

ENCEFALOMIELITIS EQUINA VENEZOLANA

RESUMEN

Los virus de la encefalomiелitis equina venezolana (EEV), del género Alphavirus de la familia Togaviridae, causan una enfermedad cuyos síntomas varían desde las reacciones febriles leves hasta la zoonosis encefalítica mortal en los équidos y los humanos. Se transmiten mediante insectos hematófagos, sobre todo los mosquitos mamófilos.

Los virus de la EEV se clasifican en seis subtipos antigénicos (I–VI). Dentro del subtipo I hay cinco variantes antigénicas (variantes AB–F). En un principio, los subtipos I-A e I-B se consideraron como variantes distintas, pero hoy en día se les considera idénticos (I-AB). Las variantes antigénicas I-AB y I-C se asocian con la actividad epizootica en los équidos y en el hombre. De hecho, han ocurrido focos graves que han afectado a muchos miles de hombres y équidos. Las otras tres variantes del subtipo I (I-D, I-E, I-F) y los otros cinco subtipos de la EEV (II–VI) se han relacionado con ciclos enzoóticos naturales. Los équidos sirven como huéspedes que propician las cepas de la EEV, mientras que los virus de la EEV enzoótica se difunden sobre todo entre los roedores y los mosquitos selváticos. Se ha considerado que las variantes y subtipos enzoóticos no son patógenos para los équidos, pero pueden causar la enfermedad clínica en los humanos. Sin embargo, en México, en los años 1993 y 1996 se observaron brotes limitados de encefalitis en caballos, que fueron causados por virus enzoóticos de la EEV del subtipo I-E. Más recientemente, se han producido brotes esporádicos en México, América Central y determinadas partes del norte y el sur de América del Sur. Los subtipos enzoóticos que afectan al ser humano están más diseminados, llegando al norte de América Central y a América del Sur (Weaver et al., 2012).

Identificación del agente: El diagnóstico de la infección por el virus de la EEV se puede confirmar mediante el aislamiento, la identificación y la clasificación antigénica del virus aislado.

Es posible realizar un diagnóstico presuntivo de la encefalomiелitis equina en el momento en el que los animales susceptibles de las zonas tropicales o subtropicales presentan signos de encefalomiелitis en lugares donde estén activos los insectos hematófagos. El virus de la EEV puede aislarse en cultivos celulares o en animales de laboratorio empleando la sangre o el suero de animales febriles en estado de infección incipiente. Se recupera con menos frecuencia a partir de la sangre o el tejido encefálico de animales con encefalitis.

El virus de la EEV se puede identificar mediante reacción en cadena de la polimerasa, fijación del complemento, inhibición de la hemaglutinación, neutralización por reducción de placas (PRN) o mediante inmunofluorescencia con anticuerpos específicos de la EEV. La identificación específica de las variantes epizooticas de la EEV se puede llevar a cabo mediante una prueba de inmunofluorescencia indirecta o una de PRN diferencial con anticuerpos monoclonales específicos de subtipo o variante o mediante la secuenciación de los ácidos nucleicos.

Pruebas serológicas: Se puede demostrar la presencia de anticuerpos específicos mediante pruebas de PRN dirigidas contra las variantes epizooticas del virus de la EEV o con un enzoinmunoanálisis de captura de IgM. También es posible comprobar la existencia de anticuerpos con pruebas de inhibición de la hemaglutinación o de fijación del complemento.

Se debe considerar con cierta cautela cualquier diagnóstico de la EEV en un individuo que se base en la seroconversión en ausencia de una epizootia. Las infecciones de los équidos por virus enzoóticos de la EEV provocan una viremia de nivel bajo acompañada del desarrollo de anticuerpos, pero en la mayoría de los casos estos animales no manifestarán la enfermedad clínica. Los anticuerpos inducidos por esas infecciones subclínicas pueden reaccionar ante las variantes epizooticas del virus de la EEV.

