

ENFERMEDAD HEMORRÁGICA VÍRICA DEL CONEJO TIPO 2 (VEHC2)

La enfermedad hemorrágica del conejo (EHC) es una enfermedad infecciosa altamente contagiosa, aguda y fatal de los conejos silvestres y domésticos europeos, producida por calicivirus. Es una enfermedad de declaración obligatoria (OMSA, 2023; RD 526/2014) que está caracterizada por una hepatitis necrótica, además de hemorragias asociadas a otros órganos como los pulmones, corazón y riñones. La muerte de los animales se desencadena como resultado de una coagulación intravascular diseminada (CID) y disfunción orgánica generalizada (Calvete et al., 2018). El control de esta patología radica en la vacunación y el sacrificio, además de medidas de bioseguridad, las cuales son más difíciles de aplicar en conejos silvestres.

LAURA SELVA, JUAN MANUEL CORPA, DAVID VIANA*

Grupo de Patología y Sanidad Animal. PASAPTA. Facultad de Veterinaria, Universidad CEU Cardenal Herrera, Valencia.

*dviana@uchceu.es



AGENTE ETIOLÓGICO

La enfermedad hemorrágica del conejo (EHC) está causada por virus de la familia *Caliciviridae*, género *Lagovirus*. Este género incluye 2 importantes enfermedades que afectan a los leporidos: la enfermedad hemorrágica del conejo y el síndrome de la liebre parda europea. Los virus del género *Lagovirus* se clasifican en distintos genogrupos y genotipos (por ejemplo, GI.1, virus clásico de la EHC; GI.2, virus de la EHC tipo 2) según sus relaciones filogenéticas en base a las secuencias génicas (le Pendu et al., 2017). El virus de la enfermedad hemorrágica del conejo (VEHC, o de las siglas en inglés RHDV)

es altamente contagioso y la enfermedad es endémica en la mayor parte de Europa, Asia, norte de África y Oceanía. El desarrollo de vacunas propició que con una correcta profilaxis vacunal el riesgo de la enfermedad clásica se minimizase. Sin embargo, en 2010, en Francia, se describieron casos de EHC atípicos, caracterizados por presentarse en animales vacunados frente al virus clásico (v) y producir bajas en animales menores de 3 semanas (le Gall-Reculé et al., 2011). Las diferencias genéticas y antigénicas del virus aislado en estos casos atípicos permitieron describir un nuevo virus denominado *Lagovirus europaeus*/GI.2 (previamente VEHC2, o RHDV2 por sus siglas en inglés) (le Gall-Reculé et al., 2013). Actualmente,

este nuevo calicivirus ha reemplazado al virus "clásico" GI.1, diseminándose a todos los países del mundo donde hay poblaciones de lagomorfos, incluido África y Oceanía. La aparición, persistencia y diseminación de GI.2 es fruto de la recombinación entre formas patógenas y no patógenas de *Lagovirus* (Abrantes et al., 2020). En general, son virus ARN monocatenarios no envueltos, resistentes al éter, cloroformo y a bajos niveles de pH. Son bastante estables, permaneciendo viables durante semanas en condiciones adversas de humedad y temperatura (Abrantes et al., 2012).

INFECCIÓN Y PATOGENIA

Las posibles rutas de transmisión del virus son la oral, nasal, conjuntival y parenteral (Figura 1). Los principales receptores específicos para el virus se localizan en el tracto respiratorio superior y el tracto digestivo. En las infecciones naturales, la ruta oro-fecal está considerada la principal ruta de transmisión, aunque debido a la viabilidad del virus durante prolongados periodos de tiempo en secreciones y ambiente, se han descrito prácticamente todas las vías de transmisión, incluidos los ectoparásitos, considerándose un virus altamente infeccioso (Capucci et al., 2022; Mahar et al., 2020). Una diferencia importante en la patogenicidad entre los dos tipos de *Lagovirus* GI.1 y GI.2 es la edad de los animales susceptibles de desarrollar la enfermedad. Los conejos de menos de 5-8 semanas de edad no son susceptibles de forma natural a la infección por GI.1, mientras que GI.2 causa enfermedad y muerte incluso en gazapos de tan solo 11 días de edad (Camacho-Sillero et al., 2019). Además, mientras que las especies de liebres son naturalmente resistentes al genotipo clásico GI.1, se han detectado casos de GI.2 en diferentes especies de liebres. El periodo de incubación oscila entre 12-48 h, pudiendo llegar a cinco días. Cuando se emplea la ruta oral en infecciones experimentales, el virus se detecta a partir de las 12 h en el tracto gastrointestinal, principalmente en los enterocitos y placas de Peyer del ciego (O'Toole et al., 2022). El virus se une a unos receptores específicos denominados HBGA H tipo 2 presentes en la superficie de las células epiteliales de las vías aéreas superiores y del tracto digestivo (Abrantes et al., 2012). La expresión de estos ligandos en la

