

# Estudio experimental en conejos para evaluar el potencial efecto de la antibioterapia en la inmunidad humoral frente a mixomatosis

**Pagès-Manté, A.\* , Ruiz, M. C.**

Laboratorios Hipra, S.A. Avda de la Selva 135 - 17170

Amer Girona

\*apm@hipra.com

## Resumen

El objetivo de este estudio experimental fue determinar si la administración de antibióticos, en pienso o en el agua de bebida, para el tratamiento y/o prevención de posibles problemas entéricos en conejos de engorde puede influir en el desarrollo de la inmunidad inducida por la vacunación contra la Mixomatosis. Los resultados obtenidos muestran que todos los tratamientos antimicrobianos parecen interferir con la respuesta humoral frente a la Mixomatosis. De los tratamientos ensayados, la combinación Bacitracina/Tiamulina/Colistina incorporada al pienso durante 14 días es la que muestra una mayor interferencia con la respuesta inmunitaria, mientras que la administración de Enrofloxacin en el agua de bebida durante 5 días es el tratamiento que presenta una mejor respuesta inmune.

## Abstract

The main objective of this experimental study was to determine whether the administration of antibiotics in foodstuff or drinking water to prevent/treat possible enteric disturbances in fattening rabbits can interfere with the development of the immunity induced by the vaccination against Myxomatosis. The results obtained showed that all the antibiotic treatments tested seem to decrease the humoral response. From these treatments, Bacitracin/Tiamulin/Colistin premix administered through the granulated foodstuff for 14 days showed the highest interference level with the immune response, whereas the administration of Enrofloxacin in the drinking water for 5 days showed the highest immune response.

## Introducción

Las deficiencias estructurales y de contención sanitaria en las granjas cunícolas, en comparación con el resto de

especies ganaderas industriales, favorecen la aparición de enteropatías. El control de estos procesos patológicos se realiza mediante la administración sistemática de antibióticos en pienso (Badiola et al., 2007), o bien en el agua de bebida durante el periodo de engorde, respetando dentro de lo posible el periodo de supresión aplicable en cada caso. Por otra parte, en muchas ocasiones estos engordes pueden verse afectados por brotes de mixomatosis, ya que, como norma general, los lotes de engorde no se vacunan habitualmente frente a esta enfermedad. De esta manera, ante situaciones de prevalencia elevada de mixomatosis en una zona determinada la instauración de programas vacunales es esencial, obteniéndose en algunos casos resultados irregulares.

Se intuye que los antibióticos pueden actuar como agentes inmunosupresores, por esta razón, en el presente estudio experimental se pretendió establecer si la administración concurrente de un plan vacunal frente a mixomatosis en el momento del destete y la utilización de antibióticos para prevenir posibles trastornos entéricos puede afectar al desarrollo de inmunidad frente a esta enfermedad. Dado que el concepto de inmunidad es muy amplio y complejo hemos evaluado el nivel de inmunidad humoral aún sabiendo que no es la fundamental para esta enfermedad (Joubert *et al.*, 1973) ya que consideramos que puede ser orientativa para este estudio y además más fácil de determinar (Alfonso y Pagès., 2003).

## Material y métodos

### *Animales y alojamiento:*

Se utilizaron un total de 50 conejos de 32 días de edad procedentes de una explotación libre de Mixomatosis, en la que se administra una vacunación heteróloga cada 6 meses.

Los conejos fueron distribuidos en 5 grupos de 10 animales cada uno (Grupos 1, 2, 3, 4 y 5), y alojados en jaulas flat-deck convencionales, a razón de 5 conejos/jaula, en una unidad independiente de granja provista de las medidas de aislamiento adecuadas. Los conejos fueron alimentados con pienso granulado comercial y agua *ad libitum*.

### **Tratamientos:**

El primer día del estudio todos los conejos de los 5 grupos fueron vacunados con una dosis de vacuna viva homóloga (MIXOHIPRA®-H, laboratorios Hipra, S.A.). La vacuna fue administrada inmediatamente después de la reconstitución de la fracción liofilizada con el diluyente adjunto, mediante inyección subcutánea.

