

FIEBRE HEMORRÁGICA DE CRIMEA–CONGO

RESUMEN

El virus de la fiebre hemorrágica de Crimea–Congo (VFHCC), del género Nairovirus, que pertenece a la familia Bunyaviridae, causa una enfermedad zoonótica en muchos países de Asia, África, Oriente Medio y el sureste de Europa. Dado que la distribución del VFHCC coincide con la de su principal vector, que es una garrapata del género Hyalomma, la diseminación de garrapatas infectadas hacia zonas nuevas, previamente no afectadas, facilita la propagación del virus. El virus circula en un ciclo de garrapata-vertebrado-garrapata, pero también puede transmitirse horizontal y verticalmente dentro de la población de garrapatas. Las garrapatas del género Hyalomma infestan gran variedad de especies de fauna salvaje, como ciervos y liebres, y especies pecuarias criadas en libertad, como cabras, ganado vacuno y ovejas. Muchas aves son resistentes a la infección, pero los avestruces parecen ser más susceptibles. En el ganado, la viremia es corta, y de baja intensidad. Estos animales desempeñan un papel fundamental en el ciclo de vida de las garrapatas, y en la transmisión y amplificación del virus, de tal modo que constituyen el foco de atención de la salud pública veterinaria. Dado que los animales no desarrollan signos clínicos, las infecciones por el VFHCC no repercuten en la carga económica de la producción pecuaria. Contrariamente a lo que ocurre en los animales, las infecciones humanas pueden dar lugar a una enfermedad grave: la fiebre hemorrágica de Crimea–Congo (FHCC).

Cada año se notifican más de 1.000 casos de FHCC humana de Albania, Bulgaria, Kosovo y Turquía. En otros países, las tasas de infección y el número de casos prácticamente se desconocen. Se han comunicado tasas de mortalidad de entre un 5% y un 80% (en Turquía), pero pueden depender de la cepa vírica, el grado de formación de la población local y la efectividad de las intervenciones en la salud pública. Actualmente, la patogenia de la enfermedad en el ser humano no se conoce del todo. La mayoría de personas que resultan infectadas contraen la enfermedad por picaduras de garrapatas y por aplastamiento de garrapatas infectadas, pero la infección también es posible por contacto con la sangre y otros líquidos corporales de los animales virémicos. Dado que el VFHCC también puede transmitirse directamente entre personas, podrían tener lugar brotes nosocomiales.

No existe ninguna vacuna autorizada contra la FHCC, y el tratamiento es meramente sintomático. La formación en materia de salud y la información relativa a las medidas de prevención y de comportamiento es lo más importante para mejorar la percepción del riesgo para la salud pública y, por lo tanto, para disminuir la probabilidad de que se produzcan infecciones. Así pues, identificar las zonas endémicas es fundamental para implementar las medidas de salud pública de manera concentrada y dirigida. El cribado de los rumiantes con pruebas serológicas permite identificar las zonas afectadas por el VFHCC, porque el nivel de anticuerpos en los animales es un buen indicador de la circulación del virus a nivel local. El tratamiento con repelentes de garrapatas puede ser bastante efectivo para reducir la infestación de los animales por garrapatas. Para proteger al personal de laboratorio, la manipulación de materiales infectados por el VFHCC solo debe llevarse a cabo si el nivel de biocontención es el adecuado.

Identificación del agente: *Hasta ahora solo se conoce un serotipo del virus, pero el análisis mediante secuenciación ha puesto de manifiesto una diversidad genética considerable. El VFHCC tiene propiedades morfológicas y físico-químicas típicas de la familia Bunyaviridae, y un genoma de ARN monocatenario de polaridad negativa que consiste en tres segmentos: L (grande), M (mediano) y S (pequeño), cada uno de los cuales está contenido en una nucleocápsida independiente dentro del virión. El virus puede aislarse de muestras de suero o plasma obtenidas durante la fase febril o virémica de la infección, o del hígado de animales infectados. Los*

aislamientos primarios se llevan a cabo mediante inoculación de varios cultivos tisulares, habitualmente células de riñón de mono verde africano (Vero) o por inoculación intracerebral de ratones lactantes. Para identificar y caracterizar el virus, puede utilizarse la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con transcripción inversa convencional o en tiempo real. Dado que las infecciones de los animales se mantienen subclínicas, la probabilidad de aislar el virus de un animal virémico es muy baja.

Pruebas serológicas: pueden ponerse de manifiesto anticuerpos específicos de tipo mediante la prueba de la inmunofluorescencia indirecta o por ELISA sándwich de detección de IgG y ELISA de captura de IgM. Actualmente, no existe ningún sistema de análisis comercial para sanidad animal; solo se han publicado algunos sistemas internos, o bien se utilizan kits en los que se sustituye el conjugado que viene con el kit por otro que sea adecuado para la especie animal en la que se desee realizar el cribado respecto a anticuerpos específicos del VFHCC.

