

Presente y futuro de la investigación en España sobre la enteropatía epizoótica del conejo

A. Pérez, J. Vicente, D. Fernández, R. Carabaño, M. Baselga, J. Barbé, O. Rafel, J. Rosell e I. Badiola

Ana Pérez de Rozas¹, Jesús Vicente Díaz², Daniel Fernandez de Luco³, Rosa Carabaño⁴, Manuel Baselga⁵, Jordi Barbé⁶, Oriol Rafel⁷, Joan Rosell², Ignacio Badiola¹.

1 CReSA (UAB-IRTA). Via de Circulación Norte Tramo 6 Esq C/3. 08040-Barcelona.

2 Nanta (Madrid y Murcia).

3 Departamento de Histología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza.

4 Departamento de Producción Animal de la Universidad Politécnica de Madrid.

5 Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia.

6 Departamento de Genética y Microbiología de la Facultad de Ciencias de la UAB.

7 Unitat de Cunicultura del IRTA.

A mediados del año 2000, y como resultado de las peticiones formuladas por CONACUN, INTERCUN, ASESCU y FACC, se convocaron diferentes reuniones en el INIA de Madrid, en el IRTA de Barcelona y en el Congreso Mundial de Cunicultura de Valencia, para presentar un proyecto de investigación dirigido al esclarecimiento de la etiopatogenia de la enfermedad, así como al descubrimiento de las posibles herramientas, vacunas o terapéuticas, que pudieran evitarla.

Tras la aprobación del proyecto presentado, tanto el INIA como el DARP y el IRTA se comprometieron a destinar una partida presupuestaria suficiente para abordar los estudios necesarios.

El proyecto de investigación, en el que participan equipos del CReSA, de las Facultades de Ingenieros Agrónomos de Valencia y Madrid, de las Facultades de Veterinaria de Zaragoza y Barcelona, o veterinarios de campo como el Dr. Joan Rosell o Jesus Vicente Díaz, tiene como objetivos principales el desarrollar los estudios oportunos para determinar la causa, infecciosa o no, de la enfermedad, así como poder reproducir experimentalmente la clínica observada en las granjas (señal inequívoca de tener controlados todos los factores etiológicos) y desarrollar una vacuna, si ello fuera posible, que permita proteger a los animales en las fases iniciales de la enfermedad.

La Enteropatía Epizoótica del Conejo (EEC) es una enfermedad, aparecida en su actual forma epizoótica entre finales de 1996 y principios de 1997. Desde entonces, ha afectado a la práctica totalidad de las explotaciones cunícolas de nuestro país, de Francia, de Italia y de otros países europeos (Licois et al., 2000). Aunque lo más llamativo del proceso presente ha sido su componente epizoótica, esta enfermedad era conocida desde hace tiempo, pues granjas con animales que mostraban el mismo cuadro ya se habían observado con anterioridad (J. Rosell, comunicación personal).

En el caso de granjas sin intervención con antimicrobianos, las tasas de mortalidad atribuibles a esta enfermedad pueden llegar a ser del 60-70%.

Si este porcentaje de bajas lo promediamos al resto del año, un solo episodio, con estas altas tasas de mortalidad, representaría una merma en la producción de aproxima-

damente un 10%, que extrapolado al total de la producción anual de conejos en nuestro país, y considerando que una de cada cuatro explotaciones se puede ver afectada cada año, las pérdidas económicas atribuibles directamente a los efectos adversos de la enfermedad podrían llegar a representar más de 10 millones de euros anuales. Unas cuantiosas pérdidas para un sector relativamente pequeño, pero del que dependen, por la estructura de dicho sector, un considerable número de familias bien como economía complementaria o, y cada vez más, como fuente económica principal.

