

Secuelas crónicas en el ganado bovino asociadas al serotipo 8 de la Enfermedad Hemorrágica Epizootica en la Comunidad de Madrid, España.

Nicolás Aradilla¹, Andrea Serrano Hernando², Alberto Díez-Guerrier^{1,2,3}, Javier de Pablo-Moreno¹ y Antonio Rodríguez-Bertos^{1,4*}

¹ VISAVET Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria.

² Maeva Servet, S.L. Alameda del Valle, Madrid.

³ Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. UCM.

⁴ Departamento de Medicina Interna y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. 28040 Madrid, España.

*Autor de correspondencia: arbertos@ucm.es

Resumen

Los recientes brotes en el ganado bovino producidos por el serotipo 8 de la Enfermedad Hemorrágica Epizootica en Europa están causando grandes desafíos sanitarios y económicos para los veterinarios, impulsando una gran cantidad de publicaciones científicas al respecto desde el punto de vista epidemiológico y diagnóstico, aun así, hay escasa información sobre la patogenia real de este serotipo concreto en el ganado bovino, su implicación sobre el sistema inmune y las posibles secuelas crónicas que pueden causar a los animales infectados. El objetivo principal del trabajo es describir mediante un estudio histopatológico las secuelas crónicas encontradas en 5 bóvidos de la comunidad de Madrid (España), afectados por el serotipo 8, y aportar nuevos hallazgos histopatológicos que contribuyan a un mejor entendimiento del curso crónico de esta enfermedad en el ganado bovino. Cuatro de los 5 animales (80%) presentaron bronconeumonías bacterianas intensas, siendo 2 (40%) de ellas de tipo supurativo, y 2 (40%) de tipo fibrinoso. Además, se observaron cambios histopatológicos reseñables en el tejido linfoide, encontrando depleción linfoide (60%) y linfocitosis (40%) en un número representativo de los animales, así como otras lesiones compatibles con secuelas crónicas de la enfermedad como la recanalización crónica de trombos (40%), hematopoyesis extramedular 60(%) y la presencia de células de Mott (40%). La llamativa cantidad de bronconeumonías en los animales junto a la presencia de lesiones en el tejido linfoide secundario sugiere que el serotipo 8 de la Enfermedad Hemorrágica Epizootica pudiera tener una importante implicación en el sistema inmune del ganado bovino, predisponiendo a los mismos a infecciones secundarias como secuelas crónicas de la enfermedad, que aumentan enormemente la mortalidad.

1. Introducción

La Enfermedad Hemorrágica Epizootica (EHE) es una enfermedad infecciosa vírica no contagiosa transmitida por vectores artrópodos del género *Culicoides*. Este virus pertenece al género *Orbivirus*, al igual que otras enfermedades infecciosas importantes en medicina veterinaria como la Peste Equina Africana y la enfermedad de la Lengua Azul. El genoma del virus de la EHE está formado por diez segmentos lineales de ARN bicatenario que codifican para siete proteínas estructurales (VP1-VP7) y al menos cuatro no estructurales (NS1-NS4) (Jiménez-Cabello et al., 2023). Hasta la fecha, se han reportado 7 serotipos diferentes, enumerados como 1, 2 y del 4 al 8 (Portanti et al., 2023). No obstante, la relación entre los serotipos no se ha determinado completamente y la clasificación de los serotipos es compleja (Thabet et al., 2023).

La EHE, fue descrita por primera vez en el estado de Nueva Jersey, Estados Unidos, en un ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) (Shope et al., 1955), e históricamente, siempre se le ha considerado una enfermedad grave en cérvidos (Howerth et al., 2001), y con menor importancia en el ganado bovino (Ruder et al., 2012). A pesar de ello, se han descrito importantes brotes por una variante del serotipo 2 en Japón a mediados del siglo XX (Jiménez-Cabello et al., 2023), y el serotipo 8 en Israel en el año 2006. Esta enfermedad, produce grandes pérdidas económicas en el ganado bovino con valor de unos 2.491.000 dólares americanos, y una media de 26,5 dólares por animal (Kedmi et al., 2010). Además, la enfermedad ha sido descrita en otros animales como en el yak (*Bos mutus*) (Raabis et al., 2014), el antílope americano (*Antilocapra americana*) (Brodie et al., 1998), la corzuela parda (*Mazama gouazoubira*) (Favero et al., 2013), y algunos animales como la cabra doméstica (*Capra hircus*) o el bisonte americano (*Bison bison*) han sido descritos como seropositivos (Nol et al., 2010), pudiendo jugar un papel importante en la epidemiología de la enfermedad (Jiménez-Cabello et al., 2023).