Requisitos para las vacunas: No se dispone de ninguna vacuna para animales.

A. INTRODUCCIÓN

La fiebre hemorrágica de Crimea-Congo (FHCC) es una enfermedad enzoótica causada por el virus de la FHCC (VFHCC), que se transmite por garrapatas y pertenece al género *Nairovirus*, en la familia Bunyaviridae. El VFHCC posee un genoma de ARN de polaridad negativa que consiste en tres segmentos, L (grande), M (mediano) y S (pequeño), cada uno de los cuales está contenido en una nucleocápsida independiente dentro del virión. Se considera que todos los nairovirus se transmiten por garrapatas de las familias Ixodidae y Argasidae, y solo se conocen tres que sean patógenos para el ser humano, el virus de la FHCC, el virus Dugbe y el virus de la enfermedad ovina de Nairobi (Swanepoel & Burt, 2004; Swanepoel & Paweska, 2011; Whitehouse, 2004). Recientemente, el VFHCC se ha cultivado con éxito por primera vez en varias líneas celulares de garrapatas; una de ellas correspondía a un vector natural (*Hyalomma anatolicum*), y las otras a especies de garrapatas no implicadas en la transmisión natural del virus (Bell-Sakyiet *et al.*, 2012).

El virus de un brote de la “fiebre hemorrágica de Crimea” que tuvo lugar en soldados y faisanes de la península de Crimea en 1944 no se aisló ni caracterizó hasta 1967. En 1969, se observó que el virus de la “fiebre hemorrágica del Congo”, aislado de un paciente del antiguo Zaire (la actual República Democrática del Congo) en 1956, era el mismo virus. Como consecuencia, se han utilizado los nombres de ambos países para describir la enfermedad (Hoogstraal, 1979). La distribución del virus refleja la amplia distribución de las garrapatas del género *Hyalomma*, el principal vector del virus (Avsic-Zupanc, 2007; Grard *et al.*, 2011; Papa *et al.*, 2011; Swanepoel & Paweska, 2011).

El ciclo natural del VFHCC incluye la transmisión transovárica y la transtadial entre garrapatas y un ciclo de garrapata-vertebrado-garrapata en el que interviene una gran variedad de animales salvajes y domésticos. La infección también puede transferirse entre garrapatas infectadas y no infectadas cuando se alimentan al mismo tiempo en un hospedador; de ahí el denominado fenómeno de la “transmisión no virémica”. Las garrapatas del género *Hyalomma* se alimentan en gran variedad de rumiantes domésticos (ovejas, cabras y ganado vacuno) y en herbívoros salvajes, liebres, erizos y ciertos roedores. La infección por el VFHCC en animales fue revisada por Nalca *et al.*, (2007). Aunque las infecciones de los animales en general son subclínicas, los niveles de viremia relacionados son suficientes para permitir la transmisión del virus a garrapatas no infectadas (Swanepoel & Burt, 2004; Swanepoel & Paweska, 2011). Muchas aves son resistentes a la infección, pero los avestruces parecen ser más susceptibles que otras especies aviares (Swanepoel *et al.*, 1998). Aunque no parecen convertirse en virémicas, las aves que se alimentan en el suelo pueden actuar como vehículo para la propagación de garrapatas infectadas por el VFHCC. Los resultados de estudios serológicos realizados en África y Eurasia indican una extensa circulación del virus en el ganado y en vertebradas salvajes (Swanepoel & Burt, 2004).

El ser humano contrae la infección por picaduras de garrapatas, o por el contacto con sangre o tejidos infectados de especies pecuarias o de pacientes humanos. Tras la incubación, el ser humano puede presentar una enfermedad grave con una fase pre-hemorrágica, una fase hemorrágica y un periodo de convalecencia. Los signos hemorrágicos pueden oscilar entre petequias y grandes hematomas. Puede observarse sangrado en la nariz, el tracto gastrointestinal, el útero y el tracto urinario, y en el tracto respiratorio, con una tasa de mortalidad que oscila entre el 5% y el 80% (Ergonul, 2006; Yen *et al.*, 1985; Yilmaz *et al.*, 2008). La gravedad de la FHCC en el ser humano destaca el efecto de esta enfermedad zoonótica en la salud pública. Aunque el VFHCC no tiene consecuencias económicas para la producción pecuaria, es muy importante realizar un cribado serológico de muestras de suero de los animales respecto a anticuerpos específicos del VFHCC. Dado que la prevalencia en los animales es un buen indicador de la circulación de virus a nivel local, estos estudios permiten identificar zonas de riesgo alto de infección humana (Mertens *et al.*, 2013). El personal de los mataderos, los veterinarios, los ganaderos y demás personas relacionadas con la industria ganadera deben conocer bien la enfermedad.

