La enfermedad hemorrágica viral del conejo

Desde la identificación y clasificación del virus responsable de la enfermedad hemorrágica viral hasta los ensayos, por desgracia infructuosos, de cultivo "in vitro" del virus, todavía hoy son muchos los puntos oscuros de esta patología infecciosa.

Domenico Galassi

INTRODUCCION

La enfermedad hemorrágica viral (EHV) fue identificada a comienzos de 1984 en la provincia de Jangsu, en la parte sud-oriental de China.

La enfermedad apareció primeramente en conejos de raza Angora importados de Alemania Federal bajo forma de un síndrome agudo y mortal que no presentaba analogías con enfermedades conocidas de carácter difusivo. Con extrema rapidez la EHV se difundió a otras provincias del sur de China y posteriormente a algunas regiones del norte de China y de Corea (23).

Debido a que los síndromes clínicos y las lesiones patológicas descritas en todas las regiones afectadas resultan parecidas, y dado que se había demostrado una etiología viral común, era evidente que todos los trabajos chinos se referían a la misma enfermedad (51). Puesto que la enfermedad había comenzado en reproductores Angora procedentes de Alemania Federal, se tenía implícitamente la sospecha de que la cuna del virus estuviese en Europa (49).

En Italia la enfermedad ha aparecido en octubre de 1986, en la provincia de Brescia, donde se ha difundido en una zona restringida al sur del lago Iseo (Franciacorta). Aquí ha sido señalada también en los meses posteriores hasta la primavera de 1987. A comienzos de 1987, el mismo síndrome agudo y mortal se difundió en una zona circunscrita a la provincia de Aquila y destruyó el patrimonio cunícola de los valles del Aterno y del Sagittario. La difusión de la enfermedad por todo el territorio nacional —donde continua todavía— ha sido constatada durante el año 1988.

La causa de la enfermedad fue atribuida primeramente a tóxicos de diversa naturaleza y, en algunos casos, a una forma aguda de pasteurellosis, aunque los datos epidemiológicos, clínicos y anatomo-histopatológicos no justificaban plenamente las sospechas.

La etiología viral de la enfermedad ha sido demostrada en mayo de 1988 en base a su transmisión sistemática al conejo, mediante homogeneizados de órganos, recogidos de sujetos muertos con sintomatología característica, y filtrados a través de membranas con poros de 0,22 micras. Asímismo los animales experimentalmente infectados eran capaces de transmitir directamente la infección a conejos receptivos convivientes, o bien de transmitirla por vía indirecta, con heces provenientes de conejos experimentales infectados suministradas a animales receptivos albergados en otro ambiente (Galassi, comunicación al Semanario de Brescia del 31.5.88). Posteriormente el virus ha sido demostrado en el microscopio electrónico después de purificación y concentración de homogeneizado de pulmón perteneciente a sujetos muertos por infección natural o a conejos muertos como consecuencia de infección experimental (4).

En 1989, la CEE —a petición italiana— convocó una reunión para tratar de la difusión de la EHV. En ese año las naciones europeas indemnes eran Dinamarca, Países Escandinavos, Gran Bretaña, Irlanda, Holanda, Bélgica, Luxemburgo y Grecia. Sin embargo se ha apuntado la duda de que la falta de observación de la enfermedad pudiese ser debida a la ausencia de denuncia oficial, porque probablemente se seguía todavía confundiendo la EHV con formas de septicemia hemorrágica o Pasteurellosis (16).

En Europa occidental la EHV está presente, además de Italia, en Alemania (26, 42, 44, 36), Suiza (3, 1), Francia (30, 31, 32), Austria (34), España (38) y Portugal (16).

En Europa oriental se encuentran afectadas hasta ahora la URSS, Checoslovaquia (43), Hungría (29), Polonia, Rumanía y Bulgaria (25).

Entre los países de América del Norte está afectado Méjico (35, 21).

Conejo muerto por Enfermedad Hemorrágica Viral: epistaxis (por G. Di Modugno).

ETIOLOGIA

En los tejidos de los conejos infectados, bien directamente mediante secciones al criostato, bien después de homogeneización y purifica-

ción, es posible evidenciar al microscopio electrónico un virus privado de envoltura, icosaédrico, con diámetro de 32 nm (variable entre 28 y 36 nm).

En muestras bien purificadas resulta evidente, en la superficie, la presencia de depresiones caliciformes regularmente distanciadas, que rodean al virión. La mayor parte de los viriones presentan un núcleo hexagonal de diámetro medio de 21 nm (variable entre 19 y 27 nm), impermeable a los electrones, aunque en muchos casos se presenta electrontransparente. El virus posee una sola proteína estructural principal, de peso molecular aproximadamente de 60 kd, similar a la descrita para el Calicivirus Felino, que reacciona de manera específica con sueros inmunes e hiperinmunes antiEHV (10).

El ácido nucleico es una RNA de hélice sencilla con polaridad positiva. El virus es capaz de aglutinar los glóbulos rojos humanos de tipo O; tiene un coeficiente de sedimentación de 152 S; una densidad a la ultracentrifugación usando gradiente al cloruro de sodio que oscila entre 1,36 y 1,39 g/ml; y es resistente al éter y al cloroformo.

En su conjunto, estos datos parecen suficientes para incluir al virus purificado en la familia de las Caliciviridae (36, 43, 40, 45, 31, 16, 9, 10).

Frente a esta clasificación casi unívoca de los investigadores, se contraponen las hipótesis de clasificación publicadas por los investigadores chinos. En efecto, éstos incluyen al agente de la EHV en la familia de los Picornaviridae (41, 23, 24, 8, 2) o de los Parvoridae (13, 49). Esta última hipótesis es compartida por los autores americanos que han estudiado el virus procedente de la epidemia de EHV de Méjico (21).

