

Higiene y patología

Estudio sobre un nuevo proceso respiratorio en conejos

Joan Plana i Durán, Josep Bassols i Mallarach, M. Vayreda i Casadevall,
T. Pey, M. Bastons y M.A. Baleri (*)

Sumario

El trabajo que presentamos, es el inicio de una serie de estudios encaminados a averiguar cuál es el agente causal de este nuevo proceso respiratorio en conejos, el cual tiende a expansionarse cada vez más en nuestra cunicultura industrial.

Las conclusiones, a las que podemos llegar no son del todo satisfactorias para nosotros, no obstante, estamos trabajando en el tema para decantarnos hacia una de estas dos preguntas:

¿Se trata de una mutación del virus de Mixomatosis, con un tropismo respiratorio? ¿Es en realidad un nuevo virus el que afecta a nuestra cunicultura?

Introducción

Desde el año 1979 hemos tenido ocasión de intervenir en algunas explotaciones cunícolas cuyos animales estaban afectados de un fuerte *coriza contagioso*, con lesiones en ojos, nariz, cara, orejas y genitales, siendo interpretados estos síntomas como propios de una mixomatosis, tanto por los propios cunicultores como por los especialistas que habían visto los animales afectados.

Al no presentar claramente los nódulos típicos de la mixomatosis y al fracasar la vacunación frente a esta enfermedad, empezamos a investigar otras posibles causas de la misma.

Sobre un total de 20 explotaciones (Cataluña, Aragón y Valencia) con síntomas de

este proceso respiratorio, nosotros en un 90 por ciento de los casos hemos aislado virus a partir de macerados de pulmones y nódulos subcutáneos, así como identificado diferentes gérmenes, siendo los más importantes las pasteurellas y bordetellas; y apareciendo en menor proporción, staphilococos, streptococos, pseudomonas, así como Proteus y gérmenes del tipo coli.

De estas granjas, 4 (el 20 por ciento) habían sido vacunadas contra la Mixomatosis con vacuna homóloga; 6 (el 30 por ciento) con vacuna heteróloga y las 10 restantes (el 50 por ciento) no estaban vacunadas contra la Mixomatosis.

Material y métodos

Experimento nº 1: Observación clínica. Examen macroscópico de los animales procedentes de diferentes granjas con dicho proceso respiratorio.

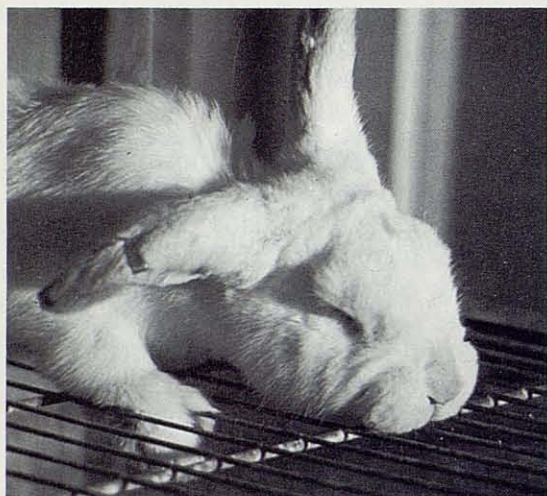
Experimento n.º 2: Aislamiento de virus. Los aislamientos de virus en cuestión se realizaron a partir de un macerado del tejido pulmonar afectado y de los nódulos subcutáneos de la cara, orejas, etc., al cual se le añadió una asociación de antibióticos a base de Penicilina, Kanamicina y Estreptomina, filtrándose con filtros adecuados. Comprobada su esterilidad, se realizó la infección sobre las líneas celulares: SIRC (córnea del conejo) y RK13 (riñón de conejo), así como infecciones experimentales en conejos.

Experimento n.º 3: A partir de los virus aislados, así como con el virus de Sanarelli

(*) Dirección de los autores: Laboratorios Sobrino, S.A., Vall de Bianya. Olot. (Girona)

campo, con cepa homóloga vacunal y con virus fibroma de Shope, obtuvimos un stock de los mencionados virus sobre la línea celular RK13 para disponer de material antigénico adecuado. Las titulaciones se realizaron en placas de Microtiter con las técnicas clásicas empleadas en virología.

Experimento n.º 4: Al presentar el proceso a estudiar, una sintomatología parecida a la mixomatosis y al complejo respira-



Conejo afectado por la enfermedad que se describe en este artículo. En los animales mayores predominan unas tumores irregulares y edematosas.

torio, realizamos una serie de experimentos en conejos de raza Neozelandesa y edad aproximada 2 meses, los cuales eran sensibles a infección experimental con el *virus Sanarelli*, *Pasteurella multocida* y *Bordetella Bronchiséptica*.

