturión blanco) y 98.8 TCID<sub>50</sub>/célula<sup>-1</sup> en WSGO (Gonada de esturión blanco). Las líneas celulares de peces que se han probado son: CCO (Ovario de bagre), CHSE-214 (células embrionarias de salmón Chinook), RTG-2(Gónada de trucha arcoíris), EPC (Epitelioma Papuloso Cyprinido), FHM (Fathead Minnow), WSS-2 (Piel de esturión blanco), WSS-2 (Bazo de esturión blanco), WSLV (Hígado de esturión blanco) y WASGO (Gónada de esturión blanco), demostrando efecto citopático en líneas celulares de esturión (WSS-2, WSSK-1, WSLV y WSGO). Se comparó la actividad neutralizante del suero entre los dos virus y se reportó que el suero anti-WSHV2 no tuvo efecto neutralizante sobre WSHV-1 en títulos que fueron de 10<sup>22</sup> a 10<sup>2.6</sup>, incluso en diluciones de virus de 1:20 (los autores mencionan esta dilución de virus con nomenclatura diferente). Sus resultados exponen de manera clara una diferencia en la patogenicidad de WSHV-1 y WSHV-2. <sup>45</sup>

En el caso de Rusia ocurrido en el 2017, además de realizar diagnóstico con pruebas moleculares desarrollaron un suero de referencia para *Acipenserid herpesvirus 2* a partir de la infección experimental de Esturión blanco.<sup>39</sup> Por otra parte, el caso de Rusia en 2006 replicó la enfermedad como parte de su metodología de diagnóstico que incluyó la caracterización del virus mediante microscopía electrónica y su ensayo de infección experimental. <sup>47</sup>

En cuanto a las infecciones experimentales, el caso de Estados Unidos en 1995 demuestra de manera precisa concentraciones de anticuerpos en diferentes

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

grupos experimentales, este trabajo sirve como punto de partida para estandarizar pruebas serológicas y desarrollo de vacunas.

Las demás, pruebas como el uso de diferentes líneas celulares de diferentes huéspedes, infecciones experimentales y suero neutralización aportan información valiosa para que posteriormente se pueda estandarizar alguna de ellas.

#### **IV.IV. Género *Salmonivirus***

##### **IV.IV.I. Enfermedades causadas por *Salmonivirus***

Los virus que conforman este género: *Salmonid herpesvirus 1*, *Salmonid herpesvirus 2* y *Salmonid herpesvirus 3* tienen como huéspedes a peces de la familia *Salmonidae*.

El virus *Salmonid herpesvirus 1* fue aislado por primera vez a partir de fluido ovárico de hembras de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en 1986 en California, Estados Unidos, en ninguna trucha se encontró evidencia de enfermedad.<sup>60</sup> Hasta ahora no se ha realizado un estudio donde se pruebe la patogenicidad de este virus.

En cuanto al *Salmonid herpesvirus 2* (también conocido como virus de *Oncorhynchus masu*) la OIE lo menciona en su Manual de Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos como “Herpesvirosis del salmón masou” que afecta a salmónidos como son: salmón rojo (*Oncorhynchus nerka*), salmón masu (*Oncorhynchus masou*), salmón keta (*Oncorhynchus keta*), salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) y la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).<sup>61</sup> La enfermedad se manifiesta en temperatura ambiental por debajo de los 15 °C de

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

manera sistémica y a menudo es letal en juveniles.<sup>62</sup> La replicación del virus en células endoteliales de los capilares sanguíneos, tejidos hematopoyéticos y hepatocitos causan edema y hemorragias. Los peces sobrevivientes presentan epitelomas principalmente alrededor de la boca y en menor grado la aleta caudal, el opérculo y la superficie del cuerpo. Los peces infectados quedan como portadores de por vida y eliminan el virus a través del excremento, orina y probablemente en productos sexuales y moco de la piel. Por otra parte, el riñón, bazo, hígado y los epitelomas son los lugares donde el virus es más abundante durante el curso de una infección manifiesta. Hasta ahora la enfermedad ha sido reportada únicamente en Japón.<sup>61</sup>

Por otra parte, *Salmonid herpesvirus 3* ha sido observado en salmón del atlántico (*Salmo salar*) asociándose a papilomatosis del salmón del atlántico. Hasta el año del 2013 solo ha sido observada la proliferación de células epidermales usando microscopía electrónica.<sup>63</sup> No se ha conseguido hacer el aislamiento en cultivo celular.

Recientemente un estudio filogenético de Glenney y colaboradores (2016) identificó en muestras tomadas a partir de la trucha del lago (*Salvelinus namaycush*) en Pensylvania y New York (Estados Unidos), un nuevo genotipo de salmonivirus (llamado por sus autores Herpesvirus Namaycush, *Salmonid herpesvirus 5*) comparando las secuencia de ADN polimerasa, terminasa y glicoproteína con *Salmonid herpesvirus 3*.<sup>57</sup> Por su parte el ICTV en su clasificación taxonómica del 2016 solo tiene reconocidas tres especies en el

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

género *Salmonivirus*,<sup>7</sup> no obstante este estudio podría significar el descubrimiento de una nueva especie de *Salmonivirus*.

Hasta ahora sólo la herpesvirosis del salmón masou causada por *Salmonid herpesvirus 2* ha sido descrita de manera detallada en comparación con la papilomatosis causada por *Salmonid herpesvirus 3* y el *Salmonid herpesvirus 1* (a la fecha no hay evidencia científica que indique enfermedad). Por una parte, el *Salmonid herpesvirus 3* no ha sido estudiado en relación a su patogenicidad debido a que no se ha podido aislar en cultivo celular, mientras que *Salmonid herpesvirus 1* no ha sido objeto de estudio probablemente por ser apatógeno o de muy baja virulencia.

#### **IV.IV.II. Genomas de *Salmonivirus***

La búsqueda realizada en el GenBank a través de la plataforma del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI por sus siglas en inglés) no mostró secuenciaciones completas o parciales de los virus pertenecientes al género *Salmonivirus* (*Salmonid herpesvirus 1*, *Salmonid herpesvirus 2* y *Salmonid herpesvirus 3*). Aunque sí se encontraron secuencias de nucleótidos de algunos genes de cada especie viral.

Para el *Salmonid herpesvirus 1* las secuencias de nucleótidos en el GenBank son: ADN polimerasa, dUTPasa, ORF 48 y terminasa.<sup>65</sup> En cuanto al *Salmonid herpesvirus 2* son: ADN polimerasa, ORF 68, ORF 61, ORF 32, ORF 46 y terminasa.<sup>66</sup> Por último las secuencias de genes para *Salmonid herpesvirus 3* son: terminasa, una glicoproteína y ADN polimerasa (Cuadro 6).<sup>67</sup>

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

El género *Salmonivirus* ha sido estudiado poco en cuanto a su material genético y únicamente se han llevado a cabo estudios donde se comparan las ADN polimerasas, terminasa y ORF 68 con los demás géneros de la familia *Alloherpesvirus* en estudios filogenéticos.<sup>68, 69</sup>

#### **IV.IV.III. Diagnóstico de *Salmonivirus***

El análisis de casos reportados para el género *Salmonivirus* incluyó 11 publicaciones científicas; dos de *Salmonid herpesvirus 1*, seis referidas a *Salmonid herpesvirus 2* y tres de *Salmonid herpesvirus 3*. Estados Unidos reporta todos los casos de *Salmonid herpesvirus 1*, mientras que Japón los correspondientes a *Salmonid herpesvirus 2*, por otra parte Rusia (2011)<sup>70</sup> reporta un caso de *Salmonid herpesvirus 3* y Estados Unidos dos (1986)<sup>71</sup> (1989).<sup>72</sup> Ocho de los once casos ocurrieron durante el siglo pasado (1975-1990) y tres durante este siglo (2000-2011).

Con base a las publicaciones científicas que reportan casos del género *Salmonivirus* se muestra que Estados Unidos y Japón concentran la mayor parte de los casos con 36.3% y 54.5% respectivamente. Esta información aporta las dos posibles regiones donde se originó este género viral, sin embargo es necesario realizar estudios filogenéticos que prueben dicha hipótesis.