Deben emprender los pasos necesarios para reducir o evitar la exposición directa de la piel a sangre u otros tejidos frescos de los animales, y evitar las picaduras y la manipulación de garrapatas. En estudios realizados en Sudáfrica se ha observado que el uso de repelentes en los animales antes del sacrificio podría reducir la cantidad de trabajadores del matadero que resultan infectados (Swanepoel *et al.*, 1998). El tratamiento del ganado en general puede reducir la densidad de garrapatas en estos animales y, por lo tanto, reducir el riesgo de picadura de garrapata en el personal que los manipula (Mertens *et al.*, 2013). Este tipo de control de las garrapatas mediante acaricidas es posible hasta cierto punto, pero puede ser difícil de implementar en la ganadería extensiva. En Europa del este y la antigua URSS se ha utilizado a pequeña escala una vacuna inactivada derivada de cerebro de ratón para la prevención de la infección humana (Swanepoel & Paweska, 2011).

La infectividad del VFHCC se destruye por ebullición o esterilización en autoclave y con concentraciones bajas de formalina o beta-propiolactona. Es un virus sensible a los disolventes lipídicos. Es lábil en tejidos infectados tras la muerte, supuestamente por la caída del pH, pero la infectividad se mantiene durante unos días a temperatura ambiente en el suero, y hasta 3 semanas a 4°C. La infectividad es estable a temperaturas inferiores a los –60°C (Swanepoel & Paweska, 2011). El VFHCC está clasificado en el Grupo 3 de Riesgo para la infección humana y debe manipularse con las medidas apropiadas, que se describen en el Capítulo 1.1.4 *Bioseguridad y bioprotección: norma para la gestión del riesgo biológico en el laboratorio veterinario y en las instalaciones de los animales*. Las medidas de biocontención deben determinarse a partir de un análisis del riesgo, como se describe en el Capítulo 1.1.4 (Palmer, 2011; Whitehouse, 2004).

B. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

Tabla 1. Formatos de las pruebas de diagnóstico para infecciones por el virus de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo en animales

Método	Propósito					
	Demostrar ausencia de infección en la población	Demostrar ausencia de infección en animales individuales antes de los desplazamientos	Contribuir a las políticas de erradicación	Confirmar casos clínicos	Determinar la prevalencia de la infección – vigilancia	Determinar el estado inmunitario en animales o poblaciones tras la vacunación
Identificación del agente¹						
RT-PCR en tiempo real	–	+++	n/a	n/a	–	n/a
Virus isolation in cell culture	–	–	n/a	n/a	+	n/a
Detección de la respuesta inmunitaria						
ELISA de IgG	+++	+	n/a	n/a	+++	n/a
ELISA de competición	+++	+	n/a	n/a	+++	n/a
ELISA de IgM	–	++	n/a	n/a	–	n/a

Clave: +++ = método recomendado; ++ = método idóneo; + = puede utilizarse en algunas situaciones, pero el coste, la fiabilidad y otros factores limitan mucho su aplicación; – = no adecuado para este propósito; n/a = no aplicable. Aunque no todas las pruebas clasificadas como +++ o ++ han sido validadas formalmente, su uso sistemático y hecho de que se hayan utilizado ampliamente sin resultados dudosos las hace aceptables
ELISA = enzimoimmunoanálisis; RT-PCR = reacción en cadena de la polimerasa con reacción inversa.

En animales vertebrados domésticos y salvajes, la infección por el VFHCC causa solo una fiebre leve con una viremia detectable de hasta 2 semanas de duración (Gonzalez *et al.*, 1998; Gunes *et al.*, 2011). De forma similar, los avestruces infectados presentan solo una viremia baja y de corta duración, sin signos clínicos (Swanepoel & Burt, 2004). Por lo tanto, en los animales casi nunca se diagnostican infecciones recientes, y los métodos como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), el aislamiento vírico en cultivo celular y la detección de IgM mediante enzimoimmunoanálisis (ELISA) se utilizan principalmente para el diagnóstico de la FHCC en el ser

1 Se recomienda una combinación de métodos de identificación del agente en la misma muestra clínica.

humano, o en el caso especial de que un animal tenga que clasificarse como libre del VFHCC. Para el análisis de la prevalencia y para determinar si el VFHCC está circulando en un país, son preferibles los métodos de detección de anticuerpos IgG (Tabla 1). Si existe alguna posibilidad o sospecha de que las muestras para el diagnóstico pudieran estar contaminadas por el VFHCC, deben manipularse al nivel apropiado de bioseguridad y todas las personas que traten con dichas muestras deben ser conscientes del posible riesgo y de deben utilizar equipo de protección personal para evitar infecciones humanas.