Lote A: 10 conejos, que nos sirven como testigos de infección de los virus problema. Vía de infección : Intraparpebral.

Lote B: 10 conejos vacunados de mixomatosis con vacuna heteróloga (Fibroma de Shope) por vía subcutánea. La infección por vía intraparpebral con el virus problema se realizó a los 15 días post-vacunación.

Lote C: 10 conejos vacunados frente al complejo respiratorio (Vacuna inactivada, con excipiente oleoso, a base de *Pasteurella multocida* y *Bordetella bronchiséptica*. La infección con el virus problema se realizó a los 15 días post-vacunación por vía intraparpebral.

Experimento n.º 5: Sobre los diferentes virus aislados de este proceso respiratorio trabajamos con tres de ellos cuyas referencias son G, C y D, comprobándolos con una cepa de campo del *virus Sanarelli*; con la cepa Fibroma de Shope; y con cepa homóloga vacunal de mixomatosis.

Los parámetros fueron los siguientes :

- a) Propagación del virus sobre cultivos celulares.
- b) Tinciones realizadas sobre cultivos celulares.
- c) Determinación del tamaño.
- d) Efecto del calor.
- e) Test de sensibilidad a solventes orgánicos.
- f) Reacciones de seroneutralización.
- g) Capacidad hemoaglutinante del virus.

Resultados

Resultados experimento n.º 1: Los reproductores afectados presentan un fuerte coriza contagioso, con exudación purulenta en fosas nasales y conjuntiva ocular, así como nódulos más o menos edematosos en la cara, orejas y genitales. Todo ello acompañado de una insuficiencia respiratoria.

En los animales de engorde que padecen este proceso predominan las conjuntivitis purulentas sobre las lesiones propiamente respiratorias.

En la necropsia observamos una fuerte congestión de las vías respiratorias altas y un proceso neumónico más o menos grave, según los casos, (tanto en reproductores como animales de engorde).

En un porcentaje muy elevado de pulmones examinados observamos hemorragias puntiformes, mientras que en otros hay intensas zonas hemorrágicas.

En los demás órganos del animal no hay lesiones macroscópicas evidentes.

Resultados experimento n.º 2: El primer virus aislado por nosotros fue el que denominamos como referencia G, cuyo comportamiento sobre cultivos celulares y animales de experimentación fue el siguiente:

A los 6 días post-infección de la línea celular SIRC, observamos la formación de placas visibles macroscópicamente, las cuales aumentaron en número por un factor de multiplicación 10, a los 9 días post-infec-

clón de los tapices celulares. No se observó en los días siguientes un incremento del número de placas, ni del efecto citopático en cultivo celular.

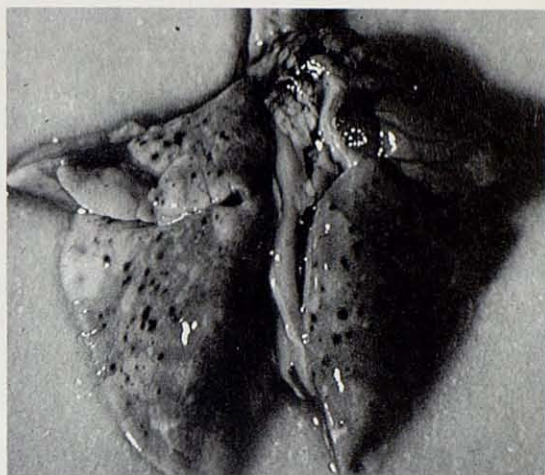
Con el sobrenadante de cultivos infectados (9 días post-infección), se inoculan conejos por vía intranasal, intraparpebral e intradérmica (espalda). A los 7 días post-infección, los animales —10 por cada vía— muestran una inapetencia muy marcada, presentan indistintamente conjuntivitis, nariz con mucosidades, insuficiencia respiratoria y temperatura que va de 40° a 42° C. En algunos conejos no observamos mucosidades en la nariz.

Todos los animales inoculados experimentalmente murieron entre 9 y 12 días post-infección.

En las necropsias, observamos macroscópicamente una **hemorragias puntiformes en pulmón**, en mayor o menor intensidad, independiente de la vía de infección. En alguno de estos animales aparecieron hemorragias en tráquea y pericardio.