Los casos que reportaron *Salmonid herpesvirus 1* tomaron muestras de fluidos ováricos,<sup>60, 73</sup> mientras que para *Salmonid herpesvirus 2* las muestras fueron hígado, fluidos ováricos, piel (en un caso se especificó la neoplasia de piel) y riñón siendo éste el más frecuente apareciendo en el 50% de los reportes;<sup>74-77</sup> y por último, de las muestras para detectar *Salmonid herpesvirus 3* la piel fue el órgano

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

que se tomó en todos los casos, además de cerebro, hígado, bazo, riñón, píloro caeca, estómago, intestino y branquias de cada pez que se homogenizaron y trabajaron como una sola muestra.<sup>70-72</sup>

Para la elección de órganos a muestrear en cada especie de *Salmonivirus*, es evidente que los reportes de cada especie informan un órgano tomado constantemente; para el caso de *Salmonid herpesvirus 1* son fluidos ováricos, *Salmonid herpesvirus 2* es el riñón y *Salmonid herpesvirus 3* es la piel (preferentemente neoplasias alrededor de la boca). Es importante considerar que solo *Salmonid herpesvirus 2* cuenta con estudios patológicos, sin embargo; esta información no pudo ser analizada ya que las publicaciones se encuentran en idioma japonés,<sup>79, 80</sup> y posiblemente aporten información valiosa sobre los principales órganos que afecta el Alloherpesvirus,<sup>79, 80</sup> adicionalmente la OIE en su Manual de Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos de 2016 menciona que la colecta de órganos debe ser principalmente riñón.<sup>61</sup> Por otra parte, *Salmonid herpesvirus 1* muestra poca evidencia de ser patógeno<sup>60, 73</sup> y *Salmonid herpesvirus 3* requiere más estudios sobre patología pero es importante considerar que su aislamiento en cultivo celular no se ha conseguido exitosamente y esto dificulta los estudios.

Dentro del procedimiento empleado en 10 de los 11 casos se incluyó el aislamiento viral en cultivo celular, todos usaron la línea celular RTG-2 (gónada de trucha arcoíris) en donde se reportó efecto citopático para los casos de *Salmonid herpesvirus 1* y *Salmonid herpesvirus 2*.<sup>72-78</sup> La titulación de virus en RTG-2 que se reportó en los años 70's y principios de los 80's para *Salmonid herpesvirus 1*

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

fue de  $3 \times 10^5$  UFP/ml,<sup>73</sup> para *Salmonid herpesvirus 2* de  $10^{4.5}$  TCID<sub>50</sub>/ml,<sup>74</sup>  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml<sup>75</sup> y  $10^{4.8}$  TCID<sub>50</sub>/ml.<sup>77</sup> Esto indica que los virus con titulaciones más bajas de  $10^{4.5}$  TCID<sub>50</sub>/ml están más adaptados a causar infección en línea celular RTG-2.

Las demás líneas celulares que se reportaron fueron: RTF-1 (línea celular de salmón sin caracterizar), CHSE-214 (embrión de salmón chinoco), FHM (línea celular Fathead Minnow), EPC (epitelio papuloso de cyrpinido) y McMCooy (fibroblastos de *Mus musculus*)<sup>60, 71, 76-78</sup> sin embargo; solo en el caso de Japón en 1981 de *Salmonid herpesvirus 2* reportó observar efecto citopático en la línea celular CHSE-214 con titulación  $10^{5.6}$  TCID<sub>50</sub>/ml<sup>76</sup> el resto de los casos no reportan efecto citopático.<sup>71-73, 77</sup> Por otra parte, los casos de *Salmonid herpesvirus 3* no lograron hacer el aislamiento en cultivo celular.<sup>70-72</sup>

Así como en la colecta de muestras se reporta de manera frecuente los órganos colectados, de igual manera es evidente la línea celular donde se pueden aislar *Salmonid herpesvirus 1* y *Salmonid herpesvirus 2*, debido al 72. 7% de casos que usaron RTG-2 para aislar los herpesvirus con 100% de éxito al conseguir efecto citopático. Aunado a ello, la cantidad de salmonivirus reportados en la misma línea celular fueron similares entre cada estudio realizado.<sup>60, 72-78</sup>

Con base a los reportes de *Salmonid herpesvirus 1* en 1975<sup>73</sup> y 1985,<sup>60</sup> *Salmonid herpesvirus 2* en 1976<sup>74</sup> y 1978<sup>75</sup> y *Salmonid herpesvirus 3* en 1986<sup>71</sup> y 1989<sup>72</sup> el método de diagnóstico se llevó a cabo mediante la caracterización del virus. Por otro lado, la técnica de suero neutralización fue empleada para el diagnóstico de *Salmonid herpesvirus 2* en los casos comprendidos entre 1990 y 2001.<sup>76-78</sup> En

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

cuanto al método de diagnóstico empleado solo el caso de Rusia en 2011 de *Salmonid herpesvirus 3* se reporta como prueba diagnóstica la prueba de PCR con los iniciadores ADN polimerasa y terminasa (Cuadro 7).<sup>70</sup>

El método de diagnóstico empleado para *Salmonid herpesvirus 1*,<sup>60, 73</sup> *Salmonid herpesvirus 2* en 1976<sup>74</sup> y 1978<sup>75</sup> y *Salmonid herpesvirus 3* en 1986<sup>71</sup> y 1989<sup>72</sup> que consistió en caracterizar al virus, se reporta de manera constante este método ya que en todos ellos se llevaba a cabo por primera vez el estudio que identificase a un herpesvirus como agente causal de mortalidades y neoplasias en salmónidos. Los casos de *Salmonid herpesvirus 2* ubicados en fechas a partir de 1990 usaron sueros de referencia (no se menciona si los anticuerpos empleados son monoclonales o policlonales)<sup>76-78</sup> y la OIE en su Manual de Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos de 2016 incluye esta prueba como opción para el diagnóstico (no se menciona si los anticuerpos son monoclonales o policlonales), además la OIE incluye pruebas de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés) con anticuerpos monoclonales, inmunofluorescencia indirecta y PCR con iniciadores directo (F10) 5'-GTA-CCG-AAA-CTC-CCG-AGT-C-3', el inverso (R5) 5'-AAC-TTG-AAC-TAC-TCC-GGG-G-3'.

61

Con respecto al diagnóstico de *Salmonid herpesvirus 3* la prueba de PCR ofrece una alternativa para su detección frente a un brote de la enfermedad debido a que esta prueba ofrece ser altamente específica usando la secuencia de nucleótidos correspondiente al ADN polimerasa, sin embargo es necesario validar un

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

procedimiento que estandarice los iniciadores específicos correspondientes a esta especie de salmonivirus.

Una herramienta para complementar el diagnóstico que fue usada en todos los reportes (excepto el caso de Rusia) se trató de la microscopía electrónica, en donde cada caso reporta la descripción de partículas virales en diferentes estados de replicación viral con características físicas de un herpesviral como capsómeros y virus envueltos.<sup>60, 71-78</sup> Únicamente el caso de Japón para *Salmonid herpesvirus 2* en 1981 reporta observar cuerpos de inclusión intranucleares en su cultivo celular RTG-2.<sup>77</sup> Los cuerpos de inclusión intranucleares encontrados en el caso de *Salmonid herpesvirus 2* podrían indicar una característica en la patología del Alloherpesvirus así como se presenta de manera general en el orden de los *Herpesvirales*,<sup>7</sup> aunque es necesario realizar estudios que incluyan microscopía electrónica y de esa manera comprobar que este salmonivirus también presenta esta característica.

En cuatro casos se incluyeron infecciones experimentales de *Salmonid herpesvirus 2*.<sup>75-78</sup> Kimura y colaboradores (1981) llevaron a cabo infección experimental de *Oncorhynchus keta* en grupos de juveniles (80 días de edad) y adultos (150 días de edad) que fueron expuestos al virus en el agua del estanque a una concentración de 100 TCID<sub>50</sub>/ml, donde observaron una mortalidad de 60% a los 65 días post-exposición en juveniles y 35% de mortalidad a los 120 días post-exposición en adultos.<sup>75</sup> Kumagai y colaboradores (1994) usaron peces juveniles de *Oncorhynchus kitsuch*, inocularon 10<sup>3.4</sup>TCID<sub>50</sub>/pez por vía intraperitoneal obteniendo 90% de mortalidad a los 22 días post-inoculación y expusieron los

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

peces al virus en el agua de estanque a una concentración de  $10^{1.6}$ TCID<sub>50</sub>/ml observando 60% de mortalidad a los 60 días post-inoculación.<sup>76</sup> Por su parte, Sano y colaboradores (1983) inocularon peces *Oncorhynchus keta* por vía intraperitoneal a dosis de  $10^2$ TCID<sub>50</sub>/pez y  $10^8$ TCID<sub>50</sub>/pez, donde obtuvieron 30% y 60% de mortalidad a los 30 días post-inoculación, respectivamente.<sup>77</sup> Por último, Furihata y colaboradores (2005) inocularon por vía intraperitoneal juveniles (menores de un año de edad) a *Oncorhynchus mykiss* con  $10^2$ TICD<sub>50</sub>/pez y  $10^8$ TICD<sub>50</sub>/pez, reportando a los 30 días post-inoculación 30% y 65% de mortalidad respectivamente.<sup>78</sup>

Las infecciones experimentales que se llevaron a cabo de *Salmonid herpesvirus 2* muestran los distintos huéspedes a los que puede infectar, además de causar en peces juveniles de *Oncorhynchus keta*, *Oncorhynchus kitsuch* y *Oncorhynchus mykiss* alta mortalidad y letalidad cuando se inocula por vía peritoneal en comparación con la exposición de virus en el agua de estanque, esto demuestra los primeros estudios de patogenicidad sobre el salmonivirus, sin embargo; es necesario realizar más trabajos que estudien la concentración de virus excretada.

