

ENFERMEDAD HEMORRÁGICA DEL CONEJO. EL VIRUS RHDV2 14 AÑOS DESPUÉS

Hasta inicios de los años ochenta no se sabía que los lagomorfos eran hospedadores de los lagovirus. En aquellos años surgió el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo (RHDV), uno de los patógenos más mortíferos que existen, considerando su elevada virulencia y gran capacidad de transmisión. La breve historia de los lagovirus presenta acontecimientos evolutivos relevantes, el último de los cuales (por el momento) es la aparición del virus RHDV2 en 2010, que no es una simple variante genética del anterior RHDV “clásico”, si no, de hecho, un nuevo virus emergente.

MARÍA ZAMORA-CEBALLOS, ESTHER BLANCO, JUAN BÁRCENA
Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA-INIA/CSIC), Madrid



LOS LAGOVIRUS (ANTES DE RHDV2)

Los virus encuadrados en el género *Lagovirus* (pertenecientes a la familia *Caliciviridae*) infectan a los lepóridos (familia que incluye a los conejos y las liebres). Hay lagovirus patogénicos que causan hepatitis aguda y fatal en los animales infectados. La enfermedad se denomina enfermedad hemorrágica del conejo (RHD, por sus siglas en inglés), o síndrome de la liebre parda europea (EBHS), dependiendo de que afecte a conejos o liebres. El agente causal de la RHD es el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo (RHDV), denominado también GI.1, según la actual clasificación de los lagovirus (Tabla 1) (Le Pendu *et al.*, 2017), y el virus causante de la enfermedad en liebres es el EBHSV, también conocido como GII.1. Se trata en ambos casos de virus emergentes. El virus EBHSV

se detectó por primera vez en Suecia en 1980, y poco tiempo después en otros países europeos, reflejando el rango de distribución de la liebre europea (*Lepus europaeus*) y la liebre de montaña (*Lepus timidus*). RHDV se reportó inicialmente en China (aunque en conejos de angora importados de Europa) en 1984. En pocos años la enfermedad se extendió por Europa (los primeros casos en España aparecieron en 1988), Asia, África y Centroamérica. Además, el virus se

importó a Australia para ser empleado como agente de control biológico, en la lucha que este país mantiene desde hace varias décadas contra el conejo, al ser una especie invasiva que causa graves daños a la agricultura y el medio ambiente. Ambos virus resultaron ser muy específicos de especie: RHDV afectaba únicamente al conejo europeo (*Oryctolagus cuniculus*), mientras que EBHSV lo hacía a ciertas especies de liebres, provocando enfermedades con perfiles clínicos y patológicos muy similares, ambas con elevadas tasas de mortalidad asociadas. Es interesante señalar que ninguno de los dos virus causaba enfermedad en los animales menores de 5 semanas de edad. Inicialmente la RHD afectó severamente a poblaciones de conejo tanto domésticas como silvestres en la Península Ibérica, cuyo drástico descenso tuvo un impacto ecológico importante, puesto que el conejo constituye la base de la cadena trófica del ecosistema de monte mediterráneo. Desde principios de la década de los 1990, la disponibilidad de vacunas eficaces frente a RHD, junto con el desarrollo de medidas adecuadas de control, permitieron reducir significativamente el impacto de la enfermedad en los conejos domésticos, hasta el año 2010...

Por otro lado, también existen lagovirus no patogénicos que infectan lagomorfos sin causar signos clínicos detectables. Son virus entéricos (infectan células del intestino) que se transmiten por vía oro-fecal y por lo tanto no producen la patología hepática propia de los lagovirus patogénicos. Los que infectan conejos se conocen como calicivirus de conejos, RCV (encuadrándose en los genotipos GI.3 y GI.4), mientras que los que infectan liebres se denominan calicivirus de liebres, HaCV (y pertenecen a los genotipos GII.2 y GII.3) (Tabla 1).

