



Etiopatogenia de la Enteropatía Epizoótica del Conejo

A.M. Pérez de Rozas¹, R. Carabaño², J. García², J. Rosell³, J.V. Díaz³, J. Barbé⁴, J.J. Pascual⁵, I. Badiola¹

¹ CReSA (UAB-IRTA). Campus de Bellaterra, Edifici V, 08193-Bellaterra, Barcelona (España).

ignacio.badiola@irta.es

² Departamento de Producción Animal. E.T.S.I. Agrónomos. UPM. Madrid (España).

³ NANTA, Canto Blanco, Madrid (España).

⁴ Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias. UAB. Bellaterra (España).

⁵ Departamento de Ciencia Animal. E.T.S.I. Agrónomos. UPV. Valencia (España).



Antecedentes

En la actualidad, las enfermedades infecciosas del sistema digestivo representan el 71% del total de las enfermedades que afectan al conejo. Este porcentaje, siempre alto, se ha incrementado en los últimos años como resultado de la aparición de la Enteropatía Epizoótica del Conejo (EEC).

La EEC es una enfermedad del conejo, 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 o de Portugal (Licois et al., 2000), principales países europeos en producción industrial de conejos. Recientemente han aparecido casos de EEC en Méjico y en otros países latinoamericanos (S. Mendoza, comunicación personal).

Aunque lo más llamativo del proceso presente ha sido su componente epizoótica, animales que mostraban un cuadro similar habían sido observados en décadas anteriores (Flatt et al., 1974).

Ante la alarmante situación planteada por esta enfermedad, a mediados del año 2000, las diferentes asociaciones que representan

a los diversos estamentos de la cunicultura (CONACUN, INTERCUN, ASESCU, AFCC...), se pusieron de acuerdo para plantear, a la Administración del Estado, la necesidad de financiación para un proyecto de I+D que pudiera arrojar alguna luz sobre las causas de esta enfermedad.

La solicitud, vehiculada a través del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA), fue derivada al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), que es el Instituto del que depende específicamente la financiación de los proyectos de I+D agroalimentarios.

A finales del año 2000 se presentó a INIA la memoria del proyecto y, a principio del año 2001, el mismo INIA dio el visto bueno para financiar el proyecto presentado.

Adicionalmente, el Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca (DARP) de la Generalitat de Catalunya, a través del Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) participó también en la cofinanciación del proyecto de I+D que se presentó.

El proyecto presentado llevaba por título "Estudio de los factores etiológicos de la Enteropatía Mucoide del conejo y de las

medidas necesarias para su control". De este título se deduce, como primer objetivo, el analizar la etiopatogenia de la enfermedad y, como segundo, el aportar diferentes medidas que permitan controlar la enfermedad, o los efectos negativos de la enfermedad.

Descripción de la enfermedad

De los primeros análisis experimentales, y de las primeras anamnesis a veterinarios de campo y a cunicultores, se pudo observar que la EEC, sin intervención con antimicrobianos, tiene unas tasas de morbilidad que pueden llegar al 100% y unas tasas de mortalidad del 60-70%. Cifras que llevan a considerar a esta enfermedad como la más grave de las explotaciones cunícolas industriales.

La EEC es una enfermedad que afecta principalmente a animales de 3 a 10 semanas de edad, y se caracteriza por una muy importante reducción en la ingestión de pienso y agua, deshidratación, pérdida de peso corporal, abultamiento abdominal y deposiciones con moco, como signos externos más específicos, acompañados de altas tasas de mortalidad. A la necropsia, lo más patognómico es una compactación cecal, un estómago distendido con contenido líquido y una acumulación de moco en el colon. En el estudio histopatológico destaca una ausencia, prácticamente total, de lesiones inflamatorias por lo que, en contra de la designación de enteritis acuñada por los franceses, creemos más apropiado hablar de enteropatía.