Por su parte, los reportes de *Salmonid herpesvirus 3* que llevaron a cabo infección experimental fueron dos.<sup>71, 72</sup> McAllister y colaboradores (1989) expusieron a *Salvelinus namaychus*, *Salmo trutta*, *Oncorhynchus mykiss* y *Salmo salar* a *Salvelinus namaychus* infectados que ocasionaron 100% mortalidad a los 15 días post-inoculación únicamente en *Salvelinus namaychus*, aunado a ello expusieron los peces mencionados anteriormente a un filtrado del homogenizado de piel que ocasionó 100% de mortalidad en 9 días post-inoculación solamente en *Salvelinus*

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

*namaychus*.<sup>71</sup> Por último, Badley y colaboradores (1989) expusieron juveniles de *Salvelinus namaychus* a filtrado del homogenizado de los órganos colectados; el grupo expuesto al homogenizado filtrado a 450nm obtuvo 100% de mortalidad a los 39 días post-inoculación y el grupo expuesto al homogenizado filtrado a 450nm y posteriormente filtrado a 220nm no reportó mortalidad, de la misma manera expusieron cinco especies de salmones (*Oncorhynchus mykiss*, *Salvelinus fortinalis*, *Salmo trutta*, *Salmo salar* y *Oncorhynchus tshawtcha*) a *Salvelinus namaychus* enfermos, sin embargo; no se reportó mortalidad a causa de enfermedad. <sup>72</sup> Las infecciones experimentales de *Salmonid herpesvirus 3* demostraron su especificidad al infectar únicamente a *Salvelinus namaychus*, lo que representa su adaptación al huésped.

#### **IV.V. Género *Batrachovirus***

##### **IV.V.I. Enfermedades causadas por *Batrachovirus***

Dentro de los Alloherpesvirus el género *Batrachovirus* incluye a los virus *Ranid herpesvirus 1* y *Ranid herpesvirus 2* que tienen como huésped específicamente a la rana leopardo (*Lithobates pipiens*).

Con base a los estudios de Lucké en 1934 el virus *Ranid herpesvirus 1* es el agente causal del adenocarcinoma renal o tumor de Lucké en la rana leopardo.<sup>81</sup>

En 1972 MacKinnell y colaboradores demostraron el aumento en la replicación viral por medio de baja temperatura del ambiente donde vive la rana <sup>82</sup> y en 1949 Lucké y Schlumberger comprobaron el crecimiento de la neoplasia cuando se eleva a altas temperaturas el ambiente.<sup>83</sup>

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

Por otro lado, el virus *Ranid herpesvirus 2* se ha aislado a partir del adenocarcinoma renal <sup>84</sup> sin embargo Granoff y colaboradores en 1969 probaron que el virus no tiene actividad oncogénica.<sup>85</sup>

Hasta ahora el estudio del adenocarcinoma renal en la rana leopardo (*Lithobates pipiens*) se ha descrito de manera breve. En la revisión de artículos científicos en algunos no se tuvo el acceso al artículo completo y únicamente se obtuvo el resumen en donde se menciona la identificación de partículas virales por medio de microscopía electrónica,<sup>81-85</sup> por otra parte en el artículo donde se pudo evaluar la metodología empleada se encontró de igual manera identificación por medio de microscopía electrónica,<sup>86</sup> sin embargo; en ningún estudio se lleva a cabo identificación molecular, serológica o histopatológica y se identifica al virus por sus características físicas que corresponden a un herpesvirus. Por lo tanto, el efecto oncogénico del *Ranid herpesvirus 1* podría ser un resultado atribuido a otros factores y no al virus.

Para poder conocer los efectos patológicos de *Ranid herpesvirus 1* es necesario llevar a cabo identificación molecular y posteriormente aislarlo. Para aislarlo sería necesario lograr un cultivo primario de diferentes tipos celulares de la rana leopardo o bien reproducir la enfermedad en la rana misma para evaluar si existe efecto oncogénico.

Por otra parte, el virus *Ranid herpesviru 2* hasta ahora solo ha sido estudiado en sus características físicas <sup>87</sup> y no se ha realizado un estudio donde se compruebe algún efecto patológico.

#### IV.V.II. Genomas de *Batrachovirus*

Con base a la búsqueda realizada en el Genbank, se encontraron dos genomas de referencia completos secuenciados para el género *Batrachovirus* correspondiendo cada una a los virus *Ranid herpesvirus 1* y *Ranid herpesvirus 2* en 2006. <sup>88</sup>

En el caso de *Ranid herpesvirus 1* se llevó a cabo la extracción viral a partir de una rana leopardo con neoplasias, posteriormente se realizó la digestión de proteínas usando dedocil sulfato de sodio y se aisló con fenol y cloroformo. Se reconstruyó el material genético usando la técnica de Cunningham y Davison en 1993. <sup>89</sup> El ADN viral se digirió parcialmente usando enzimas *Bam*HI o *Sau*3AI, ligado a un vector con *Xba*I defosforilado y digerido con *Bam*HI. El ADN fue introducido a un bacteriófago “i” y transferido dentro de *Escherichia coli*. Posteriormente se extrajo el material genético viral, el cual se incubó con endonucleasa de restricción un gel de agarosa al que se le realizó una electroforesis. <sup>90</sup> A partir de éste materia genético se llevó a cabo la secuenciación del genoma. <sup>88</sup>

Por otra parte, el virus *Ranid herpesvirus 2* fue comprado en ATCC (VR-568) y a partir del virus comercial se realizó la secuenciación del genoma completo. <sup>88</sup>

Los genomas tienen un tamaño de 220.86 kb para *Ranid herpesvirus 1* y 231.80 kb para *Ranid herpesvirus 2*. Así mismo, los ORF probables (132) y proteínas probables (132) fue menor en el caso de *Ranid herpesvirus 1* en comparación con *Ranid herpesvirus 2* con ORF y proteínas probables 147 y 147 respectivamente.

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

En cuanto al porcentaje de GC se estimó 54.6% para *Ranid herpesvirus 1* y 52.8% para *Ranid herpesvirus 2* (Cuadro 8).<sup>88</sup>

Las características correspondientes al tamaño del genoma, ORF y proteínas probables existen diferencias marcadas en la cantidad de *Ranid herpesvirus 1* con respecto al *Ranid herpesvirus 2*. Estas diferencias tienen origen en el proceso evolutivo que han llevado a cabo los dos virus, aunque los dos se asocien en los adenocarcinomas renales de ranas leopardo. También existe la posibilidad que estos cambios marcados se deban a la diferencia de años entre los virus, por un lado *Ranid herpesvirus 1* fue “aislado” en 1993 y *Ranid herpesvirus 2* fue estandarizado para comercializarse en la investigación durante los años sesentas. Para confirmar cualquiera de las dos hipótesis es necesario realizar más estudios que incluyan más secuenciaciones que sirvan para realizar estudios filogenéticos.

Los dos genomas de referencia en el GenBank resultan insuficientes para realizar estudios de diagnóstico molecular, filogenéticos y patogenicidad. Además, el tiempo transcurrido entre la fecha de “aislamiento” y la de secuenciación de nucleótidos para *Ranid herpesvirus 1* es de aproximadamente 25 años, mientras que para el *Ranid herpesvirus 2* desde los años 60’s tiene más de 50 años, por lo que para ambos virus las cepas actuales es probable que tengan muchas mutaciones.<sup>91,92</sup> Por lo tanto, es necesario realizar más secuenciaciones a partir de virus actuales de *Ranid herpesvirus 1* y *Ranid herpesvirus 2* para poder realizar estudios de diagnóstico molecular, filogenéticos y patogenia.

#### **IV.V.III. Diagnóstico de *Batrachovirus***

Luego de realizar la búsqueda de los casos reportados de *Ranid herpesvirus 1* y *Ranid herpesvirus 2* no se encontró ningún artículo científico donde se reporte un caso de adenocarcinoma renal en rana leopardo (*Lithobates pipiens*). La búsqueda se realizó en NCBI, Scops, Compendium aquaculture, Journal of Aquatic Animal Health, Journal Of Fish Disease, Virology, REDALYC y en la red de biblioteca de la Universidad Nacional Autónoma de México (incluyendo acervo general, suscripción a bases de datos y revistas científicas).

La ausencia de casos reportados sobre el adenocarcinoma renal en rana leopardo por *Ranid herpesvirus 1* podría explicarse al considerar que la rana leopardo es un anfibio de vida libre y no es una especie de ornato o productiva, por lo que la ausencia de casos reportados no implicaría la ausencia de neoplasias en poblaciones de ranas silvestres.