1. Identificación del agente

Para realizar pruebas de viremia en animales, así como para el diagnóstico clínico en el ser humano, puede lograrse un diagnóstico rápido por detección de ácido nucleico vírico en el suero o el plasma empleando una PCR con transcripción inversa (RT) convencional (Burt *et al.*, 1998) o en tiempo real (Drosten *et al.*, 2002; Duh *et al.*, 2006; Wölfel *et al.*, 2007), o bien poniendo de manifiesto el antígeno vírico (Shepherd *et al.*, 1988). Las muestras que deben enviarse al laboratorio para confirmar la FHCC son sangre e hígado. Debido al riesgo de contracción de infecciones en el laboratorio, el trabajo con el VFHCC debe llevarse a cabo en instalaciones de bioseguridad adecuadas.

El virus se puede aislar de suspensiones de suero y de órganos en gran variedad de cultivos celulares, como células Vero, LLC-MK2, SW-13, CER y BHK21, y puede identificarse mediante inmunofluorescencia empleando anticuerpos específicos. El aislamiento y la identificación del virus se logran en 1-5 días, pero los cultivos celulares carecen de sensibilidad y normalmente solo detectan concentraciones altas del virus en la sangre. Para aislar el virus, la inoculación intracerebral de ratones lactantes es más sensible que los cultivos celulares, pero no se recomienda por motivos de bienestar animal.

1.1. Aislamiento del virus en cultivo celular

El VFHCC se puede aislar en cultivos de células de mamífero. Las células Vero se utilizan mucho, y normalmente dan una cepa a los 1-5 días post-inoculación (p.i.). El VFHCC es poco citopático y, por lo tanto, la infectividad se titula por observación de inmunofluorescencia en las células infectadas (Shepherd *et al.*, 1986). La línea celular SW-13 también se ha utilizado mucho para aislar el virus, y produce placas en un plazo máximo de 4 días (p.i.). La identificación de una cepa del VFHCC debe confirmarse mediante inmunofluorescencia o técnicas moleculares (Burt *et al.*, 1998; Shepherd *et al.*, 1986).

1.1.1. Procedimiento analítico

- i) Las líneas celulares susceptibles son Vero-E6, BHK-21, LLC-MK2 y SW-13. Se inocula la muestra a un 80% de la superficie de monocapas confluentes de la línea celular escogida. El volumen de muestra a utilizar dependerá del tamaño del recipiente de cultivo (es decir, de si es un frasco de cultivo de 25 cm² o una placa de cultivo tisular de 6 o 24 pocillos). El volumen de muestra debe ser suficiente como para cubrir la monocapa celular. Pueden diluirse muestras de volúmenes suficientes con medio de cultivo tisular para preparar un volumen de inoculación suficiente.
- ii) Se adsorbe la muestra durante 1 hora a 37°C.
- iii) Se retira el inóculo. Se añade medio de cultivo nuevo que contenga suero fetal bovino al 2% y demás aditivos necesarios, según el medio específico y la línea celular.
- iv) Se incuban a 37°C con un 5% de CO₂ durante 4–7 días.
- v) Se comprueba si el sobrenadante contiene ARN del VFHCC mediante una RT-PCR entiempro real, según se describe a continuación, o con una prueba de inmunofluorescencia en raspados celulares.
- vi) En la mayoría de estas líneas celulares las cepas del VFHCC de muestras clínicas no causan efectos citopáticos (ECP) detectables al microscopio.

1.2. Detección de ácido nucleico

Las pruebas de diagnóstico moleculares, como la RT-PCR, sirven de herramienta de primera línea para el diagnóstico de la FHCC, y de otras fiebres hemorrágicas víricas (Drosten *et al.*, 2003). La ventaja de las pruebas de diagnóstico moleculares es su rapidez en comparación con el cultivo vírico, ya que a menudo permiten contar con un diagnóstico provisional apenas unas horas tras la recepción de la muestra (Burt *et al.*, 1998). La RT-PCR es un método de diagnóstico sensible, pero dada la diversidad genética del VFHCC, podría haber algunas dificultades en el diseño de cebadores o sondas que

permitan la detección de todas las cepas circulantes del virus. Recientemente, se ha descrito una RT-PCR en tiempo real que detecta cepas de distintas procedencias geográficas, y se ha observado que es muy sensible, porque llega a detectar apenas 1.164 copias de ARN vírico por ml de plasma (Wölfel *et al.*, 2007). Un chip génico de baja densidad desarrollado en base a la información genómica más actualizada se ha validado extensamente en muestra clínicas obtenidas de casos confirmados de FHCC a lo largo de 20 años por un laboratorio de referencia de la OMS. Se ha observado que permite detectar apenas 6,3 copias del genoma por reacción (Wölfel *et al.*, 2009).