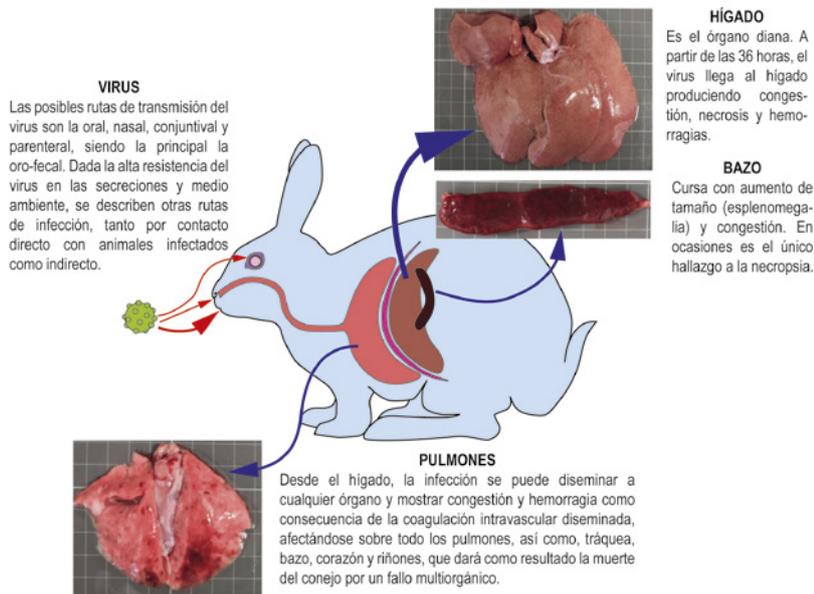


Figura 1.
Esquema de la patogenia de la enfermedad.

superficie celular se relaciona con el grado de infección, observándose que una menor expresión se asocia a animales con menor susceptibilidad a la infección (Nyström *et al.*, 2011). Esta disminución en la expresión de los ligandos HGBA también justifica, en parte, la resistencia a la infección de conejos menores de 2 semanas (Abrantes *et al.*, 2020). También se ha sugerido que la respuesta innata frente al virus es diferente en animales menores de dos semanas respecto a animales de más edad. En los conejos adultos el componente predominante en la inflamación del hígado son los heterófilos. En cambio, en los conejos jóvenes, menores de 2 semanas, se ha visto que el componente mayoritario son los linfocitos, que tienen una respuesta más efectiva y específica que los heterófilos. La respuesta innata en animales menores de 2 semanas confiere resistencia a la infección, como se demuestra al reproducir la enfermedad en estos animales cuando se inmunodeprimen (Marques *et al.*, 2014). A partir de las 36 h el virus llega al hígado vía sanguínea a través de macrófagos. El virus se replica en el citoplasma de los hepatocitos localizados principalmente en áreas centroacinarias. El número de células infectadas se incrementa con el curso de la enfermedad alcanzando su máximo a las 48h (O'Toole *et al.*, 2022). Los hepatocitos mueren por fenómenos de autofagia y apoptosis, contribuyendo