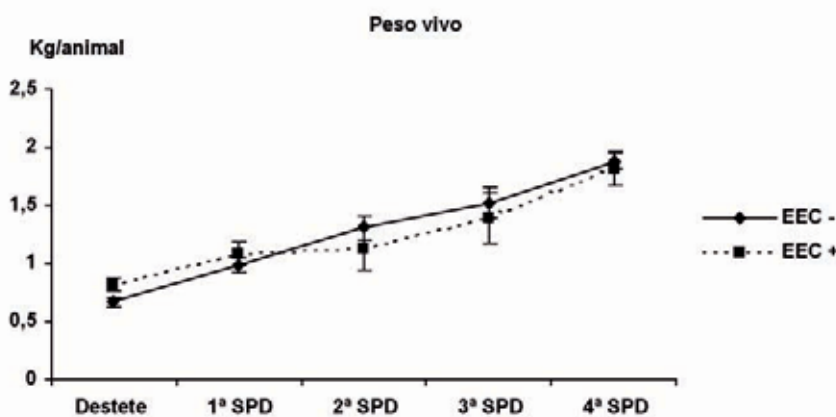


Figura 1: Peso promedio de los animales, en Kg por animal, de gazapos afectados (EEC +) o no (EEC -) por Enteropatía Epizootica del Conejo (S= Semana posdestete).

En la Figura 1 se puede observar la evolución del peso promedio semanal de los conejos afectados o no por EEC.

En la figura precedente puede observarse una parada en el incremento ponderal que coincide con la fase aguda de la enfermedad, frecuentemente entre finales de la primera semana de engorde y principio de la tercera semana posdestete. Esta parada en el crecimiento, aunque tiene tendencia a compensarse con posterioridad, deja frecuentemente animales muy por debajo de su peso fisiológico y, en promedio, puede retrasar una semana la salida hacia el matadero de los animales supervivientes.

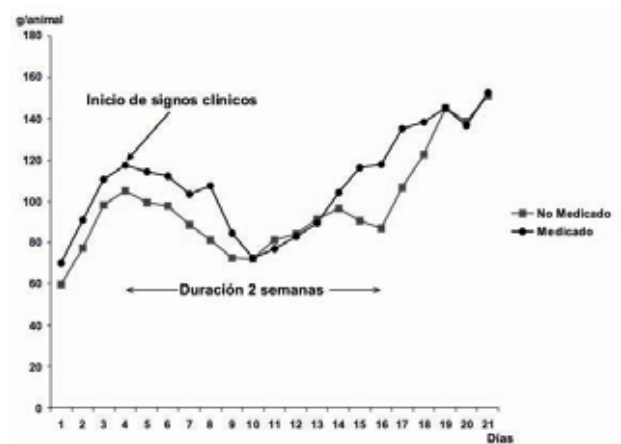


Figura 2: Evolución del consumo diario de pienso de gazapos, medicados o no medicados, durante un brote de EEC.

En la Figura 2 pueden verse, con toda claridad, dos fenómenos característicos de la EEC. En primer lugar que la reducción, muy importante, en el consumo de pienso coincide con la aparición de los primeros signos clínicos de la enfermedad y, en segundo lugar, que la reducción en el consumo de pienso se produce tanto en los animales medicados como en los no medicados. Por supuesto, en los animales no medicados la reducción en el consumo se prolonga por más tiempo.

**desinfección
total**

...



En esta Figura 2 se puede observar también que, en relación con la reducción del consumo, la enfermedad evoluciona, de forma natural, a lo largo de dos semanas, con una recuperación espontánea tras este período de 14 días. Esta duración, que podemos considerar la duración natural de la EEC, hemos podido observarla en múltiples estudios clínicos y, quizás, debería marcar el período de medicación necesario para controlar los efectos negativos de la enfermedad, minimizando la utilización de antimicrobianos en las granjas afectadas.