Requisitos para las vacunas: Las únicas vacunas aceptables contra la EEV son una vacuna con el virus atenuado, preparada con la cepa TC-83, o las preparaciones con virus inactivado logradas a partir de esta misma cepa. El virus atenuado, administrado por vía intramuscular, es inmunogénico, pero en ocasiones provoca reacciones adversas en el receptor de la vacuna.

Las preparaciones del virus virulento de la EEV inactivado con formalina nunca se deben utilizar en los équidos, ya que tras el tratamiento con formalina pueden permanecer activos algunos virus virulentos residuales y, por tanto, causarían una enfermedad grave tanto en los animales como en el hombre. Se han producido epizootias de la EEV como consecuencia de la utilización de tales virus tratados con formalina.

A. INTRODUCCIÓN

La encefalomiелitis equina venezolana (EEV) es una infección vírica inflamatoria de los équidos y los humanos transmitida por artrópodos que desemboca en una encefalitis con fiebre leve o aguda y, en ocasiones, fatal.

Los virus de la EEV constituyen un complejo dentro del género *Alphavirus*, familia *Togaviridae*. El complejo vírico de la EEV consta de seis subtipos (I–VI). El subtipo I incluye cinco variantes antigénicas (AB–F); las variantes 1-AB y 1-C se asocian con la EEV epizootica en équidos y con la epidemia simultánea en humanos (Calisher *et al.*, 1980; Monath & Trent, 1981; Pan-American Health Organization, 1972; Walton, 1981; Walton *et al.*, 1973; Walton & Grayson, 1989); se cree que las variantes epizooticas 1-AB y 1-C proceden de mutaciones del serotipo enzoótico 1-D (Weaver *et al.*, 2004); solo se han aislado cepas de 1-AB y 1-C en el curso de epizootias equinas. Entre las cepas enzoóticas se encuentran las variantes 1-D, 1-E y 1-F del subtipo I, el subtipo II, cuatro variantes antigénicas (A–D) del subtipo III, y los subtipos IV–VI. Por lo general, los virus enzoóticos de la EEV no producen encefalomiелitis en los équidos (Walton *et al.*, 1973), pero en 1993 y 1996 el subtipo enzoótico 1-E causó una epizootia de alcance limitado en caballos de México. Las variantes y subtipos enzoóticos pueden producir la enfermedad clínica en el hombre (Monath & Trent, 1981; Pan-American Health Organization, 1972; Powers *et al.*, 1997; Walton, 1981; Walton & Grayson, 1989).

Históricamente, la EEV epizootica se encontraba limitada al norte y el oeste de Sudamérica (Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú y Trinidad) (Pan-American Health Organization, 1972). De 1969 a 1972, sin embargo, surgió una actividad epizootica (variante 1-AB) en Guatemala, El Salvador, Nicaragua, Honduras, Costa Rica, Belice, México, y los EE.UU. (Texas). No se han producido epizootias de EEV debidas a los virus 1-AB o 1-C ni en Norteamérica ni en México desde 1972. Los aislamientos recientes en equinos y humanos del virus epizootico de la EEV se obtuvieron a partir de cepas del subtipo 1-C procedentes de Venezuela en 1993, 1995 y 1996, y de Colombia en 1995.

Los focos producidos por los subtipos y las variantes enzoóticas se localizan en áreas clasificadas como bosques húmedos tropicales, es decir, las áreas con índices pluviométricos elevados o las áreas pantanosas abiertas con corrientes de agua amplias y sinuosas. Son zonas de América en las que las precipitaciones se distribuyen a lo largo de todo el año o zonas con suministro permanente de agua. Los virus enzoóticos se difunden entre los roedores y quizás entre las aves, al ser picados por mosquitos (Monath & Trent, 1981; Pan-American Health Organization, 1972; Walton, 1981; Walton & Grayson, 1989). Se han identificado cepas enzoóticas de la EEV en las Everglades (zonas pantanosas) de Florida (subtipo II), México (variante 1-E), los países de Centroamérica (variante 1-E), Panamá (variantes 1-D e 1-E), Venezuela (variante 1-D), Colombia (variante 1-D), Perú (variantes 1-D, III-C y III-D), Guayana francesa (variante III-B y subtipo V), Ecuador (variante 1-D), Surinam (variante III-A), Trinidad (variante III-A), Brasil (variantes 1-F e III-A y subtipo IV), y Argentina (subtipo VI). La variante III-B se ha aislado en los EE.UU. (Colorado y Dakota del Sur) a partir de un nicho ecológico atípico, en una asociación inusual con aves (Monath & Trent, 1981; Pan-American Health Organization, 1972; Walton, 1981; Walton & Grayson, 1989). El virus de Everglades es un virus de la EEV del subtipo II que infecta a roedores y perros en Florida.