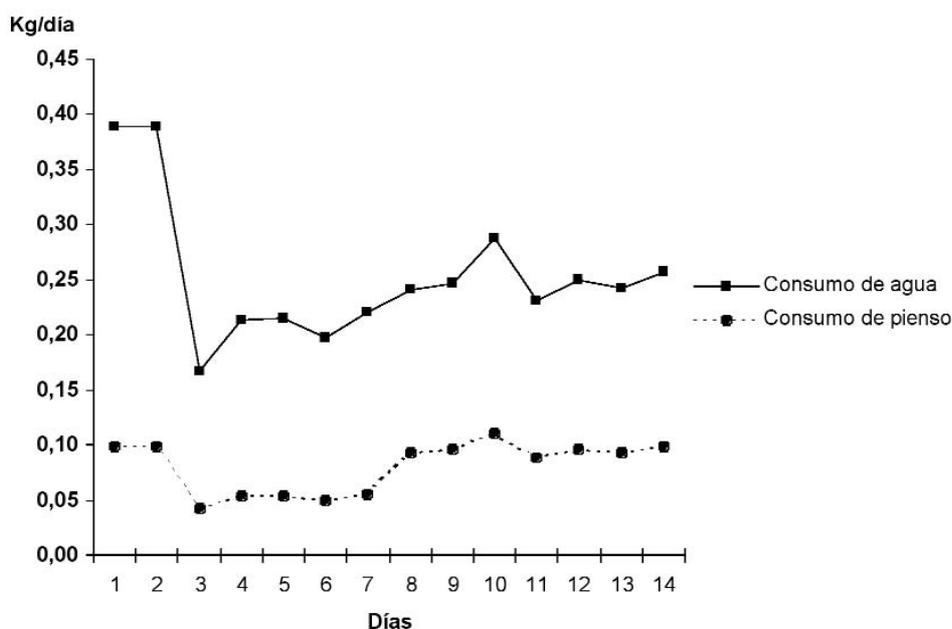
No obstante, los perjuicios económicos actuales han de considerarse menores ya que, con el uso de los antimicrobianos adecuados, la tasa de mortalidad se reduce sensiblemente. No obstante, este punto está enfrentado con el hecho de que, para el conejo, hay muy pocos principios activos registrados, alguno de ellos de forma totalmente provisional y a la espera que puedan solucionarse las altas tasas de mortalidad debidas esta enfermedad por otros métodos. Lo anterior hace que una buena parte de las intervenciones medicamentosas no cumpla con los periodos de retirada exigidos a los productos no registrados o, incluso, que se puedan estar utilizando ciertos productos prohibidos tanto en la UE como en nuestro país. Al hilo de lo anterior, si los tratamientos aplicados para controlar las altas tasas de mortalidad debidas a la EEC fueran enteramente acordes con la legalidad, los porcentajes de bajas estarían muy próximos a los citados con anterioridad.

La EEC es una enfermedad que afecta principalmente a animales de 3 a 10 semanas de edad, y se caracteriza por disminución en la ingestión de pienso, deshidratación, abultamiento abdominal y deposiciones con moco, como signos externos más llamativos, que acompañan a altas tasas de mortalidad. A la necropsia, lo que más llama la atención es una compactación cecal, una frecuente dilatación gástrica con contenido líquido, junto a la acumulación de moco en ciertos tramos del intestino delgado. En el estudio histopatológico destaca una ausencia, prácticamente total, de lesiones inflamatorias, especialmente en las primeras fases de la enfermedad, por lo que, en contra de la designación de enteritis acuñada por los franceses, creemos más apropiado hablar de enteropatía.

En el conejo, llama poderosamente la atención la idiosincrasia de su sistema digestivo. El conejo es un animal monogástrico con una importante actividad celulolítica en ciego, hecho que probablemente explique que este tramo pueda llegar a representar hasta el 40% del tracto intestinal, una relación extraordinaria al compararla con la de otras especies animales. Además, el ciego es el centro principal de actividad fermentativa y, en el conejo adulto, la absorción de ácidos grasos volátiles (AGV) generados en ciego, puede llegar a representar el 30% del metabolismo basal (Marty y Vernay, 1984). Estos AGV, como en otras especies animales, jugarían un importante papel en la homeostasis intestinal, contando tanto la concentración total de AGV como la proporción entre AGV de tres y cuatro carbonos (C3:C4). Esta composición, según apuntan Adjiri y cols. (1992), está fundamentalmente ligada a la microbiota intestinal del conejo y no tanto a la composición de la dieta.