## V. Conclusiones

La información analizada sobre el humedal de Atarasquillo en Toluca (Estado de México) y estudios realizados por Ge y colaboradores y Phan y colaboradores muestran que teóricamente los patos silvestres del género *Anas* spp podrían acarrear material genético de alloherpesvirus a los humedales de Tultepec y Almoloya del Río, sin embargo; es necesario realizar un estudio que compruebe esta hipótesis. Así mismo, se sugiere realizar un estudio donde se busque la presencia de Alloherpesvirus en el Lago de Chapala, Jalisco, ya que en ese humedal existe la interface entre patos silvestres del género *Anas* spp y un huésped potencial como *Cyprinus carpio* que se produce en ese cuerpo de agua.

Con base a la distribución a nivel mundial de los huéspedes documentados para especies de Alloherpesvirus se propone que el material genético de *Cyprinid herpesvirus 1* y *Cyprinid herpesvirus 3* serían los más probables de estar presentes en las muestras de contenido intestinal de patos silvestres de género *Anas* spp tomadas en el invierno del 2016. Aunque no se descarta la posibilidad de que exista material genético de *Ictalurid herpesvirus 1*.

Por otra parte, se propone la búsqueda de *Cyprinid herpesvirus 1* y *Cyprinid herpesvirus 3* en las carpas (*Cyprinus carpio*) de las Ciénegas de Lerma y con base a la información analizada se sugiere coleccionar branquias y riñón como muestras principales, llevar a cabo aislamiento en cultivo celular con aletas de koi (KF-1) o células de cerebro de carpa común (CCB) y realizar prueba de PCR usando los iniciadores KHV-TK, KHV BamHI-6 o KHV SphI-5.

## VI. Referencias

- 1 SEMARNAT, Inventario Nacional de Humedales, Documento Estratégico Reactor, México, 2008.
- 2 National Geographic Society. Field guide to the birds of North America. 4<sup>th</sup>. Washington DC. USA. 2002.
- 3 Thomas NJ, Hunter DB, Atkinson CT. Infectious Diseases of Wild Birds. Blackwell Publishing; 2007.
- 4 Cuevas D. E., Gonzáles GS, Quintana LJ, Loza RE, González RC, García EG. Detección de orthomyxovirus H7N3 en anátidos del Estado de México. REDVET. 2009.10.
- 5 García EG. Diversidad viral del pato silvestre [Comunicación directa con el responsable del proyecto PAPIIT]. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves. 2017.
- 6 MacLachlan JN, Edward JD. Fenner's Veterinary Virology, 4th. ed. Elsevier; 2011. 180-181 p.
- 7 ICTV. International Committee on Taxonomy of Viruses. London UK; 2015 [citado 18 octubre 2016]. Disponible en: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>
- 8 Diario Oficial de la Federación. Acuerdo mediante el cual se dan a conocer en los Estados Unidos Mexicanos las enfermedades y plagas exóticas y endémicas de notificación obligatorias de los animales terrestres y acuáticos. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 4 mayo 2016.
- 9 Carrera E., de la Fuente G., Inventario y Clasificación de humedales en México, Parte 1. Ducks Unlimited de México, A.C. México. 239 pp.
- 10 Ge X., Li Y., Yang., Zhang., Zhou P., Zhang Y., Shi Z., Analysis of Viruses from Bat Fecal Samples Reveals Many Novel Viruses in Insectivorous Bat in China. Journal of Virology. 2012 abril ; 86 (8): 4620-4630.
- 11 Phan T.G., Kapusinszky B., Wang C., Rose R.K., Lipton H.L. Delwart E.L., The Fecal Flora of Wild Rodents. Plos Pathogens. 2011; 7(9):1-21.

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

- 12 Comunicación personal vía correo electrónico con la bióloga Alicia Reséndiz de CONABIO.
- 13 The IUCN Red List of Threatened Species. *Lithobates pipiens* [Internet]. IUCN; 30 abril 2004 [Citado 12 junio 2017]. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org/details/58695/0>
- 14 Ramírez Bautista, A. y M. del C. Arizmendi Arriaga. Sistemática e historia natural de algunos anfibios y reptiles de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Base de datos SNIB-CONABIO proyecto No. W013. México, D.F. 2002.
- 15 SAGARPA. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca 2013 de la Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. CONAPESCA. México. 2013.
- 16 Acuaqulture Compendium. Cyprinid herpesvirus 1 infection [Internet]. CABI; 23 marzo 2011[Citado 20 marzo 2017]. Disponible en: <http://www.cabi.org/pbidi.unam.mx:8080/ac/datasheet/86264>
- 17 Giovannini S., Bergmann S.M., Keeling C., Lany C, Schütze H., Schmidt-Posthaus H., Herpesviral Hematopoietic Necrosis in Goldfish in Switzerland: Early Lesions in Clinically Normal Goldfish (*Carassius auratus*). *Veterinary Pathology*. 2016; 53 (4): 847-852.
- 18 Wang L., He J.G., Liang L., Zheng X., Jia P., Shi X.J., Lan W., Xie J., Liu H. & Xu P., Mass mortality caused by cyprinid herpesvirus 2 (CyHV-2) in Prussian carp (*Carassius gibelio*) in China. *Bulletin of the European Association for Fish Pathologists*.2012; 32,:164–173.
- 19 Goodwin A.E., Khoo L., LaPatra S.E., Bonar C., Key D.W., Garner M., Lee M.V., Hanson L., Goldfish hematopoietic necrosis herpesvirus (Cyprinid herpesvirus 2) in the USA: Molecular confirmation of isolates from diseased fish. *J Aquat Anim Health*. 2006;18:11–18.
- 20 Philbey A.W., Herpesvirus haematopoietic necrosis in a goldfish (*Carassius auratus*) in the UK. *Vet Rec*. 2006;158:800–801.
- 21 Fichi G, Cardeti G, Cocumelli C, et al. Detection of *Cyprinid herpesvirus 2* in association with an *Aeromonas sobria* infection of *Carassius carassius*(L.) in Italy. *J Fish Dis*. 2013;36(10):823–830.

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

- 22 Boitard P.M., Baud M., Labrut S., de Boissésion C., Bigarré L. First detection of *Cyprinid Herpesvirus 2* (CyHV-2) in goldfish (*Carassius auratus*) in France. *Journal of Fish Diseases*. 2016; 39: 673-680.
- 23 Chang P, Lee S, Chiang H, et al. Epizootic of Herpes-like virus infection in goldfish, *Carassius auratus* in Taiwan. *Fish Pathol*. 1999;34:209–210.
- 24 Stephens F. J., Raidal S. R., Jones B. Haematopoietic necrosis in a goldfish (*Carassius auratus*) associated with an agent morphologically similar to herpesvirus. *Aust Vet J*. 2004;82:167–169.
- 25 Gotesman M. Kattlun J. Bergmann S. M. El-Matbouli M. CyHV-3: the third cyprinid herpesvirus. *Disease of aquatic organisms*. 2013 julio 22; 105: 163-174.
- 26 Haenen O.L.M., Dijkstra S.G., van Tulden P.W., Davise A., van Nieuwstadt A.P., Wagenaar F., Wellenberg G.J. Herpesvirus anguillae (HVA) isolations form disease outbreaks in cultured European eel, *Anguilla anguilla* in The Netherlands since 1996. *Fish Pathol*. 2002;22(4): 247-257.
- 27 Davison A.J., Kurobe T., Gatherer D., Cunningham C., Korf I., Fukuda H., Hedrick R. P., Waltzek T. B. Cyprinid herpesvirus 1 RefSeq Genome [Internet]. Bethesda (EU): National Center for Biotechnology Information USD and National Library of Medicine; 2013 marzo [citado 2016 diciembre 1]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=cyprinid+herpesvirus+1>
- 28 Davison A.J., Kurobe T., Gatherer D., Cunningham C., Korf I., Fukuda H., Hedrick R. P., Waltzek T. B. Cyprinid herpesvirus 2 RefSeq Genome [Internet]. Bethesda (EU): National Center for Biotechnology Information USD and National Library of Medicine; 2013 marzo [citado 2016 diciembre 1]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=cyprinid+herpesvirus+2>
- 29 Akoi T., Hirono I., Kurokawa K., Fukuda H., Nahary R., Elder A., Davison A. J., Waltzek T.B., Bercovier H., Hedrick R.P., Cyprinid herpesvirus 3 RefSeq Genome [internet]. Bethesda (EU): National Center for Biotechnology Information USD and National Library of Medicine; 2005 mayo [citado 2016