Tabla 1.
Clasificación de los lagovirus

GENOGRUPO	GI				GII		
	GI.1	GI.2	GI.3	GI.4	GII.1	GII.2	GII.3
Genotipo	RHDV	RHDV2	RCV-E1	RCV-A1	EBHSV	HaCV	HaCV
Nombre	RHDV	RHDV2	RCV-E1	RCV-A1	EBHSV	HaCV	HaCV
Efecto	patógeno	patógeno	no patógeno	no patógeno	patógeno	no patógeno	no patógeno
Hospedador	conejos	conejos y liebres	conejos	conejos	liebres	liebres	liebres

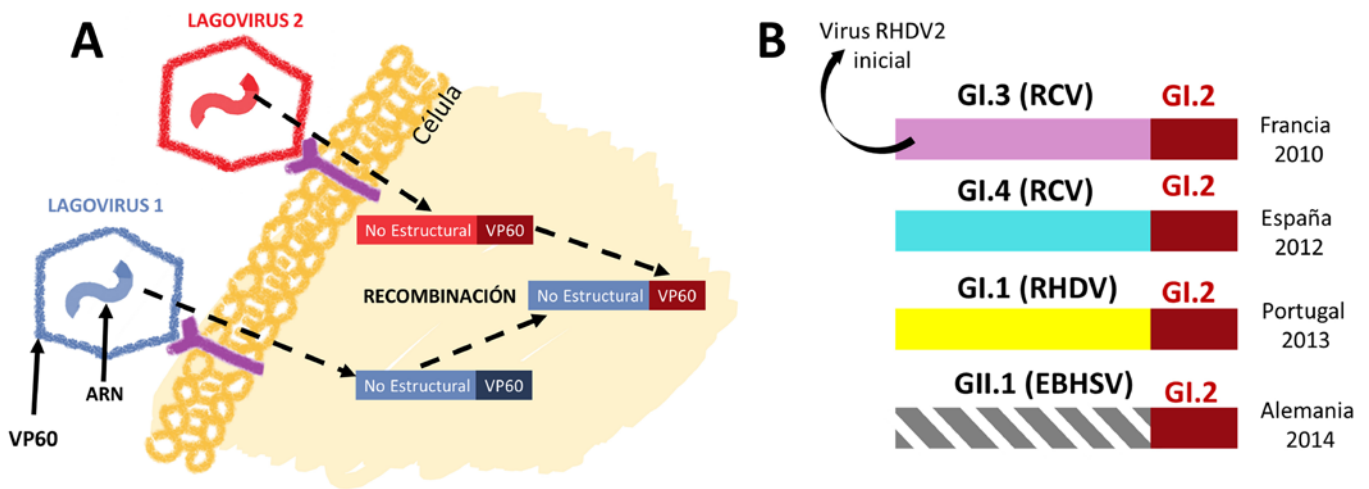


Figura 1.

Recombinación. A. Proceso de recombinación entre dos lagovirus que infectan una misma célula. B. Esquema del genoma de distintos virus RHDV2 recombinantes.

LA BIOLOGÍA DE LOS LAGOVIRUS

En cuanto a su biología molecular, los lagovirus poseen un genoma constituido por una molécula de ARN pequeña (de unas 7,5 kilobases), protegida por una cápsida proteica icosaédrica, formada por 180 copias de una única proteína estructural, conocida como VP60. Dicha proteína estructural es muy relevante por dos razones. Por un lado, es la que media la interacción del virus con las células del organismo hospedador (entrada en la célula), lo que constituye el primer paso de la infección (**Figura 1A**). Pequeñas diferencias en la proteína VP60 entre los distintos lagovirus pueden determinar que un virus sea capaz de infectar a distintos hospedadores (conejos y/o liebres) o distintos tipos celulares (células del hígado y/o del intestino), lo que a su vez puede ser clave para que el virus desencadene efectos patogénicos o produzca una infección subclínica. Por otro lado, la proteína VP60 es la diana principal de la respuesta inmune que desarrolla el organismo infectado (es la proteína viral que reconocen mayoritariamente los anticuerpos generados); y elemento clave de las vacunas, que se basan en “presentar” la proteína VP60 a los conejos inmunizados, para que la “reconozcan” y queden así protegidos si posteriormente son infectados por

