



Enfermedad vírica hemorrágica (RHD) en conejos de engorde

Albert Pages Mante
DVM, Ph D Laboratorios Hipra, S.A.
Avda. de la Selva, 135
17170 AMER (Girona) Spain



Introducción

La Enfermedad Vírica Hemorrágica de los conejos (RHD) es una enfermedad letal altamente contagiosa que causa pérdidas importantes tanto en la cunicultura industrial como en los conejos de monte. Esta causada por un Calicivirus que afecta a los conejos *Oryctolagus cuniculi*.

La enfermedad fue originaria de la China en 1984 que en aquellos tiempos era la potencia mundial en la exportación de carne y pelo de los conejos. Según los datos históricos de la enfermedad esta entró en Europa por una importación de una colonia de conejos de Angora, para la producción de pelo, a Alemania de donde la virosis se propagó rápidamente en toda Europa e incluso pasó al continente americano.

Las células blanco de este virus son los hepatocitos en los cuales se replica en el citoplasma. Los conejos experimentalmente infectados mueren entre 1 y 4 días postinoculación. Algunos de ellos a las 19 horas. Produce una hepatitis necrotizante asociada a necrosis del bazo. La coagulación intravascular diseminada (DIC) produce trombos fibrinosos en los pequeños vasos sanguíneos en la mayoría de órganos como pulmón, corazón, y riñones produciendo hemorragias. La muerte es debida al DIC o al fallo hepático.



Conejo engorde muerto por RHD

El virus de RHD puede sobrevivir largos periodos de tiempo fuera del organismo afectado. Se ha detectado virus viable durante 105 días en la ropa. La temperatura ambiental es un factor importante para la sobrevivencia del virus el cual puede permanecer viable 22-35 días a 22° C pero solo 3-7 días a 37° C. El RHDV se difunde por vía oral, nasal y parenteral y está presente en la orina y las heces de los animales afectados. Los piensos contaminados pueden ser un foco de infección.

Cuando el virus de RHD se introduce en una población sensible las mortalidades son muy altas de alrededor del 90-100% en conejos de más de dos meses de edad. Los conejos jóvenes sobreviven y se autoinmunizan por esto una vez la enfermedad es endémica la mortalidad baja.

El virus de RHD puede sobrevivir largos periodos de tiempo fuera del organismo afectado, se ha detectado virus viable durante 105 días en la ropa. Las moscas y los mosquitos pueden difundir el virus fuera del área afectada.

El virus sobrevive durante varias semanas en las canales y la piel. Los insectos mecánicamente transmiten el virus de conejos virémicos a otros que conviven con ellos. Las moscas y los mosquitos pueden también difundirlo fuera del área afectada.

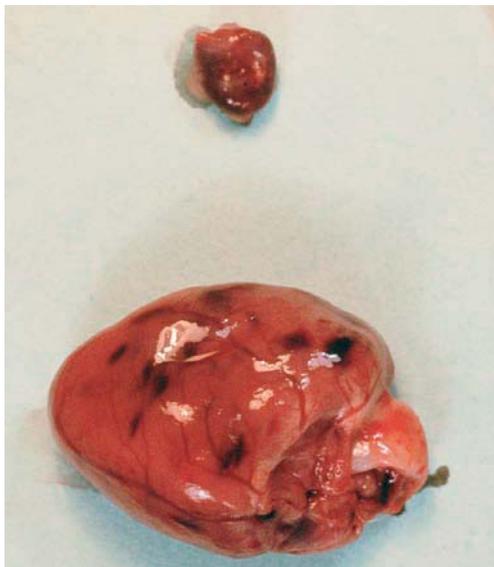
Al comienzo de esta enfermedad los conejos más susceptibles a ella eran los de más de 3 meses de edad cuando prácticamente la resistencia fisiológica al virus había desaparecido. Actualmente esta resistencia es solo de alrededor de tres semanas. Se había descrito que la capacidad de infectar un conejo joven estaba relacionada con la posibilidad de producir transaminasas hepáticas por parte del hígado del conejo a infectar. Si consideramos que un conejo las produce normalmente a partir de las 5 semanas esta teoría podría haber cambiado dado que se han observado infecciones en edades inferiores a las 3 semanas.