Un diagnóstico provisional de la encefalomiелitis vírica en los équidos puede basarse en la incidencia de la enfermedad neurológica aguda durante el verano en climas templados o durante la estación húmeda en los climas tropical o subtropical. Estas son las estaciones de actividad de los insectos hematófagos. La infección vírica causará la enfermedad clínica simultánea de muchos équidos en vez de la aparición de casos aislados. La actividad epizootica puede recorrer en poco tiempo largas distancias a través de las poblaciones susceptibles (Monath & Trent, 1981; Pan-American Health Organization, 1972; Walton, 1981; Walton & Grayson, 1989). Debe establecerse un diagnóstico diferencial con la encefalomiелitis equina oriental y occidental (capítulo 3.5.5), la encefalitis japonesa (capítulo 3.1.10), la encefalitis del Nilo Occidental (capítulo 3.1.24), la rabia (capítulo 3.1.17) y otros agentes infecciosos, parasitarios o no infecciosos, que producen signos similares.

Las infecciones humanas por el virus de la EEV pueden originarse a través de aerosoles que contengan detritus de las jaulas de los roedores de experimentación infectados y por accidentes de laboratorio. Algunos operarios de laboratorios han contraído infecciones producidas por variantes y subtipos epizooticos y enzoóticos del virus

(American Committee on Arthropod-Borne Viruses [ACAV], 1980). En el hombre, pueden producirse la enfermedad clínica o la muerte. Quienes manipulan el virus infeccioso de la EEV o los correspondientes antígenos preparados con tejidos infectados o con cultivos celulares, deben vacunarse y se debe demostrar su inmunidad mediante la presencia de los anticuerpos neutralizantes específicos frente al virus de la EEV (Berge *et al.*, 1961; Pan-American Health Organization, 1972). Si la vacunación no resulta viable, se recomienda el uso de equipo de protección personal que incluya protección respiratoria en todos los casos. Las manipulaciones que se lleven a cabo en el laboratorio deberán realizarse en un nivel de bioseguridad y contención adecuado que se determinará mediante un análisis del riesgo biológico (véase 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*).

B. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

Tabla 1. Métodos analíticos de los que se dispone para el diagnóstico de la encefalomiелitis equina venezolana y sus finalidades

Método	Finalidad				
	Determinar la ausencia de infección en la población	Determinar la ausencia de infección en animales determinados	Confirmar casos clínicos	Determinar la prevalencia de infección - vigilancia	Determinar el estado inmunitario en animales o poblaciones determinadas post-vacunación
Identificación del agente¹					
Identificación del agente	–	+	+++	–	–
Detección de la respuesta inmunitaria					
ELISA con captura de IgM	–	–	++	–	–
Neutralización por reducción de placas (muestras apareadas)	+++	+	++	++	+++
Inhibición de la hemaglutinación (muestras apareadas)	+	++	++	++	++
Fijación del complemento (muestras apareadas)	–	+	++	–	–

Clave: +++ = método recomendado; ++ = método adecuado; + = puede utilizarse en ciertas situaciones, pero el coste, la fiabilidad u otros factores limitan su aplicación; – = no adecuado para esta finalidad.