En la actualidad, respecto a los rumiantes domésticos, algunos serotipos de la EHE se consideran patógenos para el ganado bovino (Mutlu Temizel et al., 2009; Spedicato et al., 2023), mientras que en el ganado ovino solo se ha descrito viremia y seroconversión, y en el caso del ganado caprino exclusivamente seroconversión (Spedicato et al., 2023). Además, el ganado bovino es considerado menos sensible a la enfermedad que los cérvidos (Ruder et al., 2012; Jiménez-Cabello et al., 2023), sobre todo en el ciervo de cola

blanca (*Odocoileus virginianus*), considerado por muchos como la especie más sensible a la enfermedad, donde algunos autores describen mortalidades muy elevadas (Fletcher & Karstad, 1970; Fischer et al., 1995; Ruder et al., 2012). Entre los signos clínicos y las lesiones más importantes descritas en los bóvidos encontramos estomatitis erosivo-ulcerativas con petequias linguales, enrojecimiento y descamación del hocico, descargas nasal y ocular, edema e hiperemia conjuntival y palpebral, dificultad respiratoria, cojeras con edema y hemorragias en las pezuñas, eritema de la ubre con disminución de producción de leche, lesiones erosivo-ulcerativas en rumen, retículo, omaso y abomaso, y abortos (Yadin et al., 2008; Mutlu Temizel et al., 2009; Savini et al., 2011; Anbalagan & Hause, 2014; Ohashi et al., 2022).

Tradicionalmente, la EHE se relacionaba con regiones de climas tropicales, donde las poblaciones vectoriales de *Culicoides* tienen su máximo potencial de actividad, pero en la actualidad, esta enfermedad ha sido descrita en numerosos países (Jiménez-Cabello et al., 2023), como España, Francia e Italia (Lorusso et al., 2023; <https://agriculture.gouv.fr/mhe-la-maladie-hemorragique-epizootique>), donde está produciendo repercusiones importantes en el ganado bovino (Ben Hassine et al., 2024) y los ciervos salvajes. En particular en España, el serotipo que circulaba en los brotes de Túnez entre 2021 y 2022 (Sghaier et al., 2022) fue descrito por primera vez en varias explotaciones bovinas en septiembre de 2022, y en la actualidad, se han descrito casos de este mismo serotipo a lo largo de toda la península, afectando tanto al ciervo rojo autóctono (*Cervus elaphus*) (Ruiz-Fons et al., 2024) como a explotaciones bovinas. Debido a la presencia de vectores competentes en la transmisión de la enfermedad en Europa, este virus jugará un papel importante en el futuro del sector bovino europeo, asumiendo que la probabilidad de que la enfermedad se haga endémica es muy elevada (Breard et al., 2013; Ben Hassine et al., 2024). A pesar de la gran cantidad de estudios recientes sobre el serotipo 8, poca información se tiene sobre la patogenia real de este serotipo concreto en el ganado bovino, su implicación directa sobre el sistema inmune, y mucho menos, sobre el curso crónico y las potenciales secuelas que puede producir.

El objetivo principal del trabajo es describir mediante un estudio anatomopatológico las secuelas crónicas encontradas en el ganado bovino de la comunidad de Madrid afectados por la EHE serotipo 8, y aportar nuevos hallazgos histopatológicos que contribuyan a un mejor entendimiento de la patogenia de este

serotipo, su relación con el sistema inmune, y sus repercusiones crónicas en la salud de los animales afectados.

2. Materiales y métodos

El estudio se basó en el análisis histopatológico de muestras procedentes de 5 bóvidos de diferentes explotaciones de ganadería extensiva localizadas en la Comunidad de Madrid, todos ellos con signos clínicos compatibles con la enfermedad, y con diagnóstico positivo a la EHE del mismo animal u otro de la misma explotación. Las autopsias fueron realizadas de manera completa, ordenada y sistemática por los veterinarios de las propias explotaciones, donde tomaron muestras de los órganos de interés y fueron enviadas al laboratorio de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET) fijadas en formol al 10% (Panreac Química SLU, Barcelona, España) para su posterior procesado.

2.1 Procesado de las muestras

Tras la recepción de las muestras en VISAVET, se procedió con el procesado histológico estandarizado en el centro. Comprobando la correcta fijación de los tejidos, tallado, deshidratación de tejidos e imbibición en parafina (Citadel 2000 Tissue Processor, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA), formación de bloques de parafina (HistoStar Embedding Workstation, Thermo Fisher Scientific) y corte a 3 µm (microtomo EpreDia™ HM 325). Respecto a las tinciones, se utilizaron hematoxilina-eosina (Panreac Química SLU), tricrómico de Masson (Panreac Química SLU) y ácido Peryódico de Schiff (PAS) (Panreac Química SLU; Bio-Optica Milano SPA).