el virus. De nuevo, diferencias en la proteína VP60 entre diversos lagovirus pueden hacer que una vacuna que protege eficazmente frente a uno de ellos, no lo haga frente a otro. Un aspecto importante de la biología de los lagovirus es su elevada capacidad de recombinación (**Figura 1A**). Se trata de un fenómeno que puede ocurrir cuando dos virus distintos infectan simultáneamente una misma célula. Durante la replicación del genoma viral pueden producirse moléculas de ARN recombinantes, integradas por una combinación de fragmentos que provienen de ambos virus. En el caso de los lagovirus, la recombinación suele dar lugar a nuevos virus que contienen la parte inicial del genoma que codifica los genes de las proteínas no estructurales (aproximadamente 2/3 del ARN), procedente de un virus, y la región que codifica el gen de la proteína de la cápsida VP60 procedente del otro virus. Los virus resultantes del proceso de recombinación, que poseen un genoma “combinado”, pueden presentar características biológicas nuevas, distintas de las de los dos virus “progenitores” y esto es justo lo que ha pasado con el virus RHDV2.

EL VIRUS RHDV2

A partir del año 2010 el panorama epidemiológico de los lagovirus se

complicó considerablemente con la irrupción de un nuevo virus, esta vez en Francia, que inicialmente se conoció como nueva variante de RHDV, y actualmente se denomina RHDV2 o genotipo GI.2 (**Tabla 1**). El nuevo virus constituía un grupo filogenético aparte, puesto que exhibía diferencias significativas en el gen de la proteína VP60: una divergencia mayor del 15% respecto al resto de lagovirus conocidos. RHDV2 presentaba importantes características distintivas, desgraciadamente conocidas: 1) al poseer una proteína de la cápsida VP60 notablemente distinta, presentaba un perfil serológico diferente al de RHDV. Como consecuencia, las vacunas desarrolladas frente al virus RHDV GI.1 no eran capaces de proteger adecuadamente frente a RHDV2 GI.2, razón por la cual los brotes iniciales originados por el nuevo virus causaron una apreciable mortalidad en poblaciones de conejos domésticos que habían sido adecuadamente vacunados frente al RHDV clásico. 2) Capacidad de provocar enfermedad fatal en conejos jóvenes de menos de 2 semanas de edad. 3) Un amplio rango de huésped, es decir, capacidad para infectar y causar una enfermedad tipo RHD, no solo en conejos, sino también en otras especies. Así, hasta la fecha se han reportado infecciones fatales con RHDV2 en numerosas especies de lepóridos de los géneros

Oryctolagus, *Lepus*, *Sylvilagus* y *Brachylagus* (**Tabla 2**), afectando a poblaciones domésticas y silvestres en distintas zonas del mundo. 4) Patogenicidad y tasas de mortalidad variable. Inicialmente, RHDV2 provocaba un grado de patogenicidad sensiblemente menor que el RHDV clásico, lo que se traducía en menores tasas de mortalidad: 20% en ensayos experimentales, muy alejada de las tasas superiores al 90% propias de los RHDV clásicos (GI.1). Sin embargo, con el tiempo, la patogenicidad de los virus RHDV2 circulantes ha ido en aumento, hasta igualar e incluso superar la de los virus GI.1.

Las mencionadas características fenotípicas distintivas de RHDV2 dieron lugar a importantes consecuencias. Una rápida y amplia difusión mundial del nuevo virus entre poblaciones de conejo domésticas y silvestres (**Figura 2**), desplazando en buena medida a los virus RHDV (GI.1) circulantes; y la adquisición del estatus de virus endémico en Norteamérica y Centroamérica, algo que nunca llegó a ocurrir con los virus RHDV, probablemente debido a que éstos eran específicos del conejo europeo (afectando solo a poblaciones de conejos domésticos en aquel continente), mientras que los virus RHDV2, al presentar un rango de huésped más amplio, consiguieron establecerse en poblaciones silvestres de varias especies de los géneros *Lepus*, *Sylvilagus* y *Brachylagus*, propias del continente americano (Asin *et al.*, 2022), algunas de ellas consideradas especies amenazadas. Afortunadamente, una vez que se pudieron desarrollar vacunas específicas frente a RHDV2, mostraron una eficacia similar a las anteriores frente a RHDV, constituyéndose en un elemento clave para el control de la enfermedad en las poblaciones de conejos domésticos.