a una replicación y difusión más efectiva del virus (Trzeciak-Ryczek *et al.*, 2015; Vallejo *et al.*, 2014). Desde el hígado, la infección se puede diseminar, a través de los macrófagos, hacia otros órganos. En el trabajo de O'Toole y colaboradores (2022) observaron un incremento en los niveles de citocinas (IL-6, IL-1b y TNF-a), lo que podría justificar una "tormenta de citocinas" que desencadena hipercoagulabilidad, microtrombos, disfunción multiorgánica, coagulopatía de consumo con hemorragia y, finalmente, la muerte. Diferentes trabajos muestran algunas diferencias entre la patogenicidad del virus clásico de la EHC y el actual, mostrándose menor mortalidad con el virus GI.2 o VEHC2. Sin embargo, estas diferencias pueden deberse a varios factores, como la cepa del virus y condiciones intrínsecas del conejo (Abade dos Santos *et al.*, 2020; Calvete *et al.*, 2018). En general, la morbilidad varía entre el 30-100% y la mortalidad entre el 40-100% (Abrantes *et al.*, 2012). Aquellos conejos que desarrollan un pico efectivo de IgM frente a la propagación del virus (72-84 h) pueden recuperarse de la enfermedad. Esto ocurre porque la respuesta humoral (con anticuerpos específicos frente al virus) es la más efectiva frente a los *Lagovirus*. Por ello, los anticuerpos maternos anti-VEHC2, que son transmitidos a través de la placenta y la leche, son esenciales para proteger a las crías de la enfermedad

durante las primeras semanas de vida. Incluso niveles mínimos de anticuerpos específicos en la sangre protegen a los conejos de EHC (Capucci *et al.*, 2022). La prevalencia de la enfermedad puede variar dependiendo de la geografía y de la estación, ya que la temperatura y la humedad son las variables climáticas más importantes. El virus muere antes en zonas áridas y secas que en zonas costeras. Normalmente, en animales silvestres los brotes se producen con mayor incidencia en los meses más fríos (entre noviembre y abril) (Camacho-Sillero *et al.*, 2019). Sin embargo, en España, se ha descrito mayor incidencia de la enfermedad de abril a agosto que de septiembre a marzo en conejos procedentes de granjas comerciales (Rosell *et al.*, 2019).

SIGNOS CLÍNICOS Y LESIONES

Los signos clínicos y lesiones de ambos virus son similares. Dependiendo de la evolución clínica de la enfermedad, se describen tres cursos clínicos diferentes (Marcato *et al.*, 1991): en la forma sobraguda los animales infectados no muestran signos clínicos y mueren repentinamente, tan solo 12 h después de la infección. El único hallazgo puede ser congestión inespecífica. Ocurre cuando la infección aparece en una colonia de conejos donde no estaba presente el virus. La forma aguda viene acompañada por anorexia, apatía, congestión de la conjuntiva palpebral y signos neurológicos como excitación, parálisis y ataxia, principalmente. También hay signos respiratorios como tos, disnea, cianosis, descarga nasal sanguinolenta (epitaxis) y lagrimeo ocular. Se da en áreas donde la EHC se encuentra estabilizada y los conejos siempre presentarán signos clínicos antes de la muerte. En la forma subaguda los animales tienen síntomas más leves y la mayoría de ellos sobreviven. Puede observarse ictericia (mucosas amarillentas, hígado amarillento, líquido libre de color amarillento) debido a la afección hepática, anorexia y otras lesiones secundarias a infecciones bacterianas. Se ha descrito que muy pocos conejos presentan una forma crónica de la enfermedad, aunque los signos nerviosos pueden ser vistos en estadios tardíos, como movimientos de pataleo, ataxia o comportamiento frenético y chillidos antes de morir (Abrantes *et*

al., 2020). Con la nueva variante GI.2 se han descrito más casos crónicos o subclínicos, lo que puede contribuir a la diseminación del virus durante más tiempo y dificultar su control (Gleeson & Petritz, 2020). No obstante, algunos trabajos han demostrado el mismo número de casos agudos de ambos virus en infecciones experimentales (Calvete *et al.*, 2018).