2.2 Animales estudiados

Los 5 bóvidos procedentes de explotaciones de ganadería extensiva incluidos en el estudio comparten los criterios de selección considerados, presentando signos clínicos compatibles con la EHE, y todos procedentes de explotaciones positivas a la Enfermedad Hemorrágica Epizootica confirmada por diagnóstico directo mediante ELISA con muestras de sangre o PCR de tejidos en el Laboratorio Regional de Sanidad Animal de la Comunidad de Madrid situado en Colmenar Viejo. Además, todos los animales tras el cese de los signos clínicos compatibles con la EHE sufrieron un prolongado proceso de decaimiento, con una intensa pérdida de peso y producción, desembocando en el posterior

sacrificio de estos. La edad, sexo y raza de los animales seleccionados se representan en la Tabla 1. La cronología relacionada con cada animal, incluyendo la fecha de detección de signos clínicos compatibles con la Enfermedad Hemorrágica Epizootica, la fecha de la autopsia clínica de cada animal, y la fecha de diagnóstico positivo de cada explotación, se representa en la Tabla 2.

Tabla 1. *Características de los animales estudiados.*

	Edad	Sexo	Raza
Animal 1	5 años	Hembra	Frisona
Animal 2	12 años	Hembra	Cruce de Charolesa
Animal 3	5 años	Hembra	Cruce de Fleckvieh
Animal 4	9 años	Hembra	Cruce de Limousin
Animal 5	8 años	Hembra	Cruce de Avileña

Tabla 2. *Fechas de signos clínicos, autopsias y positividad de las explotaciones.*

	Fecha signos clínicos compatibles con EHE	Fecha explotación positiva	Fecha autopsia clínica
Animal 1	03/09/2023	14/09/2023	20/11/2023
Animal 2	16/09/2023	12/09/2023	19/01/2024
Animal 3	14/01/2024	08/09/2023	04/02/2024
Animal 4	24/10/2023	02/10/2023	23/01/2024
Animal 5	12/11/2023	20/11/2023	25/01/2024

2.3 Órganos estudiados

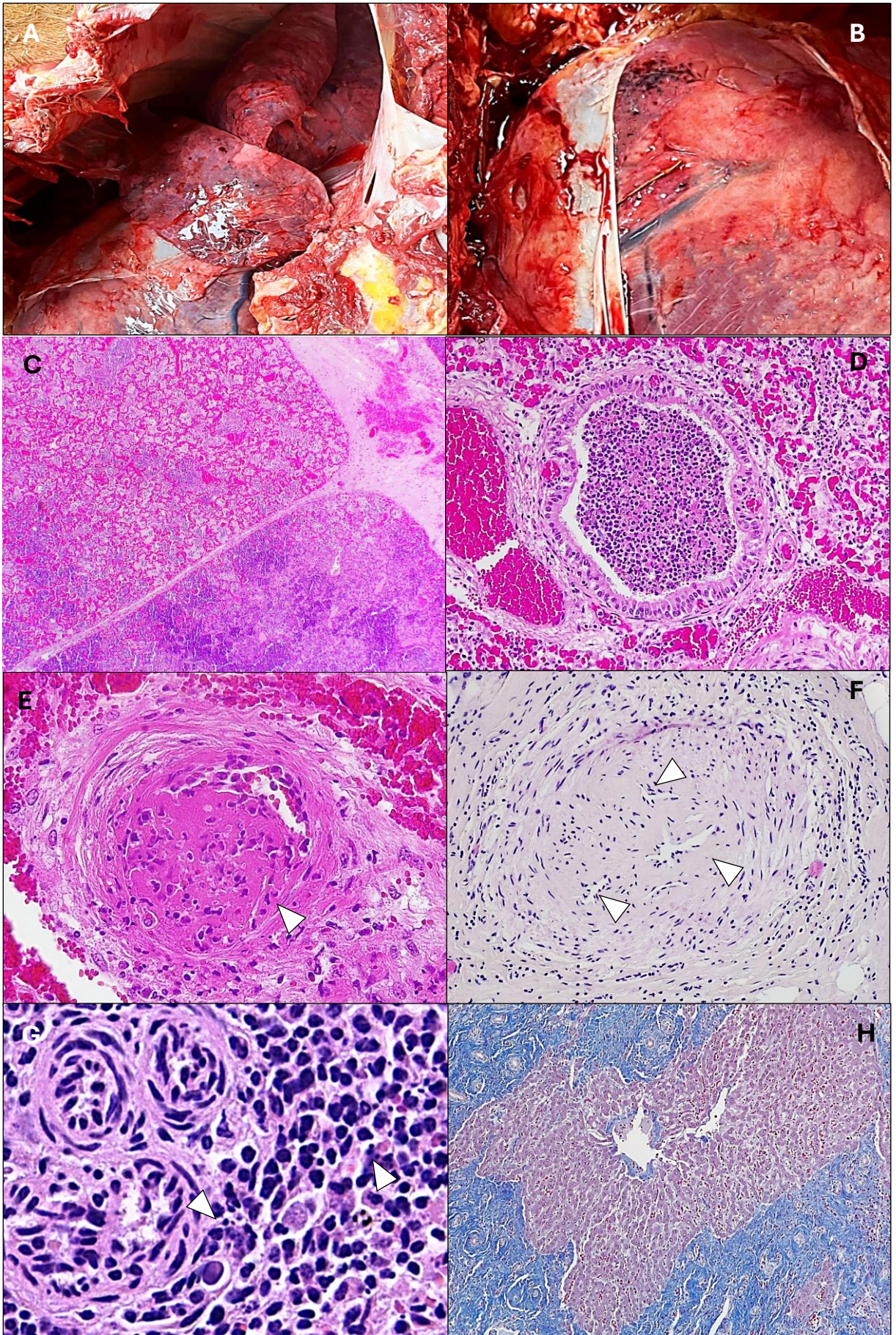
Los veterinarios encargados de cada explotación de procedencia de los animales realizaron las autopsias clínicas de los animales, tomando muestras de bazo, pulmón, hígado y varios linfonodos de todos los animales, así como de los órganos con lesiones macroscópicas evidentes.