Aunque no todas las pruebas clasificadas como +++ o ++ han sido validadas formalmente, su perfil sistemático y el hecho de que se hayan utilizado mucho sin resultados dudosos, las hace aceptable. ELISA=enzimoimmunoanálisis.

1. Identificación del agente

El diagnóstico confirmativo de la EEV se basa en el aislamiento e identificación del virus o en la demostración de la seroconversión. El periodo de viremia coincide con el inicio de la pirexia dentro de las 12–24 horas tras la infección. La viremia termina a los 5–6 días después del comienzo de la infección y coincide con la producción de anticuerpos neutralizantes y la aparición de los signos neurológicos clínicos. Frecuentemente, los virus de la EEV no se pueden aislar a partir de los encéfalos de los équidos infectados. Para aislar el virus, se deben recoger muestras de sangre procedentes de los animales febriles que estén estrechamente relacionados con los casos clínicos de encefalitis.

El virus se puede aislar a partir de la sangre o los sueros de los animales infectados mediante la inoculación intraencefálica de ratones o hámsteres de entre 1 y 4-días de vida o de otros animales de laboratorio, tales como cobayas y ratones destetados. También se pueden aislar inoculando diversos tipos de cultivos celulares, entre los que cabe señalar el riñón de mono verde africano (Vero), el riñón de conejo (RK-13), el riñón de cría de

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

hámster (BHK-21), o los fibroblastos de embrión de pollo o de pato, o mediante la inoculación de huevos de pollo embrionarios. Los detalles de las técnicas de identificación vírica se describen en el capítulo 3.5.5.

Se pueden identificar las cepas aisladas como virus de la EEV mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR), pruebas de fijación del complemento (FC), de inhibición de la hemaglutinación (HI), o de neutralización por reducción de placas (PRN), o mediante inmunofluorescencia tal y como se describe en el capítulo 3.5.5. Las cepas aisladas correspondientes al virus de la EEV se pueden caracterizar por pruebas de inmunofluorescencia indirecta o de PRN en las se que emplean anticuerpos monoclonales o mediante la secuenciación de los ácidos nucleicos. La caracterización del virus de la EEV se debe llevar a cabo en un Laboratorio de Referencia (véase la Tabla de la Parte 4 de este *Manual Terrestre*).

2. Pruebas serológicas

El diagnóstico de la infección en los équidos por el virus de la EEV requiere la demostración de la presencia de anticuerpos específicos en pares de muestras de suero, en los que una se recoge en la fase aguda, y la otra, en la fase convaleciente. Después de la infección, los anticuerpos detectados en la prueba de PRN aparecerán entre los días 5 y 7, en la FC entre los días 6 y 9, y en la HI entre los días 6 y 7. La segunda muestra de suero, correspondiente a la fase de convalecencia, se debe tomar entre los días 4 y 7 tras la recogida de la primera muestra de la fase aguda o en el momento de la muerte. En el Capítulo 3.5.5 se describen con detalle los procedimientos serológicos que se deben seguir. Para interpretar cualquiera de los resultados de las pruebas serológicas de la EEV, se debe tener en cuenta el historial de vacunación. En el caso de los caballos que no se han vacunado recientemente con una cepa del virus vivo atenuado, la demostración de la presencia de anticuerpos séricos del tipo IgM específicos de la EEV en una muestra simple de suero confirma una exposición reciente al virus.

Se debe ver con cierta cautela cualquier diagnóstico individual de la EEV que se base en la seroconversión en ausencia de una epizootia. A pesar de que los subtipos y variantes enzoóticos del virus no son patógenos para los équidos, la infección estimulará la producción de anticuerpos frente a las variantes epizooticas del virus de la EEV.

C. REQUISITOS PARA LAS VACUNAS

1. Antecedentes

Las vacunas aceptadas contra la infección de la EEV son una vacuna consistente en el virus atenuado, cepa TC-83, y una preparación con virus inactivado lograda a partir de esta misma cepa (Monath & Trent, 1981; Pan-American Health Organization, 1972; Walton, 1981; Walton & Grayson, 1989). Deben seguirse las instrucciones de uso que vienen con los productos comerciales; abajo se muestran ejemplos de directrices habituales.