Al realizar la necropsia, las principales lesiones se observan en hígado, pulmón y bazo (**Tabla 1**). El aspecto del hígado suele ser pálido y de consistencia friable, con marcado patrón lobulillar (**Figura 2**). Puede ir acompañado de incremento de sangre (congestión) lo que le confiere color rojo oscuro y aumentado de tamaño. La principal lesión histopatológica es una hepatitis necrótica con hemorrágicas multifocales (**Figura 3**), producida por una pérdida de hepatocitos a causa de la apoptosis inducida por el virus. Otro órgano donde se aprecian lesiones es el bazo, con esplenomegalia (aumento del tamaño del bazo) y color más oscuro debido a la congestión. Una vez se produce la

coagulación intravascular diseminada (CID), muchos órganos pueden presentar hemorragias y congestión, sobre todo tráquea, pulmones, corazón y riñones, que dará como resultado la muerte del conejo por un fallo multiorgánico. El CID se manifiesta a nivel histológico por la presencia de microcoágulos en los vasos sanguíneos de muchos órganos. Además, el agotamiento de los linfocitos T y B, principalmente en el hígado y en el bazo contribuye a la incapacidad de producir una respuesta inmunitaria efectiva y a una progresión fatal de la enfermedad en 2-3 días (Marques *et al.*, 2010).

El tracto digestivo no suele afectarse, pero se han reportado casos de enteritis a nivel histológico, con necrosis de enterocitos, sobre todo en el duodeno, lo que produce pérdida de vellosidades y depósitos de fibrina (Abade dos Santos *et al.*, 2020). A pesar de la descripción característica de hemorragias en la enfermedad, no siempre se observa este hallazgo en casos de EHC aguda. Uno de los hallazgos clásicos relacionados con la enfermedad es la descarga nasal sanguinolenta o epitaxis (**Figura 4**). Sin

embargo, la presencia de sangre en la cavidad nasal es inespecífica y debe ir acompañada de otras lesiones típicas de la enfermedad, por lo que no puede descartarse EHC por la ausencia de esta lesión (Rosell *et al.*, 2019).

DIAGNÓSTICO

La historia clínica y el examen post mortem orientan hacia el diagnóstico de la enfermedad hemorrágica del conejo. El diagnóstico definitivo de EHC requiere pruebas de laboratorio, pudiéndose confirmar mediante la detección de antígenos virales en tejidos de conejos muertos con sospecha de EHC. La muestra de elección es una muestra del hígado, ya que es el órgano diana y donde más cantidades de virus podemos encontrar. También se pueden emplear fluidos corporales. Aunque los casos se producen mayoritariamente por el virus GI.2, también se describen casos esporádicos del virus clásico. Para diferenciarlos es imprescindible el diagnóstico virológico. La técnica más empleada para la detección es la prueba de la polimerasa de transcripción reversa (RT-PCR). También se emplean técnicas de inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA) o inmunohistoquímica. El diagnóstico serológico clásico de la enfermedad es más complicado: no permite diferenciar los virus, existe correlación antigénica parcial entre ambos tipos de virus, la respuesta de anticuerpos entre conejos es variable y los conejos pueden estar vacunados simultáneamente frente a los dos tipos de virus y luego pueden infectarse de forma natural. En el laboratorio de referencia de enfermedad vírica de la Oficina internacional de epizootias (OIE), se ha desarrollado un ELISA de competición (cELISA) específico para VEHC2. Esta prueba presenta una mayor especificidad frente a los anticuerpos que reconocen este virus, empleándose para la investigación epidemiológica de poblaciones de conejos silvestre y conejos comerciales después de casos de enfermedad (Capucci *et al.*, 2022). Otras técnicas, como la microscopía electrónica, que permite la visualización de las partículas víricas, la hemoaglutinación, western blotting o el aislamiento del virus suelen limitarse a estudios de investigación (Rocchi & Dagleish, 2018). Atendiendo a la afección hepática, causada por la apoptosis de los hepatocitos y la falta

Tabla 1.

Lesiones macroscópicas y microscópicas observadas en animales en enfermedad hemorrágica del conejo