3. Resultados

La media de días del intervalo entre el inicio de los signos clínicos y las autopsias es de 78,2 días, siendo de 78, 125, 21, 92 y 75 días para cada animal respectivamente. Además, la media para el intervalo de tiempo entre el inicio de los signos clínicos y la positividad de cada explotación es de 35,6 días, siendo de 12, 5, 129, 23 y 9 días para cada animal respectivamente. De los 5 animales estudiados, 4 (80%) presentaron bronconeumonías intensas, siendo 2 (40%) supurativas y 2 (40%) fibrinosas, considerando la causa principal de la muerte un fallo multiorgánico por sepsis asociado a una coagulación intravascular diseminada (CID) consecutiva a una intensa bronconeumonía bacteriana (Figura 1 A y B). Además, en 1 de los 5 animales no se pudo determinar la causa de la muerte. Las lesiones histopatológicas de bronconeumonía se acompañaban de forma frecuente con intensas hemorragias y edema alveolar e intersticial (80%), y además algunos lobulillos presentaban amplias zonas del parénquima pulmonar con necrosis central (40%) (Figura. 1 C) en el caso de las bronconeumonías fibrinosas. No obstante, en los procesos inflamatorios supurativos del pulmón (bronconeumonías catarrales o supurativas); además de edema, hemorragia y presencia de numerosos neutrófilos y macrófagos en la luz alveolar, se podían apreciar a nivel de la porción conductora (bronquios y bronquiolos) tapones mucosos organizados asociados a un intenso componente inflamatorio con predominio de neutrófilos (Figura 1 D). A nivel del septo interlobulillar se apreciaban trombosis vasculares agudas (40%) consistentes en coágulos intraluminales organizados y adheridos a la pared de vasos pulmonares de pequeño y mediano calibre (Figura 1 E). Acompañando a estas lesiones de curso agudo y subagudo, se evidenciaron lesiones indicadoras de cronicidad. Así, 3 animales (60%) mostraron una fibrosis intersticial pulmonar moderada y 2 (40%) pleuritis crónicas intensas, con gran cantidad de tejido conjuntivo maduro y neovascularización asociada, y en 2 de los animales (40%) secuelas crónicas de una trombosis vascular crónica, con marcada fibrosis perivascular con engrosamiento de las tunicas medias de los vasos sanguíneos, y recanalización interna de la luz trombosada (Figura 1F). Respecto a los órganos linfoides secundarios estudiados (bazo y linfonodos), se observó una moderada atrofia del tejido linfoide con depleción celular en 3 de los animales (60%), acompañada de una intensa linfocitólisis en 2 animales (40%) (Figura 1G). Uno de los animales (20%) presentó una hiperplasia linfoide moderada. Además, en un porcentaje reseñable de animales (60%) se observó una moderada cantidad de megacariocitos en la pulpa roja esplénica, indicando hematopoyesis extramedular. En la región medular de los linfonodos

de 2 animales (40%) se observó una intensa cantidad de células de Mott. Uno de los animales (20%) presentó una glomerulonefritis membranosa global y difusa. Cabe destacar, que el 80% de los animales presentó lesiones histopatológicas compatibles con *Fasciola hepatica*, con la presencia de trayectos parasitarios con necrosis central y una gran cantidad de eosinófilos en los casos más agudos, y una intensa fibrosis periportal, muchas veces formando puentes entre varios espacios porta y una marcada hiperplasia de conductos biliares y colestasis en los casos más crónicos (Figura 1 H). Además, la mitad de los animales presentaron eosinofilias sistémicas marcadas, junto a otras lesiones parasitarias compatibles con *Dictyocaulus viviparus* (20%) y *Sarcocystis spp* (20%).