A pesar de los numerosos intentos realizados en muchos laboratorios, el agente de la EHV no puede ser cultivado "in vitro" y hasta hoy han fallado los experimentos para identificar substratos celulares sensibles y condiciones culturales apropiadas para una replicación productiva del virus. Esto ha influído tanto en el lento progreso de las investigciones como en los instrumentos de control y de prevención de la enfermedad. En efecto, se han encontrado numerosas dificultades para la comercialización de una vacuna que ofrezca garantías de seguridad.

La infectividad del virus no se reduce mediante tratamiento con éter, cloroformo, exposición a pH 3 o calentamiento a 50°C. El virus es inactivado por hidróxido de sodio 1%, por formol al 0,4% a temperatura ambiente y a 4°C ó 37°C, y por beta-propiolactona al 0,2% ó al 0,5% a 4°C.

Aunque el formol y la beta-propilactona eliminan la infectividad del agente de la EHV, no reducen su inmunogenicidad (19).

Si se excluye al conejo doméstico y al silvestre, de momento no parece que otras especies sean receptivas a la infección. En lo referente a la liebre, ésta es considerada receptiva (14). Pero no debemos olvidar que en esta última especie, aún antes de que apareciese en Europa la EHV, se habían observado episodios de una patología —denominada European Brown Hare Syndrome (EBHS)— muy similar a la EHV por caracteres etiológicos, clínico-epidemiológicos y anatomopatológicos (33). Se debe señalar que la aparición inicial de la EBHS en países (Noruega, Suecia, Dinamarca) donde todavía no se ha señalado la EHV, induce a considerar a la EBHS como estrechamente relacionada con la EHV, pero no del todo superponible.

De cualquier modo, el virus de la EBHS, si bien morfológicamente similar al de la EHV (22), presenta características antigénicas y bioquímicas que, aún confirmando una cierta correlación entre los dos agentes, los diferencia sustancialmente. Serán necesarias investigaciones más profundas para definir las relaciones entre estos virus que, por el momento, debemos considerar distintos y distinguibles.

Sin embargo, vistas las semejanzas existentes entre EHV y EBHS, parece del todo justificable la decisión de la Office International des Epizooties (OIE) de reunir a las dos patologías en un único contexto, bajo la denominación de "Complejo Enfermedad Hemorrágica Viral de los Lagomorfos".

EPIDEMIOLOGIA

Las epidemias de EHV llevan generalmente a la rápida destrucción de las granjas de conejos de carácter familiar y en las explotaciones industriales pueden ocasionar daños económicos desastrosos. En una población exenta de inmunidad, cuando la enfermedad aparece por primera vez, la receptividad varía en función de la edad. En general, los animales de edad inferior a 6 semanas resultan refractarios a la EHV, que ataca por el contrario constantemente a los animales de edades superiores.

El índice de mortalidad señalado en los diversos tipos de explotación (abierta o cerrada, aislada o junto a caminos de tránsito, tradicional o intensiva) es siempre muy elevado y muy raramente inferior al 60% de los animales receptivos. Diferencias en el índice de mortalidad, encontradas en tipos diversos de explotación, no resultan estadísticamente significativas.

El conejo, doméstico o silvestre, parece ser la única especie naturalmente receptiva al virus de la EHV: todas las razas y los correspondientes híbridos demuestran un mismo grado de receptividad. En muchas ocasiones se ha defendido la hipótesis de la misma etiología para el síndrome EBHS de las liebres, pero hasta el momento presente no existen pruebas irrefutables de esta hipótesis (véase etiología). Solo recientemente (14) ha sido posible reproducir en la liebre la EHV mediante inoculación de material patológico recogido de conejos muertos por EHV natural. La mortalidad de las liebres ha sido de 2 sujetos sobre 9 inoculados. De los órganos de las liebres muertas ha sido posible reproducir después la EHV en conejos receptivos.

La inoculación de homogeneizados de órganos de conejos infectados no es capaz de causar enfermedad en cobayas, hamsters, ratas, ratones, embriones de pollo, cerdos y ovejas.

La EHV, en base a los datos disponibles, puede ser advertida durante todo el ciclo del año, con incidencia mayor, que para algunas zonas responde a los meses otoñales (10) y para otras zonas a los meses estivales (1).

La principal fuente de infección está constituida por los animales enfermos o infectados en forma subclínica. En el interior de la explotación o entre granjas familiares vecinas (donde se dan frecuentes intercambios de reproductores), la difusión del virus ocurre principalmente por contacto directo, entre animal enfermo o portador y animal sano receptivo. Para la transmisión del virus entre granjas de la misma zona, o incluso entre granjas considerablemente distanciadas entre si, la vía de difusión más importante parece

ser la indirecta (7, 17, 19, 1). Entre los vectores animados, el hombre es el más frecuentemente sospechoso, mientras que lo son también animales domésticos (perro, gato) o silvestres (zorros, comadrejas, garduñas) y rapaces. Nada sabemos sobre el papel que pueden desempeñar los insectos hematofagos o los ectoparásitos; no se excluye la transmisión indirecta a través de materiales, equipos y alimentos contaminados por pelos, sangre y excretas de conejos infectados por EHV.

De momento no se dispone de datos para determinar el papel desarrollado por la inmunidad en el mantenimiento de la cadena de infección. En particular no se conoce la existencia de portadores sanos del virus ni la eventual incidencia de éstos sobre los índices de morbilidad y letalidad.

