



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado

Riesgos de la introducción de la Enfermedad Hemorrágica
Epizootica en las poblaciones de cérvidos salvajes de España

Autor/es

Adrián López Alonso

Director/es

Annick Linden y Lluís Luján Lerma

Facultad de Veterinaria

2014-2015

ÍNDICE

1. Resumen/ <i>Summary</i>	pág. 2
2. Introducción y justificación.....	pág. 3
3. Objetivos.....	pág. 4
4. Metodología	pág. 4
5. Resultados y discusión	pág. 4
5.1. Etiología y patogenia.....	pág. 5
5.2. Clínica y lesiones	pág. 7
5.2.1. Ungulados salvajes.....	pág. 8
5.2.2. Ungulados domésticos	pág. 9
5.3. Diagnóstico y tratamiento	pág. 9
5.3.1. Métodos de identificación del agente causante de la EHD	pág. 10
5.3.2. Métodos serológicos.....	pág. 11
5.4. Epidemiología	pág. 11
5.4.1. Vectores	pág. 12
5.4.2. Hospedadores	pág. 14
5.4.3. Distribución geográfica	pág. 14
5.5. Análisis de los factores de riesgo	pág. 17
5.5.1. Factores predisponentes.....	pág. 17
5.5.2. Vías de introducción.....	pág. 18
5.6. Medidas de profilaxis, control y erradicación.....	pág. 21
5.6.1. Profilaxis preventiva.....	pág. 21
5.6.2. Plan de lucha	pág. 21
6. Conclusiones/ <i>Conclusions</i>	pág. 24
7. Valoración personal.....	pág. 25
8. Agradecimientos.....	pág. 26
9. Bibliografía.....	pág. 26
10. Anexo	pág. 31

1. Resumen/Summary

Resumen

La Enfermedad Hemorrágica Epizootica (EHD) es una enfermedad vírica infecciosa no-contagiosa transmitida por la picadura de los insectos del género *Culicoides* y que afecta principalmente a los cérvidos y a los bóvidos. Este virus pertenece al género *Orbivirus* e incluye siete serotipos distribuidos a nivel mundial entre las latitudes 35°S y 49°N, de los cuales el EHDV-1, EHDV-2 y EHDV-6 son los más virulentos; provocando altas morbilidades y mortalidades en los cérvidos entre finales de verano y principios de otoño. La clínica que suelen presentar estos animales corresponde con la de un síndrome hemorrágico que afecta a las mucosas de los órganos, dando como lesiones principales hemorragias, erosiones, úlceras y necrosis de los tejidos. Como medidas diagnósticas, la OIE recomienda el aislamiento vírico en cultivo celular, la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa en tiempo real y el enzoinmunoanálisis por competición para el diagnóstico individual, mientras que la prueba de la neutralización del virus se recomienda a nivel poblacional. El único tratamiento posible va dirigido a paliar los síntomas y las lesiones antes mencionadas.

Tras el análisis de los factores predisponentes que hacen de España un lugar adecuado para el desarrollo de la enfermedad, y de las posibles vías de entrada por las que el EHDV puede llegar hasta nuestras fronteras, se concluye que el riesgo de introducción de la EHD existe y que puede ser elevado en función de la vía y de la época del año. Por ello la lucha contra la EHD debe centrarse en la toma de medidas preventivas que eviten la exposición de los hospedadores al virus y, en caso de alerta, en la puesta en marcha de investigaciones clínicas, serológicas, epidemiológicas y entomológicas en las áreas de protección y vigilancia establecidas en torno a los focos sospechosos.

Summary

Epizootic Hemorrhagic Disease: Risks of introduction into the Spanish wild deer population.

Epizootic Hemorrhagic Disease (EHD) is a vector-borne infectious, noncontagious disease caused by a virus that belongs to the Orbivirus group. The disease is transmitted by Culicoides biting midges that mainly affect deer and cattle. There are seven serotypes globally distributed between 35 °S and 49 °N of the equator, from which EHDV-1, EHDV-2 and EHDV-6 are the most infectious, causing high morbidity and mortality rates between the end of summer and the beginning of autumn. Clinical symptoms range from haemorrhagic syndrome, which affects the mucosa of organs resulting mainly in haemorrhagic lesions, to erosions, ulcers and tissue necrosis. The OIE recommends as diagnostic measures for individual cases the viral isolation in cell cultures, reverse transcription polymerase chain reaction and competitive enzyme

immunity analysis. For large-scale populations, neutralisation of the virus assays are recommended. The only possible treatment works towards alleviating symptoms before they take hold.

After analysing the predisposal factors, which makes Spain an adequate place for the development of the disease, and the possible entrance pathways by which EHDV can reach our borders, we can conclude that the risk of introduction of the EHD exists and that it can be high depending on the introduction route and the year's season. Therefore, the battle against EHD must be focused on taking preventative measures to avoid the host being exposed to the virus. In the case of an alert, efforts must be focused on putting clinical, serological, epidemiological and entomological investigations in place, and monitoring suspected outbreaks.

2. Introducción y justificación

La importación de animales infectados por el virus de la Enfermedad Hemorrágica Epizootica (*Epizootic Hemorrhagic Disease, EHD*) en la Unión Europea está regulada desde 2004 por la Decisión 2004/410/CE y actualmente la EHD está incluida en la Lista de Enfermedades de Declaración Obligatoria de la Organización Mundial de Sanidad Animal (*Office International des Epizooties, OIE*).

La EHD es una enfermedad vírica muy grave de elevada mortalidad que está esquilmando las poblaciones de cérvidos salvajes de Norteamérica. Entre 2006-2008 se diagnosticaron varios casos en la cuenca mediterránea en ganado bovino (EHDV-6 en Marruecos, Argelia, Túnez y Turquía; y EHDV-7 en Israel), lo que ha encendido las alertas en nuestro país, ya que España es uno de los principales puertos de entrada de enfermedades a Europa. Una situación similar ya ocurrió con el virus de la lengua azul (*Blue Tongue Virus, BTV*), que estuvo confinado en África durante los siglos XIX-XX hasta que en 1950 llegó a la cuenca mediterránea y en 1956 se detectó en Portugal, Badajoz y Huelva. En un primer momento se extendió por el suroeste de la península ibérica hasta terminar afectando al resto del territorio peninsular.

Hasta la fecha no se han detectado muestras positivas frente al EHDV en animales de la península ibérica, pero existen algunos condicionantes que hacen de España un país de riesgo para esta enfermedad, como son la proximidad con el norte de África, la presencia de vectores competentes (*Culicoides*), las elevadas densidades de rumiantes salvajes y domésticos que comparten hábitat, especialmente en el sur y oeste del país, y el hecho de que se hayan realizado estudios experimentales que demuestran la susceptibilidad del ciervo europeo

(*Cervus elaphus*) al EHDV-1. Por tanto, la introducción de esta enfermedad podría tener graves consecuencias sanitarias, económicas y ambientales.

3. Objetivos

Los objetivos del trabajo son, en primer lugar, una revisión bibliográfica completa para estudiar y comprender la infección; en segundo lugar, un análisis de los diferentes factores de riesgo que pudieran permitir a la EHD cruzar nuestras fronteras; en tercer lugar, qué medidas preventivas se podrían tomar para evitarlo y por último qué medidas se deberían tomar para contener y luchar contra una posible llegada de la infección por el virus de la EHD.

4. Metodología

El método empleado ha consistido en la revisión sistemática de artículos científicos consultando la base de datos PubMed, ResearchGate y organismos como la OIE y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (*European Food Safety Authority, EFSA*), sin restricción de fecha, en los idiomas español, inglés y francés. Se incluyó bibliografía no publicada en fuentes habituales mediante búsqueda manual (tesis, artículos no indexados). No se hicieron restricciones respecto al tipo de trabajo en el tema de la EHD. Se revisaron los resúmenes y en los casos necesarios los artículos completos, teniéndose en cuenta finalmente todos los artículos que hablaban sobre la EHD, tanto a nivel nacional como internacional, y sobre sus vectores, los *Culicoides*.

5. Resultados y discusión

La Enfermedad Hemorrágica Epizootica o EHD, es una enfermedad vírica infecciosa no-contagiosa transmitida por los insectos del género *Culicoides* que afecta tanto a los rumiantes salvajes como a los domésticos (Savini *et al.*, 2011).

Las primeras referencias se tiene de la enfermedad se sitúan a finales del siglo XIX, en aquellos momentos conocida por los cazadores y los guarda-bosques del sudeste de los EE.UU. como *Black Tongue* (Lengua Negra) o *Hemorrhagic Disease* (HD). Aunque entre 1955 y 1966 se aisló el

EHDV y el BTV como agentes etiológicos de la HD, en algunos artículos y manuales de prevención aún se utiliza el término HD independientemente del virus responsable, especialmente cuando la enfermedad afecta al *White-tailed deer*/Ciervo de Virginia (*Odocoileus virginianus*) (Howerth *et al.*, 2001; Savini *et al.*, 2011).

La importancia económica de la EHD se asocia a las muertes que causa, a su sintomatología clínica severa, a las pérdidas de producción y a las medidas que se imponen a las zonas afectadas como el bloqueo de ganado, semen y óvulos. A todo esto hay que sumar las posibles repercusiones que pueda tener en el caso de la fauna salvaje, especialmente si ésta ya se encuentra amenazada o en peligro de extinción (Arenas Montes, 2013; OIE, 2015; Savini *et al.*, 2011).

En los últimos años, el virus de la EHD se ha extendido por la Cuenca Mediterránea y por Norteamérica, dos zonas geográficamente muy alejadas pero en las que ha aumentado la patogenicidad de los serotipos EHDV-6 y EHDV-7; serotipos que no se consideraban patógenos para el ganado bovino (Savini *et al.*, 2011). Todo ello ha llevado a las autoridades internacionales a tomar consciencia de ella e incluirla en el Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres de la OIE (OIE, 2014). La distribución geográfica similar de los últimos focos de EHD en el norte de África y el oeste de Asia (Savini *et al.*, 2011) con los focos de BTV que ocurrieron en las mismas áreas a final de los 90, constituye un motivo adicional de preocupación, ya que pudieran indicar que ambos virus se desarrollan en un medio similar. Hay que destacar, sin embargo, que otros estudios concluyen que los patrones de distribución de los dos virus suelen diferir en lugares donde éstos coexisten (Arenas Montes, 2013; Stallknecht *et al.*, 1995).

5.1. Etiología y patogenia

El virus de la EHD pertenece al género *Orbivirus*, de la familia *Reoviridae*, y comparte muchas características morfológicas y estructurales con otros miembros del género, tales como el virus de la lengua azul (BTV), el virus de la enfermedad equina africana (AHSV) y el virus de la encefalitis equina (EEV). Es estable a -70°C en sangre y a 4°C en suspensión de tejidos o de leucocitos en suspensión, pero susceptible al etanol al 95% y al hipoclorito sódico al 0.5% en superficies de laboratorio (Howerth *et al.*, 2001).

Se trata de un virus no envuelto compuesto de una doble cápside de unos 80nm y de un filamento de RNA bicatenario dividido en 10 segmentos (Howerth *et al.*, 2001). Estos 10 segmentos codifican 12 proteínas, existiendo un total de siete proteínas estructurales (VP1-VP7) y cinco proteínas no estructurales (NS1, NS2, NS3, NS3A y NS4) (Anbalagan *et al.*, 2014).