Aunque no se muestran datos en este escrito, el consumo diario de agua también se ve afectado por la enfermedad. No obstante, **la reducción del consumo de agua, a la mitad del consumo fisiológico, es significativamente menor que la reducción del consumo de pienso, a un cuarto del consumo fisiológico.** Este hecho puede ser importante para recomendar medicaciones en agua, en lugar de medicaciones en pienso, una vez iniciada la enfermedad.

En referencia a los signos clínicos dominantes, el signo más característico y frecuente es el borborismo, reflejo de un mayor contenido acuoso tanto en el estómago como en el intestino. Generalmente es el primer signo en aparecer y el último en desaparecer, por lo que puede servir como referencia de la evolución de la enfermedad para los diferentes estudios clínicos que se deban llevar a cabo sobre esta enfermedad.

La evolución del borborismo en animales medicados y no medicados puede verse en la Figura 3.

De la Figura 3 se puede inferir que el pico máximo de sintomatología (en este caso expresada por la prevalencia de borborismo) tiene lugar al principio de la segunda semana de enfermedad (Día 13, teniendo en cuenta que, en este ejemplo, los primeros signos se produjeron el Día 4), con una prevalencia del 70%. Además, prevalencias superiores al 40% (prevalencia que no se sobrepasó nunca en los animales medicados) se mantuvieron durante dos semanas.

Con menos frecuencia, y menos prolongado en el tiempo, se puede observar timpanismo, diarrea y compactación cecal que, junto con la mortalidad (Figura 4), serían los signos más destacables de la EEC.

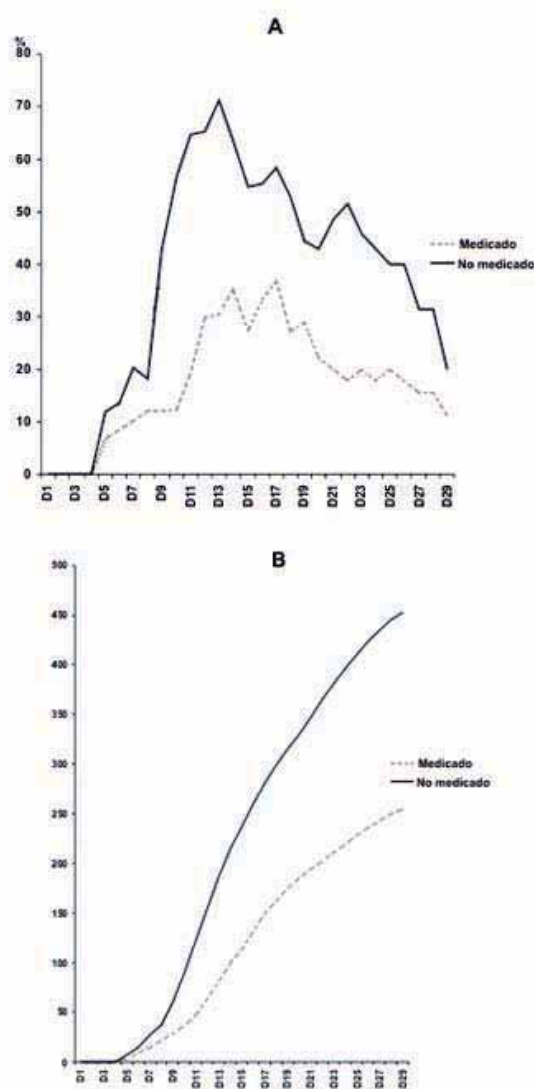


Figura 3: Evolución del borborismo en animales no medicados (línea no fragmentada) y en animales tratados con un único antibiótico frente a EEC (línea fragmentada). En la gráfica de la izquierda (A) se muestra el porcentaje diario de animales con borborismo, mientras que en la gráfica de la derecha (B) se representa el número acumulado de animales-día que presentan borborismo.