Investigaciones experimentales han demostrado que la principal vía de infección es la oral, seguida de la conjuntival, nasal y de traumas cutáneos. Aunque la morbilidad inducida por las diversas vías es similar, en las condiciones experimentales, la mortalidad ha resultado más alta en los conejos infectados "per os" en relación con los infectados por otras vías (46).

SINTOMAS CLINICOS

La EHV es una enfermedad que ataca a las granjas de tipo familiar y a las de tipo intensivo, muy frecuentemente en forma aguda y rápidamente difusiva. Después de la infección experimental, el periodo de incubación varía entre 20 y 48 horas, con un índice de mortalidad que llega al 80%. En la infección natural el periodo de incubación varía entre algunas horas y 1-2 días. El índice de morbilidad en los focos naturales es del 60-80%, con una mortalidad que se aproxima al 100% de los conejos afectados.

Cuando es atacada por la EHV una explotación intensiva de conejos privada de cualquier protección inmunitaria, el índice de difusión de la enfermedad alcanza su pico a los 2-3 días despues de la introdución de la enfermedad y permanece durante 1-2 semanas. Los focos aparecidos en diferentes regiones se presentan con características muy similares y tales como para ser considerados en forma hiperaguda, aguda y subaguda.

1. La forma hiperaguda se encuentra generalmente cuando la EHV es introducida por primera vez en la granja. Los conejos infectados mueren con frecuencia improvisadamente, sin que se pueda observar ningún síntoma clínico. Solo ocasionalmente se puede observar la expulsión de espumas sanguinolentas de la nariz y hemorragias vaginales.

2. La forma aguda predomina en las zonas en las que la enfermedad se ha hecho endémica. Los animales infectados manifiestan generalmente abatimiento, resistencia a moverse y anorexia. La temperatura corpórea se eleva frecuentemente hasta los 41°C y más, tanto durante la fase inicial como en la fase evolutiva de la enfermedad, y posteriormente desciende por debajo de la normal en las fases terminales. Muchos animales manifiestan respiración rápida y cianosis de las mucosas y de la piel. Algunos animales presentan abdomen tenso, estreñimiento o diarrea y hematuria.

Algunos conejos pueden permanecer tendidos y presentar movimientos rítmicos de las patas parecidos al pedaleo. Muchos animales mueren durante accesos convulsivos, otros parecen como enloquecidos en el interior de las jaulas y emiten un grito antes de morir. Aproximadamente un 20% de los conejos afectados presentan expulsión por las narices de espuma hemorrágica.

El decurso de la EHV aguda varía 12 y 36 horas.

3. La forma subaguda se encuentra frecuentemente en los estados avanzados de una epidemia. Los conejos manifiestan abatimiento, anorexia y aumento de la temperatura corpórea iguales a los que se observan en la forma aguda. Estos síntomas permanecen generalmente durante los 2-3 días y la mayor parte de los animales infectados pueden sobrevivir.

Estos sujetos resultan despues resistentes a las reinfecciones.

Los exámenes hematológicos en general muestran una disminución marcada del número total de leucocitos. La leucopenia es debida a una disminución de la tasa de los linfocitos, los cuales descienden de un 73% (tasa normal en los conejos sanos) al 34% aproximadamente en los animales enfermos. No obstante en algunos casos han sido referidos valores elevados en la cuenta de los leucocitos totales (11).

LESIONES ANATOMO-HISTOPATOLOGICAS

Las lesiones patológicas, tanto en los casos naturales de EHV como en la enfermedad inducida experimentalmente, han sido estudiadas por muchos investigadores.

La enfermedad se reproduce fácilmente mediante inoculaciones en los conejos receptivos de suspensiones y preparados del hígado y de los pulmones de animales enfermos, introducidos por diversas vías, como la subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, intratoráctica, oral, nasal e intradérmica.

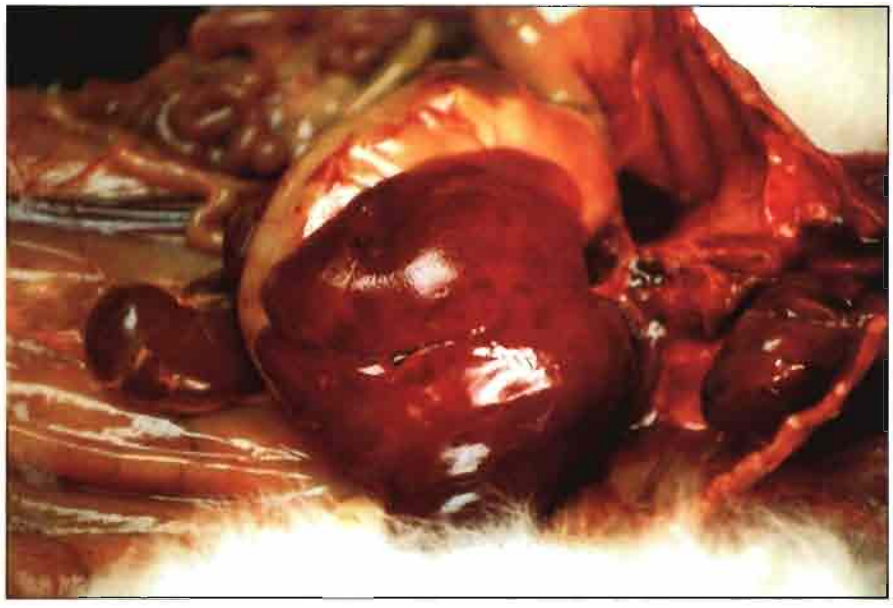
Los animales experimentalmente infectados presentan síntomas clínicos y lesiones patológicas superponibles a las observadas en los casos naturales. Se considera que las lesiones patológicas son el resultado de una viremia con lesiones circulatorias difusas. La sangre resulta siempre escasamente coagulable y consistentes acumulaciones serosanguinolentas se encuentran presentes frecuentemente en la cavidad torácica y/o en la abdominal. En raros casos se presenta una coloración ictérica de los pabellones auriculares, de las mucosas y de la subdermis.