Wölfel *et al.* (2007) desarrollaron una RT-PCR en tiempo real que tiene por diana el segmento S del genoma del VFHCC, y que detecta cepas de distintas procedencias geográficas. Este método emplea una copia de ARN transcrita *in vitro* de todo el segmento S como estándar de ARN cuantitativo, y se basa en un par de cebadores y tres sondas. El molde que se utiliza en la prueba es ARN vírico extraído de la muestra con cualquier método estándar de extracción de ARN vírico o un kit comercial. Las secuencias y puntos de unión de los cebadores y las tres sondas son los siguientes:

Cebador RWCF

- i) Cebador directo
- ii) Posición 1068–1095
- iii) Secuencia 5'-CAA-GGG-GTA-CCA-AGA-AAA-TGA-AGA-AGG-C-3'

Cebador RWCR

- i) Cebador inverso
- ii) Posición 1248–1223
- iii) Secuencia 5'-GCC-ACA-GGG-ATT-GTT-CCA-AAG-CAG-AC-3'

Sonda SE01

- i) Sonda de intervalo amplio
- ii) Posición 1172–1198
- iii) Secuencia 5'-FAM-ATC-TAC-ATG-CAC-CCT-GCT-GTG-TTG-ACA-TAMRA-3'

Sonda SE03

- i) Sonda adicional
- ii) Posición 1172–1198
- iii) Secuencia 5'-FAM-ATT-TAC-ATG-CAC-CCT-GCC-GTG-CTT-ACA-TAMRA-3'

Sonda SE0A

- i) Sonda adicional
- ii) Posición 1131–1106
- iii) Secuencia 5'-FAM-AGC-TTC-TTC-CCC-CAC-TTC-ATT-GGA-GT-TAMRA-3'

Esta prueba se validó con reactivos de un kit comercial específico, pero pueden sustituirse por cualquier reactivo equivalente de otros kits comerciales. La reacción se ajusta del siguiente modo: 25 µl de volumen de reacción, formados por 5 µl de ARN vírico, tampón de reacción PCR 1x y enzimas de cualquier kit comercial de RT-PCR de un solo paso, y 400 µmol de dNTP, 800 ng de albúmina sérica bovina no acetilada. Los parámetros de ciclado son los siguientes: 30 minutos a 50°C, 15 minutos a 95°C, 46x 15 segundos a 94°C, 30 segundos a 59°C, y 30 segundos a 72°C. La fluorescencia se adquiere en el paso de 59°C.

2. Pruebas serológicas

Las pruebas de neutralización vírica, que en general se consideran muy específicas, casi nunca se utilizan para diagnosticar el VFHCC. Los miembros del género *Nairovirus* en general inducen una respuesta de anticuerpos neutralizantes más débil que miembros de otros géneros de la familia Bunyaviridae. Otro inconveniente es la necesidad de llevar a cabo esta prueba a un nivel alto de biocontención para la bioseguridad, porque se utiliza virus vivo (Burt *et al.*, 1994; Rodríguez *et al.*, 1997).

Actualmente, solo existen algunos kits comerciales de detección del VFHCC basados en ELISA de IgM o IgG o en inmunofluorescencia (IFA). Están diseñados para el mercado de diagnóstico en el ser humano, pero es posible adaptar estos ELISA e IFA a la detección serológica en los animales. Además, se han publicado algunos ELISA internos para la detección de anticuerpos específicos del VFHCC en los animales (Tabla 2).

Los ELISA para la detección de anticuerpos IgM e IgG específicos del VFHCC son específicos y más sensibles que la IFA. Los anticuerpos IgM del ganado (ovejas, cabras y ganado vacuno) pueden detectarse con un ELISA de captura de IgM. Los anticuerpos IgG se pueden detectar mediante un ELISA de sándwich de IgG o indirecto, y

los anticuerpos totales pueden detectarse mediante un ELISA de competición. La ventaja del ELISA de competición es la capacidad de investigar distintas especies animales, porque son independientes de la especie hospedadora. Los protocolos de las pruebas publicadas (Tabla 2) ejemplifican los procedimientos generales y los protocolos para distintos tipos de pruebas de detección de anticuerpos específicos del VFHCC. El factor limitante para la replicación de estos protocolos en otros laboratorios es la disponibilidad de los antígenos y (cuando corresponde) de los anticuerpos monoclonales especificados. La mayor parte de las pruebas descritas para el ganado y los animales salvajes no ha pasado por un proceso formal de validación (Mertens *et al.*, 2013). Uno de los principales retos de estos estudios de validación es la disponibilidad de un número suficiente de muestras control positivas bien caracterizadas.

Para más información sobre la disponibilidad de reactivos de referencia para su uso en laboratorios veterinarios de diagnóstico, contacte con los Laboratorios de Referencia de la OIE o con el Centro Colaborador de la OIE para las Zoonosis de Europa.