Del conjunto de manifestaciones clínicas observadas en los grupos experimentales examinados a lo largo de estos últimos cuatro años, podemos concluir que el cuadro clínico, caracterizado por borborismo y timpanismo, acompañado en algunas ocasiones por diarrea o compactación, tiene una duración de, aproximadamente, una semana cuando lo referenciamos a animales individuales y, como no todos los animales enferman al mismo tiempo, tiene

una duración de unas dos semanas cuando lo referenciamos a un conjunto de animales: un lote experimental, una banda, una nave o una explotación. Adicionalmente, podemos inferir también

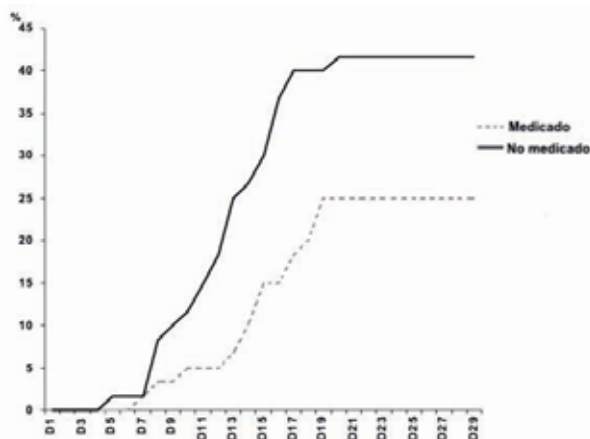


Figura 4: Tasas de mortalidad acumulada en animales no medicados (línea no fragmentada) y en animales tratados con un único antibiótico eficaz frente a EEC (línea fragmentada).

que un tratamiento monovalente, es decir con un único principio activo, que tenga un efecto positivo sobre la EEC puede disminuir, en el mejor de los casos, hasta un 50% los diferentes signos de la enfermedad, incluyendo la mortalidad. De ello se deduce que, cualquier tratamiento monovalente que reduzca un 50% la tasa de mortalidad, puede equipararse a cualquier terapéutica monovalente eficaz actual y que, para reducir las tasas de mortalidad a niveles similares a los de granjas no afectadas por enteropatía, deben combinarse diferentes elementos terapéuticos, dietarios, ambientales...

Además de los signos clínicos enumerados con anterioridad, la EEC se caracteriza por ciertas alteraciones metabólicas que se reflejan en cambios de pH tanto en ciertos tramos digestivos, como en la orina de los animales enfermos y de los recién recuperados. En la Tabla 1 puede observarse que el pH del estómago de los gazapos con EEC es significativamente más ácido (0,72+/-0,47) que el pH de los gazapos sin EEC (2,32+/-1,09). Esta disminución pudiera explicarse, al menos en parte, por la ausencia de alimento en el estómago de los animales con EEC, ya

que es bien conocido que los diferentes componentes del pienso tienen cierta capacidad neutralizante del ácido gástrico. De más difícil explicación fisiológica sería el aumento del pH en el colon en los animales con EEC, por lo que este incremento pudiera estar directamente relacionado con las alteraciones intestinales y/o generales generadas por la enfermedad. Finalmente, en la misma Tabla 1 se observa que el pH de la orina de los gazapos con EEC fue significativamente inferior (5,16+/-0,54) al pH urinario de los gazapos sanos (8,20+/-0,10).

Profundizando en estas alteraciones metabólicas, J.V. Díaz ha encontrado cambios significativos en determinados parámetros sanguíneos que centran bastante bien el tipo de fallo metabólico y que pudieran explicar la causa última de la muerte de los animales. Y aunque en este trabajo no podemos referenciar los resultados de estos análisis, sí que podemos decir que la EEC se caracteriza, además de por los signos clínicos enunciados con anterioridad, por una acidosis metabólica.