Figura 1. Enfermedad Hemorrágica Epizoótica (EHE). **Imágenes macroscópicas:** **A).** Consolidación pulmonar lobar compatible con una bronconeumonía supurativa focalmente extensa, aguda e intensa. **B)** Hemorragias epicárdicas moderadas. **Imágenes microscópicas:** **C)** Bronconeumonía fibrinosa con evolución asincrónica del proceso en función del lóbulo. H&E. 4x; **D)** Bronquiolitis catarral con presencia luminal de un tapón mucoso con presencia de numerosos neutrófilos, macrófagos alveolares y células descamadas epiteliales. Bronconeumonía supurativa subaguda. H&E. 10x; **E)** Trombosis vascular con degeneración mural y hemorragias perivasculares. H&E. 20x; **F)** Recanalización de un trombo vascular crónico con intensa fibrosis perivascular. H&E. 10x; **G)** Intensa depleción linfoide esplénica con linfocitólisis de la pulpa blanca esplénica. H&E. 40x; **H)** Cirrosis micronodular hepática. Se puede apreciar los puentes fibróticos entre los espacios porta (color azul) con marcada hiperplasia biliar, que colapsan el parénquima hepático. Tricrómico de Mason. 4x



4. Discusión

En la actualidad, la patogenia general en el ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) de la Enfermedad Hemorrágica Epizootica se encuentra bien descrita (Jiménez-Cabello et al., 2023). Esta enfermedad tiene un característico tropismo endotelial (McLaughlin et al., 2003), cuya replicación intracelular desemboca en un desequilibrio hemodinámico que predispone a hemorragias y trombosis vascular (Kinson Tsai & Karstad, 1973). A pesar de esto, pocos estudios existen respecto a las repercusiones y secuelas crónicas que sufre el ganado bovino tras la infección por este *Orbivirus*, y aunque la mayoría de los artículos recientes se enfocan en el serotipo 8 debido a su actual problemática en Europa relacionados con aspectos epidemiológicos y diagnósticos (Sghaier et al., 2022; Portanti et al., 2023; Spedicato et al., 2023; Lorusso et al., 2023; Ben Hassine et al., 2024), este es el primer estudio que evalúa las secuelas crónicas en el ganado bovino infectado por el serotipo 8 de la Enfermedad Hemorrágica Epizootica.

La escasa evidencia de lesiones histopatológicas agudas o subagudas típicas de este virus sugiere que los hallazgos crónicos descritos son secuelas de la infección por la EHE, y que los signos clínicos evaluados son debidos a las propias secuelas de las neumonías observadas posteriormente. En medicina veterinaria, la amplia mayoría de las bronconeumonías en prácticamente todos los animales domésticos adultos se consideran secundarias a situaciones de inmunocompromiso, ya sea local o sistémico (Panciera & Confer, 2010), por lo que la causa subyacente a la gran incidencia de bronconeumonías observadas debe ser evaluada.

Numerosos estudios basados en cérvidos y en menor medida en el ganado bovino, describen la presencia de linfopenias clínicas de intensidad variable en los animales infectados por esta enfermedad (Debbie & Abelseth, 1971; Quist et al., 1997; Ruder et al., 2012), llegando incluso a describir una relación entre la intensidad de las linfopenias y una mayor mortalidad (Howerth et al., 2001; Quist et al., 1997). Quist y colaboradores (1997), hipotetizaron que esta disminución de linfocitos en sangre podría deberse a una linfocitólisis directamente inducida por el virus. En ese estudio además demostraron que los animales infectados por el virus de la EHE presentaban una proliferación de linfocitos T reducida. Esto contribuye a la situación de inmunocompromiso, y por lo tanto predisponiendo a las infecciones secundarias, como las observadas en nuestro estudio, sugiriendo además que esto podría ser debido a una inhibición selectiva de la señal de

transducción de los receptores relacionados con la IL-2. La depleción linfóide (60%) con linfocitólisis (40%) descrita en este estudio, junto a la alta presencia de animales con bronconeumonías bacterianas (80%) podría apoyar la hipótesis de Quist y colaboradores (1997) sobre la posible relación entre la EHE y el sistema inmune. Por lo que teniendo en cuenta las linfopenias descritas en la bibliografía científica (Debbie & Abelseth, 1971; Quist et al., 1997; Ruder et al., 2012; Jiménez-Cabello et al., 2023), junto a la implicación histológica que posee este virus sobre el tejido linfóide secundario a modo de depleción linfóide (Fletcher & Karstad, 1970; Quist et al., 1997; Ruiz-Fons et al., 2024), linfocitólisis, y las intensas bronconeumonías bacterianas observadas en nuestros animales, se debería considerar al *Orbivirus* de la EHE como un virus endoteliotropo con una posible capacidad inmunodepresora. Este potencial efecto inmunodepresor de este virus abre nuevas y necesarias líneas de investigación para poder evaluar mediante ensayos experimentales la implicación real del virus sobre el sistema inmune. La presencia de hiperplasia linfóide en uno de los animales podría ser debida a una reactivación del tejido linfóide para combatir la septicemia asociada a la intensa bronconeumonía bacteriana, pudiéndose haber visto menos afectado el tejido linfóide respecto al resto de animales debido a la propia idiosincrasia individual o cronicidad del proceso.