En el aparato digestivo se observa gastritis catarral, frecuentemente con petequias y ulceraciones de la mucosa. El intestino es hiperémico e irregularmente salpicado de petequias.

El hígado manifiesta las alteraciones más graves: es decolorado, friable, tendencialmente amarillento, con diseño perilobular parduzco más o menos aparente, a veces con petequias.

En el aparato respiratorio se observa una congestión difusa de la mucosa traqueal, que presenta numerosas hemorragias petequiales y contiene con frecuencia trasudado espumoso. En todos los lóbulos pulmonares es evidente edema con hemorragias de varias dimensiones.

También se pueden observar hemorragias petequiales en el miocardio, en el riñón, en el timo y a veces en el diafragma. En algunos casos se ha evidenciado el aumento de volumen del bazo sin marcada modificación del color. Los linfonodios son irregularmente hiperplásicos y los riñones, además de



Hígado de conejo afectado por EHV: el órgano aparece engrosado, degenerado y salpicado de hemorragias o bien muy oscuro (material fotográfico procedente del Instituto Zooprofiláctico Experimental de la Lombardía y de la Emilia, sección de Bolonia).

las petequias, manifiestan en superficie y en sección una coloración pálido-opaca.

Las lesiones histopatológicas han sido descritas en el aparato respiratorio, hígado, riñones y tejidos linfoides. Las lesiones del pulmón son bastante intensas y se pueden dividir en general en tres tipos: 1. hiperemia y hemorragias, 2. congestión, hemorragias y edema, 3. pulmonía sero-hemorrágica. Las células inflamatorias que se infiltran en las vías aéreas y los alveolos son principalmente macrófagos y neutrofilos. Estas últimas lesiones podrían ser el resultado de infecciones bacterianas secundarias, si bien están también presentes en los animales infectados experimentalmente. La agregación en focos de linfocitos y eosinófilos en las áreas peribronquiales y perivasculares ha sido también observada en algunos animales.

Las lesiones del hígado están generalmente constituídas por congestión marcada y moderada degeneración grasa. También ha sido descrita necrosis hepática diseminada en muchos casos (27). La vesícula biliar está generalmente tensa porque está rellena de bilis y sobre su mucosa se pueden observar hemorragias petequiales y necrosis coagulativa en focos.

Las principales lesiones renales descritas en la EHV son una congestión difusa y hemorragias en focos. Menos frecuente han sido señaladas nefritis y glomérulonefritis membranosa. En los capilares glomerulares se encuentra frecuentemente un gran número de trombos fibrinosos y algunos capilares presentan degeneración hialina de las paredes.

Las lesiones descritas en los órganos linfoides (linfonodios, bazo, timo, apéndices cecales y amígdalas) son también hemorragias y congestiones de diversa intensidad, pero consisten principalmente en la deplección de los linfocitos, carioresis y ocasionalmente cariolisis de los linfocitos reticulares. Se ha demostrado que esta deplección está estrechamente relacionada con la reducción del número total de los leucocitos en la sangre periférica.

En algunas ocasiones se ha señalado una encefalomielitis no supurativa caracterizada por acúmulos perivasculares de células mononucleares, desmielinización y proliferación glial, aunque ésto no parece justificable. Estructuras similares a inclusiones acidófilas, esféricas y ovales, han sido observadas ocasionalmente en el citoplasma de neuronas y células glaciales del cerebro y de la médula espinal.

Las lesiones encontradas en los otros tejidos comprenden gastritis catarral, necrosis en focos o difusa de la corteza subrenal, marcada congestión del endometrio con hemorragias en el lumen uterino y degeneración del epitelio de los acinis pancreáticos y de las células de los islotes de Langherhans.

Intestino delgado de conejo atacado por EHV: hiperemia, estasis basal (por Cancellotti).

PATOGENESIS

A pesar de los estudios que han investigado la etiología y aclarado la epidemiología y la patología de la EHV, sigue siendo aún incierta la patogénesis de esta enfermedad.

El virus penetra en el organismo a través de las vías naturales (digestiva o respiratoria) o mediante abrasiones o heridas cutáneas. No se conoce la región en la que ocurre la primera multiplicación del virus, aunque se cree que la viremia sea responsable de las lesiones (47) y que la muerte imprevista de los animales sea debida a la simultánea disfunción de muchos órganos. Entre estas disfunciones debemos enumerar la extendida congestión pulmonar acompañada de edema y la grave pulmonía sero-hemorrágica, las lesiones de la corteza subrenal constituídas por hemorragias en focos y necrosis, las alteraciones circulatorias generalizadas de los riñones y principalmente la lesión grave y difusa de lo que parece ser el órgano-objetivo: la necrosis hepática.

La coagulación intravascular diseminada (CID) puede ser significativa para el desarrollo de la enfermedad. La

prueba más importante en apoyo de esta hipótesis es la presencia de numerosos trombos fibrinosos en los capilares de los riñones, de los pulmones, del hígado, del cerebro y de otros órganos en la EHV natural. Investigaciones en conejos infectados experimentalmente han demostrado una reducción gradual del número de trombocitos, hasta por debajo de 50.000/mm^3 en unión de tiempos prolongados de protombina y de trombina. La prueba de paracoagulación con sulfato de protamina da, en estos conejos, una reacción netamente positiva (50). Esto depende probablemente del hecho de que la CID es una etapa intermedia en el desarrollo de la EHV aguda, que puede ser responsable de la muerte imprevista de muchos de los animales infectados.