La vacuna inactivada se debe administrar en dos dosis con un intervalo de 2–4 semanas entre ellas. Se recomienda la revacunación anual.

La vacuna atenuada debe reconstituirse con solución salina fisiológica y usarse de inmediato. Los viales multidosis se mantienen en hielo mientras se está utilizando la vacuna. Se debe desechar, sin correr riesgos, cualquier vacuna no empleada tras 4 horas desde la reconstitución. Los animales de más de 3 meses de edad se vacunarán por vía subcutánea en la región cervical con una dosis única. Se recomienda la revacunación anual.

Las directrices para la producción de vacunas veterinarias se encuentran en el Capítulo 1.1.8 *Principios de producción de vacunas veterinarias*. Las directrices indicadas abajo y en el capítulo 1.18 son de carácter general y podrían tener que complementarse con requisitos de ámbito nacional o regional.

2. Descripción de la producción y requisitos mínimos para las vacunas

2.1. Características del inóculo

Véase el capítulo 1.1.8 para conocer los requisitos generales para los inóculos primarios y los pases permitidos para la producción de vacuna. Los lotes de inóculo adecuados deberán mantenerse a –70°C en estado liofilizado.

2.1.1. Características biológicas del inóculo primario

La cepa TC-83 de la vacuna del virus de la EEV se originó a partir la una cepa de asno de Trinidad (una variante de I-AB) del virus epizootico de la EEV aislado en 1944. Esta cepa se

obtuvo mediante pases seriados de la cepa de asno de Trinidad en células de corazón de feto de cobaya. Es segura e inmunogénica a los niveles de pase establecidos e induce inmunidad protectora en los équidos vacunados, aunque a veces se pueden producir reacciones adversas. En un principio la vacuna se desarrolló para ser utilizada en el personal implicado en las investigaciones de alto riesgo del virus de la EEV.

2.1.2. Criterios de calidad (esterilidad, pureza, ausencia de agentes extraños)

En el MSV deben realizarse pruebas de pureza, identidad y ausencia de agentes extraños antes de utilizarlo en la fabricación de vacunas. El MSV debe estar libre de bacterias, hongos y micoplasmas. El MSV se cultiva en una línea de células Vero y en un tipo celular equino embrionario con confirmación mediante la técnica de la inmunofluorescencia para demostrar la ausencia de herpesvirus equino, adenovirus equino, virus de la arteritis equina, virus de la diarrea vírica bovina, reovirus y virus de la rabia. El MSV también debe estar libre de virus extraños, lo cual deberá demostrarse por la ausencia de efecto citopático (ECP) y de hemadsorción en cultivo celular.

2.1.3. Validación como cepa vacunal

En una prueba de inmunogenicidad, debe demostrarse que al nivel de pases más alto el MSV destinado a producción es eficaz (confiere protección) en la prueba de potencia realizada en cobayas mediante vacunación y serología.

2.1.4. Procedimiento de emergencia para la aceptación provisional de nuevos virus de inóculo primario (MSV) en el caso de una epizootia (con agentes patógenos con muchos serotipos, como el virus de la lengua azul, el virus de la influenza aviar altamente patógena, el virus de la fiebre aftosa, etc.).

En situaciones de epizootias de emergencia, la aceptación provisional de una cepa nueva podría basarse en un análisis del riesgo de contaminación del antígeno producido a partir del MSV nuevo por agentes extraños. La evaluación del riesgo deberá tener en cuenta las características del proceso, incluida la naturaleza y concentración del inactivante en el caso de las vacunas inactivadas, antes de permitir o no la liberación prematura del producto nuevo. No obstante, en équidos nunca deben utilizarse preparaciones de virus epizootico virulento de la EEV tratadas con formalina, porque tras el tratamiento con formalina puede quedar virus virulento residual, y dar lugar a enfermedad grave. Han tenido lugar epizootias de EEV en América Central y del Sur debido al uso de este tipo de preparaciones (Walton, 1981; Weaver *et al.*, 1999).