La inestabilidad hemodinámica producida durante las fases iniciales de la enfermedad también produce secuelas crónicas en los animales, viéndose reflejado en la marcada hematopoyesis extramedular (60%) ante anemias prolongadas debido a las hemorragias sistémicas sufridas, y la presencia de trombos recanalizados (40%) y extensas áreas de fibrosis perivascular asociadas a anteriores áreas de necrosis isquémica. El ya conocido efecto hemorrágico y trombogénico de este virus (Debbie & Abelseth, 1971), caracterizado por una serie de cambios degenerativos en las células endoteliales y la unión de material fibrinoso a la superficie endotelial (Kin-son Tsai & Karstad, 1973), es muy probable que contribuya al estado de inmunocompromiso ya mencionado debido a la gran implicación hemodinámica sistémica que produce este *Orbivirus*, pudiendo ser otra de las causas que contribuyan a las bronconeumonías bacterianas secundarias.

El prolongado intervalo de tiempo observado entre el inicio de los signos clínicos y la autopsia en los animales 1 (78 días), 2 (125 días), 4 (92 días) y 5 (75 días), así como algunas de las lesiones descritas en el estudio histopatológico, como la fibrosis pulmonar, las pleuritis crónicas, o la hematopoyesis extramedular son indicativas de procesos crónicos. Considerando las fechas de inicio de los signos clínicos compatibles con EHE

y autopsias de los animales, se podría hipotetizar que las bronconeumonías bacterianas comenzaron cerca a la infección por la EHE. Además, la presencia de células de Mott en varios animales (40%) apoyan la gran cronicidad de estos procesos, pudiendo estar presentes debido a los prolongados procesos inflamatorios (Alanen et al., 1985) descritos anteriormente. También es posible establecer una relación entre la gran sobreproducción de inmunoglobulinas y la glomerulonefritis membranosa descrita en uno de los animales durante el estudio histopatológico. Aunque todavía quedan muchos aspectos que conocer al respecto de estas células, según la bibliografía científica (Cotter, 2015), la presencia de las células de Mott en algunos animales podría estar relacionado con una funcionalidad inmunitaria deficiente.

En la actualidad, existen casos reportados del serotipo 8 en los cérvidos autóctonos de España, con signos clínicos y unas mortalidades observadas de hasta el 10% (Ruiz-Fons et al., 2024), por lo que futuros estudios al respecto serían muy recomendables para conseguir más información epidemiológica, sobre todo considerando la situación actual en Europa (Jiménez-Cabello et al., 2023). Recientemente (agosto, 2024) se ha comenzado a comercializar dos vacunas frente al serotipo 8 de la EHE, una inactivada convencional (CZ/Vetia) y otra de subunidades (SYVA EH Marker).

Además, es interesante considerar la alta prevalencia encontrada de lesiones compatibles con *Fasciola hepatica* (80%), siendo la comunidad de Madrid (granjas en la que la mayoría de los animales están en pastos de montaña) una zona mucho menos húmeda que otras partes del norte de España. Por tanto, la prevalencia en otras áreas de la península ibérica podría ser mayor debido al ciclo biológico de este parásito, aunque la incidencia encontrada en este estudio está probablemente sobreestimada debido al reducido número de muestra evaluado. Además, la marcada eosinofilia sistémica observada apoya la gran parasitosis a las que está sometido el ganado en los sistemas extensivos.

Dentro de las principales complicaciones del estudio, se debe incluir la falta de diagnóstico laboratorio positivo de todos los animales incluidos en el trabajo, ya que se trata de un estudio de campo, siendo difícil realizar muestreos completos de todos los animales de una misma explotación durante los brotes. Aun así, valorando el intervalo de tiempo entre el inicio de los signos clínicos y la positividad de la explotación, al menos 4 de los 5 animales incluidos en el estudio estuvieron relacionados con la detección del brote de campo en sus respectivas explotaciones, por lo que seguramente poseen

diagnósticos laboratoriales positivos. Debido a esto, se debe asumir que animales con signos clínicos compatibles y diagnóstico laboratorial positivo de animales de la misma explotación en fechas próximas, es suficiente para considerar la positividad de los animales estudiados, encontrando un reducido margen de error con otras enfermedades de signos clínicos similares. También, aunque se pudo evaluar la presencia de colonias bacterianas causantes de las bronconeumonías en todas las secciones del pulmón estudiadas, no se pudo realizar un cultivo y aislamiento bacteriano debido a la previa fijación en formol.