La doble cápside es una estructura proteica formada por una serie de monómeros llamados capsómeros. Los capsómeros de capa externa están formados por las proteínas estructurales VP2 y VP5, que intervienen en el anclaje y penetración del virión en la célula huésped. VP2 es la que determina la especificidad del serotipo, y VP5 la que genera la respuesta inmune a través de anticuerpos neutralizantes. La capa intermedia es la que une las capas externa e interna y sus capsómeros están formados por la VP7, que tienen una forma anular característica observable en microscopía electrónica (Fig. 1). Por último, la capa interna la conforman VP3, las tres proteínas menores (VP1, VP4 y VP6) y el filamento de RNA bicatenario. VP3 es una proteína de unión, VP1 es una RNA polimerasa RNA-dependiente, VP4 es la enzima que forma el capuchón (*cap*) y VP6 es una helicasa viral (Fig. 2; Anbalagan *et al.*, 2014; Howerth *et al.*, 2001).

Los análisis genéticos y antigénicos realizados sobre VP2 y VP5 establecen que el serogrupo de la EHD incluye 7 serotipos (1, 2, 4, 5, 6, 7,8) (Weir *et al.*, 2014). EHDV-3(actualmente EHDV-1) y EHDV-4 se han descrito en África y EHDV-5, EHDV-6, EHDV-7 y EHDV-8 se han manifestado en Australia. EHDV-6 ha sido aislado en Bahréin, Omán, Sudán, Marruecos y Argelia, el EHDV-1 o cepa de Nueva Jersey es endémico de los EE.UU., aunque también se encuentra Sudáfrica y Australia, mientras que el EHDV-2 o cepa de Alberta, también endémico de los EE.UU., se conoce en Japón como el virus de Ibaraki debido a la epidemia que causó en el ganado vacuno en el país nipón. En 2006 se aisló en los estados de Indiana e Illinois (EE.UU.) una nueva variante del EHDV-6 que contenía sus antígenos de superficie (VP2 y VP5) pero con el resto de segmentos del RNA procedentes del EHDV-2 endémico de la zona. Esta nueva cepa se extendió por los EE.UU. hasta tal punto que actualmente también se la considera endémica, lo que demuestra la plasticidad del virus para establecerse en nuevos nichos ecológicos (Anbalagan *et al.*, 2014; Sleeman *et al.*, 2012).

De los siete serotipos, sólo EHDV-1, EHDV-2 y la nueva variante del EHDV-6 se han asociado con la manifestación clínica de la enfermedad en los ungulados salvajes y domésticos; tanto en infecciones experimentales como las sucedidas naturalmente (Anbalagan *et al.*, 2014; Howerth *et al.*, 2001).

La principal vía de transmisión del virus es la picadura de mosquitos infectados del género *Culicoides*, aunque también se ha investigado la vía feco-oral y la vía transplacentaria a nivel experimental sin obtener resultados concluyentes (Ohashi *et al.*, 1999; Savini *et al.*, 2011).

Los *Culicoides* se infectan cuando se alimentan de la sangre de un animal en fase virémica. Entonces el EHDV pasa al sistema digestivo del vector, dónde se multiplica en el interior de las células intestinales, diseminándose posteriormente hasta las glándulas salivares del aparato

picador, donde permanece hasta el momento de la picadura. Cuando el mosquito pica a un nuevo rumiante, el virus se localiza en las células endoteliales de los vasos del nódulo linfático que drena la zona de infección y a través del torrente sanguíneo se disemina hacia los lugares de replicación secundaria, es decir, otros nódulos linfáticos y el bazo. En la fase virémica se asocia a los glóbulos rojos, donde presenta altos títulos de anticuerpos (Savini *et al.*, 2011), y se localiza en las invaginaciones de los eritrocitos para así evadir la respuesta inmune (Howerth *et al.*, 2001). En las especies que desarrollan la forma severa de la enfermedad, como el ciervo de Virginia, los daños que causa la replicación en las células endoteliales de los capilares inducen necrosis celular. Como consecuencia, la membrana basal vascular queda expuesta, activándose las plaquetas y la cascada de coagulación. Lo que finalmente desencadena la trombosis que, junto con la fibrinólisis, pueden acabar causando coagulación intravascular diseminada (CID). Si la CID se instaura en el organismo, puede producir más hemorragias y necrosis tisular que, en última instancia provocarán las úlceras que se observan en las mucosas de los animales afectados. Esta combinación de factores es la responsable del síndrome hemorrágico, característico de la infección en el ciervo de Virginia, que tiene como resultado las lesiones observables en la lengua, el corazón, el abomaso, el músculo esquelético, en las superficies de las mucosas ulceradas y en otros órganos como las glándulas salivares y los riñones (Howerth *et al.*, 2001).

La infección se puede detectar *in vivo* dos días después de la entrada del virus, mientras que fase virémica se detecta al cuarto día post-infección. La mayoría de las infecciones suelen durar unas tres semanas de media (Savini *et al.*, 2011), aunque se sabe que algunos ciervos pueden permanecer virémicos durante 59 días. En el caso de los rumiantes domésticos la duración del periodo de viremia no se sabe con certeza, pues los títulos más elevados obtenidos en vacas oscilan entre el día 28 y el 50 (EFSA, 2009).

Los estudios que se han realizado hasta la fecha confirman que la inmunidad pasiva no es capaz de proteger frente a la infección, pero sí que reduce la gravedad de los síntomas causados por serotipos homólogos. Se desconoce el tiempo que los animales se encuentran protegidos bajo esta inmunidad, pero demuestra el interés que tendrían las vacunas atenuadas. Además, en Norteamérica se ha visto que los animales desarrollan protección cruzada entre los serotipos EHDV-1 y EHDV-2, probablemente debido a una relación antigénica (Gaydos *et al.*, 2002); pero no con otros *Orbivirus* (Savini *et al.*, 2011).

5.2. Clínica y lesiones

Como resultado de la alteración de la cascada de coagulación y del CID instaurado, se produce el síndrome hemorrágico en las mucosas de los tejidos afectados. Éste se caracteriza, primero

por la aparición de hemorragias en los tejidos, segundo por las erosiones focales, tercero por las consiguientes úlceras que aparecen en las superficies de las mucosas afectadas y cuarto por la necrosis tisular local.

Mediante histopatología se observa vasculitis ampliamente generalizada con trombosis, endotelitis, hemorragias, lesiones degenerativas y necrosis en varios órganos, especialmente en la lengua, paredes de los estómagos, glándulas salivares, aorta y músculos papilares del ventrículo izquierdo (Fig. 3; EFSA, 2009).

5.2.1. Ungulados salvajes

En los ungulados salvajes, el EHDV afecta sobre todo al Ciervo de Virginia. En el caso del *Mule deer*/Ciervo mulo (*Odocoileus hemionus*) y del *Pronghorn antelope*/Antílope Americano (*Antilocapra americana*) la tasa de supervivencia es más elevada. En estas especies las diferentes formas clínicas suelen estar producidas por EHDV-1, EHDV-2 y más recientemente por EHDV-6 (Howerth *et al.*, 2001; Savini *et al.*, 2011).

Existen tres formas clínicas descritas en el ciervo de Virginia: la hiperaguda, la aguda y la crónica.

- ∴ Hiperaguda. Los animales presentan fiebre alta, anorexia, adelgazamiento, disnea y edema severo en cabeza y cuello, que aparece rápidamente. También es común observar inflamación de la lengua (Fig. 4) y de las conjuntivas (Fig. 5), mientras que la forma hemorrágica (con diarrea sanguinolenta y/o hematuria) y deshidratación son hallazgos típicos en los animales muertos. Estos síntomas pueden ir acompañados de hemorragias tisulares en piel, corazón (Fig. 6) y tracto digestivo (Fig. 7). Suele haber hiperemia de la conjuntiva y de la mucosa oral con salivación excesiva y descarga nasal sanguinolenta, con lo que los animales suelen morir rápidamente (8-36h), a veces sin sintomatología clínica aparente. Sus cadáveres suelen encontrarse cerca de los abrevaderos debido a que mueren en un estado de fiebre y deshidratación (Howerth *et al.*, 2001; USAHA, 1998).

- ∴ Forma aguda. Se observan úlceras y/o erosiones de la lengua, papilas bucales (Fig.8), paladar (Fig. 9), rodete dentario, rumen y abomaso (Figs. 10 y 11). En ambas formas clínicas, aguda e hiperaguda, la tasa de mortalidad suele ser muy elevada. También se han encontrados casos agudos en yak (*Bos grunniens*), que en algunos casos se acompañan de sintomatología nerviosa como temblores y relamidos que, hasta la fecha, no habían sido asociados a esta enfermedad (Howerth *et al.*, 2001; Raabis *et al.*, 2014; Van Campen *et al.*, 2013).

∴ Forma crónica. Los ciervos están enfermos durante semanas pero se recuperan gradualmente. Los surcos que se observa en las pezuñas de estos animales son un reflejo del paso de la enfermedad por su organismo. Cuánto más agresiva haya sido la enfermedad, más profundo será el surco. En el peor de los casos, si el surco es muy profundo puede provocar la necrosis de parte de la pezuña, llegando a la muda del misma (Fig. 12). Es por esto que se puede ver a los animales afectados cojeando en mayor o menor grado, llegando incluso a desplazarse sobre las rodillas o el pecho. A nivel digestivo se pueden observar úlceras, llagas o erosiones (Figs. 9, 10 y 11), que, si son muy extensas, pueden llevar al animal a la caquexia; aunque haya abundancia de comida (EFSA, 2009; Howerth *et al.*, 2001).

5.2.2. Ungulados domésticos

En ungulados domésticos la enfermedad no suele provocar grandes mortalidades, pues se caracteriza por un proceso más crónico de grandes repercusiones económicas, ya que las vacas disminuyen sus producciones, además del consiguiente gasto en medicamentos y pérdidas en abortos e infertilidad. Los animales afectados muestran disfagia, deshidratación y caquexia. Alrededor de los labios y los cornetes, se pueden dar edemas, hemorragias, úlceras o erosiones; y en cuanto al aparato reproductor, pueden darse abortos, malformaciones y fetos nacidos muertos (CFSPH, 2010).

Las ovejas pueden infectarse por el EHDV pero en raras ocasiones desarrollan síntomas. Las cabras infectadas experimentalmente no presentan viremia (CFSPH, 2010).

5.3. Diagnóstico y tratamiento (OIE, 2014)

La EHD es una enfermedad cuya sintomatología clínica no es lo suficientemente específica para establecer un diagnóstico clínico preciso. Para un diagnóstico más fiable, el *Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestre* establece dos grandes grupos de pruebas diagnósticas: las centradas en identificación del agente causante y las serológicas.

La OIE recomienda el aislamiento en cultivo celular, la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa en tiempo real (*Real Time* RT-PCR) y el enzoinmunoanálisis por competición (C-ELISA) para el diagnóstico individual. A nivel poblacional la neutralización del virus (VN) se recomienda para declarar poblaciones libres de infección, para contribuir en planes de erradicación y para determinar la prevalencia o el estatus inmune tras la vacunación.

La EHD no tiene tratamiento curativo. El tratamiento paliativo basado en reducir el estrés y administrar antibióticos de amplio espectro para combatir las infecciones secundarias, especialmente las de tipo respiratorio, puede ser de interés para los animales en estado crónico (USAHA, 1998). Pero sin duda, la mejor opción para luchar contra esta infección es tomar medidas preventivas que eviten la enfermedad.