Lesiones ultraestructurales comunes son la vacuolización citoplasmática, la tumefacción y la degeneración de los mitocondrios, la rotura de las membranas citoplasmáticas de las células de órganos parenquimatosos como los pulmones y el hígado y de las células endoteliales a éstos asociadas. En el interior del citoplasma de estas células se han observado numerosísimos viriones, dispuestos ordenadamente, lo que quiere indicar que el virus tiene una predilección por los endotelios vasculares y reticulares.

El daño en el endotelio vascular es probablemente el origen de la coagulación sanguínea y de la fibrinolisis secundaria, promoviendo así el desarrollo de la CID (50).

La presencia de un número excesivo de "Mastzellen" en los capilares glomerulares ha sido observada en investigaciones ultraestructurales (48). Las "Mastzellen" son capaces de liberar numerosos mediadores del proceso inflamatorio asociado con las reacciones alérgicas de tipo I. La liberación de la histamina por las "Mastzellen" puede incrementar también la permeabilidad de los capilares.

Asimismo se ha pensado que la patogénesis de la EHV puede estar tambien ligada al depósito de inmunoglobulinas y de inmunocomplejos, porque éstos constituyen masas de material denso, osmófilo y con pequeños gránulos depositados en muchas áreas de la lámina basal.

La observación no frecuente de estas lesiones y el decurso extremadamente breve de la EHV harían poco probable este mecanismo patogenético. Pero se debe advertir que esta hipótesis, si bien no convalidada por profundas investigaciones, podría justificar algunos elementos controvertidos de la EHV. Ante todo la dificultad en el cultivo del virus: los inmunocomplejos no serían capaces de liberar el virus, que por tanto no podría penetrar en las células del cultivo donde debería multiplicarse.

En segundo lugar podría ser explicada la receptividad solo de los sujetos adultos: en los jóvenes se tendría una tolerancia inmunológica analógica a la coriomeningitis linfocitaria de los ratones, que cesaría solo con la instauración de una competencia inmunitaria completa. En los adultos, la formación de inmunocomplejos provocaría rápidas y fuertes lesiones en el hígado, en los riñones y en los endotelios basales, favoreciendo así la CID y sus dramáticas consecuencias.

DIAGNOSTICO

Una sospecha fundada de la EHV puede ser emitida en base a las observaciones epidemiológicas, a los síntomas clínicos y a las características lesiones anatomopatológicas. Sin embargo es necesario con frecuencia diferenciar la EHV de enfermedades agudas como la pasteurellosis y la enterotoxemia por clostridios. Por tanto, la confirmación del diagnóstico depende de los exámenes de laboratorio.

El hígado, los pulmones y los riñones de los conejos afectados son utilísimos para la demostración del virus mediante miscroscopía electrónica. Las partículas virales, de diámetro aproximado de 28-32 nm, son evidenciadas frecuentemente en el citoplasma de los hepatocitos y en los pneumocitos de tipo I, pero se pueden evidenciar más fácilmente utilizando oportunos métodos de enriquecimiento, purificación y coloración negativa (9).

Todavía más segura resulta la inmunoelectromicroscopía con el empleo de anticuerpos policlonales y monoclonales; particularmente demostrativos resultan los preparados en los que los anticuerpos hayan sido conjugados con oro coloidal (28).

Otras técnicas de diagnóstico de laboratorio son la hemoaglutinación (HA), la inmunofluorescencia (IF) y el "enzyme-linked inmunosorbent assay"

Pulmones de conejo atacado por EHV: hemorragias difusas (por G. Vecchi).

Hígado de conejo atacado por EHV, se observa hipertrofia y áreas hemorrágicas (por G. Vecchi).

(ELISA). Dado que el agente de la EHV es capaz de aglutinar los eritrocitos humanos de tipo 0, la prueba HA puede ser utilizada para una identificación preeliminar del antígeno viral en suspensiones de órganos procedentes de animales infectados. También se pueden obtener reacciones positivas si las suspensiones de tejidos son fuertemente diluídas.

Los datos disponibles indican que los títulos aglutinantes son muy elevados con extractos de hígado, pulmón, bazo y riñones; los títulos resultan modestos con extractos de corazón, cerebro y linfonodios mesentéricos; son, a su vez, bajos los títulos obtenidos con extractos de músculo (49). La IF resulta también una ayuda válida para la puesta en evidencia del antígeno viral en los animales muertos con síntomas sospechosos, cuando se dispone de anticuerpos específicos marcados con una sustancia fluorescente. La prueba ha sido realizada en secciones criostáticas de riñón, bazo e hígado.

Muy fiable resulta también la ELISA del tipo "sandwich", que utiliza suero hiperinmune anti-EHV y que además es capaz de determinar también los casos en los que el virus EHV no se muestra hemoaglutinante.

La actividad hemoaglutinante del virus EHV puede ser inhibida de manera específica con suero de conejos convalecientes de EHV, por tanto la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI) es corrientemente aplicada en serología. Par los mismos fines se puede utilizar la inhibición ELISA, que en pruebas comparativas con HI se muestra tambien más sensible (18).

Tanto la prueba HI como la inhibición de la ELISA son utilizadas en explotaciones intensivas para controlar el incremento de anticuerpos anti-EHV en sospecha de infección, o bien para comprobar el estado inmunitario que sigue a una intervención vacunal.