Resultados del experimento n.º 3: Los títulos sobre cultivos de tejidos de los diferentes virus fueron los siguientes:

- a) Virus Sanarelli campo $10^{5.8}$ DICT₅₀/ml.
- b) Virus homólogo cepa vacunal $10^{6.6}$ DICT₅₀/ml.
- c) Virus Shope $10^{4.8}$ DICT₅₀/ml.
- d) Virus G $10^{6.1}$ DICT₅₀/ml.
- e) Virus C $10^{5.05}$ DICT₅₀/ml.
- f) Virus D $10^{5.7}$ DICT₅₀/ml.



Pulmón afectado con lesiones focales hemorrágicas muy características.

Resultados experimento n.º 4:

Lote A: A los 6 días post-infección con los virus problema los animales presentaban una fuerte generalización del proceso respiratorio con la sintomatología ya descrita anteriormente.

En el examen macroscópico del pulmón, se observaron **unas hemorragias puntiformes y circulares** descritas anteriormente.

Lote B: A los 6 días post-infección, empieza a manifestarse la sintomatología clínica típica, con lesiones hemorrágicas en pulmón.

Lote C: A los 9 días post-infección los conejos no presentan síntoma alguno, desencadenándose el proceso a partir de los 12 a 16 días post-infección, con la sintomatología típica de los casos anteriores.

En los animales vacunados contra la mixomatosis (lote B) y los vacunados con complejo respiratorio (lote C) pero no infectados, no se observan lesiones macroscópicas a nivel de pulmón.

Resultados experimento n.º 5: a) Propagación del virus sobre cultivos celulares. A partir del primer pase del virus G, sobre la línea celular SIRC, realizamos un segundo pase sobre la misma y un primer pase sobre la línea RK13, a los 6 días post-infección empezamos a observar placas siendo el número de ellas mayor sobre la línea celular RK13 que sobre la línea celular SIRC. En los pases sucesivos la capacidad de formación de placas desapareció espontáneamente, observando un característico efecto ci-



Esta afección tiene un componente respiratorio muy marcado, como puede apreciarse en este grabado en que se expresa un aspecto muy característico de la rinitis que produce.

topático idéntico a los demás virus aislados, así como con el virus mixomatosis campo y cepa homóloga vacunal.

b) En los exámenes de las diferentes preparaciones infectadas (ref. G, C, D) comparándolas con la cepa Sanarelli campo y la cepa homóloga vacunal, observamos una completa identidad (Mixomatosis por L. Joubert), respecto al tipo de alteraciones producidas en las células (efecto citopático) así como las inclusiones típicas en el citoplasma.

c) Determinación del tamaño de virus. En las pruebas realizadas, vemos que todos los virus ensayados pasan a través de los filtros de 0,45 micras de tamaño de poro, mientras que por el tamaño de poro de 0,22 micras quedan retenidos los virus Sanarelli campo y cepa vacunal homóloga de mixomatosis, pasando los virus problema. Estos últimos quedan retenidos en filtros de tamaño de poro 0,15 micras.

d) Efecto del calor. El calentamiento del virus en baño maría a temperatura de 56° C., durante un período de 1 hora lo inactiva completamente.

e) Test de sensibilidad a los solventes orgánicos (éter y cloroformo). Sensible al éter e inactivación total por el cloroformo.

f) Reacciones de seroneutralización. Se han realizado pruebas de seroneutralización cruzada no pudiéndose llegar a ninguna conclusión debido a la falta de uniformidad en la obtención de sueros.

g) Capacidad hemoaglutinante del virus. Se comprobaron los virus ref. : G, D, C Sanarelli campo, cepa homóloga vacunal de mixomatosis y virus Fibroma de Shope, no observándose hemoaglutinación positiva frente a glóbulos rojos de pollitos de 3 semanas. Las técnicas de hemoaglutinación fueron las clásicas de hemoaglutinación rápida en placa y hemoaglutinación lenta en microplacas, a diferentes temperaturas de incubación (4° C. 16H, 22° C. 2H y 37° C. 2H).

Discusión

1. Después de todos los exámenes clínicos a nivel de campo, así como las infecciones experimentales realizadas en el laboratorio con los diferentes virus aislados, creemos que estamos ante un nuevo proceso

respiratorio en conejos de etiología vírica, con complicaciones de agentes secundarios (Bordetella, Pasteurella, Staphilococos, etc.)

2. En todos los casos el aislamiento del agente etiológico sobre la línea celular RK13, así como la infección experimental en conejos ha sido satisfactoria. El reaislamiento de virus en animales infectados experimentalmente ha resultado ser favorable.

3. En las infecciones experimentales por diferentes vías de inoculación (Intraparpebral—Intranasal e Intradérmica) se ha conseguido reproducir la enfermedad. Y en la necropsia hemos observado la aparición de *hemorragias puntiformes y circulares* en pulmón.