5.3.1. Métodos de identificación del agente causante de la EHD

Aislamiento en cultivo celular *in vitro*

Se utilizan los mismos procedimientos diagnósticos tanto para rumiantes domésticos como para salvajes. Se parte de sangre de animales virémicos o de muestras de tejidos, como el pulmón, el bazo y nódulos linfáticos, y de *Culicoides* sp. El EHDV se aísla mediante inoculación huevo embrionado o células de *Culicoide variipennis* (KC) de cultivos celulares, seguido de uno o dos pases en las líneas celulares de riñón de cría de hámster (BHK-21) o de riñón de mono verde africano (Vero) (Viarouge *et al.*, 2015). Entre el 2º y 7º día post-inoculación aparece el efecto citopático (ECP). Si hay ECP, que indica la presencia del virus, la identidad de la cepa aislada se puede confirmar mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR), ELISA de captura de antígeno, inmunofluorescencia o neutralización vírica (OIE, 2014).

Real Time RT-PCR (Viarouge *et al.*, 2015)

Ésta es la prueba diagnóstica de referencia que se utiliza en el *Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort* (Laboratorio de Referencia de la OIE para la EHD, Francia). Se trata de una técnica en la que se detecta la amplificación del DNA en tiempo real. Esto se consigue gracias a las sondas que son moléculas específicas del gen que se quiere amplificar marcadas con moléculas fluorescentes que se liberan cuando tiene lugar la amplificación. En este caso, la RT-PCR en tiempo real se utiliza para saber qué serotipo es el responsable de la enfermedad. Como se ha comentado anteriormente, se sabe que existen siete serotipos distintos del EHDV y que el segmento 2 (S2) codifica la VP2, que es la proteína que determina la especificidad del serotipo. Conociendo la secuencia genética del S2 en cada uno de los siete serotipos, se pueden crear sondas específicas para cada serotipo. Cuando el serotipo implicado corresponda con una de las sondas, éstas liberarán la molécula fluorescente permitiendo su identificación.

Hay que tener en cuenta que la RT-PCR detecta muy bajas cantidades de RNA, de ahí su alta sensibilidad y especificidad, pero el hecho de que una muestra sea positiva no implica necesariamente que el virus sea infectivo. Es decir, se sabe que el período en que el virus es infectante es más corto que en el que el virus permanece en las muestras de sangre.

5.3.2. Métodos serológicos

Este grupo de pruebas diagnósticas permite la detección de los anticuerpos a partir del día 10 y del día 14 post-infección.

C-ELISA (OIE, 2014)

El ELISA de competición mide los anticuerpos específicos contra el EHDV sin detectar anticuerpos contra otros *Orbivirus* que puedan generar reacción cruzada. Para ello se utilizan anticuerpos monoclonales (MAbs) contra la proteína VP7 del EHDV que permiten detectar los anticuerpos específicos del serogrupo de la EHD.

Neutralización del virus (OIE, 2014)

Esta técnica detecta y cuantifica anticuerpos específicos de serotipo. El principal inconveniente es que en la prueba deben incluirse todos los serotipos víricos sospechados, y en consecuencia puede resultar muy lenta y laboriosa, ya que la VN requiere 3-5 días en total.

5.4. Epidemiología

Se trata de una enfermedad vectorial, por eso su distribución está relacionada con la distribución de vectores competentes. En función de los focos habidos, se sitúa entre 35°S y 49°N, a diferencia del BTV que ha llegado incluso a Noruega (60°N). Este es uno de los aspectos que aún debe ser estudiado, pues no se entiende como siendo dos virus tan similares y que comparten el mismo ciclo vital, uno de ellos ha llegado a Europa mientras que el otro aún no lo ha hecho (Savini *et al.*, 2011).

En los cérvidos, las epidemias en fauna silvestre normalmente se localizan en épocas lluviosas, principalmente a principios de otoño. La bajada de temperaturas normalmente detiene la epidemia pero ésta puede reactivarse ante la reaparición del tiempo cálido en primavera. Dentro de los cérvidos, normalmente los más afectados son las especies de cola blanca. Los animales que sobreviven a la enfermedad desarrollan anticuerpos protectores, de hecho en algunas poblaciones de cérvidos el 100% de los animales presentaban anticuerpos protectores (MAGRAMA, 2013).

En los bóvidos, los brotes han sido descritos en Corea, Japón y Taiwán, normalmente localizados al final de verano o principio de otoño, alcanzando una mortalidad de un 10%. Durante los últimos años la enfermedad también se ha descrito en Marruecos, donde se producen pérdidas de producción de los animales, si bien la mortalidad no es frecuente (MAGRAMA, 2013).

5.4.1. Vectores

No se sabe mucho sobre los vectores del EHDV, aunque se supone que deben ser los mismos que los del BTV. Por ello, los factores vectoriales estudiados, tales como: interacciones virus-vector, lugares de cría, taxonomía, ecología, estacionalidad y control; son aplicables para la EHD (EFSA, 2009). El papel que podrían tener otros artrópodos hematófagos no ha sido estudiado (Ruder *et al.*, 2015).

La presencia y abundancia del vector condiciona la existencia de la enfermedad y su difusión. De las más de 1400 especies de *Culicoides* existentes, el 96% son chupadores de sangre obligados de los mamíferos y aves. En la Tabla 1 se muestran las especies sospechosas de transmitir la EHD, su relación taxonómica y la localización geográfica donde se han realizado los estudios (EFSA, 2009; Savini *et al.*, 2011). Cómo se observa en la tabla, la única de las especies que cumple los cuatro criterios definidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) es *C. sonorensis*, aunque en cualquier caso, la especie más interesante para este trabajo es el *C. imicola*, ya que es el vector de *Orbivirus* más común en el Mediterráneo. Otro estudio realizado por Paweska *et al.* (2005) en Sudáfrica concluye que, al menos, ocho de las 17 especies de *Culicoides* estudiadas serían capaces de transmitirlo. Sin embargo, esta especificidad parece depender de los receptores que poseen las células intestinales, que reconocen a los virus y los fagocitan, permitiendo su multiplicación en el interior de las células y posterior diseminación hasta las glándulas salivares. Un dato relevante es que en los diferentes estudios que se han ido realizando se ha visto que no sólo existe una especificidad de especie del vector, sino que también ha sido observada una especificidad por colonias a nivel de laboratorio y en muestreos de campo (Howerth *et al.*, 2001).

La temperatura de desarrollo varía según la especie, y no se conoce con exactitud. Los *Culicoides* presentan actividad crepuscular o nocturna, pero con humedad y cielo cubierto algunas especies como *Culicoides obsoletus* y *Culicoides dewulfi* pueden volar incluso en las horas centrales del día. A pesar de que con lluvia y viento no suelen volar, en determinadas condiciones de temperatura y humedad, las corrientes de aire pueden desplazarlos cientos de kilómetros. Trabajos recientes también han demostrado que, pese a que suelen encontrarse fuera de las construcciones, los *Culicoides* pueden encontrarse dentro de las instalaciones ganaderas sobre todo en los meses invernales cuando las condiciones climáticas exteriores son más adversas (Sánchez Cordón *et al.*, 2008).

Distribución geográfica

C. imicola es una especie afro-asiática que se ha establecido por sí misma por todo el sur de Europa y, actualmente, se encuentra ampliamente distribuido por Portugal, España (incluyendo las Islas Baleares), el sur de Francia, Córcega, Italia, Cerdeña, Sicilia, Grecia y varias

de sus islas más próximas a Turquía. *C. obsoletus* y *C. puneatus* están ampliamente distribuidos por el norte y centro de Europa. *C. schultzei* se encuentra en el continente africano y en Oriente Medio, aunque también se le ha localizado en el sur de Grecia. En Australia, *C. brevitarsis* parece ser el responsable y en los EE.UU. la distribución de *C. sonorensis* se establece en una diagonal que recorre los estados desde el noroeste hasta el sudeste (Sánchez Cordón *et al.*, 2008; Savini *et al.*, 2011).

Estacionalidad

La mayoría de los casos de EHD ocurren entre finales de verano y principios de otoño, fechas que coinciden con los picos de máxima actividad de los vectores. Lo que se traduce en que el EHDV, se transmite más con el aumento de temperatura (Savini *et al.*, 2011). Un claro ejemplo de ello lo tenemos en Norteamérica, pues la distribución de la EHD refleja la distribución y los picos de actividad del *C. sonorensis* (Howerth *et al.*, 2001).

Ahora bien, en el caso del BTV, la aparición de la enfermedad en países de la cuenca mediterránea, centro y norte de Europa ha estado favorecida por el cambio climático, lo que ha originado la llegada y la permanencia de los vectores. Tradicionalmente se establecían las latitudes 40°N y 35°S como áreas donde se encontraba presente *Culicoides imicola*, vector clásico de transmisión del BTV, el cual necesita temperaturas más elevadas para su supervivencia, alcanzando su pico de abundancia entre primavera y otoño. Sin embargo, el vector ha sido capaz de colonizar y permanecer en nuevas áreas localizadas en lugares de clima más frío (con 7°C pueden volar y transmitir la enfermedad), donde nunca antes había sido descrito. Esto le ha permitido infectar rumiantes en áreas que estaban fuera de su rango de temperatura, y poner el virus a disposición de otras especies como *Culicoides obsoletus*; especies no descritas antes como transmisoras del virus y que ahora juegan un importante papel en la hibernación del virus en áreas del norte de Europa. Esta especie abunda en Europa Central y en todo el tercio norte de España, donde aparece muy precozmente y puede estar presente todo el invierno, alcanzando sus máximos en los meses de verano. Igualmente, el transporte de animales facilita la diseminación de los serotipos que actualmente afectan a un área de Europa hacia áreas ocupadas por otras especies de *Culicoides*. Por todos estos motivos se podría esperar un escenario similar en el caso del EHDV (Sánchez Cordón *et al.*, 2008).

Hasta el momento, la transmisión del EHDV en la cuenca mediterránea ha estado asociada a la presencia de *Culicoides imicola* en el norte de África. Esta situación podría cambiar si, otras especies de *Culicoides* que se localizan en regiones geográficas más septentrionales fuesen capaces de transmitir eficazmente el EHDV (Sánchez Cordón *et al.*, 2008).

Hibernación (Arenas Montes, 2013).

La hibernación u *overwintering*, es el proceso por el cual los *Orbivirus* sobreviven durante la época invernal. Puesto que sobre este tema no existe una explicación consensuada, se barajan varias teorías:

- ∴ Sobre la supervivencia de virus en el vector:
 - La primera hipótesis sugiere la entrada, en las épocas más cálidas, de *Culicoides* infectados que llegan desde zonas de clima tropical o subtropical en las que el vector está presente todo el año.
 - La segunda apunta que los insectos quedan resguardados en naves ganaderas o establos.
 - La tercera se basa en la transmisión ovárica del virus en las hembras de *Culicoides*, ya que se ha demostrado que el vector en estado larvario puede aguantar hasta 9 meses en diapausa, si las condiciones le son favorables, y luego pasar a adulto infectante.
 - La última supone la intervención de otros géneros de artrópodos que presenten mayor actividad en épocas frías y que actúen como vectores.
- ∴ Sobre la supervivencia del virus en los rumiantes:
 - Una de las teorías apuesta por un largo periodo de viremia del EHDV en los animales infectados. En cambio los experimentos no muestran que éste dure más de 100 días, como máximo, en bovino. A priori, este tiempo parece ser muy corto porque el virus está inactivo durante siete u ocho meses.
 - La otra plantea la transmisión transplacentaria en los rumiantes, aunque no existen evidencias al respecto.