Como se ha citado más arriba, uno de los primeros signos observables en la EEC es una disminución en el consumo de pienso, tal y como se desprende del comentario frecuente de los cunicultores: "un día o dos antes de la aparición de las primeras bajas se observa una disminución en el consumo de pienso". Esta disminución pudiera ser la causa inmediata de la disbiosis intestinal ya que, como apunta Gidenne (1997), unas pocas horas de falta de consumo de pienso conduce a un marcado descenso en los niveles de AGV y a una inversión en la relación C3:C4 que, indirectamente, pudieran reflejar un cambio en el equilibrio de los diferentes componentes de la microbiota intestinal y constituir el paso inicial del cuadro patológico.

Además, la importante disminución del consumo de pienso tiene un efecto colateral sobre los posibles tratamientos instaurados tras la aparición de la enfermedad. Así, como puede verse en la Figura 1, el consumo de pienso y agua se reduce drásticamente al inicio de la enfermedad, con una disminución más marcada en el consumo de pienso. Esto hace que se pase de un consumo de agua aproximadamente el doble que el consumo de pienso, en condiciones fisiológicas, a un consumo de agua de 3 a 4 veces superior en la Enteropatía.



Esta importante alteración en la relación de consumos de pienso:agua nos permite recomendar una medicación en pienso de tipo metafiláctica (medicación preventiva) y una medicación en agua cuando hayan aparecido los primeros signos de la enfermedad.

Alteraciones en la proporción de fibra (Franck y Coulmin, 1978), bajadas bruscas de temperatura (Lelkes, 1987) o la adición de ciertos antibióticos a la dieta (Gray et al., 1964) provocan, generalmente, procesos de una extrema gravedad motivados por el desequilibrio de la microflora intestinal. En algunos casos el desequilibrio se caracteriza por cuadros con predominio de bacterias Gram-negativas (Peeters et al., 2000), mientras que en otros casos el predominio se desplaza hacia bacterias Gram-positivas, como sucede en la enterotoxemia (Lamont et al., 1979).

En el mantenimiento de la homeostasis intestinal juega un papel primordial el nivel de bacterias anaeróbicas no patogénicas, especialmente *Bacteroides* spp., *Eubacterium* spp. y *Streptococcus faecalis* (Baba et al., 1987). Estos últimos autores apuntaron también que en los conejos muertos durante sus experimentos, y que mostraban una clínica semejante a la de la EEC, el desequilibrio intestinal se manifestaba por un predominio de enterobacterias y de *Clostridium* spp.

Los estudios comparativos realizados por nuestro equipo, sobre los componentes de la microbiota intestinal en animales afectados y no afectados de EEC, nos permiten apuntar que esta enfermedad parece caracterizarse por una disbiosis intestinal específica (Figura 2). Esta disbiosis obedecería, en una primera fase, a la desaparición, o disminu-

ción, de la población de *Escherichia coli* en ciego y, en una segunda fase, al aumento de dos poblaciones bacterianas: una constituida por una especie anaerobia Gram-negativa y la otra constituida por una especie anaerobia Gram-positiva.

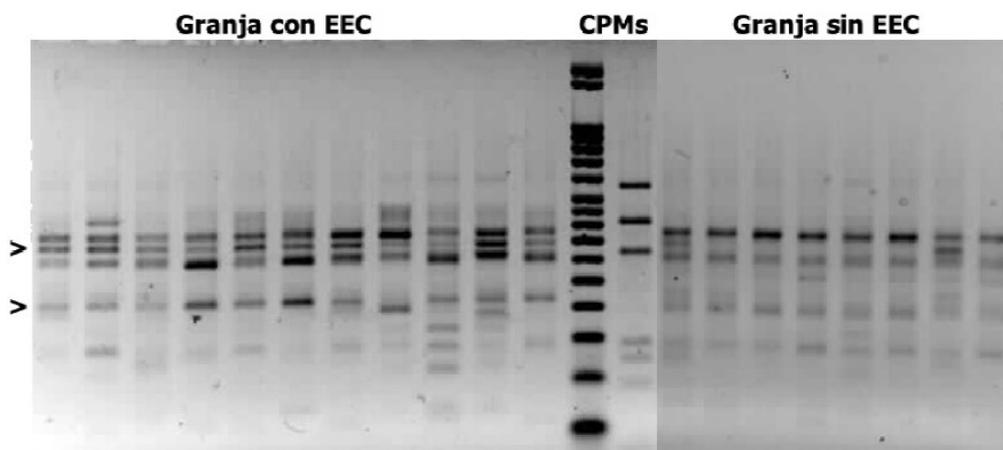


Figura 2: Perfil de RFLP de muestras cecales de gazapos procedentes de granjas afectadas de Enteropatía Epizootica (carriles a la izquierda de los CPMs) y de granjas no afectadas de EEC (carriles a la izquierda de los CPMs). Las bandas específicas de EEC son las marcadas con >.