ÓRGANO	LESIONES
HÍGADO	Aumento de tamaño, con marcado patrón lobular. Coloración grisáceo-amarillenta y consistencia friable. Infiltraciones de granulocitos, alteraciones degenerativas (vacuolización) de los hepatocitos compatible con apoptosis, activación de células de Kupffer.
TRÁQUEA	Hiperemia de la mucosa, petequias o hemorragias difusas, a veces con presencia de espuma sanguinolenta.
PULMONES	Hiperemia, edema pulmonar (espuma en la tráquea), hemorragias. Histológicamente las hemorragias son intra-alveolares y perivasculares. En ocasiones se observa bronquiolitis catarral con proliferación de linfocitos.
RIÑONES	Aumento de tamaño, hiperemia y hemorragias. Histológicamente las hemorragias se observan en los glomérulos y médula renal, con trombos hialinos (pérdida de proteínas), túbulos dilatados, infiltración linfocítica y degeneración del epitelio tubular.
BAZO	Esplenomegalia (aumento de tamaño), hiperemia y hemorragias. A nivel histológico puede observarse cariorrexis en los folículos con depleción linfocítica y hemosiderosis (consecuencia de la congestión).
TRACTO DIGESTIVO	Ocasionalmente enteritis y hemorragias en la serosa intestinal.
CAVIDAD ABDOMINAL Y TORÁCICA	Ocasionalmente exudado sanguinolento o hemorragias en las serosas.
MUSCULATURA	Petequias en el músculo cardíaco. Histológicamente puede observarse necrosis focal en miocardio, alteraciones degenerativas y hemosiderosis.
SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	Congestión y hemorragias en las meninges del cerebro y cerebelo. Histológicamente puede observarse encefalomielitís no purulenta de forma ocasional.

Adaptado de Abrantes *et al.*, 2012.

FOCALIZADOS EN EL RHDV2

ERAVAC[®]

Vacuna inactivada, adyuvantada

Enfermedad vírica hemorrágica del conejo tipo 2 (RHDV2)



ERAVAC[®] vacuna inactivada de la enfermedad hemorrágica del conejo tipo 2 (RHDV2), emulsión inyectable. **COMPOSICIÓN:** Una dosis (0,5 ml) contiene: virus de tipo 2 inactivado de la enfermedad hemorrágica del conejo (RHDV2), cepa V-1037 $\geq 70\%$ cELISA40*, (*) $\geq 70\%$ de los conejos vacunados deben presentar concentraciones de anticuerpos mediante cELISA iguales o superiores a 40. **INDICACIONES:** Conejos: Para la inmunización activa de conejos a partir de 30 días de edad para reducir la mortalidad causada por el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo tipo 2 (RHDV2). **ADMINISTRACIÓN:** Vía subcutánea. **POSOLOGÍA:** 0,5 ml/animal. **REACCIONES ADVERSAS:** Puede ocurrir un ligero aumento transitorio de la temperatura por encima de los 40°C muy frecuentemente entre dos o tres días después de la vacunación. Este aumento de la temperatura se resuelve espontáneamente sin tratamiento dentro de los 5 días siguientes a la vacunación. Se puede observar un nódulo o hinchazón (<2 cm) en el punto de inyección muy frecuentemente, que puede durar 24 horas. Estas reacciones locales se reducen gradualmente y desaparecen sin necesidad de tratamiento. Se puede observar letargo y/o inapetencia durante las primeras 48 horas después de la inyección en muy raras ocasiones, en base a las notificaciones tras la autorización. **TIEMPO DE ESPERA:** 0 días. **PRECAUCIONES ESPECIALES:** La vacuna proporciona protección solamente frente a RHDV2, la protección cruzada contra el RHDV2 clásico no ha sido demostrada. Vacunar únicamente animales sanos. La vacunación es recomendada donde el RHDV2 es epidemiológicamente relevante. No mezclar con ningún otro medicamento veterinario. Precauciones específicas que debe tomar la persona que administre el medicamento veterinario a los animales: este medicamento veterinario contiene aceite mineral. Su inyección accidental/ autoinyección puede provocar dolor agudo e inflamación, en particular si se inyecta en una articulación o en un dedo, y en casos excepcionales podría provocar la pérdida del dedo afectado si no se proporciona atención médica urgente. Conservar y transportar refrigerado (entre 2°C y 8°C). No congelar. Guardar el vial en la caja de cartón para proteger de la luz. Usar el producto inmediatamente después de su apertura. Todo medicamento veterinario no utilizado o los residuos derivados del mismo deberán eliminarse de conformidad con las normativas locales. Mantener fuera de la vista y el alcance de los niños. **INFORMACIÓN ADICIONAL:** Inicio de la inmunidad: 1 semana. Duración de la inmunidad: 12 meses demostrado por infección experimental. Gestación: Los estudios de laboratorio en conejas gestantes en el último tercio de gestación no han producido ninguna evidencia de efectos teratogénicos, fetotóxicos y maternotóxicos. Las conejas preñadas deben manejarse con especial cuidado para evitar el estrés y el riesgo de aborto. **ENVASE:** 10 frascos de 1 dosis, 1 frasco de 10 dosis, 1 frasco de 40 dosis. **NÚMERO(S) DE LA AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN:** EU/2/16/199/001-002-003. **TITULACIÓN DE LA AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN:** Laboratorios Hipra S.A. Avda. la Selva, 135, 17170 Amer (Girona), ESPAÑA. Medicamento sujeto a prescripción veterinaria. Utilice los medicamentos de forma responsable.