Objetivo de este estudio

Estamos observando actualmente muchos episodios de RHD en conejos de engorde en edades que oscilan entre 21 y 45 días de edad. Cuando existen mortalidades en una granja sobretodo en engorde uno puede pensar que se trata de las patologías más habituales Pasteurellas, Enterotoxemia, Enterocolitis, E. coli, etc. como representantes más frecuentes de la parte

infecciosa, o bien problemas de adaptación o alimentación. En los casos que reportamos a continuación, todo esto se ha descartado y lo único consistente ha sido la RHDV. Esta enfermedad se determinó por técnicas de Elisa de captura de antígeno y por reproducción del proceso a nivel experimental. Hemos podido determinar desde septiembre del 2006 hasta enero de 2007 más de 10 casos de RHD en engorde de granjas importantes de más de 1.000 conejas reproductoras con una estructuración zootécnica en bandas y con ciclos reproductivos de 42 días. En todas ellas la mortalidad era muy alta superior al 30% en los engordes afectados que morían de una forma no sobreaguda sino más bien aguda. Una vez iniciado el proceso de mortalidad este duraba prácticamente todo el engorde que era de alrededor de 65 días. Esto no era habitual tal como hemos comentado al inicio de la RHD, presentándose la infección en las últimas fases de engorde prácticamente a los 60 -65 días de edad.

Se trata de conocer lo más rápidamente posible si el virus de RHD ha mutado mediante pruebas de causa efecto a nivel clínico dejando para más adelante en caso que se observen discrepancias el análisis molecular o bien la secuenciación comparativa del mismo.



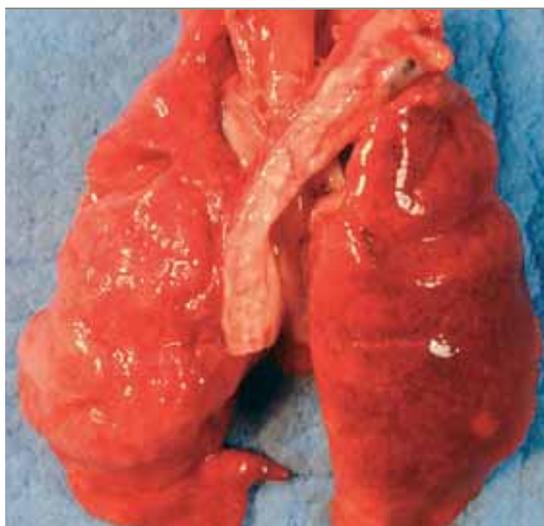
Corazón hemorrágico causado por el virus de la RHD

Material y Métodos

Hemos recuperado el antígeno del hígado de los conejos de engorde infectados y lo hemos mantenido congelado a menos 30° C hasta su uso.

Se han adquirido conejos de 3 meses de edad libres de anticuerpos de RHD que se han dividido de la siguiente manera. 40 conejos mantenidos en jaulas individuales de recría se mantuvieron como controles y 40 conejos mantenidos en las mismas condiciones de aislamiento y contención se han vacunado con Cunipravac RHD (Laboratorios Hipra, S.A.) a razón de una dosis por conejo por vía subcutánea. Se les ha administrado agua ad libitum y pienso comercial y se han mantenido durante un mes en observación. Transcurrido este tiempo 20 conejos vacunados y 20 conejos controles se han enfrentado al virus problema una vez triturado el hígado congelado y clarificado mediante una centrifugación a 1500 rpm durante 5 minutos. La dosis del virus de challenge consistió en 1ml del sobrenadante inoculado por vía parenteral en el muslo. Al mismo tiempo y en una habitación de contención biológica los 20 controles restantes y los 20 vacunados de han inoculado con nuestra cepa habitual de challenge aislada al inicio de la RHD en España a razón de 1ml de in-

Desde septiembre del 2006 hasta enero de 2007, se han detectado más de 10 casos de RHD en engorde de granjas importantes de más de 1.000 conejas reproductoras con una estructuración zootécnica en bandas y con ciclos reproductivos de 42 días.