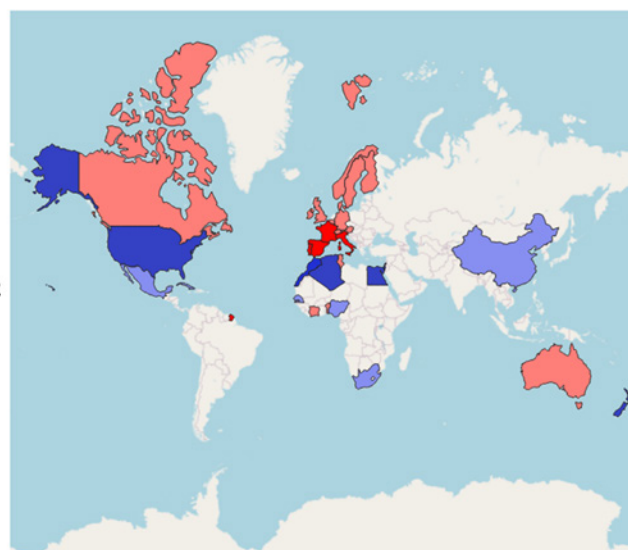
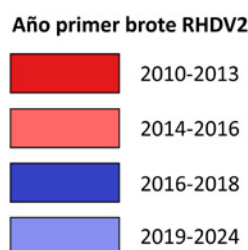
ORIGEN DEL VIRUS RHDV2

Como se señaló más arriba, tanto RHDV, como RHDV2 y EBHSV son virus emergentes, es decir, virus que surgen en un momento determinado causando una enfermedad con rasgos característicos (a menudo con efectos devastadores como en este caso), de la que no existían registros previos. Inmediatamente se plantea

Tabla 2.
Rango de huésped de los lagovirus patógenos

Especie	Nombre común	RHDV (GI.1)	RHDV2 (GI.2)	EBHSV (GII.1)	Lugar primera detección de RHDV2
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Conejo europeo	+	+		
<i>Lepus capensis mediterraneus</i>	Liebre sarda		+		Cerdeña (Italia), 2011
<i>Lepus corsicanus</i>	Liebre corsa		+	+	Sicilia (Italia), 2012
<i>Lepus europeus</i>	Liebre europea		+	+	Lombardía (Italia), 2012
<i>Lepus timidus</i>	Liebre de montaña		+	+	Suecia, 2017
<i>Lepus alleni</i>	Liebre antílope		+		California (EE.UU.), 2020-2021
<i>Lepus californicus</i>	Liebre de California		+		California (EE.UU.), 2020-2021
<i>Sylvilagus audobonii</i>	Liebre del desierto		+		California (EE.UU.), 2020-2021
<i>Sylvilagus nutalli</i>	Conejo de montaña		+		California (EE.UU.), 2020-2021
<i>Sylvilagus floridanus</i>	Conejo de Florida		+	+	(experimental) Nueva Zelanda, 2021
<i>Brachylagus idahoensis</i>	Conejo pigmeo		+		Nevada (EE.UU.), 2022

Figura 2.
Mapa de la propagación mundial del virus RHDV2.



la pregunta obvia ¿De dónde vienen estos virus? ¿Dónde estaban antes de empezar a detectarse los síntomas de la enfermedad que producen? Básicamente hay dos hipótesis (que no son mutuamente excluyentes). Una sugiere que los lagovirus patógenos surgieron a partir de lagovirus no patógenos preexistentes, que ya circulaban en la misma especie (por ejemplo, virus parecidos a los actuales GI.3, GI.4), mediante evolución por acumulación de mutaciones genéticas, que incrementaron su patogenicidad. La otra, que emergieron a partir

de algún virus que circulaba inadvertidamente en una especie distinta (reservorio), mediante lo que se denomina salto de la barrera de especie (este sería el caso, por ejemplo, de la emergencia en la población humana del virus responsable de la pandemia de COVID-19). En el caso de los virus RHDV2, aunque de momento no se ha podido esclarecer con precisión su origen, los estudios filogenéticos realizados analizando el genoma completo de muchos aislados virales, han permitido llegar a una