Figura 2. Imagen macroscópica del hígado. Presenta un color marrón más claro de forma difusa y un incremento del patrón lobulillar. Estos cambios profundizan al corte y se corresponden con necrosis y degeneración.

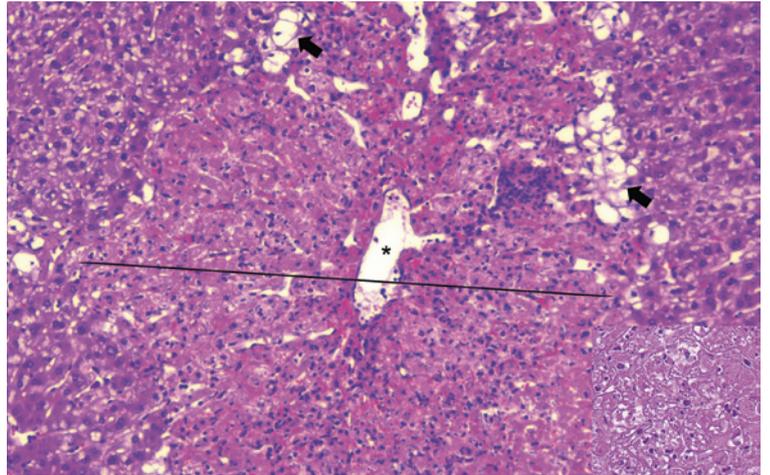


Figura 3. Imagen microscópica del hígado de la figura 1. Se observa necrosis centrolobulillar (señalado con una línea) alrededor de la vena centrolobulillar (*), los hepatocitos se tiñen más rosas (acidófilos), con rotura de núcleos (cariorexis) y hemorragia. Las flechas señalan hepatocitos con degeneración vacuolar. Imagen ampliada: detalle de la necrosis de los hepatocitos. Hematoxilina-eosina.

de regeneración, aumentan los niveles de enzimas hepáticas en el suero de los animales infectados, principalmente aspartato transaminasa (AST) y alanina transaminasa (ALT), bilirrubina, gamma-glutamil transferasa (γ -GT), fosfatasa alcalina (AP) y deshidrogenasa láctica (LDH) (Trzeciak-Ryczek *et al.*, 2015), pudiéndose emplear en animales vivos con sospecha de EHC. Además, si se realiza un leucograma la enfermedad cursa con leucopenia y trombocitopenia (Bonvehí *et al.*, 2019).

PREVENCIÓN Y CONTROL

Debido a que no existe tratamiento para la EHC, las medidas de bioseguridad, principalmente sacrificio y desinfección, y la vacunación son indispensables para el control de la enfermedad, combinándose con restricciones de movimiento y conejos centinela para monitorizar la circulación del virus. La inmunidad humoral es el principal sistema defensivo de los animales contra la enfermedad hemorrágica. Para prevenir la enfermedad se necesitan niveles bajos de anticuerpos altamente específicos y homólogos para el virus que causa la infección. Debido a que hay diferencias antigénicas significativas entre el virus clásico GI.1 y el virus actual GI.2, aunque hay cierta inmunidad cruzada (Calvete *et al.*, 2018), las vacunas desarrolladas frente al virus clásico

no funcionan frente al virus actual y a la inversa, por lo que es necesario un plan vacunal frente a los dos virus (Capucci *et al.*, 2022; Rosell *et al.*, 2019). Se debe considerar, también, el efecto negativo de la presencia de anticuerpos



Figura 4. Epistaxis. La presencia de sangre en la cavidad nasal es un hallazgo clásico relacionado con la enfermedad, pero es inespecífica y debe ir acompañada de historia clínica compatible y otras lesiones típicas de EHC.