2.2. Método de fabricación

2.2.1. Procedimiento

El MSV debe propagarse en líneas celulares que se sepa que permiten el crecimiento del virus de la EEV. Véase el capítulo 1.1.8 para más información sobre la preparación de reservas de células primarias y las pruebas que en ellas se realizan. Las líneas celulares deben estar libres de virus extraños, bacterias, hongos y micoplasmas. La propagación del virus no puede superar los cinco pases desde el MSV, a no ser que se haya demostrado que un nivel superior de pases aporta protección al animal hospedador.

La línea celular susceptible se siembra en frascos apropiados. Puede utilizarse medio mínimo esencial suplementado con suero fetal bovino (FBS) como medio para la producción. La incubación tiene lugar a 37°C.

Los cultivos celulares se inoculan directamente con reserva de virus de trabajo de la EEV, que en general está a 1 a 4 pases del MSV. Los cultivos inoculados se incuban durante 1–3 días antes de recolectar el medio de cultivo. Durante la incubación, se observan a diario para comprobar si presentan ECP o contaminación bacteriana.

La cepa vacuna TC-83 de la EEV puede inactivarse químicamente con formalina y mezclarse con un adyuvante adecuado. La duración del periodo de inactivación dependerá de la cinética de inactivación observada.

Los conservantes utilizados son timerosal a una dilución de 1/1.000 y antibióticos (neomicina, polimixina, anfotericina B y gentamicina).

2.2.2. Requisitos para los ingredientes

Todos los ingredientes utilizados en la fabricación de la vacuna contra la EEV deben estar definidos en protocolos de fabricación aprobados, y deben ser los mismos en todos los lotes. Véase el capítulo 1.1.8 para conocer las directrices generales relativas a los ingredientes de origen animal. Los ingredientes de origen animal deben proceder de un país con riesgo insignificante de encefalopatías espongiiformes transmisibles (EET).

2.2.3. Controles durante el proceso

Los lotes de producción deben examinarse a diario para comprobar si presentan alteraciones citopáticas. Tras la recolección, en la suspensión vírica deberá realizarse una prueba de presencia de contaminación microbiana. Los lotes de producción de virus de la EEV deberán titularse en cultivo tisular antes de la inactivación, para estandarizar el producto. Los lotes de título bajo pueden concentrarse o mezclarse con lotes de título alto para lograr el título correcto.

En los lotes de virus de la EEV inactivado deberán realizarse pruebas para comprobar si la inactivación es completa, utilizando pollitos de 6–12 horas de vida.

2.2.4. Pruebas en lotes de producto final

i) Esterilidad

Se examinan muestras de vacuna inactivada y viva para comprobar si presentan contaminación bacteriana o fúngica. El volumen de medio utilizado en estas pruebas deberá ser suficiente como para anular los posibles efectos bacteriostáticos o fungistáticos de los conservantes del producto. Para comprobar la posible presencia de bacterias, en diez frascos, cada uno de los cuales contendrá como mínimo 120 ml de caldo digesto de caseína soja, se inocularán 0,2 ml de diez muestras de recipiente final. Estos diez frascos se incubarán a 30–35°C durante 14 días y se comprobará si presentan crecimiento bacteriano. Para la prueba de presencia de hongos, en diez frascos, cada uno de los cuales contendrá como mínimo 40 ml de caldo digesto de caseína soja, se inocularán 0,2 ml de diez muestras de recipiente final. Estos diez frascos se incubarán a 20–25°C durante 14 días y se comprobará si presentan crecimiento fúngico. Cada país puede tener sus propios requisitos.