Pulmón hemorrágico de conejo muerto RHD.

óculo por conejo también por vía parenteral.

Antes de efectuar el challenge los conejos se han sangrado por la vena marginal de la oreja para realizar una técnica serológica de inhibición de la hemoaglutinación cruzada usando las mismos virus empleados para el desafío. La técnica ha sido la habitual la beta con suero diluido y 4 unidades hemaglutinantes de antígeno descrita en Pagès y Costa (Med Vet vol 7 nº 2 .1990). Dejamos constancia de que ambos virus son heterólogos respecto al que hay en la vacuna por esto la serología puede sernos también de utilidad.

Los conejos se han observado diariamente hasta el final de la prueba a los 7 días postinoculación y se han comparado los resultados. Las mortalidades diarias se han anotado y una parte del hígado se han conservado de cada conejo muerto para hacer un pool diario y confirmar mediante Elisa de captura y Hemoaglutinación que se trata de RHD

Resultados

El resultado obtenido puede evidenciarse en el cuadro 1.

El resultado serológico de (IH) se expresa en el cuadro 2.

Cuadro 1

N° Conejos	Vacunación RHD	Virus Challenge usado	Muertes días post-inoculación							% Mortalidad	Confirmación RHD
			1	2	3	4	5	6	7		
20	Si	Cepa clásica 1988	0	0	0	0	0	0	0	0	No
20	No	Cepa clásica 1988	1	12	4	2	0	0	0	95	Si
20	Si	Cepa 2006	0	0	0	0	0	0	0	0	No
20	No	Cepa 2006	1	13	3	1	0	0	0	90	Si

En los animales no vacunados, no se demuestran diferencias significativas entre las mortalidades observadas con las dos cepas del virus ($p=1$, test exacto de Fisher) por lo que puede considerarse que ambos aislados presentan la misma patogenicidad en cuanto a mortalidad causada por el virus se refiere

Cuadro 2

SUEROS	MEDIA TITULO IH VIRUS 1988	MEDIA TITULO IH VIRUS 2006
20 CONTROLES	NEGATIVOS 1	NEGATIVOS 1,10
20 CONTROLES	NEGATIVOS 0,95	NEGATIVOS 1,05
20 VACUNADOS	POSITIVOS 101,60	POSITIVOS 103,20
20 VACUNADOS	POSITIVOS 99,20	POSITIVOS 100,80

Positivos menor o igual $1/8 = 2$ a la $3 = 3$

No se evidencian diferencias significativas entre los resultados de IH de cada virus en los vacunados pero si en los testigos como es obvio.

Discusión

Tal como hemos comentado en la introducción de ha tratado de hacer un estudio sencillo pero creemos orientativo sobre el virus de RHD para ver si este ha cambiado o bien si la eficacia de las vacunas realizadas para neutralizar el virus al principio de la enfermedad siguen manteniendo su eficacia, creemos que orientativamente los resultados obtenidos nos inducen a pensar que el virus no ha cambiado y que las vacunas siguen siendo eficaces a nivel experimental. Pensamos realizar otros estudios que apoyen estos resultados de una manera más profunda llegando si es preciso a la secuenciación de la proteína constitucional VP-60.

Creemos que lo que sí puede haber cambiado es la situación de las explotaciones cunícolas cada vez más bioseguras con

mayores cotas de vacunación frente a RHD lo que implica que sería lógico pensar que ante estas dificultades de replicación del virus este actúa donde existe margen de maniobra que es en los conejos jóvenes y sobretodo si estos como es el caso en muchos países tienen factores inmunodepresores como la enterocolitis, las medicaciones reiteradas de antibióticos etc. Todo ello nos induciría a pensar que el reforzamiento del plan vacunal de RHD podría ser de interés en los reproductores y en ciertas zonas instaurarlo de base en el engorde para evitar vacunaciones de urgencia donde la neutralización de la enfermedad está más comprometida dado que el virus campo nos ha tomado la delantera afectando al engorde sin profilaxis previa y por esto el problema tarda más en resolverse y da la impresión que no es tan sobreagudo sino más crónico.