De todas estas hipótesis, la que parece más lógica supone la actuación combinada del vector y de los hospedadores vertebrados.

5.4.2. Hospedadores

En la Tabla 2 se describen las especies susceptibles. Se sabe que el cerdo no es susceptible y que el perro tampoco, aunque aún hay una gran falta de información (Savini *et al.*, 2011).

La seroconversión ha sido observada en cabras y vacas tras una infección natural, pero no en ovejas. Sin embargo, el papel que éstas puedan tener en la epidemiología de la enfermedad resulta desconocido (Kedmi *et al.*, 2010^a).

5.4.3. Distribución geográfica

El virus se distribuye fundamentalmente por Norteamérica, África, cuenca mediterránea, Japón y Oceanía (Fig. 13).

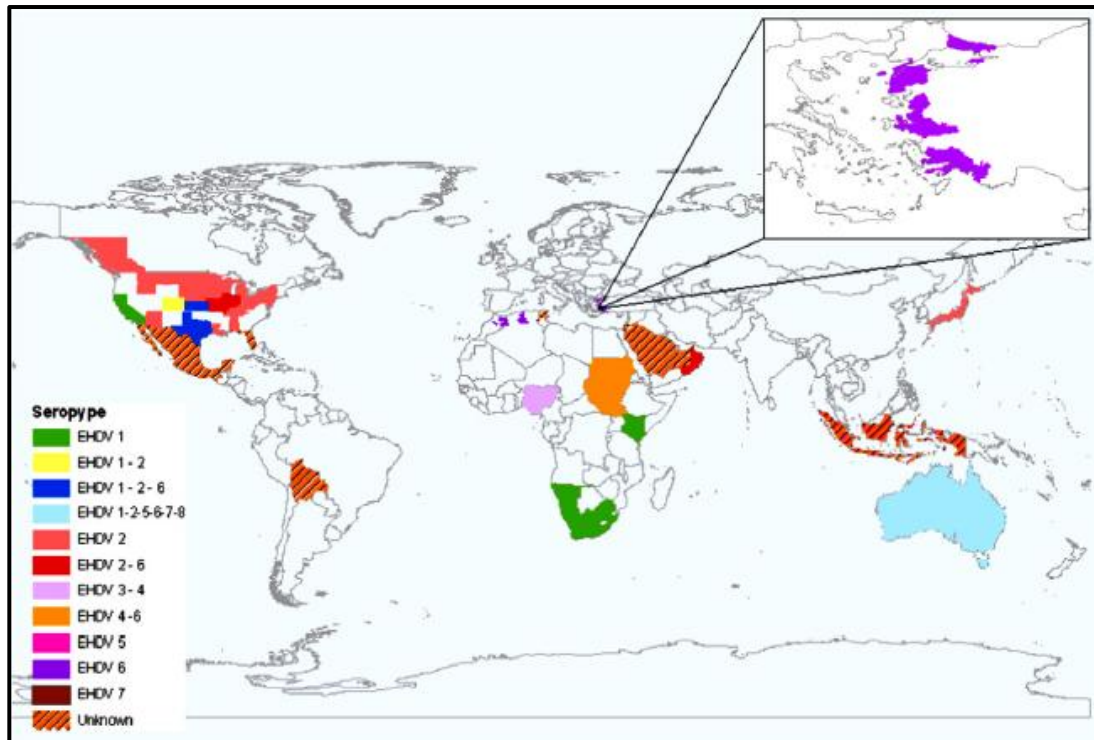


Fig. 13:
Mapa con la localización del EHDV a nivel mundial (Tomada de Savini *et al.*, 2011).

Cuenca Mediterránea

El primer caso sospechoso de EHD se detectó en 1951 en ovejas y vacas en Israel y, posteriormente, en Turquía. En el año 2001 se detectaron varios casos sintomáticos en Israel y en 2004 se identificó el EHDV-6 en Marruecos; que dio otro foco en 2006 en Marruecos, Argelia y Túnez (Albayrak *et al.*, 2010). En 2007 la EHD reapareció en Turquía y Jordania y se identificó el EHDV-7 como responsable de estos focos. Se puede afirmar que los focos ocurridos entre 2006 y 2007 (Fig. 14), fueron provocados por ambos serotipos (Savini *et al.*, 2011).

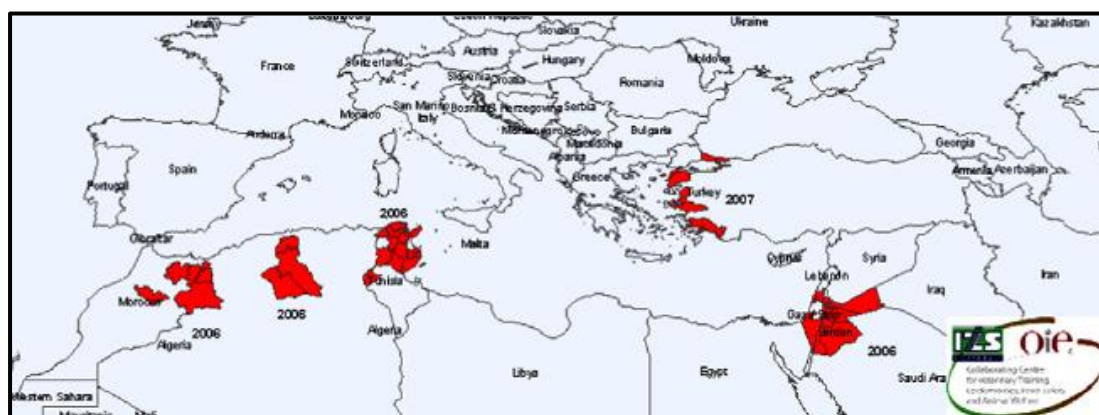


Fig. 14:
Localización de los focos más recientes (2006-2007) en la Cuenca Mediterránea (Tomada de OIE, 2009).

Norteamérica

La EHD se distribuye en una diagonal que va desde el noroeste hasta el sudeste de los EE.UU. (Fig. 15), que coincide con la distribución del vector *C. sonorensis*. Sin embargo, también se han dado casos fuera del área de actividad del vector, en el oeste de Canadá y en Nueva Jersey (Savini *et al.*, 2011).

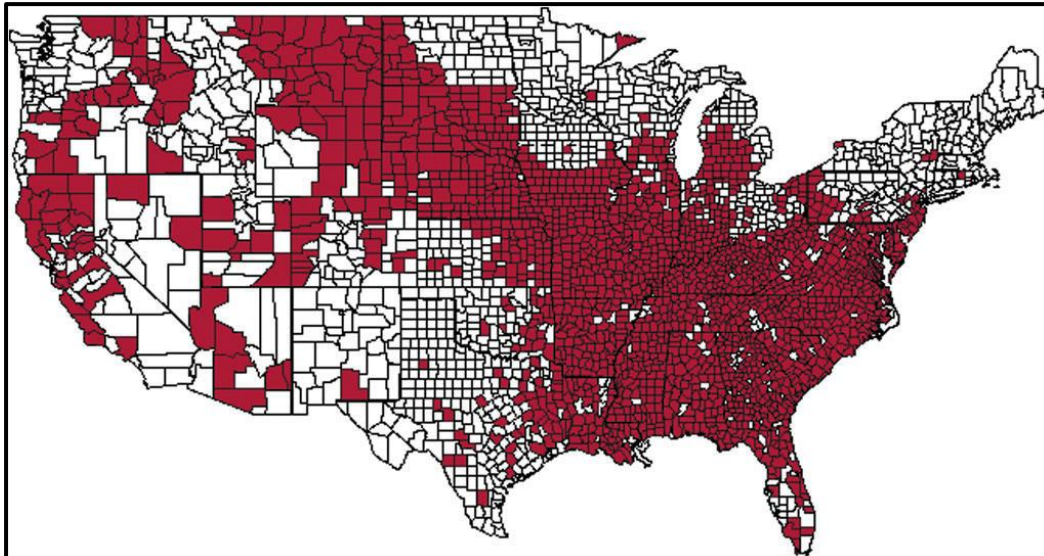


Fig. 15:
Distribución de la EHD en los EE.UU. (Tomada de Ruder *et al.*, 2015).

Los estudios realizados en los EE.UU. demuestran que, por lo general, su frecuencia disminuye con la latitud, mientras que la mortalidad aumentaría. Cabe decir que los episodios de altas mortalidades que afectan a un gran número de animales suelen ocurrir esporádicamente en la parte oeste de los EE.UU. Mientras que en la parte sudeste, se suelen dar casos con bajas mortalidades, en consonancia con la alta prevalencia de anticuerpos en estas poblaciones de cérvidos y con las lesiones en las pezuñas de los animales cazados durante la veda, que muestran que el animal no muere durante el transcurso de la enfermedad. En cuanto a la periodicidad de la infección en estas zonas endémicas, suele ser de ciclos anuales a trianuales. Se cree que esto puede ser el resultado de la combinación de la inmunidad del rebaño junto con la fluctuación natural de las poblaciones vectoriales en función del clima (Savini *et al.*, 2011; Stallknecht *et al.*, 1996).

Sudeste asiático

El primer caso confirmado del virus Ibaraki (EHDV-2) se dio en 1959 en Miyazaki y Kagoshima, al sudeste de Japón. Se cree que el virus se encontraba en circulando en China y Taiwán y llegó a Japón ese mismo año gracias a los fuertes vientos provocados por la tormenta tropical Ellen y que en 1975 también llegó a Indonesia. No existen más estudios acerca de su distribución, pero se cree que debe estar ampliamente distribuido en las zonas templadas y tropicales del sudeste asiático (Savini *et al.*, 2011).

África subsahariana y Península Arábiga

Se sabe muy poco sobre la distribución del virus en estas zonas. Entre 1967 y 1970 el EHDV-3 (actualmente EHDV-1) y el EHDV-4 se aislaron en Nigeria. Entre 1995 y 1997 el EHDV-3 se detectó en Sudáfrica. Este mismo serotipo se aisló en la isla de La Reunión en 2003 y en 2009. El último caso del que se tiene constancia ocurrió al oeste de Kenia en 2010, pero no se pudo reconocer el serotipo (Sailleau *et al.*, 2011; Toye *et al.*, 2012).

En 1980 el EHDV-6 se aisló en Sudán y en 1985 en Bahrein. Entre 1987 y 1988 el EHDV-2 y el EHDV-6 se aislaron en Omán. Entre 1991 y 2001 ocurrieron casos compatibles con la EHD en Arabia Saudí y los Emiratos Árabes, pero no fueron confirmados (Savini *et al.*, 2011).

Oceanía

Todos los serotipos excepto el EHDV-4 se consideran enzoóticos en Australia, pero ninguno de ellos provoca sintomatología clínica tras la infección natural. Las infecciones tienen lugar durante la estación lluviosa, de agosto a mayo. Su distribución se localiza en el Territorio del Norte, al este de Queensland y al noreste de Nueva Gales del Sur. En Nueva Zelanda el EHDV no ha sido detectado ni tampoco anticuerpos frente a él (Weir *et al.*, 2014).

5.5. Análisis de los factores de riesgo

5.5.1. Factores predisponentes

Los factores siguientes son una serie de condicionantes que hacen de la Península Ibérica una zona propicia para el desarrollo y dispersión de la EHD.

Latitud

El desarrollo de la enfermedad entre las latitudes 35°S y 49°N, que comprende la Península Ibérica en ellas. Lo se traduce en que nuestro país tiene las condiciones propicias para el desarrollo de la enfermedad (Savini *et al.*, 2011).