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

- diciembre 1]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=cyprinid+herpesvirus+3>
- 30 van Beurden S., Gatherer D., Kerr K., Galbraith J., Herzyk P., Peeters B.P.H., Rottier P.J.M., Engelsma M.Y., Davion A.J., Anguillid herpesvirus 1 RefSeq Genoma [Internet]. Bethesda (EU): National Center for Biotechnology Information USD and National Library of Medicine; 2012 septiembre [citado 2016 diciembre 1]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=anguillid+herpesvirus+1>
- 31 Jung-Schroers V., Adamek M., Teitge F., Hellmann J., Bergmann S. M., Schütze H., Kleingeld D.W., Way K., Stone D., Runge M., Keller B., Hesami S., Waltzek T., Steinhagen D., A, Another potencial carp killer?: Carp Edema Virus disease in Germany. BMC Veterinary Research. 2015; 11: 114.
- 32 Jeffery K.R., Bateman K., Bayley A., Feist S.W., Hulland J., Longshaw C., Stone D., Woolford G., Way K., Isolation of a cyprinid herpesvirus 2 from goldfish, *Casassius auratus* (L.), in the UK. Journal of Fish Diseases. 2007; 30: 649-656.
- 33 Akoi T., Hirano I., Kurokawa K., Fukuda H., Nahary R., Elder A., Davison A. J., Waltzek T.B., Bercovier H., Hedrick R.P., Genome Sequences of Three Koi Herpesvirus Isolates Representing the Expanding Distribution of an Emerging Diease Threatening Koi and Common Carp Worldwide. Journal of Virology. 2007 mayo; 81: 5058-5065.
- 34 Hendrick R.P., Gilad O., Yun S., Spangenberg J.V., Marty G.D., Nordhausen R.W., Kebus M.J., Bercovier H., Eldar A., A Herpesvirus Associated with Mass Mortality of Juvenil and Adult Koi, a Strain of Common Carp. Journal of Aquatic Animal Health. 2000: 12; 44-57.
- 35 McCleary S., Ruane N.M., Cheslett D., Hickey C., Rodger H.D., Geoghegan F., Henshilwood K., Detection of koi herpesvirus (KHV) on koi carp (*Cyprinus carpio* K L.) imported into Ireland.
- 36 Bondad-Reantaso M.G., Sunarto A., Subasinghe R.P., Managing the Koi Herpesvirus Diseases Outbreak in Indonesia and the Lessons Learned.

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

Basel (Indonesia): The OIE Global Conference on Aquatic Animal Health; 2007. 129, 21-28.

- 37 Sano M., Ito T., Kurita J., Yanai T., Watanabe N., Miwa S., Iida T., First Detection of Koi herpesvirus in Cultured Common Carp *Cyprinus carpio* in Japan. *Fish Pathology*. 2004; 39: 165-167.
- 38 Antychowicz J., Reichert M., Matras., Bergmann S.M., Haenen O., Epidemiology, pathogenecity and molecular biology of koi herpesvirus isolated in Poland. *Bull Vet Inst Pulawy*. 2005; 49: 367-373.
- 39 Chang P.C., Pan Y.H., Wu C.M., Kuo S.T., Chung H.Y., Isolation and molecular characterization of herpesvirus from cultured European eels *Anguilla anguilla* in Taiwan. *Dis Aquat Org*. 2002 July 8; 50: 111-118.
- 40 Sano M., Fukuda H., Sano T., Isolation and characterization of a new herpesvirus from eel. *Department of Aquatic Biosciences*. 1990; 108: 15-31.
- 41 OIE World Organisation for Animal Health [Internet]. *Manual acuático de la OIE*. 2012 [citado 2017 marzo 20]. Disponible en: [http://www.oie.int/esp/normes/fmanual/2.3.06\\_KHVD.pdf](http://www.oie.int/esp/normes/fmanual/2.3.06_KHVD.pdf)
- 42 *Aquaculture Compendium*. Channel catfish virus disease[Internet]. CABI; 15 de mayo 2008. [Citado 30 mayo 2017]. Disponible en: <http://www.cabi.org/pbidi.unam.mx:8080/ac/datasheet/89027>
- 43 Siti Z. A., Zamri S. M., Firdaus N. M., Hazreen N. M., Nur N. M., Detection of channel catfish virus in cage-cultured *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878) in Malaysia. *Journal of Fish Diseases*. 2014; 37: 981-983.
- 44 Watson L. R., Yun S. C., Groff J. M., Hedrick R. P. Characteristic and pathogenecity of a novel herpesvirus isolated from adult and subadult White sturgeon *Acipenser transmontanus*. *Diseases of Aquatic Organisms*. 1995; 22: 199-210.
- 45 Doszpoly A., Kovács E. R., Bovo G., LaPatra S. E., Harrach B., Benkô M. Molecular confirmation of a new herpesvirus from catfish (*Ameiurus melas*) by testing the performance of a new novel PCR method, designed to target the DNA polymerase gene of alloherpesvirus. *Arch Virol*. 2008; 153: 2123-2127.

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

- 46 Schelkunov I. S., Schelkunova T. I., Schelkunov A. I., Kolbassova Y. P., Didenko L. V., Bykosky A. P. First detection of a viral agent causing disease in farmed sturgeon in Russian. *Diseases Of Aquatic Organisms*. 2009; 86; 193-203.
- 47 Doszpoly A., Kalabekov I., Breyta R., Shchelkunov I. S. Isolation and characterization of an atypical siberian esturgeon herpesvirus strain in Russia: novel North American *Acipenserid herpesvirus 2* strain in Europe?. *Journal of Fish Diseases*. 2017.
- 48 Plumb, J.A. Effects of temperature on mortality of fingerling channel catfish (*ictalurus punctatus*) experimentally infected with channel catfish virus. *J. Fish. Res. Board Can.* 1973, 30, 568–570.
- 49 Plumb, J.A.; Gaines, J.L.; Mora, E.C.; Bradley, G.G. Histopathology and electron microscopy of channel catfish virus in infected channel catfish, *ictalurus punctatus*(*rafinesque*). *J. Fish. Biol.* 1974, 6, 661–664.
- 50 Nusbaum, K.E.; Grizzle, J.M. Uptake of channel catfish virus from water by channel catfish and bluegills. *Am. J. Vet. Res.* 1987, 48, 375–377.
- 51 Shchelkunov A.I. & Prokaeva I.B. (2009) Production of hyperimmune antisera to the Siberian turgeon herpesvirus. *Urgent Issues of Infectious Pathology in Veterinary Medicine. Proceedings of the young researcher’s conference.* VNIIVViM, Pokrov, Russia, pp. 127–130. (In Russian).
- 52 Davison A. J. Channel Catfish Virus: A New Type of Herpesvirus. *Virology*. 1992; 186: 9-14.
- 53 Doszpoly A., Kovács Endre R., Bovo G., LaPatra S. E., Harrach B., Benkô M. Molecular confirmation of a new herpesvirus from catfish (*Ameiurus melas*) by testing the performance of a novel PCR method, designed to target the DNA polymerase gene of alloherpesvirus. *Arch Virol.* 2008; 153: 2123 – 2127.
- 54 NCBI. Nacional Center for Biotechnology Information. Estados Unido; 2017 [citado 17 mayo 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/?term=ictalurid+herpesvirus+2>

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

- 55 Alborali L., Bovo G., Lavazza A., Cappellaro H., Guadagnini P.F. Isolation of a Herpesvirus in breeding catfish (*Ictalurus melas*). Bulletin of the European Association of Fish Pathologists. 1996: 16; 134-137.
- 56 Sánchez M. J., Aguirre G. G., de la Cruz H. I., Martínez B. J., Pérez C. R., Rábago C. J., Vázquez S. M. First detection of channel catfish virus associated with mortality of cultured catfish (*Ictalurus punctatus*, Rafinesque) in Mexico. Aquaculture Research. 2007: 38; 1428-1431.
- 57 Bowser P. R., Munson A. D., Jarboe H.H., Francis F.R., Wasterstrat P. R. Isolation of channel catfish virus from channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), broodstock. Journal of Fish Diseases. 1985: 8; 557-561.
- 58 Hedrick R. P., McDowell T. S., Gilard O., Adkison M., Bovo G. Systemic herpes-like virus in catfish *Ictalurus melas* (Italy) differs from Ictalurid herpesvirus 1 (North America). Diseases Of Aquatic Organisms. 2003: 55; 85-92.
- 59 Wise J. A., Bowser P. R., Boyle J. A. Detection of channel catfish virus in asymptomatic adult channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). Journal of Fish Diseases. 1985: 8; 485-493.
- 60 Hendrick R. P., MacDowell T., Eaton W. D., Chan L., Wingfield W. *Herpesvirus salmonis*. First occurrence in anadromous salmonids. Bull. Fish. Path. 1986: 6; 66-68.
- 61 OIE. Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos (2016), Capítulo 2.3.11 Herpesvirosis del salmón masou [Internet]. OIE; 16 agosto 2016 [Citado 16 junio 2017]. Disponible en: [http://www.oie.int/index.php?id=2439&L=2&htmfile=chapitre\\_oncorhynchus\\_masou\\_vd.htm](http://www.oie.int/index.php?id=2439&L=2&htmfile=chapitre_oncorhynchus_masou_vd.htm)
- 62 Kimura T., Yoshimizu M., Takana M., Sannohe H. Studies on a New Virus (OMV) from *Oncorhynchus masou*- I. Characteristics and Pathogenicity. Fish Pathology. 1981: 15; 143-147.
- 63 Schelkunov I. S., Karaseva T. A., Kadoshnikov Y. U. Atlantic salmon papillomatosis: visualization of herpesvirus-like particles in skin growths of affected fish. Bull. Eur. Assoc. Fish. Pathol. 1992: 12; 28-31.