maternos en la eficacia de la vacuna. La vacunación de los conejos jóvenes debería comenzar a los 45-50 días de edad (Capucci *et al.*, 2022). En conejos que no presenten signos clínicos o con signos subclínicos, se ha demostrado que la inmunidad adquirida pasivamente evita la muerte de los animales (Calvete *et al.*, 2018). La inmunidad aparece en los primeros días después de la inoculación y persiste durante meses; las revacunaciones se suelen hacer con intervalos de medio año. La vacunación evita la diseminación de ARN viral en las heces de los conejos vacunados, previniendo la propagación del virus en las granjas, al ser las heces la principal vía de transmisión de la enfermedad (Calvete *et al.*, 2021; Sánchez-Matamoros *et al.*, 2020). Además, la vacunación de las hembras induce inmunidad maternal frente a la nueva variante GI.2 en gazapos, por vía transplacentaria, con una duración de mínimo 28 días (Baratelli *et al.*, 2020). En estudios experimentales se ha observado que otras infecciones, como la colibacilosis, pueden influir en la respuesta vacunal, al producir inmunosupresión y alterar el equilibrio de citocinas (Eladl *et al.*, 2019).

BIBLIOGRAFÍA

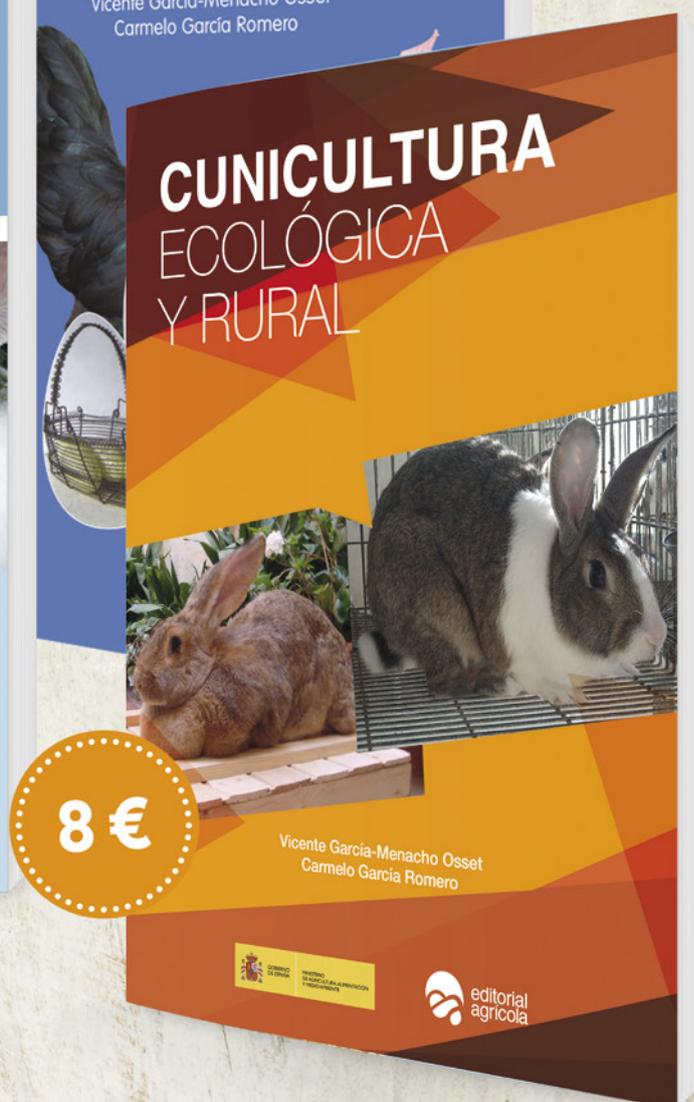
Queda a disposición del lector interesado en el correo electrónico: dviana@uchceu.es

SERIE CUNICULTURA

**20% de descuento
usando el código
cuni20**

libreria.editorialagricola.com

promoción válida desde 01/04/23 al 22/04/23



PEDIDOS A:
EDITORIAL AGRÍCOLA ESPAÑOLA S.A.
Caballero de Gracia 24, 3º Izda.
28013 Madrid
Tel.: 91 521 16 33
libros@editorialagricola.com

* Precios con descuento aplicado