Proximidad con el norte de África

Los últimos focos de la EHD han ocurrido en Túnez e Israel entre octubre y noviembre de 2015 (WAHID, 2015^{a, b, c}). Teniendo en cuenta que el EHDV se encuentra circulando actualmente en la zona norte del continente africano y que el otoño es la época de mayor actividad del vector, tanto en España como en el resto del mediterráneo, el riesgo potencial de entrada es patente.

El riesgo podría ser aún mayor si se confirmase que el EHDV-6 del mediterráneo también tiene en su genoma segmentos de otros serotipos más virulentos, como el EHDV-6 americano. Esto podría ser cierto si se tiene en cuenta que el aumento de patogenicidad del EHDV-6 coincide con su dispersión por la Cuenca Mediterránea y por Norteamérica en 2006, pues hasta ese año

sólo se sabía que el EHDV-6 era endémico de Australia y que no había sido detectado en otro lugar. A este dato hay que añadir que actualmente no existe un análisis completo del genoma del EHDV-6 mediterráneo que confirme o desmienta esta suposición. Tampoco se sabe si el EHDV-6 se encontraba previamente en la zona mediterránea o fue introducido de algún modo en 2006, pues los casos de EHD ocurridos en Israel en 1951 no se atribuyeron a ningún serotipo.

Sobreabundancia

El aumento de densidad de las diferentes poblaciones de ciervos en España, conocido como sobreabundancia, se viene observando durante los últimos años; pudiéndose encontrar densidades medias inusualmente elevadas de entre 5,75 y 21,81 animales/Km². Otro hecho que constata este aumento poblacional es la cantidad de ciervos abatidos anualmente, que ha venido sobrepasando los 50.000 ejemplares en los últimos años sólo en Andalucía, suponiendo más del 43 por ciento del total nacional (Arenas Montes, 2013).

Densidad de *Culicoides*

La elevada densidad de *Culicoides* al suroeste de la Península Ibérica, pues el BTV ya estuvo circulando en un principio por esta zona y sería de esperar que, en caso de que el EHDV cruce nuestras fronteras, siga un patrón de dispersión bastante parecido (Arenas Montes, 2013). Este planteamiento lo avalan estudios realizados en Kenia (Toye *et al.*, 2012) e Israel (Kedmi *et al.*, 2010^b), en los que se compara la distribución de ambos virus y se observa que sus patrones de distribución y dispersión son muy similares (Savini *et al.*, 2011).

Infección subclínica

La amplificación del EHDV-6 y EHDV-7 en los animales ocurre de manera sub-clínica o con sintomatología muy leve (Gaydos *et al.*, 2002). Es decir, el virus puede estar infectando a los animales de una zona sin ser detectado de manera clínica en ausencia de análisis serológicos; y para cuando se detecte ya puede estar ampliamente distribuido.

5.5.2. Vías de introducción

Éstas son las posibles vías de entrada que pueden hacer llegar el EHDV hasta nuestras fronteras.

Animales infectados (EFSA, 2009)

La enfermedad sólo puede entrar mediante animales que estén en periodo de incubación o virémicos. Para que esto sea posible, el animal debe provenir de un área infectada dónde haya especies *Culicoides* activas que lo infecten antes de su desplazamiento y, por último, que esté en periodo de incubación o sea infectante durante el movimiento.

- ∴ Importación ilegal de animales vivos. Estimar la importancia que puede tener la importación ilegal es muy difícil porque no se dispone de datos. Por ello, y por el largo periodo de viremia de los animales, se considera que existe un riesgo significativo.
- ∴ Importación legal de animales vivos. En este caso, la Unión Europea (UE) tiene una legislación disponible y unos datos actualizados consultables. Sólo se permite importar animales vivos de los países mencionados en el Anexo I del R (UE) 206/2010/CEE del 12 de marzo de 2010. Ningún país de los allí incluidos ha tenido casos de EHD excepto en la Columbia Británica (Canadá), y en este caso la UE no permite la importación de animales en este área.

En el histórico de datos de las importaciones realizadas por la UE no se observa ninguna importación de cérvidos salvajes. Además, todos los rumiantes que se importen deben dar negativo en dos pruebas de inmunodifusión en gel de agar, la primera de ellas en el plazo de los dos días siguientes a su llegada al centro de cuarentena y la segunda, un mínimo de veintiún días después de la primera (R (UE) 206/2010/CEE de 12 de marzo de 2010). Por todo ello, el riesgo de entrada por esta vía se estima insignificante.

- ∴ Tránsito de animales salvajes capturados. El sistema TRACES (*TRAdE Control and Expert System*) es un sistema informático veterinario integrado en el que todos los animales con los que se comercia quedan registrados. El problema reside en que no se tiene constancia de los intercambios que se hacen con animales allí donde no haya habido comercio registrado. En este caso, el riesgo de introducir la EHD depende del origen de los animales, es decir, si provienen de una zona de alta prevalencia de la enfermedad. Por esto se valora como en el caso de los movimientos ilegales, teniendo un riesgo significativo.
- ∴ Movimiento transfronterizo de animales salvajes. Hasta la fecha, no se tienen datos certeros de la prevalencia de la EHD en los países vecinos con los que poder estimar el riesgo, especialmente en el área del mediterráneo. En cualquier caso, este dato puede ser más interesante para valorar la posible entrada mediante los vectores.

Vectores infectados (EFSA, 2009)

En este caso, la llegada del EHDV mediante un vector infectado depende de la supervivencia del EHDV durante el desplazamiento del vector, lo que, a su vez, depende de la temperatura, de la presencia de animales virémicos, el número de vectores por animal, el número de veces que el vector puede morder por día y de la capacidad del vector para transmitir nuevamente el virus a un hospedador competente. Estos vectores pueden llegar al hospedador mediante:

- ∴ Viento. Generalmente, esta forma de transmisión desplaza los insectos del norte de África hacia Europa a través del mediterráneo. La principal vía de entrada es el sur de la península ibérica debido a la corta distancia que separa ambos continentes y a la ausencia de barreras geográficas. Como resultado, se forma el ábrego, un viento que viene desde el suroeste y que en este caso traslada los *Culicoides* de un continente a otro; aumentando el riesgo de entrada en épocas de abundancia de vectores. En la Fig. 16 se puede ver cómo influyen las diferentes corrientes de viento en la dispersión de las enfermedades víricas.
- ∴ Vectores traídos junto mercancías. Se entiende como mercancía todo aquello que no sean animales rumiantes, como caballos o plantas exóticas que vengan de zonas endémicas del EHDV y que puedan traer vectores infectados con ellas. El riesgo en este caso es difícil de estimar.

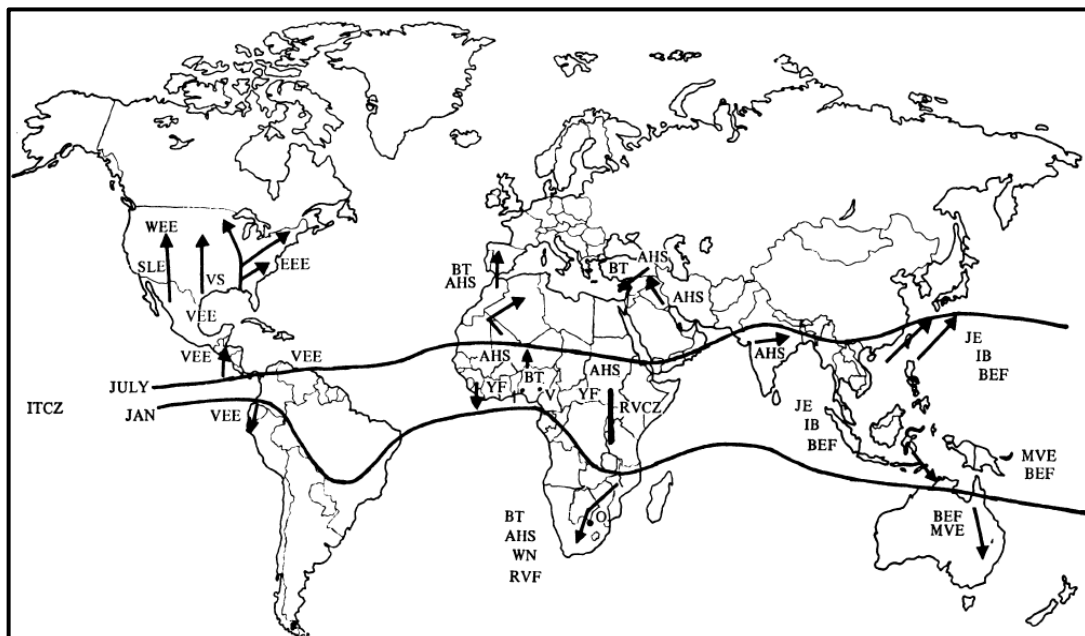


Fig. 16: Dispersión de las enfermedades víricas bajo la influencia las corrientes de viento (Tomada de Sellers, 1979).

Semen y ovocitos

Sólo se ha hecho un estudio sobre la capacidad de transmisión del EHDV a través del semen en ovejas y toros en los que los animales no resultaron infectados (Gard *et al.*, 1989). Pero en otro estudio de Fox *et al.* (2015), se encontraron lesiones en testículos y las astas de ciervo mulo posiblemente asociadas a la EHD. Se puede decir que esta vía debe ser más estudiada para determinar en qué medida influye en la transmisión del virus (EFSA, 2009).

Vacunas

El riesgo debido a vacunas contaminadas se considera insignificante para los productos medicinales autorizados, siempre y cuando se sigan las buenas prácticas de fabricación y los

controles pertinentes que establece la Farmacopea Europea (Dir. 2001/82/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de noviembre de 2001; EFSA, 2009).

5.6. Medidas de profilaxis, control y erradicación (MAGRAMA, 2013; EFSA, 2009)

Las medidas de prevención y lucha contra la enfermedad adoptadas en España se enmarcan en la política de la UE en materia de sanidad animal. El ámbito legal que define todas las actuaciones de lucha frente a la EHD se halla recogido en la siguiente normativa:

- ∴ Ley General de Sanidad Animal 8/2003, de 24 de abril.
- ∴ Real Decreto 617/2007, de 16 de mayo, por el que se establece la lista de las enfermedades de los animales de declaración obligatoria y se regula su notificación.
- ∴ Orden ARM/831/2009, de 27 de marzo, por la que se modifican los anexos I y II del Real Decreto 617/2007, de 16 de mayo, por el que se establece la lista de las enfermedades de los animales de declaración obligatoria y se regula su notificación.

5.6.1. Profilaxis preventiva

Para evitar la entrada de la enfermedad se deben realizar controles sobre las posibles vías de introducción del EHDV antes mencionadas, es decir, importación de animales vivos, semen, ovocitos y vacunas.

Si los servicios de vigilancia entomológica, con ayuda de los servicios meteorológicos, augurasen la llegada de una nube de vectores infecciosos, quizás estaría indicado el establecimiento de medidas que impidan el contacto del vector con los hospedadores susceptibles. El rol de los servicios de vigilancia entomológica y las medidas sobre bioseguridad y confinamiento de los animales y uso de insecticidas y repelentes se detallan más adelante, en el plan de lucha.

No existen vacunas comerciales, pero en Norteamérica se han desarrollado vacunas autógenas inactivadas aislando el virus de animales muertos o enfermos y en Japón han creado vacunas inactivadas y atenuadas, demostrando estas últimas ser seguras y efectivas.