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

- 64 Glenney G. W., Barbash P. A., Coll. J. A. Initial Detection and Molecular Characterization of Namaycush Herpesvirus (Salmonid Herpesvirus 5) in Lake Trout. *Journal Aquatic Animal Health*. 2016: 28; 46-55.
- 65 NCBI. Nacional Center for Biotechnology Information. Estados Unidos; 2017 [citado 19 junio 2017]. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/?term=salmonid+herpesvirus+1>
- 66 NCBI. Nacional Center for Biotechnology Information. Estados Unidos; 2017 [citado 19 de junio 2017]. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/?term=salmonid+herpesvirus+2>
- 67 NCBI. Nacional Center for Biotechnology Information. Estados Unidos; 2017 [citado 19 de junio 2017]. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/?term=salmonid+herpesvirus+3>
- 68 Davison A. J. The Genome of Salmonid Herpesvirus 1. *Journal of Virology*. 1998: 72; 1974-1982.
- 69 Waltzek T. B., Kelley G. O., Alfaro M. E., Kurobe T., Davison A. J., Hedrick P. R. Phylogenetic relationship in the family *Alloherpesviridae*. *Diseases of Aquatic Organism*. 2009: 84; 179-194.
- 70 Doszpoly A., Karaseva T. A., Waltzek T. B., Kalabekov I. M., Shchelkunov I. S. Atlantic salmon papillomatosis in Russia and molecular characterization of the associated herpesvirus. *Diseases of Aquatic Oorganisms*. 2013: 107; 121-127.
- 71 Bradley T. M., Medina D. J., Chang P. W., MacClain J. Epizootic Epitheliotropic Disease of lake trout (*Salvelinus namaycush*): history and viral etiology. *Diseases of Aquatic Organisms*. 1989: 7; 195-201.
- 72 McAllister P. E., Herman R. L., Epizootic mortality on hatchery-reared lake trout *Salvelinus namaychus* caused by a putative virus possibly of the herpesvirus group. *Diseases of Aquatic Organisms*. 1989: 6; 113-119.
- 73 Wolf K., Darlington R. W., Taylor G. W., Quimby M. C., Nagabayashi T. *Herpesvirus salmonis*: Characterization of a New Pathigen of Rainbow Trout. *Journal of Virology*. 1978: 27; 659-666.
- 74 Sano T. Viral Diseases of Cultured Fishes in Japan. *Fish Pathology*. 1976: 10; 221-226.

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

- 75 Kimura T., Yoshimizu M., Tanaka M., Sannohe H. Studies on a Ney Virus (OMV) from *Oncorhynchus masou*-I. Characteristics and Pathogenicity. Fish Pathology. 1981: 15; 143-147.
- 76 Kumagai A., Takahashi K., Fukuda H. Epizootics Caused by Salmonid Herpesvirus Type 2 Infection in Maricultured Coho Salmon. Fish Pathology. 1994: 29; 127-134.
- 77 Sano T., Fukuda H., Okamoto N., Kaneko F. Yamame Tumor Virus: Lethality and Oncogenicity. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 1983: 48; 1159-1163.
- 78 Furihata M., Suzuki K., Hosoe A., Miyazaki T. Histopathological Study on *Oncorhynchus masou* Virus Disease (OMVD) of Cultured Rainbow Trout in Natural Outbreaks and Artificial Infection. Fish Pathology. 2005: 40; 161-167.
- 79 Kimura T., Yoshimizu M., Tanaka M. Susceptibility of Different Fry Stage of Representative Salmonid Species to *Oncorhynchus masou* virus (OMV). Fish Pathology. 1983: 17; 251-258.
- 80 Hasobe M., Sano T. Studies on Cytopathology, Morphology and Pathogenicity of a Nerka Herpesvirus NeVTA. Nippon Suisan Gakkaishi. 1989: 55; 1197-1201.
- 81 Lucké B. A neoplastic disease of the kidney of the frog, *Rana pipiens*. Am J Cancer. 1934: 20; 352-379.
- 82 MacKinnell R. G., Ellis V. L., Dapkus D. C., Steven L. M. Early replication of herpesvirus in naturally occurring frog tumors. Cancer. 1972: 32; 1729-1733.
- 83 Lucké B., Schlumberger H. Inducción of metástasis of frog carcinoma by increase of environmental temperature. J Exp Med. 1949: 89; 269-278.
- 84 Rafferty K. A., Spontaneous kidney tumor in the frog: rate of occurrence in isolated adults. Science. 1963: 141; 720-721.
- 85 Granoff A., Gravell M., Darlington R. W., Studies on the viral etiology of the renal adenocarcinoma of *Rana pipiens* (Lucké tumor). In *Biology of Amphibian Tumors (Recent Results in Cancer Research Special Supplement)*, p. 279-298.

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

- 86 Szilágyi J. F., Cunningha C. Identification and characterization of a novel non-infectious herpes simplex virus-related particle. *Journal of General Virology*. 1991: 72; 661-668.
- 87 Neagele R. F., Granoff A., Drlington R. W. The presence of the Lucké Herpesvirus Genome in Induced Tadpole Tumors and Its Oncogenicity: Kock-Henle Postulates Fulfilled. *Proc. Nat. Acad. Sci*. 1974: 71; 830-834.
- 88 Davison. A. J., Cunningham C., Sauerbier W., McKinnell R. G. Genome sequences of two frog herpesviruses. *Journal of General Virology*. 2006: 87; 3509-3514.
- 89 Cunningham C., Davison A. J. A cosmid-based system for constructing mutants of herpes simplex virus type 1. *Virology*. 1993: 197; 116-124.
- 90 Davison J. A., Sauerbier W., Dolan A. Addison C. McKinnell R. G. Genomic studies of the Lucké tumor herpesvirus (RaHV-1). *J Cancer Res Clin Oncol*. 1999: 125; 232-238.
- 91 Rafferty K. A. The cultivation of inclusión-associated viruses from Lucké tumor frogs. *Ann N.Y. Acad. Sci*. 1965: 126; 3-21.
- 92 Gravell M., Granoff A., Darlington R. W. Viruses and renal carcinoma of *Rana pipiens*. VII. Propagation of a herpes-type frog virus. *Virology*. 1968: 36; 467-475.

## VII. Figuras

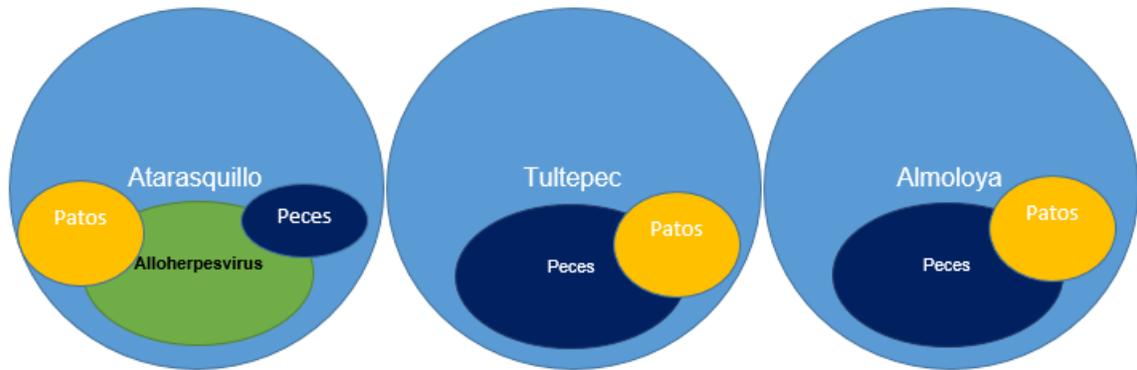


Figura 1. Modelo teórico de la ecología de Alloherpesvirus en las Ciénegas de Lerma (Atarasquillo, Tultepec y Almoloya del Río).

**“Estudio prospectivo de alloverpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

## VIII. Cuadros

Cuadro 1. Distancias en kilómetros lineales entre Humedales prioritarios para conservación de aves acuáticas migratorias y Unidades de Producción Acuícola en Jalisco.