Estos últimos datos estarían en concordancia con la observación práctica de un aparente control de las muertes, resultado final del proceso nosológico, tanto con antimicrobianos contra Gram-positivos, v.g. bacitracina (Duperray, 1999), como con antimicrobianos contra Gram-negativos, v.g. apramicina (Badiola et al., 2000).

Estudios más específicos, dirigidos a explicar las alteraciones de las poblaciones bacterianas intestinales, nos permitieron descubrir que la disminución de la población de *E. coli* sería debida a la acción de un virus bacteriano, un bacteriófago, con un alto grado de virulencia.

En la actualidad estamos buscando la posible participación, en la etiopatogenia de la EEC, de toxinas producidas por alguno de los componentes bacterianos implicados en la enfermedad. Estas toxinas, o toxina, serían inéditas, ya que los análisis en busca de moléculas conocidas han sido negativos.

No obstante, aproximaciones derivadas de los conocimientos que se tienen sobre bacterias filogenéticamente relacionadas, nos han permitido obtener resultados que serán analizados con mayor profundidad en las próximas semanas. De estos análisis esperamos completar los últimos flecos que nos ayuden a esclarecer todos los componentes implicados en la etiopatogenia de la EEC.

En relación con el consumo de pienso, en un ensayo dirigido a analizar el efecto de la restricción sobre la tasa de mortalidad en granjas con enteropatía, hemos podido comprobar que, sin ningún tipo de medicación y una vez aparecida la enfermedad, el aporte de raciones de 80 g/animal/día, durante la segunda semana del engorde y de 100 g/animal/día, durante la tercera semana, puede reducir la mortalidad de una forma significativa ($p=0,048$), aunque las tasas de mortalidad continúan siendo muy altas. Así de una tasa del 66,66% de mortalidad en el grupo de animales alimentados sin restricciones ($n=84$) se consiguió reducir a una tasa de mortalidad del 50% en el grupo alimentado con restricción de pienso ($n=56$). Como puede verse, las tasas de mortalidad fueron muy

altas en todos los casos, pero debe recordarse que el pienso utilizado no fue suplementado con ningún tipo de antimicrobiano, ni siquiera coccidiostáticos, y que la restricción fue iniciada tras la aparición de los primeros signos de la enfermedad.

En los próximos meses realizaremos más ensayos en esta línea, con adición de antimicrobianos e iniciando la restricción en la primera semana después del destete. Este segundo punto puede tener una importancia clave, ya que generalmente el inicio de la clínica de EEC se produce justo después del incremento de consumo que se observa al final de la primera semana del destete.

Como último punto a resaltar en relación con el pienso, y en concordancia con las bacterias involucradas en la disbiosis intestinal específica que hemos encontrado (con incremento de bacterias proteolíticas), altas concentraciones de proteína se relacionarían con un incremento en la tasa de mortalidad. Estas tasas pueden llegar a ser del 100% en grupos inoculados experimentalmente con una de las especies bacterianas aisladas de varios casos de EEC.

Por otro lado, en pruebas realizadas en la ETSIA de Madrid, se pudo comprobar que piensos con determinados tipos de fibra, molturados para obtener tamaños diferentes, pueden tener un efecto reductor sobre las tasas de mortalidad. En los estudios sobre la microbiota intestinal, realizados sobre muestras cecales de los animales en prueba, observamos un paralelismo entre los grupos con mortalidades más reducidas y la ausencia de los componentes bacterianos relacionados con la EEC.

Tanto la reducción en el consumo de pienso debida a la enfermedad, como la posible utilización de restricción para controlar los efectos adversos de la enfermedad, deberían tenerse en cuenta a la hora de realizar los cálculos de las concentraciones de antimicrobianos a incluir en la ración.

En un futuro inmediato, y en relación con los últimos flecos oscuros de la etiopatogenia, el equipo multidisciplinario involucrado en el proyecto esperamos confirmar la participación de toxinas en la EEC.