CONTROL Y PROFILAXIS

Ningún tratamiento terapéutico resulta eficaz contra la EHV, tal como ocurre en la mayor parte de las infecciones por virus, de forma que el control de la enfermedad depende principalmente de las medidas profilácticas generales que comprenden cuarentena y vacunación.

Los métodos para prevener la introducción de la EHV en una explotación -tanto intensiva como familiar- son los usados para todas las enfermedades infecciosas, en las que el principal medio de transmisión está constituído por el contacto directo entre animal enfermo y animal sano. La medida sanitaria más importante es la inhibición de la introducción de conejos de áreas epidémicas: en el ámbito nacional ninguna granja debería introducir conejos. Esta medida es inaplicable en la mayor parte de las granjas, por tanto se recomienda la vacunación sistemática de los reproductores y de los conejos en cebo. Todos los sujetos de nueva introducción deben ser puestos en cuarentena por lo menos durante dos semanas y vacunados al menos una semana antes del ingreso.

Hay que evitar sin más las visitas de extraños, porque ya se sabe que entre los seres animados que sirven como difusores del virus, el hombre es el más peligroso. Deben practicarse periódicamente desinfecciones fiables de los locales y de los equipos. Esto presupone una programación de las granjas cunícolas y una ciclicidad de la producción, análoga a la de todas las otras explotaciones intensivas, en las que el vacío sanitario es un pilar de la higiene de la explotación.

Entre los desinfectantes se debe preferir la sosa al 1-2%, el agua muy caliente con chorro a presión y la cloramina T al 0,3-0,5%.

Por la marcada sensibilidad del conejo a las sustancias que irritan la mucosa nasal, no son aconsejables desinfectantes a base de formalina, fenoles, cresoles, etc.

En Italia, considerada área epidémica en la que todas las regiones tienen riesgo, es importante la profilaxis médica, que consiste en la vacunación de todos los animales receptivos, en la práctica todos los sujetos de edades superiores a 4-6 semanas. La vacuna está constituída por emulsión de órganos de animales infectados, inactivada con 0,4% de formalina y ayudada con hidróxido de aluminio. Pruebas de laboratorio y de campo han demostrado la inocuidad y la eficacia del producto, su facilidad de preparación y la posibilidad de almacenamiento a +4°C por lo menos durante 12 meses. La vacuna ha sido aplicada a gran escala en China (52), Hungría (29), España (38,39) e Italia (12).

Los conejos resultan protegidos desde el 4°-5° día despues de la inoculación de la vacuna y la inmunidad permanece válida por lo menos durante un año. En la práctica de la explotación intensiva, se aconseja la vacunación de los conejos de cebo a la edad de 4-6 semanas. Los reproductores a su vez serán vacunados en el tercer mes de vida y resultarán así inmunes durante todo su ciclo; solo en un caso de emergencia, la vacunación de los reproductores podrá anticiparse a la misma edad en los conejos de cebo. En este caso sería oportuna una segunda intervención vacunal antes de iniciar los acoplamientos.

Si la EHV aparece en una granja no vacunada y se comprueba la enfermedad cuando el índice de mortalidad ha alcanzado o superado el 10%, resultará generalmente imposible evitar los daños. Se aconseja, por tanto, el sacrificio y la destrucción de todos los animales y la esmerada desinfección de los locales y de los equipos. Solo después de un adecuado vacío sanitario se podrá reemprender la cría.

Si la EHV aparece en una granja ya vacunada (en este caso los afectados son generalmente las remontas no vacunadas y los sujetos destetados hace poco), con una vacunación de urgencia de los jóvenes no protegidos, a comenzar desde la 4ª semana de edad, se podrán limitar considerablemente los daños de la enfermedad. La vacunación de emergencia se podrá intentar también en granjas jamás vacunadas, cuando la comprobación de la EHV se ha realizado inmediatamente después de los primeros casos de mortalidad y cuando ésta no ha superado todavía el 5% del efectivo. En este caso la mortalidad continúa durante otros 3-4 días y después se interrumpe improvisadamente, reduciéndose considerablemente los daños para el ganadero.

Resultados todavía más favorables se pueden obtener con la inoculación simultánea de la vacuna y de un inmunoestimulante (POLI-IF) que induzca en los animales la producción de interferón. La explotación que ha sufrido un tratamiento vacunal de urgencia deberá ser considerado como permanentemente infectado.

Comunicación presentada con ocasión de la reunión organizada por *Cuni Oasis* sobre el tema "Desarrollo de la cunicultura en el Mezzogiorno". Torre le Nocelle (AV) (Italia), enero de 1991.