Tabla 2. Pruebas serológicas para la detección de anticuerpos específicos del VFHCC o la detección de antígeno vírico

Prueba		Especie de destino	Responsables de desarrollar/producir la prueba	
Pruebas comerciales	ELISA de IgM	humana	BDSL, Dreghorn, Escocia	
	ELISA de IgG		Vector-Best, Novosibirsk, Rusia	
	IFA de IgM		Vector-Best, Novosibirsk, Rusia	
	IFA de IgG		Euroimmun, Luebeck, Alemania	
	ELISA de captura de antígeno	virus	Euroimmun, Luebeck, Alemania	
Pruebas internas	ELISA de IgM	humana	(Mourya <i>et al.</i> , 2012)	
			(Garcia <i>et al.</i> , 2006)	
			(Dowall <i>et al.</i> , 2012)	
			(Emmerich <i>et al.</i> , 2010)	
			(Tang <i>et al.</i> , 2003)	
			(Burt <i>et al.</i> , 1994)	
	IgG ELISA	humana	(Dowall <i>et al.</i> , 2012)	
			(Garcia <i>et al.</i> , 2006)	
			(Burt <i>et al.</i> , 1994)	
			(Emmerich <i>et al.</i> , 2010)	
			(Samudzi <i>et al.</i> , 2012)	
			(Saijo <i>et al.</i> , 2002a)	
	IFA de IgM	humana	USAMRIID, Fort Detrick, EE.UU.	
	IFA de IgG		(Burt <i>et al.</i> , 1994)	
			(Saijo <i>et al.</i> , 2002b)	
(Burt <i>et al.</i> , 1994)				
Inmunotransferencia de IgG	humana	(Xia <i>et al.</i> , 2011)		
ELISA de IgG	ovina	(Xia <i>et al.</i> , 2011)		
		ELISA de IgM	ovina	Burt <i>et al.</i> , 1993)
		Bovina	(Burt <i>et al.</i> , 1993)	
	(Qing <i>et al.</i> , 2003)			
	(Garcia <i>et al.</i> , 2006)			
	animales	(Garcia <i>et al.</i> , 2006)		
CDC, Atlanta, USA				
ELISA de competición	Independiente de la especie	USAMRIID, Fort Detrick, EE.UU.		
ELISA de captura de antígeno	virus	(Burt <i>et al.</i> , 1993)		
		(Saijo <i>et al.</i> , 2005)		

IFA: prueba de la inmunofluorescencia. ELISA: enzimoimmunoanálisis
(Datos y tabla modificados a partir de Mertens *et al.* 2013)

C. REQUISITOS PARA LAS VACUNAS

No se dispone de vacuna para animales.

BIBLIOGRAFÍA

AVŠIČ-ŽUPANC T. (2007). Epidemiology of Crimean–Congo hemorrhagic fever in the Balkans. *In: Crimean–Congo Hemorrhagic Fever, a Global Perspective*, Ergonul O. & Whitehouse C.A., eds. Springer: Dordrecht, Netherlands, 75–88.

BELL-SAKYI L., KOHL D., BENTE D.A. & FAZAKERLEY J.F. (2012). Tick cell lines for study of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus and other arboviruses. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, **12**, 769–781.

BURT F.J., LEMAN P.A., SMITH J.F. & SWANEPOEL R. (1998). The use of a reverse transcription-polymerase chain reaction for the detection of viral nucleic acid in the diagnosis of Crimean–Congo haemorrhagic fever. *J. Virol. Methods*, **70**, 129–37.

BURT F.J., SWANEPOEL R. & BRAACK L. (1993). Enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of antibody to Crimean–Congo hemorrhagic fever virus in the sera of livestock and wild vertebrates. *Epidemiol. Infect.*, **111**, 547–557.

DOWALL S.D., RICHARDS K.S., GRAHAM V.A., CHAMBERLAIN J. & HEWSON R. (2012). Development of an indirect ELISA method for the parallel measurement of IgG and IgM antibodies against Crimean–Congo haemorrhagic fever (FHCC) virus using recombinant nucleoprotein as antigen. *J. Virol. Methods*, **179**, 335–341.

DROSTEN C., GOTTING S., SCHILLING S., ASPER M., PANNING M., SCMITZ H. & GUNTER S. (2002). Rapid detection and quantification of RNA of Ebola and Marburg viruses, Lassa virus, Crimean–Congo hemorrhagic fever virus, Rift Valley fever virus, dengue virus, and yellow fever virus by real-time transcription-PCR. *J. Clin. Microbiol.*, **40**, 2323–2340.

DROSTEN C., KUMMERER B.M., SCMITZ H. & GUNTER S. (2003). Molecular diagnosis of viral hemorrhagic fevers. *Antiviral Res.*, **57**, 61–87.

DUH D., SAKSIDA A., PETROVEC M., DEDUSHAJ I. & AVSIC-ZUPANC T. (2006). Novel one-step real-time RT-PCR assay for rapid and specific diagnosis of Crimean–Congo hemorrhagic fever encountered in the Balkans. *J. Virol. Methods*, **133**, 175–179.