#Interface	Humedal prioritario	Unidad Productora Acuícola	Especie	Distancia (Km)
1	Lago de Chapala, Jalisco	Centro Acuícola Tizapán del Alto	Carpa	16.6
2	Laguna Sayula, Jalisco	Acuícola el Madroño	Carpa	24.6
3	Laguna Sayula, Jalisco	Acuícola Sayula	Carpa	30.3
4	Lago de Chapala, Jalisco	Centro de Estudios Tecnológicos en Aguas Continentales	Carpa	31.1
5	Lago de Chapala, Jalisco	JAL-VER	Carpa	36.4
6	Lago de Chapala, Jalisco	Acuícola Los Emigrados	Carpa	38.1
7	Lago de Chapala, Jalisco	Estero de Becerra	Carpa	47.8
8	Laguna Sayula, Jalisco	Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera Basilio Badillo	Carpa	71.4
9	Lago de Chapala, Jalisco	Huascato	Carpa	91.1

Distancias obtenidas con software Google Maps.

Cuadro 2. Genomas secuenciados de *Cyprinivirus*.

Especie viral	Huésped	Genoma	Tamaño genoma	% GC	ORF probables	País (muestra)	Año aislamiento	Año secuenciación
<i>Cyprinid herpesvirus 1</i>	<i>Cyprinus carpio</i>	Completo <sup>a</sup>	291.14 kb	51.3	143	Japón	1981	2012 <sup>27</sup>
<i>Cyprinid herpesvirus 2</i>	<i>Carassius auratus</i>	Completo <sup>b</sup>	290.3 kb	51.7	154	Japón	ND	2012 <sup>28</sup>
<i>Cyprinid herpesvirus 3</i>	<i>Cyprinus carpio</i>	Completo <sup>c</sup>	295.15 kb	59.2	163	Japón	ND	2007 <sup>29</sup>
<i>Cyprinid herpesvirus 3</i>	<i>Cyprinus carpio</i>	Completo <sup>c</sup>	295.15 kb	59.2	163	Estados Unidos	2003	2007 <sup>29</sup>
<i>Cyprinid herpesvirus 3</i>	<i>Cyprinus carpio</i>	Completo <sup>c</sup>	295.15 kb	59.2	163	Israel	1998	2007 <sup>29</sup>
<i>Anguillid herpesvirus 1</i>	<i>Anguilla anguilla</i>	Completo <sup>d</sup>	248.53 kb	53	134	Holanda	1998	2010 <sup>30</sup>

**% GC:** Porcentaje de Guanina-Citocina **ORF:** Open Reading Frame (marco de lectura abierto)

**kb:** kilobases **ND:** No determinado

Código de referencia RefSeq: <sup>a</sup> NC\_019491.1 <sup>b</sup> NC\_019495.1 <sup>c</sup> NC\_009127.1 <sup>d</sup> NC\_013668.3

última fecha de revisión 13/03/17

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

Cuadro 3. Métodos de diagnóstico utilizados en los diferentes casos publicados del género *Cyprinivirus*.

Especie viral	País	Año	Huésped	Muestra (órganos)	Aislamiento (línea celular)	Efecto citopático	Método de diagnóstico
<b><i>Cyprinid herpesvirus 1</i></b>	Alemania	2014 <sup>31</sup>	<i>Cyprinus carpio</i>	- Branquias - Riñón - Intestino - Cerebro	- FHM - CCB	No	-Secuencia genómica
<b><i>Cyprinid herpesvirus 2</i></b>	Francia <sup>b</sup>	2014 <sup>22</sup>	<i>Carassius auratus</i>	- Branquias	No	No	PCR (iniciadores): - ORF117 - CDS2-CDS3
	Inglaterra	2004 <sup>32</sup>	<i>Carassius auratus</i>	-Branquias - Bazo - Riñón - Cerebro	- EPC - BF-2 - KF-1	Sí (KF-1)	- Secuenciación del gen AND polimerasa
<b><i>Cyprinid herpesvirus 3</i></b>	Japón	2003 <sup>33</sup>	<i>Cyprinus carpio</i>	ND	- KF-1	Sí	- Secuencia genómica
	Estados Unidos <sup>c,d</sup>	2003 <sup>34</sup>	<i>Cyprinus carpio</i>	- Branquias <sup>a</sup> - Riñón <sup>a</sup> - Bazo <sup>a</sup>	- EPC -FHM - KF-1	Sí (KF-1)	- Secuencia genómica - Microscopía electrónica
	Israel <sup>c, d</sup>	1998 <sup>34</sup>	<i>Cyprinus carpio</i>	- Branquias <sup>a</sup> - Riñón <sup>a</sup> - Bazo <sup>a</sup>	- EPC -FHM - KF-1	Sí (KF-1)	- Secuencia genómica - Microscopía electrónica
	Irlanda	2005 <sup>35</sup>	<i>Cyprinus carpio</i>	- Branquias <sup>a</sup> - Corazón <sup>a</sup> - Riñón <sup>a</sup>	- KF-1	No	-Secuencia genómica
	Irlanda <sup>b</sup>	2007 <sup>35</sup>	<i>Cyprinus carpio</i>	- Branquias	No	No	PCR: KHV-TK
	Indonesia	2002 <sup>36</sup>	<i>Cyprinus carpio</i>	ND	ND	ND	ND
	Japón <sup>c</sup>	2003 <sup>37</sup>	<i>Cyprinus carpio</i>	- Branquias <sup>a</sup> - Riñón <sup>a</sup>	-KF-1	Sí	PCR: - KHV BamHI-6 - KHV SphI-5
	Polonia <sup>c</sup>	2004 <sup>38</sup>	<i>Cyprinus carpio</i>	- Branquias - Sangre - Riñón	-CCB	Sí	- Secuencia genómica
<b><i>Anguillid herpesvirus 1</i></b>	Taiwan	2002 <sup>39</sup>	<i>Anguilla anguilla</i>	- Hígado - Bazo - Corazón - Riñón - Piel	- EP - EK-1	Sí (EP y EK-1)	- PCR: F1 y R1 - Hibridación <i>in situ</i> - Microscopía electrónica (morfología)
	Japón <sup>d</sup>	1985 <sup>40</sup>	- <i>Anguilla anguilla</i> - <i>Anguilla japonica</i>	- Piel - Branquias	- BF-2 - FHM - CHH-1 - RTG-2 - EK-1 - EO-2	Sí (todas)	- Virus suero neutralización - Microscopía electrónica

<sup>a</sup> Muestras que se mezclaron y homogenizaron.

<sup>b</sup> Casos cuyas carpas fueron importadas de Asia.

<sup>c</sup> Estudios que incluyeron infección experimental.

<sup>d</sup> Estudio que incluyó pruebas con antisuero *Cyprinid herpesvirus*.

**BF-2:** Fibroblasto 2 de branquia mojarra azul “Bluegill” **CCB:** Células de cerebro de carpa común

**CCH-1:** Corazón de pescado **EP:** Epidermis de Anguila **EK-1:** Línea celular de riñón de anguila

**EPC:** Epitelio papuloso de cyprinido **EO-2:** Línea celular de ovario de anguila japonesa **FMH:**

Línea celular “Fathead Minnow” **KF-1:** Línea celular de aletas koi **RTG-2:** Gónada de trucha

arcoíris. **ND:** No determinado.

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

Cuadro 4. Genomas secuenciados de *Ictalurivirus*.

Especie viral	Huésped	Genoma	Tamaño genoma	% GC	ORF probables	Proteínas probables	País (muestra)	Año aislamiento	Año secuenciación
<i>Ictalurid herpesvirus 1</i>	ND	Completo <sup>a</sup>	134.23 kb	56.2	90	90	ND	ND	1992 <sup>52</sup>
<i>Acipenserid herpesvirus 2</i>	<i>Acipenser transmontanus</i>	Parcial <sup>b</sup>	60 kb	ND	ND	ND	Estados Unidos	2008	2008 <sup>53</sup>

**%GC:** Porcentaje de Guanina-Citocina **ORF:** Open Reading Frame (marco abierto de lectura)

**kb:** kilobases **ND:** No determinado Código de RefSeq: <sup>a</sup> NC\_001493.2, <sup>b</sup> FJ815289.2

última fecha de revisión 29/04/2017

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

Cuadros 5. Métodos de diagnóstico utilizados en los diferentes casos publicados del género *Ictalurivirus*.