4. Tanto los animales no vacunados, como los vacunados de mixomatosis con vacuna heteróloga (Fibroma de Shope), son sensibles a la infección experimental con los virus problema.

En animales vacunados frente al complejo respiratorio (vacuna Bordetella-Pasteurella inactivada con adyuvante oleoso) parecen ser más resistentes a la infección experimental, lo que se confirma en las pruebas de campo ante una infección natural.

5. El efecto citopático de los virus problema sobre la línea celular RK13, ha sido idéntico al observado con el virus Sanarelli campo y la cepa homóloga de Mixomatosis.

6. En cuanto al tamaño del virus, según las pruebas realizadas en el laboratorio es inferior al virus Sanarelli campo y a la cepa homóloga vacunal de Mixomatosis.

Esto parece confirmarse por estudios realizados en microscopía electrónica.

7. Todos los virus se inactivan a 56° C. durante una hora.

8. Con las pruebas realizadas con solvente orgánico, se demuestra que es un virus con envuelta lipídica.

9. Virus no hemoaglutinante frente a glóbulos rojos de pollo.

10. *Diagnóstico clínico* diferencial: Este proceso lo debemos distinguir de las siguientes enfermedades.

Mixomatosis: Los síntomas son parecidos, no obstante, podemos diferenciarlo o bien sospechar de uno u otro proceso, al palpar los nódulos de las orejas, que en el caso de la mixomatosis son esféricos y bien

VETERIN FUNGUSPRAY®

Antimicòtico - acaricida de aplicació dèrmica

CORTA EL PASO A LA TIÑA
evita su transmisión al hombre



ANDREU

CONSULTE A SU VETERINARIO



Más de un siglo al servicio de la medicina
LABORATORIOS ANDREU

MORAGAS, 15 - BARCELONA-22
Dir. Téc. Farmacéutico: Carlos Mestre



Controle eficazmente los insectos.

Con el ELECTROCUTOR DE INSECTOS

HY-LO

USTED SABE QUE LA MIXOMATOSIS SE CONTAGIA A TRAVES DE LOS INSECTOS VOLADORES

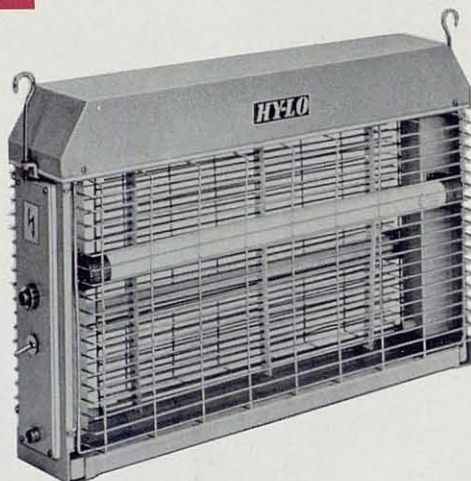
Las telas mosquiteras no solucionan el problema y además impiden una correcta ventilación

EL ELECTROCUTOR DE INSECTOS

HY-LO

ACTUA SIN PRODUCTOS QUIMICOS, SIN VENENOS, SIN ROCIOS, SIN OLOR Y ES LIMPIO Y SEGURO

LOS INSECTOS NUNCA SE INMUNIZAN CONTRA LA ELECTRICIDAD



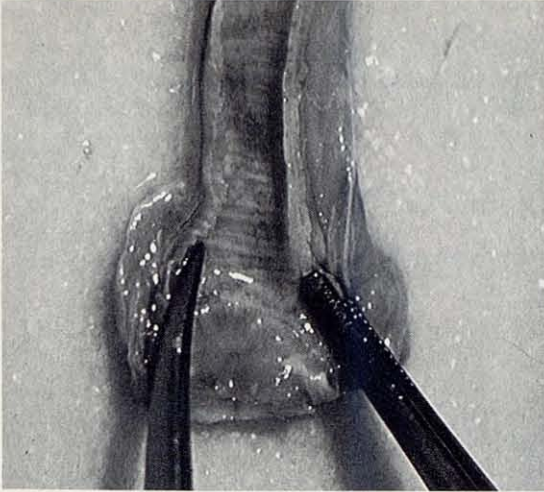
HY-LO IBERICA, S.A. Plaza de Castilla, 3, 2.º, Edificio Luminor. Tels. 318 66 16-318 64 62
Barcelona-1
Delegación en Madrid: Codorniz, 4. Tel. (91) 462 50 22. Madrid-25