ii) Identidad

Deben realizarse pruebas de identidad en lotes independientes si la prueba de potencia del lote, como las titulaciones en tejido-cultivo de las vacunas de virus vivo, no verifica lo suficiente la identidad del agente de la vacuna. Las pruebas de identidad pueden consistir en la inmunofluorescencia o en pruebas de neutralización de suero.

iii) Seguridad

Las pruebas de seguridad de un lote, destinadas a comprobar la inactivación del virus de la EEV, se llevan a cabo en pollitos de 6–12 horas de vida. En diez pollitos se inoculan por vía subcutánea 0,5 ml del producto, y se observan a diario durante 10 días. Si aparecen reacciones desfavorables, el lote será inaceptable.

iv) Potencia del lote

Las pruebas de potencia de vacunas inactivadas se describen en el capítulo 3.5.5, excepto por el hecho de que el título de anticuerpos aceptable en cobayas inoculados será $\geq 1/4$.

2.3. Requisitos para la autorización/registro/licencia

2.3.1. Proceso de fabricación

Para el registro de vacunas, deben presentarse a las autoridades todos los datos pertinentes relativos a la fabricación de la vacuna y a las pruebas de control de calidad (véase el apartado C.2.1 y C.2.2). Esta información deberá corresponder a tres lotes de vacuna consecutivos, cuyo volumen no sea inferior a 1/3 del volumen del lote industrial habitual.

Los controles durante el proceso forman parte del proceso de fabricación.

2.3.2. Requisitos de seguridad

La formulación de la vacuna inactivada final deberá comprobarse en un número reducido de animales de destino antes de proceder al estudio de campo a mayor escala. La formulación de la vacuna final no deberá causar reacciones adversas.

Para proceder a la aprobación final de la vacuna, antes deberán llevarse a cabo estudios de seguridad sobre el terreno. En general, deberán utilizarse dos series, en tres ubicaciones geográficas distintas y en las condiciones de cría animal habituales, con al menos 600 animales. La vacuna deberá administrarse según las recomendaciones de la ficha técnica (incluidas las dosis de refuerzo) y deberá contener la cantidad máxima permitida de antígeno del virus de la EEV. (Si no se especifica el contenido máximo en antígeno, las series deberán tener la potencia típica prevista post-comercialización). Alrededor de un tercio de los animales deberá tener al menos la edad recomendada de vacunación.

i) Precauciones (peligros)

La vacuna debe identificarse como nociva o patógena para el personal que la administra. Los fabricantes deben mostrar advertencias suficientes de que se precisa buscar ayuda médica en caso de auto-inyección (también de adyuvantes, vacunas de emulsión oleosa, conservantes, etc.) con advertencias en la ficha técnica/prospecto para que el personal que administra la vacuna sea consciente de todos los peligros.

2.3.3. Requisitos de eficacia

Para registrar una vacuna comercial, deberá demostrarse la eficacia (protección) de un lote o lotes producidos de acuerdo con el método estándar y que contengan la cantidad mínima de antígeno o el valor mínimo de potencia en la prueba de potencia realizada en cobayas mediante vacunación/serología; cada futuro lote comercial deberá comprobarse antes de ser liberado, con el fin de garantizar que tiene el mismo valor de potencia que el comprobado en el/los lote/s empleados para la/s prueba/s de eficacia.

2.3.4. Vacunas que permiten una estrategia DIVA (detección de infección en animales vacunados)

La vacunación solo se recomienda en caballos de zonas positivas a la EEV. Los caballos vacunados pueden desarrollar un título serológico, que puede impedir la exportación del caballo.

2.3.5. Duración de la inmunidad

No se dispone de estudios exhaustivos acerca de la duración de la inmunidad. Para la vacuna inactivada se recomienda una revacunación anual. Los potros que se vacunen con menos de 1 año de vida deben revacunarse antes de la próxima estación del vector. No es recomendable la revacunación con la vacuna atenuada.

2.3.6. Estabilidad

La vacuna liofilizada es estable e inmunogénica durante 2 años si se mantiene refrigerada a 2–7°C. A partir de los 2 años, se debe desechar. Es necesario que los viales multidosis de la vacuna atenuada se mantengan en hielo mientras están en uso.