EMMERICH P., AVSIC-ZUPANC T., CHINIKAR S., SAKSIDA A., THOME-BOLDUAN C., PARCZANY-HARTMANN A., LANGROUDI A.G., MORADI M., AHMETI S., GUNTHER S. & SCHMIDT-CHANASIT J. (2010). Early serodiagnosis of acute human Crimean–Congo hemorrhagic fever virus infections by novel capture assays. *J. Clin. Virol.*, **48**, 294–295.

ERGONUL O. (2006). Crimean–Congo haemorrhagic fever. *Lancet Infect. Dis.*, **6**, 203–214.

GARCIA S., CHINIKAR S., COUDRIER D., BILLECOQ A., HOOSHMAND B., CRANCE J.M., GARIN D. & BOULOY M. (2006). Evaluation of a Crimean–Congo hemorrhagic fever virus recombinant antigen expressed by Semliki Forest suicide virus for IgM and IgG antibody detection in human and animal sera collected in Iran. *J. Clin. Virol.*, **35**, 154–159.

GONZALEZ J.-P., CAMICAS J.-L., COMET J.-P. & WILSON M.L. (1998). Biological and clinical responses of West African sheep to Crimean–Congo haemorrhagic fever virus experimental infection. *Res. Virol.*, **149**, 445–455.

GUNES T., POYRAZ O., VATANSEVER Z. (2011). Crimean–Congo hemorrhagic fever virus in ticks collected from humans, livestock, and picnic sites in the hyperendemic region of Turkey. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, **11**, 1411–1416.

GRARD G., DREXLER J.F., FAIR J., MUYEMBE J.-J., WOLFE N.D., DROSTEN C. & LEROY E.M. (2011). Re-emergence of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus in Central Africa. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, **5**(10): e1350. doi:10.1371/journal.pntd.0001350.

HOOGSTRAL H. (1979). The epidemiology of tick-borne Crimean–Congo haemorrhagic fever in Asia, Europe and Africa. *J. Med. Entomol.*, **15**, 307–417.

- MERTENS M., SCHMIDT K., OZKUL A. & GROSCHUP M.H. (2013). The impact of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus on public health. *Antiviral Res.*, **98**, 248–260.
- MOURYA D.T., YADAV P.D., SHETE A.M., GURAV Y.K., RAUT C.G., JADI R.S., PAWAR S.D., NICHOL S.T. & MISHRA A.C. (2012). Detection, isolation and confirmation of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus in human, ticks and animals in Ahmadabad, India, 2010–2011. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, **6**, e1653.
- NALCA A. & WHITEHOUSE C.A. (2007). Crimean–Congo hemorrhagic fever virus infection among animals. *In: Crimean–Congo Hemorrhagic Fever: A Global Perspective*, Ergonul O. & Whitehouse C.A., eds. Springer: Dordrecht, Netherlands, 155–165.
- PALMER S. (2011). Deliberate release of zoonotic agents. *In: Oxford Textbook of Zoonosis: Biology, Clinical Practise and Public Health Control*, Second Edition, Palmer S.R., Soulsby L., Torgerson P.R. & Brown D.W.G., eds. Oxford University Press, UK, p. 1214.
- PAPA A., TZALA E. & MALTEZOU H. (2011). Crimean–Congo hemorrhagic fever virus, Northeastern Greece. *Emerg. Infect. Dis.*, **17**, 141–143
- QING T., SAIJO M., LEI H., NIIKURA M., MAEDA A., IKEGAMI T., XINJUNG W., KURANE I. & MORIKAWA S. (2003). Detection of immunoglobulin G to Crimean–Congo hemorrhagic fever virus in sheep sera by recombinant nucleoprotein-based enzyme-linked immunosorbent and immunofluorescence assays. *J. Virol. Methods*, **108**, 111–116.
- RODRIGUEZ L.L., MAUPIN G.O., KSIAZEK T.G., ROLLIN P.E., KHAN A.S., SCHWARZ T.F., LOFTS R.S., SMITH J.F., NOOR A.M., PETERS C.J. & NICHOL S.T. (1997). Molecular investigation of a multisource outbreak of Crimean–Congo hemorrhagic fever in the United Arab Emirates. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **57** (5), 512–518.
- SAIJO M., QING T., NIIKURA M., MAEDA A., IKEGAMI T., PREHAUD C., KURANE I. & MORIKAWA S. (2002a). Recombinant nucleoprotein-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin G antibodies to Crimean–Congo hemorrhagic fever virus. *J. Clin. Microbiol.*, **40**, 1587–1591.
- SAIJO M., QING T., NIIKURA M., MAEDA A., IKEGAMI T., SAKAI K., PREHAUD C., KURANE I. & MORIKAWA S. (2002b). Immunofluorescence technique using HeLa cells expressing recombinant nucleoprotein for detection of immunoglobulin G antibodies to Crimean–Congo hemorrhagic fever virus. *J. Clin. Microbiol.*, **40**, 372–375.
- SAIJO M., TANG Q., SHIMAYI B., HAN L., ZHANG Y., ASIGUMA M., TIANSHU D., MAEDA A., KURANE I. & MORIKAWA S. (2005). Antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of Crimean–Congo hemorrhagic fever using a novel monoclonal antibody. *J. Med. Virol.*, **77**, 83–88.
- SAMUDZI R.R., LEMAN P.A., PAWESKA J.T., SWANEPOEL R. & BURT F.J. (2012). Bacterial expression of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus nucleoprotein and its evaluation as a diagnostic reagent in an indirect ELISA. *J. Virol. Methods*, **179**, 70–76.
- SHEPHERD A.J., SWANEPOEL R. & GILL D.E. (1988). Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay and reversed passive hemagglutination for detection of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus antigen. *J. Clin. Microbiol.*, **26**, 347–353.
- SHEPHERD A.J., SWANEPOEL R., LEMAN P.A. & SHEPHERD S.P. (1986). Comparison of methods for isolation and titration of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus. *J. Clin. Microbiol.*, **24**, 654–656.
- SWANEPOEL R & BURT F.J. (2004). Crimean–Congo haemorrhagic fever. Second Edition. *In: Infectious diseases of livestock with special reference to South Africa*, Coetzer J.A.W, Tustin R.C., eds. Cape Town: Oxford University Press Southern Africa, pp. 1077–1085.
- SWANEPOEL R., LEMAN P.A., BURT, F.J., JARDINE J., VERWOERD D.J., CAPUA I., BRUCKNER G.K. & BURGER W.P. (1998). Experimental infection of ostriches with Crimean–Congo haemorrhagic fever virus. *Epidemiol. Infect.*, **121**, 427–432.
- SWANEPOEL R. & PAWESKA J.T. (2011). Crimean–Congo hemorrhagic fever. *In: Oxford Textbook of Zoonosis: Biology, Clinical Practise and Public Health Control*, Second Edition. Palmer S.R., Soulsby L., Torgerson P.R. & Brown D.W.G., eds. Oxford University Press, UK, pp. 287–293.
- TANG Q., SAIJO M., ZHANG Y., ASIGUMA M., TIANSHU D., HAN L., SHIMAYI B., MAEDA A., KURANE I. & MORIKAWA S. (2003). A patient with Crimean–Congo hemorrhagic fever serologically diagnosed by recombinant nucleoprotein-based antibody detection systems. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **10**, 489–491.