5. Conclusiones

Los hallazgos histopatológicos descritos en el tejido linfoide (depleción linfoide y linfocitolisis), así como el elevado porcentaje de animales con bronconeumonías bacterianas intensas indican que el serotipo 8 de la Enfermedad Hemorrágica Epizootica pudiera tener un efecto inmunodepresor en el ganado bovino, causando secuelas crónicas. Que las lesiones más frecuentes son las bronconeumonías de probable etiología bacteriana que comprometen la vida de los animales infectados, pudiendo aumentar drásticamente la mortalidad e incrementando las pérdidas económicas. Estudios en esta línea de investigación específica del serotipo 8 en el ganado bovino y otros rumiantes, pueden ampliar conocimientos acerca de la implicación real que posee este virus sobre el sistema inmune. Por último, indicar, que la prevalencia de *Fasciola hepatica* parece ser muy elevada en la comunidad de Madrid.

6. Bibliografía

1. Alanen, A., Pira, U., Lassila, O., Roth, J., & Franklin, R. M. (1985). Mott cells are plasma cells defective in immunoglobulin secretion. *European journal of immunology*, 15(3), 235-242.
2. Anbalagan, S., & Hause, B. M. (2014). Characterization of epizootic hemorrhagic disease virus from a bovine with clinical disease with high nucleotide sequence identity to white-tailed deer isolates. *Archives of virology*, 159, 2737-2740.
3. Ben Hassine, T., García-Carrasco, J. M., Sghaier, S., Thabet, S., Lorusso, A., Savini, G., & Hammami, S. (2024). Epidemiological Analyses of the First Incursion of the Epizootic Hemorrhagic Disease Virus Serotype 8 in Tunisia, 2021–2022. *Viruses*, 16(3), 362.

4. Breard, E., Belbis, G., Viarouge, C., Riou, M., Desprat, A., Moreau, J., ... & Zientara, S. (2013). Epizootic hemorrhagic disease virus serotype 6 experimentation on adult cattle. *Research in veterinary science*, 95(2), 794-798.
5. Brodie, S. J., Bardsley, K. D., Diem, K., Mecham, J. O., Norelius, S. E., & Wilson, W. C. (1998). Epizootic hemorrhagic disease: analysis of tissues by amplification and in situ hybridization reveals widespread orbivirus infection at low copy numbers. *Journal of virology*, 72(5), 3863-3871.
6. Cotter, P. F. (2015). Are peripheral Mott cells an indication of stress or inefficient immunity? *Poultry Science*, 94(7), 1433-1438.
7. Debbie, J. G., & Abelseth, M. K. (1971). Pathogenesis of epizootic hemorrhagic disease. I. Blood coagulation during viral infection. *Journal of Infectious Diseases*, 124(2), 217-222.
8. Favero, C. M., Matos, A. C. D., Campos, F. S., Candido, M. V., Costa, E. A., Heinemann, M. B., ... & Lobato, Z. I. P. (2013). Epizootic hemorrhagic disease in brocket deer, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 19(2), 346.
9. Fischer, J. R., Hansen, L. P., Turk, J. R., Miller, M. A., Fales, W. H., & Gosser, H. S. (1995). An epizootic of hemorrhagic disease in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) in Missouri: necropsy findings and population impact. *Journal of Wildlife Diseases*, 31(1), 30-36.
10. Fletch, A. L., & Karstad, L. H. (1971). Studies on the pathogenesis of experimental epizootic hemorrhagic disease of white-tailed deer. *Canadian journal of comparative medicine*, 35(3), 224.
11. Howerth, E. W., Stallknecht, D. E., & Kirkland, P. D. (2001). Bluetongue, epizootic hemorrhagic disease, and other orbivirus-related diseases. *Infectious diseases of wild mammals*, 77-97.
12. Jiménez-Cabello, L., Utrilla-Trigo, S., Lorenzo, G., Ortego, J., & Calvo-Pinilla, E. (2023). Epizootic hemorrhagic disease virus: Current knowledge and emerging perspectives. *Microorganisms*, 11(5), 1339.
13. Kedmi, M., Van Straten, M., Ezra, E., Galon, N., & Klement, E. (2010). Assessment of the productivity effects associated with epizootic hemorrhagic disease in dairy herds. *Journal of dairy science*, 93(6), 2486-2495.
14. Lorusso, A., Cappai, S., Loi, F., Pinna, L., Ruiiu, A., Puggioni, G., ... & Savini, G. (2023). Epizootic hemorrhagic disease virus serotype 8, Italy, 2022. *Emerging Infectious Diseases*, 29(5), 1063.