BIBLIOGRAFIA

1. Allegranza G., Vanzetti T., Lavazza A., Capucci L., Scicluna M.T. (1990) - Malattia emorragica virale del coniglio: indagine epidemiologica nel Cantone Ticino, Svizzera. Selez. Veter., *31*, 847-858.
2. An S.H., Kim B.J., Lee J.B., Song J.Y., Park B.K., Kwon Y.B., Jung J.S., Lee Y.S. (1988) - Studies on picornavirus haemorrhagic fever (tentative name) in rabbits. 1. Physico-chemical properties of the causative virus. Res. Report of the Rurla Development Administr. Veter., *30*, 55-61.
3. Boujon C.E., Gafner F.R., Bestetti G.E. (1989) - Die «Infektiöse Nekrotisierende Hepatitis» des Kaninches. Erste Fälle in der Schweiz. Schweiz. Arch. Tierheilk., *131*, 71-76.
4. Buonavoglia C., Di Trani L., Di Pasquale R., Tinari A., Ruggeri F.M., Galassi D. (1988) - Sui recenti episodi di mortalità nei conigli in Italia. Nota preliminare. Selez. Veter., *29*, 1509-1510.
5. Cancellotti F.M., Renzi M., Vecchi G., Villeri C. (1989) - La malattia emorragica virale nell'Italia del nord. Rivista di Coniglicoltura, *26* (9), 49-53.
6. Cancellotti F.M., Renzi M., Villeri C., Monfredini R., Vecchi G., Lavazza A. (1989) - La malattia X: una diffusa patologia virale del coniglio che non può essere trascurata. Scienza Vet. e Biologia Anim. *8* (2), 3-10.
7. Cancellotti F.M., Villeri C., Renzi M., Monfredini R. (1988) - Le insidie della malattia X del coniglio. Riv. di Coniglicoltura, *25* (9), 41-46.
8. Cao S.Z., Liu S.G., Gan M.H., Liu R.P., Cai S.W., Liu S.F. (1986) - A preliminary report on viral haemorrhagic pneumonia (tentative name) in rabbits. Chin. J. Vet. Med., *12*, 9-11.
9. Capucci L., Scicluna M.T., Lavazza A., Brocchi E. (1990) - Purificazione e caratterizzazione dell'agente eziologico della malattia emorragica virale del coniglio. Selez. Veter., *31*, 301-312.
10. Capucci L., Scicluna M.T., Lavazza A. (1990) - MEV epidemiologia e diagnosi. Rivista di coniglicoltura, *27* (9), 36-40.
11. Chen K.Y., Zeng D.N., Ning L.Z., Yin L.Y. (1987) - Changes in blood leucocytes and histology of lynphoid organs in acute phase of esperimentally infected rabbit viral haemorrhagic disease. Chin. J. Vet. Sci. & Technol., *5*, 38-40.
12. De Mia G.M., Marini C., Rutili D., Frescura T. (1989) - Vaccinazione dei conigli nei confronti della malattia emorragica virale. Atti SISVET, *43*, 895-898.
13. Deng R.F., Xu W.Y., Du N.X., Yang X.C., Wu S.X. (1987) - Characterisation of rabbit haemorrhagic disease virus and its nucleic acid. J. Nanjing Agricultural University, *2*, 110-114.
14. Di Modugno G., Nasti R. (1990) - La malattia emorragica virale in Puglia. Rivista di Coniglicoltura, *27* (1), 25-32.
15. Eskens V., Volmer K. (1989) - Untersuchungen zur Aetiologie der Leberdystrophie des Feldhasen (Lepus europaeus pallas). Dtsch. Tierärztl. Wschr., *96*, 464-466.
16. Fiore G., Lavazza A. (1989) - Malattia virale emorragica del coniglio: situazione sanitaria e ricerca nei Paesi membri della Cee. Il Nuovo Progresso Vet., *46*, 414-416.
17. Frescura T., Gialletti L., Rutili D., Fioroni A., Marini C., De Mia G.M. (1989) - Malattia emorragica virale del coniglio. Obiett. e Docum. Vet., *10*, 37-40.
18. Frescura T., Rutili D., Rondini C., De Mia G.M., Marini C., Scuota S. (1989) - Applicazione della prova IHA ed ELISA per la ricerca degli anticorpi della malattia emorragica virale del coniglio. Selezione Vet. *30*, 1357-1365.
19. Galassi D., Semprini P., Di Emidio B., Antonucci D. (1989) - Malattia emorragica virale del coniglio: epidemiologia e profilassi. Rivista di Coniglicoltura, *26*, (9), 43-47.
20. Gavier D., Beer J.V., Erne K., Eskens U., Frylestam B., Ippen R., Louzies C., Lavazza A., Morner T., Okerman L., Poli A., Schneider E., Steinneck T. (1989) - Meeting on «Disease of hares and European Brown Hare Syndrome». The National Veterinary Institute Uppsala Sweden, 27-30 Oktober.
21. Gregg D.A., House C. (1989) - Necrotic hepatitis of rabbits in Mexico: a parvovirus. Vet. Record, *125*, 603-604.
22. Lavazza A., Vecchi G. (1989) - Osservazioni su alcuni episodi di mortalità nelle lepri. Evidenziazione al microscopio elettronico di una particella virale. Nota preliminare. Selez. Veter. *30*, 461-467.
23. Lee C.S., Park C.K. (1987) - Aetiological studies on an acute fatal disease of Angora rabbits: so-called rabbit viral sudden death. Korean J. Vet. Res., *27* (2), 277-290.
24. Liu S.J., Xue H.P., Pu B.Q., Quian N.H. (1984) - A new viral disease in rabbits. Anim. Husbandry & Vet. Med. *16* (6), 253-254.
25. Loeliger H. Ch. (1989) - Die hämorrhagische Viruserkrankung der Kaninchen. DGS, *41*, 1204-1206.
26. Loeliger H. Ch., Matthes S., Liess B. (1989) - Ueber das Auftreten einer infektiösen hämorrhagischen Erkrankung bei hauskaninchen in der Bundesrepublik Deutschland. Vorläufige Mitteilung. Tierärztl. Umschau, *44*, 22-25.