WHITEHOUSE C.A. (2004). Crimean–Congo hemorrhagic fever. *Antivir. Res.*, **64**, 145–160.

WÖLFEL R., PAWESKA J.T., PETERSEN N., GROBBELAAR A.G., LEMAN P.A., HEWSON R., GEORGES-COURBOT M., PAPA A., GÜNTER S. & DROSTEN C. (2007). Virus detection and monitoring of viral load in Crimean-Congo hemorrhagic fever virus patients. *Emerg. Infect. Dis.*, **13**, 1097–1100.

WÖLFEL R., PAWESKA J.T., PETERSEN N., GROBBELAAR A.G., LEMAN P.A., HEWSON R., GEORGES-COURBOT M., PAPA A., HEISER V., PANNING M., GUNTER S. & DROSTEN C. (2009). Low-density microarray for rapid detection and identification of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus. *J. Clin. Microbiol.*, **47**, 1025–1030.

XIA H., LI P., YANG J., PAN L., ZHAO J., WANG Z., LI Y., ZHOU H., DONG Y., GUO S., TANG S., ZHANG Z., FAN Z., HU Z., KOU Z. & LI T. (2011). Epidemiological survey of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus in Yunnan, China, 2008. *Int. J. Infect. Dis.*, **15**, e459–463.

YEN Y.C., KONG L.X., LEE L., ZHANG Y.Q., LI F., CAI B.J. & GAO S.Y. (1985). Characteristics of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus (Xinjiang strain) in China. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **34**, 1179–1182.

YILMAZ G.R., BUZGAN T., TORUNOGLU M.A., SAFRAN A., IRMAK H., COM S., UYAR Y., CARHAN A., OZKAYA E. & ERTEK M. (2008). A preliminary report on Crimean–Congo haemorrhagic fever in Turkey, March–June 2008. *Euro Surveill.*, **13**.

*
* *

NB: Existen Laboratorios de Referencia de la OIE para la Fiebre hemorrágica de Crimea–Congo (puede consultarse la lista más actualizada en la Tabla de la Parte 4 de este *Manual Terrestre* o en la página web de la OIE: <http://www.oie.int/es/nuestra-experiencia-cientifica/laboratorios-de-referencia/lista-des-laboratorios/>). Por favor, contacte con los Laboratorios de Referencia de la OIE para cualquier otro dato sobre las pruebas de diagnóstico y los reactivos para la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo.

NB: ADOPTADO POR PRIMERA VEZ EN 2014.