5.6.2. Plan de lucha

Un programa de vigilancia (activo y pasivo) en zonas de alto riesgo usando test de diagnóstico sensitivo debe ser establecido para la detección temprana de la introducción de la enfermedad. En caso de la aparición de un foco en la UE, las acciones claves deben ser: la detección de animales infectados, las investigaciones epidemiológicas, la restricción de movimientos y, finalmente, la vigilancia a largo plazo. La vigilancia se debe hacer mediante test

serológicos. Si se detectan animales virémicos en una zona que estaba considerada libre, el sacrificio de dichos animales debe ser utilizado como medida de control. Además, la reducción de la presencia de *Culicoides*, con insecticidas y repelentes, buenas prácticas de higiene en la granja y eliminación de sitios de cría pueden ser usados también para el EHDV. Estas medidas se explican con mayor detalle en los siguientes puntos:

- ∴ Rápida notificación a las autoridades competentes de la Comunidad Autónoma (CA). Se llevará a cabo en todos los casos declarados sospechosos en función de las observaciones clínicas, patológicas y epidemiológicas; y de los resultados de las pruebas serológicas. Dicha autoridad lo comunicará al Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA) para la puesta en marcha del Plan de Alerta Sanitaria.

El inspector veterinario de la unidad veterinaria local acudirá a la explotación sospechosa de forma inmediata y se llevarán a cabo las actuaciones recogidas en el siguiente esquema (Fig.17):

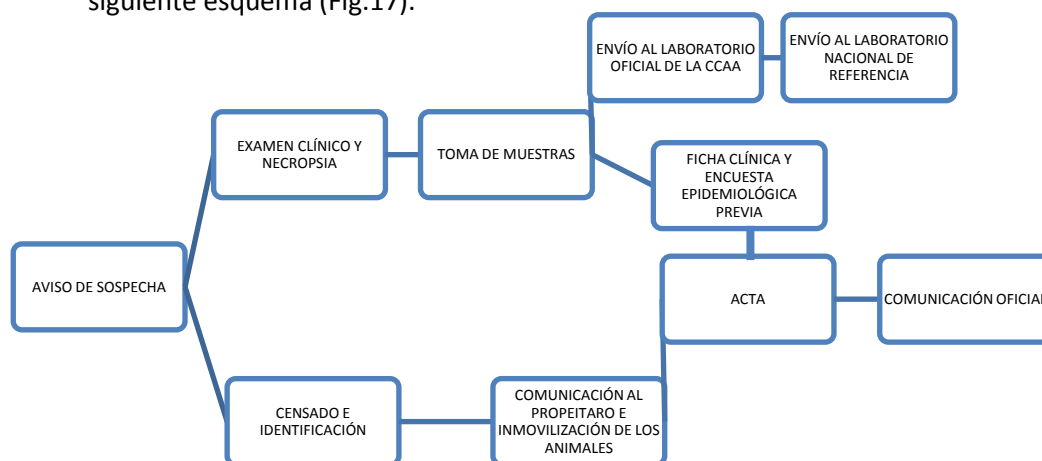


Fig. 17: Diagrama de flujo con el protocolo de actuación del veterinario oficial en el caso de sospecha de EHD en una explotación. Adaptado de MAGRAMA, 2013.

- ∴ Sacrificio. Debido a las características epidemiológicas de la enfermedad y su modo de transmisión, no está justificado el sacrificio total en la explotación como medio de erradicación tras la confirmación de la enfermedad. No obstante el inspector veterinario puede ordenar el sacrificio de los animales que se considere necesario cuando se trata de animales positivos, con el fin de reducir la carga viral en el medio, y por motivos de bienestar animal, en animales con sintomatología aguda o subaguda.
- ∴ Restricción de movimientos. Tanto de animales, semen y óvulos procedentes de la explotación o explotaciones afectadas.
- ∴ Area de protección y de vigilancia. Se establecerá alrededor de los focos un diámetro de 100 y 50 kilómetros respectivamente. El tamaño de dichas áreas pueden

modificarse de acuerdo con criterios geográficos, climáticos y entomológicos; y en función de la evolución de la situación epidemiológica.

En el caso de que las zonas de protección y/o vigilancia se extiendan fuera del territorio nacional (Francia o Portugal), el órgano competente de la CCAA lo notificará al MAGRAMA a efectos de que pueda establecerse la oportuna colaboración.

- ∴ Confinamiento de animales. Medidas de bioseguridad y confinamiento de los animales en las horas del día de mayor actividad del vector para evitar el contacto del vector con el ganado estabulado.
- ∴ Uso de insecticidas y repelentes. Se llevará a cabo en animales, naves y medios de transporte, con especial atención a otras especies como los équidos, que si bien no son susceptibles a ser infectados por el virus de la EHD, sí que pueden llevar con ellos mosquitos del género *Culicoides* que puedan portar el virus.
 - Existen en España insecticidas de uso externo que están autorizados por la Agencia Española del Medicamento (AEM). Sin embargo, ninguno de estos productos incluye entre sus indicaciones autorizadas su uso frente a *Culicoides*. Por esta razón, el uso de dichos productos para el control de dichos vectores precisa de una prescripción excepcional y su uso generalizado aplicado directamente en los animales no está recomendado.
 - Para el tratamiento de animales se recomienda el uso de productos con acción repelente (Tabla 3), cuya acción evita o disminuye la posibilidad de que el mosquito pique a los animales. La mayoría de estos productos tiene tiempos de espera cortos y son, por lo general, aerosoles o soluciones de aplicación tópica.
- ∴ Iniciar investigaciones. Puesta en marcha de investigaciones clínicas, serológicas, epidemiológicas y entomológicas en las áreas de protección y vigilancia establecidas en torno a los focos.
 - Vigilancia serológica en poblaciones silvestres y mediante el uso de vacas centinela, que permita una detección precoz de la presencia de la enfermedad.
 - El objetivo de la vigilancia entomológica debe ser la detección del vector y, en su caso, el conocimiento de las épocas de mayor riesgo de difusión de la enfermedad. En este tipo de estudios se emplean trampas adaptadas a capturas que suponen la muerte del insecto y su conservación en un medio apropiado. Para ello se creó en 2005 un Programa de Vigilancia Entomológica que mantiene una Red de Estaciones de Vigilancia Entomológica Permanente en todo el estado, con el fin de obtener una información rápida y actualizada de la presencia y abundancia de *Culicoides*.

∴ Vacunación. Las vacunas pueden jugar un rol primario en el control de la EHDV. Sin embargo, actualmente no contamos con vacunas comerciales en el mercado para la EHD porque ha habido poco interés por parte de los laboratorios y empresas de productos biológicos en la preparación de vacunas para controlar la enfermedad o la circulación del virus; aún así, existen ejemplos prácticos del uso de vacunas como medida de control. En EE.UU. se han desarrollado vacunas autógenas a partir de cepas del EHDV procedentes de animales enfermos o muertos en zonas afectadas para utilizar en ciervos salvajes que viven en cautividad. La mayoría de aplicaciones las realizan productores de ciervos, y dado que las vacunas contienen virus inactivado, en general es necesario aplicar dos dosis con una diferencia entre ellas de 2-4 semanas para inmunizar inicialmente a los animales, y se recomienda una revacunación anual. Mientras que en Japón se han desarrollado vacunas inactivadas y atenuadas para el ganado bovino. La vacuna viva atenuada derivada de la cepa Ibaraki-2 se utilizó tras los brotes de los años 1980, y se observó que era segura y efectiva. Esta vacuna debe administrarse en una sola dosis subcutánea durante la estación de escasa presencia del vector.

6. Conclusiones/*Conclusions*

Conclusiones

1. El virus de la EHD produce una enfermedad grave en ciervos y vacas, que está descrita fundamentalmente en Norteamérica, África, la cuenca mediterránea, Japón y Oceanía.
2. El virus de la EHD se ha localizado cerca de la península ibérica y existe riesgo real de entrada debido a las características geográficas de la península.
3. Para evitar la entrada, se deberían aplicar medidas profilácticas tales como: controles en la importación de animales vivos, semen, ovocitos y vacunas. Si el riesgo se estima elevado se pueden aplicar medidas que eviten el contacto del hospedador con el vector tales como: medidas de bioseguridad y confinamiento de los animales y el uso de insecticidas y repelentes.
4. En el caso de la entrada del virus y de la enfermedad asociada, se debería aplicar las medidas de control incluidas en el plan de lucha, que son: la rápida notificación a las autoridades, sacrificio de los animales infectados si se estima necesario, el establecimiento de las áreas de protección y de vigilancia e iniciar las investigaciones pertinentes así como el desarrollo de vacunas autógenas; además de las medidas citadas en el punto anterior.

5. Se debe seguir investigando todo lo relacionado con los factores que intervienen en su epidemiología para así saber cómo, y en qué grado, interviene cada uno de en la dispersión del EHDV.

Conclusions

1. EHDV, which causes serious illness in deer and cattle, is basically located in North America, Africa, the Mediterranean basin, Japan and Oceania.

2. EHDV has been detected near the Iberian Peninsula and due to its geographic characteristics there is a real risk of viral entrance in to this area.

3. In order to avoid the risk of viral entrance, prophylactic measures should be applied, such as: controls on the importation of live animals, semen, oocytes and vaccines. If a high risk is estimated, measures to avoid contact between vectors and host can be applied, for example: biosecurity and confinement measures and the use of insecticides and repellents.

4. In case of viral entrance and spread of the associated disease, measures of control should be included in the battle plan, for example: quickly notifying the authorities, culling of any infected animal if it is considered necessary, establishing protection and surveillance areas and starting appropriate investigations and development of autogenous vaccines; as well as those included in the previous conclusion.

5. Epidemiological factors must still be studied in order to understand how, and in what way, they play a role in the spread of EHDV.

7. Valoración personal

La realización de este trabajo me ha permitido profundizar en el conocimiento de esta enfermedad, así como familiarizarme con las diferentes bases de datos, tanto científicas como legislativas y el desarrollo de mis capacidades de síntesis y redacción requeridas en el ámbito académico.

También me ha servido para aprender a discernir la información desde un punto de vista crítico, obligándome a revisar una y otra vez la información en busca de los datos más actualizados. Lamentablemente, he podido comprobar que muchas de las preguntas que planteaban los antiguos estudios siguen sin respuesta a día de hoy, probablemente por la falta de interés o de medios.

Por último, la lectura de artículos en inglés y en francés me ha ayudado a ganar mayor agilidad lectora en estos idiomas.

8. Agradecimientos

Gracias a mi tutor Lluís Luján, por ser tan implacable, como paciente, con sus correcciones y especialmente a Annick Linden y a todo su equipo por darme la oportunidad de descubrir el papel del veterinario en la fauna salvaje. Y cómo no, a mis amigos y familiares por la paciencia y comprensión demostradas en los momentos de mayor crispación, sin vosotros nada de esto merecería la pena (and you know it). Por último, quisiera extender mi agradecimiento a todas las personas que han intervenido haciendo posible que este trabajo llegue a buen puerto. Moltíssimes gràcies a tots! Merci encore une fois!