GROTEERMAN®

Para la erradicación de la MIXOMATOSIS en conejos



INYECTA

SIN AGUJA

SIN CONTACTO



*Jeringas intradérmicas
GROTEERMAN y
GROTEERMAN AUTOMÁTICA
Para la inyección de dosis de 0,1 ml.*

*Testada por el
Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria*



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

INSERBO S.L.

Polígono Industrial Torrefarrera C/Ponent nº3
25123 Torrefarrera - Lleida - España
Tel. (+34) 973 750 313 Fax (+34) 973 751 772
e-mail: inserbo@inserbo.com
www.inserbo.com



FABRICADAS INTEGRAMENTE EN ESPAÑA POR

conclusión llamativa: todos los virus RHDV2 circulantes conocidos son recombinantes (**Figura 1B**) (Abrantes *et al.*, 2020). Es decir, según lo que sabemos ahora, el paso inicial que dio origen a los virus RHDV2 fue un evento de recombinación que se produjo entre un lagovirus no patogénico del tipo GI.3 (que aportó la parte del genoma que codifica las proteínas no estructurales) y un virus desconocido (de hospedador también desconocido), que aportó el nuevo gen de la proteína VP60 característico de RHDV2 (sensiblemente distinto al del resto de los lagovirus conocidos hasta ese momento). Este nuevo virus recombinante fue el que se detectó inicialmente en Francia en 2010 (**Figura 1B**), propagándose poco después entre poblaciones de conejos domésticos y silvestres de otros países europeos. Con el tiempo se produjeron recombinaciones adicionales, dando lugar a nuevos virus formados por combinaciones diferentes. Hasta el momento en distintas partes del mundo (Europa, Australia, Norteamérica, China) se han detectado virus RHDV2 recombinantes surgidos de casi todas las combinaciones entre distintos lagovirus posibles (**Figura 1B**): virus con el ARN genómico correspondiente a los genes de proteínas no estructurales procedentes de donantes: GI.3, GI.4 o GI.1 por un lado, y el gen de la proteína de la cápsida VP60 procedente de RHDV2 GI.2, por otro. Sorprendentemente, también se han detectado (en liebres en Alemania) virus procedentes de eventos de recombinación entre genes no estructurales del virus específico de liebres EBHSV GII.1, y el gen de VP60 de RHDV2 GI.2. Es decir, una recombinación entre virus pertenecientes a lagovirus de dos genogrupos distintos (GII propio de liebres y GI propio de conejos), algo que nunca se había detectado anteriormente. Ante tanta diversidad genética, no es de extrañar que distintos virus RHDV2 circulantes exhiban características diferentes, por ejemplo, diversos grados de patogenicidad, como se señaló más arriba. Estos datos ponen de relieve la destacada contribución de los eventos de recombinación en la evolución y el surgimiento de nuevos lagovirus patogénicos. Asimismo, subrayan

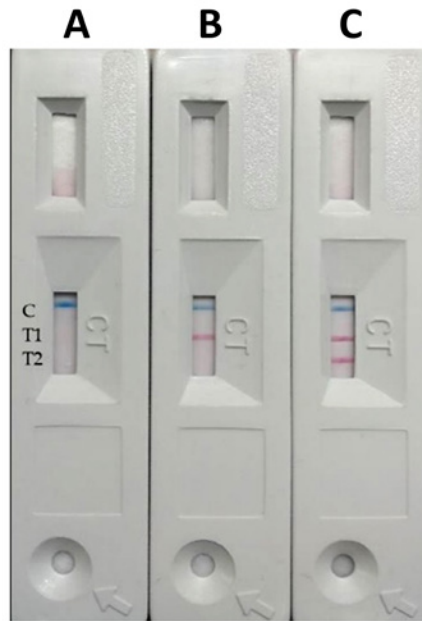


Figura 3. Test de detección y diferenciación específica entre RHDV y RHDV2. A. Muestra negativa. B. Muestra positiva a RHDV. C. Muestra positiva a RHDV2.