LIBROS SOBRE CONEJOS

Cómo ganar dinero con la cría del conejo (5.ª edición). E. Ayala Martín	450,- Ptas.
Cómo elevar la rentabilidad del conejar (1973). E. Ayala Martín.	450,- Ptas.
Hay dinero en el conejo. Bonet	380,- Ptas.
Cunicultura (2.ª edición, 1974). P. Costa Batllori	400,- Ptas.
Teoría y práctica de la explotación del conejo. Climent	670,- Ptas.
Cría y explotación de los conejos (7.ª edición). J.W. Cross	500,- Ptas.
Cómo criar conejos para diversión y beneficio. M.I. Faivce	605,- Ptas.
El arte de criar conejos y otros animales de peletería (6.ª edición) J. Ferrer Palaus y J. Valle Arribas.	600,- Ptas.
Todo sobre los conejos. Hirschhorn	545,- Ptas.
Enfermedades del conejo y la liebre (1974). W. Koltsche y C. Gottschalk	750,- Ptas.
Conejos: Alojamiento y manejo. J.M. Molinero	600,- Ptas.
Producción comercial de conejos para carne. (2.ª edición) J.I. Portsmouth.	400,- Ptas.
El conejo: Manejo, Alimentación, Patología. Lidio Ruiz	400,- Ptas.
El conejar moderno. Sáinz.	400,- Ptas.
Cría y explotación del conejo. Salom	500,- Ptas.
Conejos para carne (Sistemas de producción intensiva) (2.ª ed. 1976) R. Scheelje y otros.	660,- Ptas.
Producción de conejos. P. Surdeau y R. Henaff.	500,- Ptas.
Cría del conejo doméstico (1966). Templeton.	735,- Ptas.

Pedidos a:

LIBRERIA AGROPECUARIA
Apartado 28. Arenys de Mar (Barcelona)



Aspecto fuertemente congestivo de la mucosa traqueal en esta afección respiratoria de naturaleza vírica.

delimitados y en este otro proceso son como intensas zonas edematosas.

Complejo respiratorio: En las afecciones respiratorias no se observan nódulos en orejas, sólo exudaciones muco-purulentas en ojos y fosas nasales y en caso de presentarse algún absceso, al presionar saldrá pus.

Estreptococias-Estafilococias: Procesos infecciosos bacterianos producidos por *Estreptococos* o *Estafilococos*. Suelen producir abscesos purulentos en el ojo, en gazapos incluso antes del destete; o bien abscesos en diferentes partes del organismo.

No obstante, aunque estos síntomas no puedan servir de orientación, hará falta un diagnóstico de laboratorio para precisar el agente causal.

11. **Tratamiento y Profilaxis:** Si bien no podemos hablar todavía de un tratamiento o de una Profilaxis concreta, sí que podemos, basados en la experiencia de los casos en los cuales hemos intervenido, dictar unas normas generales de actuación al presentarse este proceso.

Aparte de realizar un correcto diagnósti-

co, debemos inclinar nuestra atención en los siguientes puntos:

—**Eliminación de los animales afectados:** Dada la contagiosidad del agente en cuestión que, según parece, se transmite por contacto de animal enfermo a animal sano, deberemos ejercer una fuerte vigilancia de todo el efectivo a fin de poder eliminar todos los animales que aparezcan con síntomas.

—**Desinfecciones:** Una vez eliminados los animales enfermos debemos limpiar y desinfectar convenientemente las jaulas y demás utensilios que hayan estado en contacto con ellos. A su vez, procuraremos limpiar y desinfectar bien nuestras manos para que no sean vehículo de infección para los conejos sanos.

—**Vacunación:** Dada la mayor resistencia a la enfermedad, demostrada en el laboratorio y en el campo, de los animales vacunados a base de *Pasteurella multocida* y *Bordetella bronchiseptica*, con excipiente oleoso, se procederá a vacunar todo el efectivo, tanto reproductores como gazapos de engorde y los que se vayan destetando se vacunarán en el mismo momento del destete.

Para evitar el posible peligro de contagio por la aguja de inoculación y en granjas afectadas será recomendable utilizar una aguja diferente para cada animal y, a lo sumo, en el engorde, una para cada jaula, camada o grupo poco numeroso.

—**Otros tratamientos:** Con el fin de coadyuvar en la lucha contra los agentes bacterianos secundarios pueden administrarse antibióticos como la Eritromicina, Kitamicina, Tetraciclina, etc., así como choques vitamínicos. Al seguir con rigor estas pautas generales de actuación, hemos conseguido buenos resultados en lo referente a la erradicación de este proceso vírico en las explotaciones afectadas.