BIBLIOGRAFÍA

AMERICAN COMMITTEE ON ARTHROPOD-BORNE VIRUSES (ACAV), SUBCOMMITTEE ON ARBOVIRUS LABORATORY SAFETY (1980). Laboratory safety for arboviruses and certain viruses of vertebrates. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **29**, 1359–1381.

BERGE T.O., BANKS I.S. & TIGERTT W.D. (1961). Attenuation of Venezuelan equine encephalomyelitis virus by *in vitro* cultivation in guinea pig heart cells. *Am. J. Hyg.*, **73**, 209–218.

CALISHER C.H., SHOPE R.E., BRANDT W., CASALS J., KARABATSOS N., MURPHY F.A., TESH R.B. & WIEBE M.E. (1980). Proposed antigenic classification of registered arboviruses. I. *Togavirus Alphavirus*. *Intervirology*, **14**, 229–232.

MONATH T.P. & TRENT D.W. (1981). Togaviral diseases of domestic animals. *Comp. Diagn. Vir. Dis.*, **4**, 331–440.

PAN-AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (1972). Venezuelan encephalitis. *In: Proceedings of a Workshop/Symposium on Venezuelan Encephalitis Virus*. Sci. Publ. No. 243, Washington DC, USA, 416 pp.

POWERS A.M., OBERSTE M.S., BRAULT A.C., RICO-HESSE R., SCHMURA S.M., SMITH J.F., KANG W., SWEENEY W.P. & WEAVER S.C. (1997). Repeated emergence of epidemic/epizootic Venezuelan equine encephalitis from a single genotype of enzootic subtype ID virus. *J. Virol.*, **71**, 6697–6705.

UNITED STATES DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (1999–2009). Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/index.htm>.

WALTON T.E. (1981). Chapter 24. Equine encephalomyelitis. *In: Virus Diseases of Food Animals. A World Geography of Epidemiology and Control. Disease Monographs, Vol. 2*, Gibbs E.P.J., ed. Academic Press, New York, USA, 587–625.

WALTON T.E., ALVAREZ O. Jr, BUCKWALTER R.M. & JOHNSON K.M. (1973). Experimental infection of horses with enzootic and epizootic strains of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *J. Infect. Dis.*, **128**, 271–282.

WALTON T.E. & GRAYSON M.A. (1989). Chapter 46. Venezuelan equine encephalomyelitis. *In: The Arboviruses: Epidemiology and Ecology, Vol. 4*, Monath T.P., ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 203–231.

WEAVER S.C., FERRO C., BARREREA R. BOSCHELL J. & NAVARRO J.C. (2004) Venezuelan equine encephalitis. *Annu. Rev. Entomol.*, **49**, 141–174.

WEAVER S.C., PFEFFER M., MARRIOTT K., KANG W. & KINNEY R.M. (1999) Genetic evidence for the origins of Venezuelan equine encephalitis virus subtype IAB outbreaks. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **60**, 441–448.

WEAVER S.C., WINEGAR R., MANGER I.D. & FORRESTER N.L. (2012). Alphaviruses: Population genetics and determinants of emergence. *Antiviral Res.*, **94**, 242–257.

*

* *

NB: Existe un Laboratorio de Referencia de la OIE para la encefalomiелitis equina venezolana (puede consultarse la lista actualizada en la Tabla de la Parte 4 de este *Manual Terrestre* y en la página web de la OIE, <http://www.oie.int/es/nuestra-experiencia-cientifica/laboratorios-de-referencia/lista-des-laboratorios/>). Para más información sobre pruebas de diagnóstico, reactivos y vacunas para la encefalomiелitis equina venezolana, por favor contacte con los Laboratorios de Referencia de la OIE

NB: ADOPTADO POR PRIMERA VEZ EN 1989; ÚLTIMAS ACTUALIZACIONES ADOPTADAS EN 2013.