Simultáneamente, cada uno de los grupos recibió la siguiente pauta terapéutica:

- Grupo 1: control. No se aplicó ningún tratamiento adicional. Alimentación con pienso blanco granulado comercial y agua *ad libitum* hasta el día del sacrificio.
- Grupo 2: Enrofloxacin: 100 mg/litro de agua de bebida durante 5 días (periodo de supresión post-tratamiento: 2 días). Alimentación con pienso blanco granulado comercial y agua *ad libitum* hasta el día del sacrificio.
- Grupo 3: pienso medicado con Bacitracina 5% (4 kg/Tm)+ Tiamulina 2 % (2,5 kg/Tm)+ Colistina 4 % (2,5 kg/Tm) durante 14 días (período de supresión post-tratamiento: 10 días). Posteriormente se administró pienso granulado comercial *ad libitum* hasta el día del sacrificio.
- Grupo 4: pienso medicado con Apramicina 100 (2 kg/Tm) durante 14 días (período de supresión post-tratamiento: 1 día). Posteriormente se administró pienso blanco granulado comercial *ad libitum* hasta el día del sacrificio.
- Grupo 5: pienso medicado con Bacitracina 5 % (4 kg Tm) + Tiamulina 2 % (2,5 kg/Tm) + Oxitetraciclina 20 % (2,275 Kg/Tm) durante 14 días (período de supresión post-tratamiento: 28 días). Posteriormente se administró pienso blanco granulado comercial *ad libitum* hasta el día del sacrificio.

Los conejos fueron observados diariamente para evaluar la posible presencia de signos clínicos locales y/o generales, como anorexia, letargia, diarrea, nódulos en el punto de inoculación, etc. Veintiocho días después de la vacunación se tomaron muestras de sangre de todos los conejos incluidos en el estudio. Las muestras fueron obtenidas mediante punción de la vena marginal de la oreja izquierda (1,5 – 3 ml/conejo), recogidas en tubos con perlas para favorecer el desuerado y enviadas inmediatamente al centro de diagnóstico, donde fueron centrifugadas (2500 rpm durante 10 minutos) para obtener el suero. El suero extraído fue analizado para determinar y cuantificar la presencia de anticuerpos contra el virus de la Mixomatosis. Se utilizó un kit ELISA indirecto CIVTEST® CUNI MYXOMATOSIS, laboratorios Hipra, S.A.). Valores igual o inferiores a 1 fueron considerados negativos y valores igual o superiores a 2 fueron considerados positivos.

### **Estadística:**

Se calculó en cada grupo la frecuencia de los animales seropositivos. Esta frecuencia se comparó mediante un test  $\chi^2$ . También se calculó la media y desviación estándar de la respuesta serológica en cada grupo de conejos, y los resultados fueron comparados mediante un análisis de varianza (ANOVA). El análisis estadístico se realizó con el programa estadístico SPSS® 14.0.

## **Resultados y discusión**

---

### **Síntomatología clínica:**

Los conejos no mostraron ningún síntoma clínico antes o después de la vacunación. Al final de la fase de engorde no se detectaron nódulos en el punto de inoculación en ningún animal. Uno de los conejos del grupo control murió por causas indeterminadas el día después de la extracción de sangre. Dicho animal no fue eliminado del estudio estadístico, ya que en el momento de la extracción de sangre no mostró ningún indicio de patología.

### **Respuesta serológica:**

Los conejos eran seronegativos al inicio del estudio, ya que procedían de una granja libre de Mixomatosis, en la que se aplica un plan vacunal suave contra esta enfermedad, y además las muestras de sangre obtenidas de 5 animales fueron seronegativas. Cuatro semanas después se observó seroconversión en los cinco grupos de animales, en respuesta a la dosis vacunal recibida. La proporción de conejos que seroconvirtieron fue ligeramente inferior en los grupos 3 (90%) y 5 (80%), sin hallarse diferencias significativas entre grupos respecto a este parámetro (**Tabla 1**).