9. Bibliografía

- ALBAYRAK H, OZAN E, GUR S (2010). A serologic investigation of epizootic hemorrhagic disease virus (EHDV) in cattle and *Gazella subgutturosa subgutturosa* in Turkey. *Animal Health Production*, **42**, 1589-1591.
- ANBALAGAN S, COOPER E, KLUMPER P, SIMONSON RR, HAUSE BM (2014). Whole genome analysis of epizootic hemorrhagic disease virus identified limited genome constellations and preferential reassortment. *Journal of General Virology*, **95**, 434-441.
- ARENAS MONTES AJ (2013). *Estudio Epidemiológico de lengua azul y enfermedad hemorrágica epizootica en ecosistemas mediterráneos del sur de España*. Tesis Doctoral (con Mención Internacional), Universidad de Córdoba. Córdoba, España. 31-184.
- BOE, España. Ley 8/2003, de 24 de abril, de sanidad animal. *Boletín Oficial del Estado*, 25 de abril de 2003, núm. **99**, 16006-16031.
- BOE, España. Real Decreto 617/2007, de 16 de mayo, por el que se establece la lista de las enfermedades de los animales de declaración obligatoria y se regula su notificación. *Boletín Oficial del Estado*, 17 de mayo de 2007, núm. **118**, 1-10.

- BOE, España. Orden ARM/831/2009, de 27 de marzo, por la que se modifican los anexos I y II del Real Decreto 617/2007, de 16 de mayo, por el que se establece la lista de las enfermedades de los animales de declaración obligatoria y se regula su notificación. *Boletín Oficial del Estado*, 4 de abril de 2009, núm. **82**, 31990-331995.
- CENTER FOR FOOD SECURITY & PUBLIC HEALTH (CFSPH) (2010). Enfermedades causadas por el serogrupo de la enfermedad hemorrágica epizootica. *Emerging and Exotic Diseases of Animals*. **9**, 1-5.
- EUROPEAN FOOD SECURITY AUTHORITY (EFSA) (2009). Scientific Opinion on Epizootic Haemorrhagic Disease. *EFSA Journal*, **7**, 1-67
- FOX KA, DIAMOND B, SUN F, CLAVIJO A, SNEED L, KITCHEN DN AND WOLFE LL. (2015). Testicular lesions and antler abnormalities in Colorado, USA mule deer (*Odocoileus hemionus*): a possible role for epizootic hemorrhagic disease virus. *Journal of Wildlife Diseases*, **51**, In press.
- GARD GP, MELVILLE LF AND SHORTHORSE JE (1989). Investigations of bluetongue and other arboviruses in the blood and semen of naturally infected bulls. *Veterinary Microbiology*, **20**, 315.
- GAYDOS JK, DAVIDSON WR, ELVINGER F, HOWERTH EW, MURPHY M AND STALLKNECHT DE. (2002). Cross-protection between epizootic hemorrhagic disease virus serotypes 1 and 2 in white-tailed deer. *Journal of Wildlife Diseases*, **38**, 720-728.
- HOWERTH EW, STALLKNECHT DE, KIRKLAND PD (2001). Bluetongue, Epizootic Hemorrhagic Disease, and Other Orbivirus-Related Diseases. *Infectious Diseases of Wild Mammals* (Third Edition) Edited by Williams, E.S. and Barker, I.K. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA, 77-97.
- ^aKEDMI M, LEVI S, GALON N, BOMBOROV V, YADIN H, BATTEN C AND KLEMENT E. (2010). No evidence for involvement of sheep in the epidemiology of cattle virulent epizootic hemorrhagic disease virus. *Veterinary Microbiology*, **148**, 408-412.
- ^bKEDMI M, GALON N, HERZIGER Y, YADIN H, BOMBAROV V, BATTEN C, SHPIGEL NY AND KLEMENT E. (2010). Comparison of the epidemiology of epizootic haemorrhagic disease and bluetongue virus in dairy cattle in Israel. *The Veterinary Journal*, **190**, 77-83.

- MINISTERIO DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE (MAGRAMA) (2013). Manual práctico de operaciones en la lucha contra la enfermedad epizootica hemorrágica de los ciervos. 1-76. Disponible en:
http://rasve.magrama.es/Recursos/Ficheros/Manuales/MARM/45_Manual%20EEH%20ENERO%202013.pdf
- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES (OIE) (2014). Enfermedad Hemorrágica Epizootica. *Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres*. **Capítulo 2.1.4b**, 1-12.
- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES (OIE) (2015). Medidas zoonitarias que se deben aplicar antes de la salida y a la salida. *Código Sanitario para los Animales Terrestres*. **Capítulo 5.4**, 1-2.
- OHASHI S, YOSHIDA K, WATANABE Y, TSUDA T (1999). Identification and PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of a variant of the Ibaraki virus from naturally infected cattle and aborted fetuses in Japan. *Journal of Clinical Microbiology*, **37**, 3800–3803.
- PAWESKA, JT, VENTER, GJ, HAMBLIN, C, (2005). A comparison of the susceptibility of *Culicoides imicola* and *C. bolitinos* to oral infection with eight serotypes of epizootic haemorrhagic disease virus. *Medical and Veterinary Entomology*, **19**, 200–207.
- RAABIS SM, BYERS SR, HAN S, CALLAN RJ (2014). Case Report: Epizootic hemorrhagic disease in a yak. *Can Vet J*, **55**, 369-372.
- RUDER MG, LYSYK TJ, STALLKNECHT DE, FOIL LD, JOHNSON DJ, CHASE CC, DARGATZ DA AND GIBBS EPJ. (2015). Transmission and Epidemiology of Bluetongue and Epizootic Hemorrhagic Disease in North America: Current Perspectives, Research Gaps, and Future Directions. *Vector-borne and zoonotic diseases*. **15**, 348-363.
- SAILLEAU C, ZANELLA G, BREARD E, VIAROUGE C, DESPRAT A, VITOUR D, ADAM M, LASNE L, MARTRENCAR A, BAKKALI-KASSIMI L, COSTES L AND ZIENTARA S. (2012). Co-circulation of bluetongue and epizootic haemorrhagic disease viruses in cattle in Reunion Island. *Veterinary Microbiology*, **155**, 191-197.
- SÁNCHEZ CORDÓN PJ, RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ B, PEDRERA M, RISALDE MA, MOLINA V, RUIZ-VILLAMOR E, SÁNCHEZ-VIZCAÍNO JM Y GÓMEZ-VILLA-MANDOS JC. (2008). El virus de la lengua azul como modelo para el estudio de los *Orbivirus*. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*, **21**, 51-64.

- SAVINI G, ALFONSO A, MELLOR P, ARADIB I, YADIN H, SANAA M, WILSON W, ONACO F AND DOMINGO M. (2011). Epizootic haemorrhagic disease. *Research in Veterinary Science*, **91**, 1-17.
- SELLERS RF (1979). Weather, host and vector-their interplay in the spread of insect-borne animal virus diseases. *Journal of Hygiene*, **85**, 65-102.
- SLEEMAN J AND FISCHER J (2012). Haemorrhagic Disease in Wild Ruminants. *Center Wildlife Health Bulletin*, **May**, 1-2.
- STALLKNECHT DE, NETTLES VF, ROLLOR EA AND HOWERTH EW (1995). Epizootic hemorrhagic disease virus and bluetongue virus serotype distribution in white-tailed deer in Georgia. *Journal of Wildlife Diseases*, **31**, 331-338.
- STALLKNECHT D E, LUTTRELL MP, SMITH KE AND NETTLES VF (1996). Hemorrhagic disease in white-tailed deer in Texas: A case for enzootic stability. *Journal of Wildlife Diseases*, **32**, 695-700.
- TOYE PG, BATTEN CA, KIARA H, HENSTOCK MR, EDWARDS L, THUMBI S, POOLE EJ, HANDEL LG, BRONSVOORT BMBdeC, HANOTTE O, COETZER JAW, WOOLHOUSE MEJ AND OURA CAL. (2012). Bluetongue and Epizootic Haemorrhagic Disease virus in local breeds of cattle in Kenya. *Research in Veterinary Science*, **94**, 769-773.
- UNIÓN EUROPEA. Decisión nº 2004/410/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 28 de abril de 2004, relativa a las condiciones especiales de policía sanitaria para la importación de determinados animales de San Pedro y Miquelón y por la que se modifica la Decisión 79/542/CEE del Consejo. *Diario Oficial de la Unión Europea L 151*, 30 de abril de 2004, 31-51.
- UNIÓN EUROPEA. Directiva 2001/82/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de noviembre de 2001, por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos veterinarios. *Diario Oficial de la Unión Europea L 311*, 28 de noviembre de 2001, 1-65.
- UNIÓN EUROPEA. Reglamento (UE) nº 206/2010 de la Comisión, de 12 de marzo de 2010, por el que se establecen listas de terceros países, territorios o bien partes de terceros países o territorios autorizados a introducir en la Unión Europea determinados animales o carne fresca y los requisitos de certificación veterinaria. *Diario Oficial de la Unión Europea L 73*, 20 de marzo de 2010, 9-65.

- UNITED STATES ANIMAL HEALTH ASSOCIATION (USAHA) (1998). Bluetongue and Epizootic Hemorrhagic Disease. *Foreign Animal Diseases*. Edited by USAHA, Richmond, Virginia, USA. 81-89.

- VAN CAMPEN H, DAVIS C, FLINCHUM JD, BISHOP JV, SCHIEBEL A, DUNCAN C AND SPRAKER T. (2013). Epizootic hemorrhagic disease in yaks (*Bos grunniens*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **25**, 443-446.

- VIAROUGE C, BRÉARD E, ZIENTARA S AND VITOUR D AND SAILLEAU C (2015). Duplex Real-Time RT-PCR Assays for the Detection and Typing of Epizootic Haemorrhagic Disease Virus. *PLOS ONE*, **10**, 1-11.

- WEIR RP AND AGNIHOTRI K (2014). Epizootic haemorrhagic disease. *Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedure*. **Sept**, 1-14.

- ^aWORLD ANIMAL HEALTH INFORMATION DATABASE / BASE DE DATOS DEL SISTEMA MUNDIAL DE INFORMACIÓN ZOOSANITARIA (WAHID) (2015a). Volumen 28. *Información Sanitaria Semanal*. **40**, 1 octubre. Disponible en:
http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI/index/newlang/es

- ^bWORLD ANIMAL HEALTH INFORMATION DATABASE / BASE DE DATOS DEL SISTEMA MUNDIAL DE INFORMACIÓN ZOOSANITARIA (WAHID) (2015b). Volumen 28. *Información Sanitaria Semanal*. **42**, 15 octubre. Disponible en:
http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI/index/newlang/es

- ^cWORLD ANIMAL HEALTH INFORMATION DATABASE / BASE DE DATOS DEL SISTEMA MUNDIAL DE INFORMACIÓN ZOOSANITARIA (WAHID) (2015c). Volumen 28. *Información Sanitaria Semanal*. **46**, 11 noviembre. Disponible en:
http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI/index/newlang/es

10. Anexo

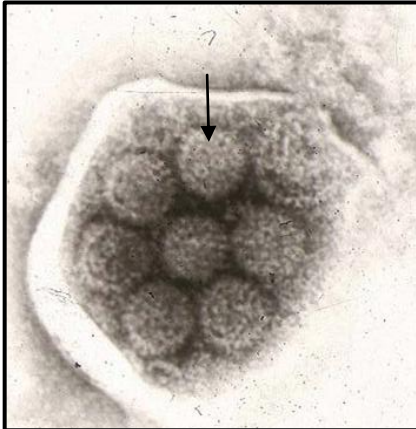


Fig. 2: Aspecto de varios viriones mediante microscopía electrónica. La flecha señala la forma anular característica de los capsómeros de la capa intermedia del cápside (Tomada de Howerth *et al.*, 2001).