15. McLaughlin, B.E.; DeMaula, C.D.; Wilson, W.C.; Boyce, W.M.; MacLachlan, N.J. Replication of Bluetongue Virus and Epizootic Hemorrhagic Disease Virus in Pulmonary Artery Endothelial Cells Obtained from Cattle, Sheep, and Deer. *Am. J. Vet. Res.* 2003, 64, 860–865.
16. Nol, P., Kato, C., Reeves, W. K., Rhyan, J., Spraker, T., Gidlewski, T., ... & Salman, M. (2010). Epizootic hemorrhagic disease outbreak in a captive facility housing white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*), bison (*Bison bison*), elk (*Cervus elaphus*), cattle (*Bos taurus*), and goats (*Capra hircus*) in Colorado, USA. *Journal of zoo and wildlife medicine*, 41(3), 510-515.
17. Ohashi, S., Yoshida, K., Yanase, T., & Tsuda, T. (2002). Analysis of intratypic variation evident in an Ibaraki virus strain and its epizootic hemorrhagic disease virus serogroup. *Journal of clinical microbiology*, 40(10), 3684-3688.
18. Panciera, R. J., & Confer, A. W. (2010). Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 26(2), 191-214.
19. Portanti, O., Thabet, S., Abenza, E., Ciarrocchi, E., Piscicella, M., Irelli, R., ... & Lorusso, A. (2023). Development and validation of an RT-qPCR for detection and quantitation of emerging epizootic hemorrhagic disease virus serotype 8 RNA from field samples. *Journal of Virological Methods*, 321, 114808.
20. Quist, C. F., Howerth, E. W., Bounous, D. I., & Stallknecht, D. E. (1997). Cell-mediated immune response and IL-2 production in white-tailed deer experimentally infected with hemorrhagic disease viruses. *Veterinary immunology and immunopathology*, 56(3-4), 283-297.
21. Raabis, S. M., Byers, S. R., Han, S., & Callan, R. J. (2014). Epizootic hemorrhagic disease in a yak. *The Canadian Veterinary Journal*, 55(4), 369.
22. Ruder, M. G., Allison, A. B., Stallknecht, D. E., Mead, D. G., McGraw, S. M., Carter, D. L., ... & Howerth, E. W. (2012). Susceptibility of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) to experimental infection with epizootic hemorrhagic disease virus serotype 7. *Journal of wildlife diseases*, 48(3), 676-685.
23. Ruiz-Fons, F., García-Bocanegra, I., Valero, M., Cuadrado-Matías, R., Relimpio, D., Martínez, R., ... & Rialde, M. A. (2024). Emergence of epizootic hemorrhagic disease in red deer (*Cervus elaphus*), Spain, 2022. *Veterinary Microbiology*, 292, 110069.
24. Savini, G., Afonso, A., Mellor, P., Aradaib, I. A. O., Yadin, H., Sanaa, M., ... & Domingo, M. (2011). Epizootic haemorrhagic disease. *Research in veterinary science*, 91(1), 1-17.

25. Sghaier, S., Sailleau, C., Marcacci, M., Thabet, S., Curini, V., Ben Hassine, T., ... & Lorusso, A. (2022). Epizootic haemorrhagic disease virus serotype 8 in tunisia, 2021. *Viruses*, 15(1), 16.
26. Shope, R.E.; Lester, G.M.; Robert, M. Deer Mortality—Epizootic Hemorrhagic Disease of Deer. *N. J. Outdoors* 1955, 6, 17–21.
27. Spedicato, M., Profeta, F., Thabet, S., Teodori, L., Leone, A., Portanti, O., ... & Lorusso, A. (2023). Experimental infection of cattle, sheep, and goats with the newly emerged epizootic hemorrhagic disease virus serotype 8. *Veterinaria Italiana*.
28. Temizel, E. M., Yesilbag, K., Batten, C., Senturk, S., Maan, N. S., Mertens, P. P. C., & Batmaz, H. (2009). Epizootic hemorrhagic disease in cattle, Western Turkey. *Emerging infectious diseases*, 15(2), 317.
29. Thabet, S., Sghaier, S., Ben Hassine, T., Slama, D., Ben Osmane, R., Ben Omrane, R., ... & Hammami, S. (2023). Characterization of Epizootic Hemorrhagic Disease Virus Serotype 8 in Naturally Infected Barbary Deer (*Cervus elaphus barbarus*) and *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in Tunisia. *Viruses*, 15(7), 1567.
30. Tsai, K. S., & Karstad, L. (1973). The pathogenesis of epizootic hemorrhagic disease of deer: an electron microscopic study. *The American Journal of Pathology*, 70(3), 379.
31. Yadin, H., Brenner, J., Bumbrov, V., Oved, Z., Stram, Y., Klement, E., ... & Mertens, P. P. C. (2008). Epizootic haemorrhagic disease virus type 7 infection in cattle in Israel. *The Veterinary Record*, 162(2), 53.