**Tabla 1. Respuesta serológica tras la vacunación y porcentaje de seroconversión.**

Grupo	Tratamiento	Nivel de anticuerpos (IR)	% Seroconversión <sup>3</sup>
		Media y (Std)	(scropositivos/totales)
		Día 28 post-vacunación <sup>2</sup>	
1	Control	7,2a (1,2293)	100,0% (10/10)
2	Enrofloxacino	6,0ac (1,0541)	100,0% (10/10)
3	Bacitracina + Tiamulina + Colistina	3,9b (2,2336)	90,0% (9/10)
4	Apramicina	5,8ab (2,394)	100,0% (10/10)
5	Bacitracina +Tiamulina + Oxitetraciclina	4,3bc (2,7508)	80,0% (8/10)
Sig. <sup>1</sup>		Sig*	No sig.**

<sup>1</sup>Sig. p>0.05 ns; p<0.05 \*; p<0.01; p<0.001 \*\*.

<sup>2</sup>Letras diferentes indican diferencias significativas entre grupos

Respecto a la cuantificación del nivel de anticuerpos contra el virus de la Mixomatosis (**Tabla 1**), en general se observa una menor respuesta humoral en los grupos tratados con diferentes pautas antimicrobianas (Grupos 2 a 5) respecto al grupo control. Estas diferencias son significativas cuando comparamos el resultado obtenido en el Grupo control con los resultados de los Grupos 3 y 5, tratados durante 14 días con una combinación de Bacitracina/Tiamulina/Colistina, y Bacitracina/Tiamulina/Oxitetraciclina respectivamente. Dentro de los grupos de tratamiento la respuesta humoral es significativamente inferior en el Grupo 3 (grupo tratado con una combinación de Bacitracina/Tiamulina/Colistina durante 14 días), mientras que el grupo tratado con Enrofloxacino durante 5 días (Grupo 2) y el grupo tratado con Apramicina (Grupo 4) son los grupos que presentan una respuesta humoral más similar a la mostrada por el Grupo control (Grupo 1).

Los resultados obtenidos nos permiten intuir que la administración de un tratamiento antibiótico simultáneamente con un plan vacunal contra la Mixomatosis puede interferir en el desarrollo óptimo de la respuesta inmune humoral frente a esta enfermedad. De entre los tratamientos ensayados, los que parecen presentar una menor interferencia son aquellos basados en la administración de un único antibiótico (Enrofloxacino o Apramicina), mientras que las combinaciones de más de un antibiótico parecen interferir en mayor grado. Los datos obtenidos no permiten distinguir si esta mayor interferencia es debida a posibles sinergias entre los diferentes antibióticos o, por el contrario, es debida a uno solo de los antibióticos administrados conjuntamente. Asimismo, la menor interferencia registrada en el grupo tratado con Enrofloxacino podría ser atribuible al hecho de que el tratamiento antibiótico aplicado a este grupo fue de menor duración (5 días). Este hecho nos hace pensar que posiblemente la administración de más de un antibiótico durante un periodo menos prolongado podría tener una menor incidencia en el desarrollo de inmunidad humoral frente a la Mixomatosis. Consideramos que la obtención de más información sobre este aspecto sería también de gran interés en el caso de conejas reproductoras, ya que es esta categoría de animales en los que se aplica un programa vacunal frente a Mixomatosis con mayor frecuencia y regularidad. Además las conejas reproductoras también reciben diferentes tratamientos antibióticos a lo largo de su vida productiva, por tanto es en estos animales donde la respuesta inmunológica inducida tras la vacunación contra la mixomatosis puede verse más afectada.

## Agradecimientos

Queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento a Josep Gifre y Xavier Mora por su colaboración en la realización de este estudio.

## Referencias

- Alfonso, M.; Pagès Manté, A. 2003. Respuesta serológica tras la vacunación contra la mixomatosis mediante distintos sistemas de aplicación. *XXVIII Symposium de Cunicultura ASESCU. Alcañiz, Teruel*.pp 89-96.
- Badiola, J.I., Gonzalez, J., Aloy, N., Perez de Rozas, A.M. 2007. El uso de antimicrobianos en granjas cunícolas: necesidades de registro, uso prudente y medidas alternativas. *Proceedings of II Congreso Ibérico de Cunicultura, XXXII Symposium de ASESCU y IV Jornadas Internacionales de APEZ Vila Real (Portugal)*.pp.185-193.
- Joubert, L., Leftheriotis, E. Mouchet, J. 1973. La Myxomatose I. *L'expansion Scientifique Française 15*, Rue Saint Benoit, 75278 París CEDEX 06. •