En paralelo iniciaremos los estudios dirigidos a potenciar la protección de los animales mediante vacunas específicas. En este sentido pensamos abrir dos líneas de actuación, una interviniendo sobre las reproductoras y otra actuando sobre los gazapos en el momento del destete, atacando el problema desde la vertiente de los bacteriófagos o desde la vertiente de las bacterias implicadas en la disbiosis específica. Finalmente, de demostrarse la participación de toxinas, realizaríamos una aproximación al desarrollo de toxoides como medida profiláctica.

Agradecimientos

El proyecto de investigación, que nos está permitiendo analizar los factores involucrados en la etiopatogenia de la Enteropatía Epizootica del Conejo, está siendo financiado por el INIA (proyecto OT00-040-C2-2), por el Departament d'Agricultura Ramaderia i Pesca de la Generalitat de Catalunya y por el IRTA.

Además, queremos agradecer la ayuda prestada por cunicultores y veterinarios de campo por las valiosas muestras que nos han suministrado.

Por último, no queremos dejar de mencionar la inestimable colaboración del resto de componentes de los equipos implicados en el proyecto y que no figuran en la relación de autores del presente escrito.

Bibliografía

ADJIRI D., BOUILLIER-OU DOT M., LEBAS F., CANDAU M. (1992) Simulation in vitro des fermentations caecales de lapin en fermenteur à flux semi-continu: 2. Effet de la nature de l'inoculum. *Reprod. Nutr. Dev.* 32: 361-364.

BADIOLA J.I., FAUS C., PÉREZ DE ROZAS A.M., GOROSTIAGA O., ROSELL J.M. (2000) Mucoïd enteropathy: Treatment with Apramycin of naturally infected rabbits. En: *Proceedings of 7th World Rabbit Congress*. Valencia, Spain. B volume, pp.: 195-198.

BABA E., KUSANAGI M., FUKATA T., ARAKAWA A. (1987) Establishment of specific pathogen-free rabbits by inoculation of hysterectomy-derived rabbits with fecal suspension and anaerobic bacteria. *Lab. Anim. Sci.* 37(6):765-768.

DUPERRAY J. (1999) La Bacitracine confirme son intérêt contre l'entérocolite. *L'Éleveur de Lapins*, février: 56-57.

FRANCK Y., COULMIN J.P. (1978) Utilisation de la paille de blé broyée comme source de cellulose dans les aliments lapins à l'engraissement; comparaison de deux taux de cellulose. En: *Proceedings 2èmes Journées de la Recherche cunicole*. Toulouse, communication n° 10.

GIDENNE T. (1997) Caeco-colic digestion in the growing rabbit: impact of nutritional factors and related disturbances. *Livestock Prod. Sci.* 51:73-88.

GRAY J.E., PURMALIS A., FEENSTRA E.S. (1964) Animal toxicity studies of new antibiotics, lincomycin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 6: 476-496.

LAMONT J.T., SONNENBLICK E.B., ROTHMAN S. (1979) Role of clostridial toxin in the pathogenesis of clindamycin colitis in rabbits. *Gastroenterol.* 76: 356-361.

LELKES L. (1987) A review of rabbit enteric disease : a new perspective. *J. Appl. Rabbit Res.* 10: 55-61.

LICOIS D., COUDERT P., CERÉ N., VAUTHEROT J.F. (2000) Epizootic Enterocolitis of the rabbit: Review of current research. En: *Proceedings of 7th World Rabbit Congress*. Valencia, Spain. B volume, pp.: 187-194.

MARTY J., VERNAY M. (1984) Absorption and metabolism of the volatile fatty acids in the hindgut of the rabbit. *Br. J. Nutr.* 51: 256-277.

PEETERS J.E., LICOIS D., SACO M., BADIOLA J.I., ROSELL J.M. (2000) Enfermedades del aparato digestivo: causas infecciosas. En: *Enfermedades del conejo* (J.M. Rosell ed.) Mundi Prensa-Libros, Madrid. Vol 2, pp.:163-213.

PLUM G., CLARCK-CURTISS J.E. (1994) Induction of Mycobacterium avium gene expression following phagocytosis by human macrophages. *Infect. Immun.* 62: 476-483.