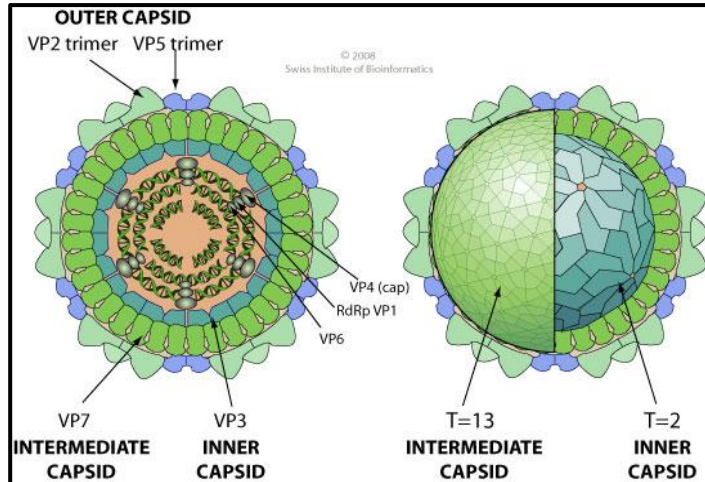


Fig. 1: Visión esquemática de proteínas estructurales del virión. (Tomada de Viralzone: http://viralzone.expasy.org/all_by_species/106.html).

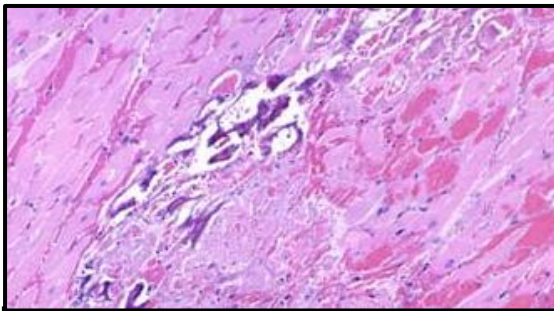


Fig. 3: Hemorragias, trombos y necrosis en el miocardio. Tomada de Univ. Saskatchewan (<http://www.usask.ca>)



Fig. 4: Glositis, edema facial y edema de papada. (Tomada de Univ. Saskatchewan: <http://www.usask.ca>).



Fig. 5: Conjuntivitis sero-hemorrágica y edema palpebral. (Tomada de Univ. Saskatchewan: <http://www.usask.ca>).

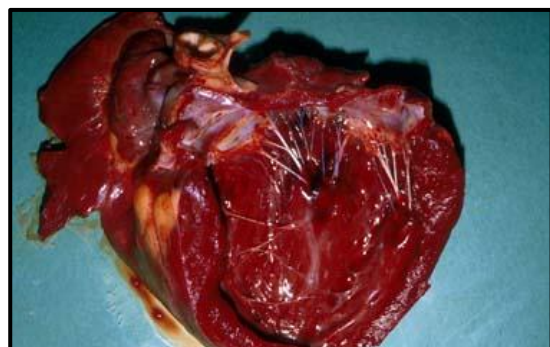


Fig. 6: Hemorragia difusa en el endocardio. (Tomada de Univ. Saskatchewan: <http://www.usask.ca>).



Fig. 7:
Hemorragia en la serosa intestinal y cavidad peritoneal.
(Tomada de Univ. Saskatchewan: <http://www.usask.ca>).

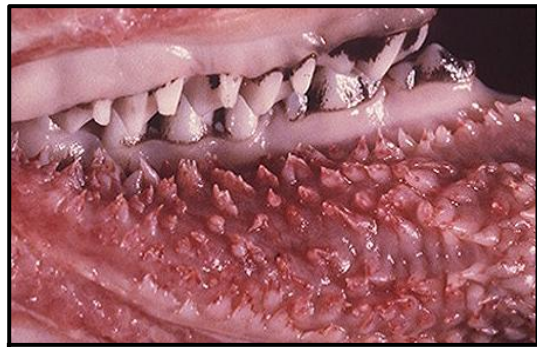


Fig. 8:
Erosión de las papilas bucales (Tomada Center for Food Security and Public Health:
<http://www.cfsph.iastate.edu>).



Fig. 9:
Úlceras y erosiones en el paladar y labios (Tomada de Univ. Saskatchewan: <http://www.usask.ca>).

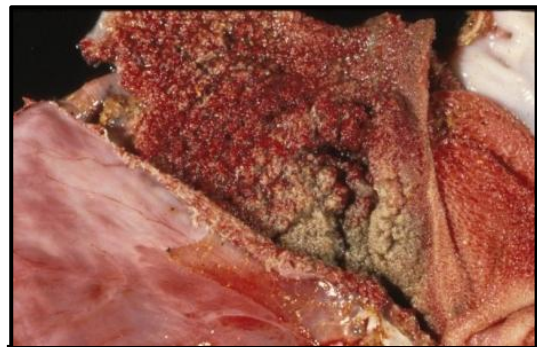


Fig. 10:
Erosión de las papilas del retículo-rumen (Tomada Center for Food Security and Public Health:
<http://www.cfsph.iastate.edu>).



Fig. 11:
Úlceras multifocales y engrosamiento difuso de los pliegues del abomaso (Tomada Center for Food Security and Public Health: <http://www.cfsph.iastate.edu>).



Fig. 12:
Muda de la pezuña. Tomada de Natural Unseen Hazards Blog
(<https://naturalunseenhazards.wordpress.com>)

Subgénero	Complejo específico	Especie	Serotipos Identificados de EHD	Localización Geográfica	Criterio de Implicación Vectorial*			
					1	2	3	4
Avaritia	Imicola	<i>C.imicola</i>	2,3,5,6,7,8	Sudr�frica	X			
Avaritia	Imicola	<i>C.bolitos</i>	1,2,3,4,5,6,7	Infecci3n experimental	X			
Meijerehelea		<i>C.leucostictus</i>	5,6,7		X			
Culicoides	Pulicaris	<i>C.magnus</i>	2		X			
Beltrammyia		<i>C.nivosus</i>	5,7		X			
Avaritia	Gulbenkiani	<i>C.gulbenkiani</i>	2		X			
Hoffmania		<i>C.zuhuensis</i>	7		X			
Hoffmania		<i>C.anderstepoortensis</i>	8		X			
Monoculicoides		<i>C.cornutus</i>		Sud�frica	X			
Remnia		<i>C.nervilii</i>		Sud�frica	X			
Avaritia	Imicola	<i>C.imicola</i>		Sudán	X			X
Oecacta/Remnia	Schultzei	<i>C.king/C.shultzei</i>	4	Sudán	X			X
Oecacta/Remnia	Schultzei	<i>C.shultzei</i>	Ibar 49630	Nigeria	X			X
		<i>C.mohave</i>		Norteamérica (Arizona)	X			
Haematomyidium	Paraensis	<i>C.lahillei</i>	2	Norteamérica (exp)		X		X
Monoculicoides	Variipennis	<i>C.sonorensis</i>		Norteamérica	X	X	X	X
Haematomyidium	Paraensis	<i>C.debilipalpis</i>				X		X
Haematomyidium	Paraensis	<i>C.paraensis</i>						X
Haematomyidium	desconocido	<i>C.stellifer</i>						X
Avaritia	<i>Obsoletus</i>	<i>C.obsoletus</i>						X
Hoffmania	<i>Hoffmania</i>	<i>C.venustus</i>		Norteamérica (exp)		X		
Avaritia Fox, 1995	Imicola	<i>C.brevitarsis</i>	2,5,6,7,8	Australia	X			X
Oecacta/Remnia	Schultzei	<i>C.oxystoma</i>		Japan	X			X
Hoffmania	Peregrinus	<i>C.lungchiensis/peregrinus</i>			X			X
Culicoides	Pulicaris	<i>C.puneatus</i>			X			X

*Criterio de implicaci3n vectorial: (1) aislamiento del pat3geno en muestras de sangre de insectos, (2) demostraci3n laboratorial de que el insecto puede ser infectado por el pat3geno mediante sangre de un animal infectado, (3) demostraci3n laboratorial de que los insectos infectados pueden transmitir la enfermedad al hospedador adecuado y (4) demostraci3n de que el insecto contacta con el hospedador en el campo (Adaptado de OMS, 1997).

Tabla 1. Especies vectoriales del EHDV confirmadas/sospechosas (Adaptado de Savini *et al.*, 2011).

Nombre en latín	Nombre común	Infección	Clínica	Serotipo/Detección*
<i>Bos taurus</i>	Vaca	Natural	Sí	2 (Serol) (VI)
		Natural	Sí	2(Ibaraki) (Serol) (VI)
		Natural	Sí	6(VI)
		Natural	Sí	7(VI)
		Natural	No	5(Serol)
		Natural	No	1,2,5,7,8 (VI)
<i>Odolicus virginianus</i>	Ciervo de Virginia	Natural	Sí	2(VI)
		Natural	Si	1(VI)
		Natural	Sí	6(VI)
<i>Antilocapra americana</i>	Antílope americano	Natural	?	Desconocido
<i>Odolicus hemionus</i>	Ciervo mulo	Natural	Sí	1(Serol)
		Natural	Sí	2(VI)
<i>Oryx leucoryx</i>	Órix de Arabia	Natural	No	Desconocido
<i>Mazama gouazoubira</i>	Guazú/Corzuela parda	Natural	?	Desconocido
<i>Ovis canadiensis canadiensis</i>	Carnero de las Rocosas	Natural	Sí	2(VI)
<i>Ursus americanus florianus</i>	Oso negro americano	Natural	No	Desconocido
<i>Cervus elaphus</i>	Ciervo común	Experimental	No	1(VI)
<i>Dama dama</i>	Gamo			
<i>Capreolus capreolus</i>	Corzo			
<i>Muntiacus muntjac</i>	Muntíaco de la India			
<i>Ovis aries</i>	Oveja	Natural	No	
<i>Capra hircus</i>	Cabra	Natural	No	1,2,6 (Serol)
<i>Diceros bicornis</i>	Rinoceronte negro	Natural	No	
<i>Ceratotherium simum</i>	Rinoceronte blanco	Natural	No	
<i>Gazella subgutturosa subgutturosa</i>	Gacela persa	Natural	No	Desconocido AGID/(Serol)
<i>Bison bison</i>	Bisonte americano	Natural	No	1,2 (Serol)
<i>Cervus elaphus subsp</i>	Alce	Natural	No	1,2 (Serol)
*Detección: (Serol) Serología o (VI) Aislamiento viral				

Tabla 2. Especies susceptibles del EHDV (Adaptado de Savini *et al.*, 2011).

NOMBRE	PRINCIPIO ACTIVO	MODO DE EMPLEO
NOVALAC	Mezcla de aceites esenciales	Pulverización cada 12h
DIXIE REPELENTE UNIVERSAL. REPELENTE CULICOIDES	Etil-butilacetilaminopropionato 20%	Pulverización cada 6-8h
OVENEEM	Azadiractina	Pulverización cada 10 días
PARASITAL LOCIÓN REPELENTE	Mezcla de aceites esenciales	
NEEMTOP	Azadiractina	
MENFORSAN LOCIÓN REPELENTE	Azadiractina	
BIOCLAR 2R LÍQUIDO	Azadiractina	
REPELIN LOCIÓN	Mezcla de aceites esenciales	
REPELINSECT	Azadiractina	
LARVIGEN	Diflubenzuron	
FINIGEN PLUS	Imidacloprid+Cipermetrina	
REPELEM-S.P.	S.P. VETERINARIA	

Tabla 3. Productos repelentes recomendados (Adaptado de MAGRAMA, 2013).