la necesidad de mantener una monitorización activa de los virus circulantes, tanto en poblaciones domésticas como silvestres, realizando el análisis del genoma completo, con el fin de caracterizar adecuadamente toda la variabilidad genética existente, y poder así responder de forma rápida ante el eventual surgimiento de nuevos virus patogénicos (¿el RHDV3?).

DIAGNÓSTICO DE RHDV2

Teniendo en cuenta las diferentes características señaladas entre los virus RHDV y RHDV2, como el hecho de que requieren vacunas diferentes para su control, se hizo necesario el desarrollo de métodos de rápida detección y diferenciación entre ambos genotipos, para permitir así una adecuada vigilancia de la enfermedad. Nuestro grupo de investigación ha realizado en los últimos años aportaciones a este objetivo. En primer lugar, desarrollamos un sistema de detección serológica (un ensayo de laboratorio para detectar anticuerpos específicos frente a un virus), capaz de discriminar serología positiva

frente a RHDV o RHDV2, basado en la generación de cápsidas vacías o VLPs (*virus like particles*) de ambos virus (Bárcena *et al.*, 2015). Este ensayo se ha aplicado con éxito en diversos estudios sobre la epidemiología de la RHD en poblaciones de conejos silvestres de la Península Ibérica (Rouco *et al.*, 2018; Pacheco *et al.*, 2022). Por otro lado, en el marco del proyecto de investigación europeo LAGMED hemos colaborado con la empresa Gold Standard Diagnostics en el desarrollo de un test rápido (ensayo inmunocromatográfico dúplex), que permite la detección y diferenciación específica entre RHDV y RHDV2, a partir de homogeneizados y exudados de hígado de conejo (**Figura 3**) (Fresco-Taboada *et al.*, 2022).

BIBLIOGRAFÍA

- Abrantes, J. *et al.* Recombination at the emergence of the pathogenic rabbit haemorrhagic disease virus *Lagovirus europaeus*/GI.2. *Sci Rep* 10, 14502. (2020).
- Asin, J. *et al.* Early circulation of rabbit haemorrhagic disease virus type 2 in domestic and wild lagomorphs in southern California, USA (2020-2021). *Transbound Emerg Dis* 69, e394-e405. (2022).
- Bárcena, J. *et al.* Comparative analysis of rabbit hemorrhagic disease virus (RHDV) and new RHDV2 virus antigenicity, using specific virus-like particles. *Vet Res* 46, 106. (2015).
- Fresco-Taboada, A. *et al.* Development and evaluation of a duplex lateral flow assay for the detection and differentiation between Rabbit Haemorrhagic Disease Virus *Lagovirus europaeus*/GI.1 and /GI.2. *Biology (Basel)* 11. (2022).
- Le Pendu, J. *et al.* Proposal for a unified classification system and nomenclature of lagoviruses. *J Gen Virol* 98, 1658-1666. (2017).
- Pacheco, H. *et al.* Multi-event capture-recapture models estimate the diagnostic performance of serological tests for myxoma and rabbit haemorrhagic disease viruses in the absence of reference samples. *Transbound Emerg Dis* 69, e3024-e3035. (2022).
- Rouco, C. *et al.* Epidemiology of RHDV2 (*Lagovirus europaeus*/GI.2) in free-living wild European rabbits in Portugal. *Transbound Emerg Dis* 65, e373-e382 (2018).

Si tú también lo ves,

eres uno de los nuestros

Te presentamos YURVAC® RHD la primera vacuna recombinante de RHD indicada para la protección frente a cepas de RHDV2 altamente virulentas.



Descubre más

HIPRA