27. Marcato P.S., Benazzi C., Vecchi G., Della Salda L., Simoni P., Aiello P., Tumino G. (1988) - L'epatite necrotica infettiva del coniglio. Profilo patogenetico di una nuova malattia emorragica. Rivista di Coniglicoltura, *25* (9), 59-64.
28. Marini C., De Mia G.M., Vitelli B.R., Frescura T. (1990) - Identificazione al microscopio elettronico del virus della malattia emorragica virale del coniglio mediante anticorpi policlonali e monoclonali coniugati con oro colloidale. Selez. Veter., *31*, 1423-1428.
29. Mocaari E., Palya V., Sinkovics G. (1989) - Un vaccino inattivato contro la malattia emorragica virale del coniglio. Rivista di Coniglicoltura, *26* (9), 37-39.
30. Morisse J.P. (1988) - Le Syndrome Septicémie Hémorragique chez le lapin: premières observations en France. Point Vét. *20*, 78-83.
31. Morisse J.P. (1989) - La Maladie Hémorragique Virale du Lapin (VHD): etat des recherches et évolution de la maladie un an après son apparition en France. L'Eleveur de Lapins, *26*, 18-27.
32. Morisse J.P., Le Gall J., Boilletot E. (1990) - La maladie hémorragique virale du lapin. Bull. Soc. Vét. Prat. de France, *74* (1), 31-39.
33. Morisse J.P., Picault J.P., Boilletot E., Morin M. (1990) - Relations étiologiques entre le syndrome du lièvre brun européeen (EBHS) et la maladie hémorragique virale du lapin (VHD). Cuniculture n. 95, *17* (5), 215-220.
34. Nowotny N., Fuchs A., Schilcher F., Loupal G. (1990) - Zum Auftreten der Rabbit Haemorrhagic Disease (RHD) in Oesterreich: I. Pathomorphologische und virologische Untersuchungen. Wien Tierärztl. Mschr. *77*, 19-23.
35. Office International des Epizooties (1989) - Pneumo-hepatic disease (viral haemorrhagic disease) of rabbits in Mexico. O.I.E. Disease Information *2* (6), 16.
36. Ohlinger V.F., Haas B., Ahl R., Weiland F. (1989) - Die infektiöse hämorrhagische Krankheit der Kaninchen - eine durch ein Calicivirus verursachte Tierseuche. Tierärztl. Umschau, *44*, 284-294.
37. Okerman L., Van de Kerckhove P., Osaer S., Devriese L., Uyttebroek E. (1989) - European brown hare syndrome bij in gevangenschap levende hazen (Lepus campensis) in Belgie. Vlaams Diergeneesk. Tijdschr., *58*, 44-46.
38. Pages Mante A. (1989) - Aspetti epidemiologici e di laboratorio della malattia emorragica virale del coniglio in Spagna. Rivista di Coniglicoltura, *26* (9), 19-23.
39. Pages Mante A. (1989) - Consideraciones técnicas de la sueroterapia y de la profilaxis vacunal en la enfermedad hemorragica virica del conejo (R.H.D.V.). Med. Vet. *6*, 286-291.
40. Plana J., Vayreda M., Baxtons M., Vilà X. (1989) - Calicivirus: a firm candidate as the induction agent of viral haemorrhagic disease of rabbit. Med. Vet., *6*, 87-88.
41. Pu B.Q., Quian N.H., Cui S.J. (1985) - HA and HI tests for the detection of antibody titres to so called haemorrhagic pneumonia in rabitts. Chin. J. Vet. Med., *11*, 16-17.
42. Schlueter H., Schirrmeier H. (1988) - Mitteilung des Staatlichen Institu für Epizootiologie und Tierseuchenbekämpfung Wusterhausen/Dosse und des VEB «Friedrich-Loeffler-Institut» Insel Riems zu einer Virus-Seuche der Kaninchen. Mh. Vet. Med., *43*, 813.
43. Smid B., Valicek L., Stepanek J., Jurak E., Rodak L. (1989) - Experimental transmission and electron microscopie demonstration of the virus of haemorrhagic disease of rabbits in Czechoslovakia. J. Vet. Med., *36 B*, 237-240.
44. Soike D., Wilke I., Tutte B., Stropp M., Roesler D., Rummler H.J., Richter W., Werdier H., Schlueter H., Boehme R. (1989) - Erste Erfahrungen bei der Diagnostik und Bekämpfung der Hämorrhagischen Septikämie der Kaninchen im Bezirk Potsdam. Mh. Vet. Med., *44*, 376-378.
45. Von Granzow H., Schirrmeier H., Tews G. (1989) - Hämorrhagische Septikämie der Kaninchen - Erregernachweis und erste elektronenmikroskopische Charakterisierung. Mh. Vet. Med., *44*, 379-380.
46. Xie M.L., Cheng C.P., Wei H.J., Chen K.Y., Yin L.Y. (1986) - Investigation on the infectious routes of rabbit plague. Infect. Dis. in Domestic Animals, *6*, 4.
47. Xu F.N., Shen W.P., Liu S.J. (1985) - Study of the pathology of viral haemorrhagic disease in rabbits. Anim. Husbrandry & Vet. Med., *17*, 153-155.
48. Xu F.N., Shen W.P., Xi Q.K. (1985) - Ultrastructural studies on viral haemorrhagic disease in rabbits. Anim. Husbrandry & Vet. Med., *17*, 244-245.
49. Xu W.Y., Du N.X., Liu S.J. (1988) - A new virus isolated from haemorrhagic disease in rabbits. Proceed. 4th Congr. World Rabbit Science Assoc., Budapest Oct. 10-14, 1988, Vol. 3, pp. 456-462.
50. Xu Y.M., Wang B.A., Wang Y.K. (1986) - Studies on the induction of disseminated intravascular coagulation by a rabbit viral haemorrhagic disease virus. Chin. J. of Rabbit Farming, *4*, 36-38.
51. Xu Z.J., Chen W.X. (1989) - Viral haemorrhagic disease in rabbits: a review. Vet. Res. Communications, *13*, 205-212.
52. Xu Z.J., Chen W.X., Chen J.X., Yu J.Y. (1985) - Studies on control and prevention of a new rabbit disease. Zhejiang J. of Anim. Husbandry & Vet. Med., *10*, 12-13.