Especie viral	País	Año	Huésped	Muestra (órganos)	Aislamiento (línea celular)	Efecto citopático	Método de diagnóstico
<b><i>Ictalurid herpesvirus 1</i></b>	Malasia	2010 <sup>34</sup>	<i>Pangasius hypophthalmus</i>	- Riñón <sup>a</sup>	No	No	PCR (iniciadores): - ORF 73
	México	2005 <sup>45</sup>	<i>Ictalurus punctatus</i>	- Hígado - Riñón - Intestino	No	No	PCR (iniciadores): - ORF8 - ORF 73
	Estados Unidos <sup>b</sup>	1984 <sup>46</sup>	<i>Ictalurus punctatus</i>	- Riñón - Gónada - Sangre	- CCO con leucocitos	Sí	- Suero neutralización: antisuero CCV VR665
	Estados Unidos <sup>b</sup>	1980 <sup>47</sup>	<i>Ictalurus punctatus</i>	ND	- CCO	ND	ND
	Estados Unidos	1984 <sup>48</sup>	<i>Ictalurus punctatus</i>	- Hígado - Bazo - Estómago - Intestino - Riñón posterior - Gónadas	- CCO	Sí	- Southern blot (2800 bp)
	Italia <sup>b</sup>	1984 <sup>47</sup>	<i>Ictalurus punctatus</i>	ND	ND	ND	ND
	<b><i>Acipenserid herpesvirus 2</i></b>	Estados Unidos	2008 <sup>37</sup>	<i>Acipenser transmontanus</i>	- Bazo	ND	ND
Estados Unidos <sup>b, c</sup>		1993 <sup>38</sup>	<i>Acipenser transmontanus</i>	- Piel	- WSS-2 - WSSK-1	Sí (WSSK-1)	- Líneas celulares - Suero neutralización
Estados Unidos <sup>b, c</sup>		1992 <sup>38</sup>	<i>Acipenser transmontanus</i>	- Branquias - Piel - Gónadas - Fluido ovárico y seminal - Sangre	- WSS-2 - WSSK-1	Sí (WSSK-1)	- Líneas celulares - Suero neutralización
Rusia <sup>b, c</sup>		2006 <sup>39</sup>	<i>Acipenser baerii</i>	- Branquias	- SSO-2 - SSF-2 - WSSK-2	Sí	Infección experimental
Rusia <sup>b</sup>		2017 <sup>39</sup>	<i>Acipenser transmontanus</i>	- Branquias - Bazo - Riñón - Hígado	- WSS-2 - SSO	Sí	PCR (iniciadores): - ORF 57-62 - ORF 39

<sup>a</sup> Muestras que se mezclaron y homogenizaron.

<sup>b</sup> Estudios que incluyeron infección experimental.

<sup>c</sup> Casos que incluyeron estudios con microscopía electrónica. **CCO**: Ovarios de bagre **WSS-2**: Bazo de esturión blanco **WSSK-1**: Piel de esturión blanco **SSF-2**: Aleta de esturión siberiano **SSO-2**: Pool de hígado/bazo/riñón de esturión siberiano **ND**: No determinado

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

Cuadro 6. Secuencias de nucleótidos de *Salmonivirus*.

Espece viral	Secuencia	Tamaño	No. De acceso GenBank	Año
<i>Salmonid herpesvirus 1</i>	ADN polimerasa, dUTPasa y ORF 48	4,245 pb	AF023673.1	1998
<i>Salmonid herpesvirus 1</i>	Terminasa	505 pb	EU349281.1	2016
<i>Salmonid herpesvirus 1</i>	ADN polimerasa	451 pb	EU349273.1	2016
<i>Salmonid herpesvirus 2</i>	ORF 68 y terminasa	831 pb	EU349283.1	2016
<i>Salmonid herpesvirus 2</i>	ORF 68 y terminasa	831 pb	EU349282.1	2016
<i>Salmonid herpesvirus 2</i>	ADN polimerasa	451 pb	EU349282.1	2016
<i>Salmonid herpesvirus 2</i>	ADN polimerasa	451 pb	EU349274.1	2016
<i>Salmonid herpesvirus 2</i>	Terminasa	831 pb	FJ641909.1	2016
<i>Salmonid herpesvirus 2</i>	ADN polimerasa	451 pb	FJ641908.1	2010
<i>Salmonid herpesvirus 2</i>	ORF 61 y 62	1,842 pb	X81060.1	2016
<i>Salmonid herpesvirus 2</i>	ORF 68	1,122 pb	X70395.1	2016
<i>Salmonid herpesvirus 2</i>	ORF 46	1,926 pb	X70396.1	2016
<i>Salmonid herpesvirus 3</i>	Terminasa	506 pb	EU349284.1	2016
<i>Salmonid herpesvirus 3</i>	ADN polimerasa	451 pb	EU349277.1	2016
<i>Salmonid herpesvirus 3</i>	Glicoproteína	1,518 pb	JX886027.1	2013

**ORF:** Open Reading Frame (marco abierto de lectura)    **pb:** pares de bases

·Última fecha de revisión 21/06/2017

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

Cuadro 7. Métodos de diagnóstico utilizados en los diferentes casos publicados del género *Salmonivirus*

Especie viral	País	Año	Huésped	Muestra (órganos)	Aislamiento (línea celular)	Efecto citopático	Método diagnóstico	de
<b><i>Salmonid herpesvirus 1</i></b>	Estados Unidos <sup>c</sup>	1975 <sup>66</sup>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-Fluidos ováricos	- RTG-2 - RTF-1	Sí	- Caracterización de virus	
	Estados Unidos <sup>c</sup>	1985 <sup>53</sup>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-Fluidos ováricos	- RTG-2 - CHSE-214	Sí	- Caracterización de virus	
<b><i>Salmonid herpesvirus 2</i></b>	Japón <sup>c</sup>	1976 <sup>67</sup>	<i>Oncorhynchus nerka</i>	ND	- RTG-2	Sí	- Caracterización de virus	
	Japón <sup>b, c</sup>	1978 <sup>68</sup>	<i>Oncorhynchus masou</i>	-Fluidos ováricos	- RTG-2	Sí	- Caracterización de virus	
	Japón <sup>b, c</sup>	1990 <sup>69</sup>	<i>Oncorhynchus kitsutch</i>	- Hígado - Riñón - Piel	- RTG-2 - CHSE-214	Sí (RTG-2)	- Suero neutralización	
	Japón <sup>b, c</sup>	1981 <sup>70</sup>	<i>Oncorhynchus masou</i>	- Piel (tumor mandíbula)	- RTG-2 - CHSE-214 - FMH	Sí (RTG-2, CHSE-214)	- Suero neutralización	
	Japón <sup>b, c</sup>	2000 <sup>71</sup>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	- Riñón	- RTG-2	Sí	- Suero neutralización	
	Japón <sup>c</sup>	2001 <sup>71</sup>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	- Riñón	- RTG-2	Sí	- Suero neutralización	
<b><i>Salmonid herpesvirus 3</i></b>	Estados Unidos <sup>b, c</sup>	1986 <sup>64</sup>	<i>Salvelinus namaycush</i>	- Piel <sup>a</sup>	- RTG-2 - CHSE-214 - EPC - FHM - McCoy	No	- Caracterización de virus	
	Estados Unidos <sup>b, c</sup>	1989 <sup>65</sup>	<i>Salvelinus namaycush</i>	- Cerebro <sup>a</sup> - Hígado <sup>a</sup> - Bazo <sup>a</sup> - Riñón <sup>a</sup> - Píloro caeca <sup>a</sup> - Estómago <sup>a</sup> - Intestino <sup>a</sup> - Piel <sup>a</sup> - Branquias <sup>a</sup>	- RTG-2 - CHSE-214 - EPC - FHM - RTH-149	No	- Caracterización de virus	
	Rusia	2011 <sup>63</sup>	<i>Salmo salar</i>	- Piel (papiloma)	No	No	PCR (iniciadores): - ADN polimerasa - Terminasa	

<sup>a</sup> Muestras que se homogenizaron.

<sup>b</sup> Estudios que incluyeron infección experimental.

<sup>c</sup> Casos que incluyeron estudios con microscopía electrónica.

**RTG-2:** Gónada de trucha arcoíris    **RTF-1:** Línea celular de salmón no caracterizada

**CHSE-214:** Embrión de salmón chinoco    **FHM:** Línea celular “Fathead Minnow

**EPC:** Epitelio papuloso de cyprinido    **McMCoy:** Fibroblastos de *Mus musculus*

**RTH-149:** Hepatoma de trucha arcoíris

ND: No determinado

**“Estudio prospectivo de alloherpesvirus encontrados en contenido intestinal de patos silvestres del género *anas* spp.”**

Cuadro 8. Genomas secuenciados de *Batrachovirus*.

Espece viral	Huésped	Genoma	Tamaño genoma	% GC	ORF probables	Proteínas probables	País (muestra)	Año aislamiento	Año secuenciación
<b><i>Ranid herpesvirus 1</i></b>	<i>Lithobates pipiens</i>	Completo <sup>a</sup>	220.86 kb	54.6	132	132	ND	1993	2006 <sup>88</sup>
<b><i>Ranid herpesvirus 2</i></b>	ND	Completo <sup>b</sup>	231.80 kb	52.8	147	147	ND	ND	2006 <sup>88</sup>

**% GC:** Porcentaje de Guanina-Citocina      **ORF:** Open Reading Frame (marco de lectura abierto)  
**kb:** kilobases      **ND:** No determinado      Código de Refeq: <sup>a</sup> DQ665917.1, <sup>b</sup> DQ665652.1  
 Última fecha de revisión 08/06/2017