Profundizando en estas alteraciones

	EEC	No EEC
Estómago	0,72+/-0,47	2,32+/-1,09
Duodeno	6,20+/-1,11	6,56+/-0,35
Ileon	7,18+/-0,62	7,02+/-0,27
Ciego	6,08+/-0,49	6,05+/-0,11
Colon	7,15+/-0,51	5,97+/-0,17
Orina	5,16+/-0,54	8,20+/-0,10

Tabla 1: Promedio (+/-DE) del pH del contenido de diferentes tramos digestivos y de la orina de gazapos con (EEC) y sin (no EEC) signos aparentes de Enteropatía Epizoótica del Conejo.

metabólicas, J.V. Díaz ha encontrado cambios significativos en determinados parámetros sanguíneos que centran bastante bien el tipo de fallo metabólico y que pudieran explicar la causa última de la



extrona

La Investigación y Desarrollo

Jaulas ergonómicas y polivalentes
concebidas para el
preparadas para madres, ma



MEGAMATIC



MEGA SEMI-MATIC



MEGA BABY-MATIC

**CALIDAD - ECO
RENTABILIDAD**

**LA APUESTA FIRME
EXTRONA**

Extrona presente en todo el mundo

Solicitud de información y catálogo: **93 733 67 71**

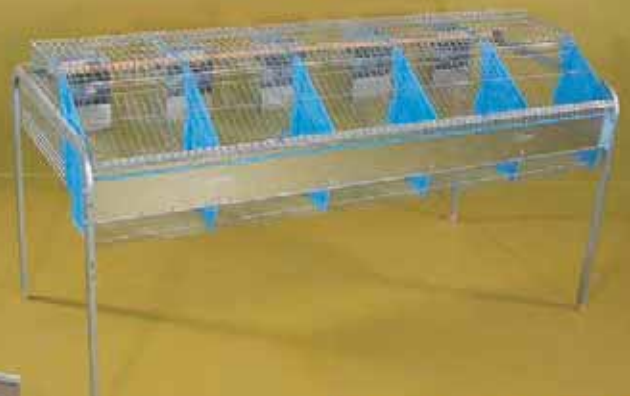
75 años de experiencia nos avalan

al servicio de la Cunicultura.

entes con y sin automatismos
manejo en bandas,
chos, engorde e inseminación.



MEGA BASIC-10



MEGA BASIC-5

NOMÍA
IDAD
ME DE



Armario para cuadro eléctrico y equipos agua

Sección agua preparada para:

Conjunto de descalcificación (nos permite tener las tuberías y los bebederos libres de cal)
Dosificador de multi-producto (podemos mezclar con el agua diferentes productos a la vez)

Sección cuadro eléctrico:

Con pantalla táctil
Control de todos los sistemas de alimentación
Control de los silos
Control del sistema de limpieza
Control de aspiración
Control de lactancia automática

Especialistas en jaulas y accesorios para el montaje de granjas

Poligon Industrial "Can Mir" Ctra. de Terrassa a Viladecavalls Km. 2'800
08232 Viladecavalls (Barcelona) Spain · Tel. + 34 93 788 58 66 fax +34 93 789 26 19
e-mail. ventas@extrona.com · web: www.extrona.com

muerte de los animales. Y aunque en este trabajo no podemos referenciar los resultados de estos análisis, sí que podemos decir que la EEC se caracteriza, además de por los signos clínicos enunciados con anterioridad, por una acidosis metabólica.

Cambios en los componentes microbianos intestinales

Después de los 3-4 años en los que los grupos de investigación del INRA de Nouzilly y del Instituto Zooprofiláctico de Milán buscaron infructuosamente agentes víricos asociados a la EEC, creímos oportuno centrar los esfuerzos de nuestros grupos de investigación en el estudio de alteraciones bacterianas intestinales como parte fundamental de la etiopatogenia de la enfermedad.

Inicialmente, como más de un 75% de los componentes de la microbiota intestinal de los animales de producción no son cultivables, recurrimos al análisis de los cambios de los componentes de la microbiota intestinal mediante la técnica de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism o Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos de Restricción), un método independiente de las técnicas de cultivo *in vitro*. Con esta técnica, a parte de poder analizar posibles cambios en componentes no cultivables de la microbiota intestinal, podíamos realizar un estudio global de los componentes microbianos intestinales antes de centrar estudios más específicos sobre determinados microorganismos.

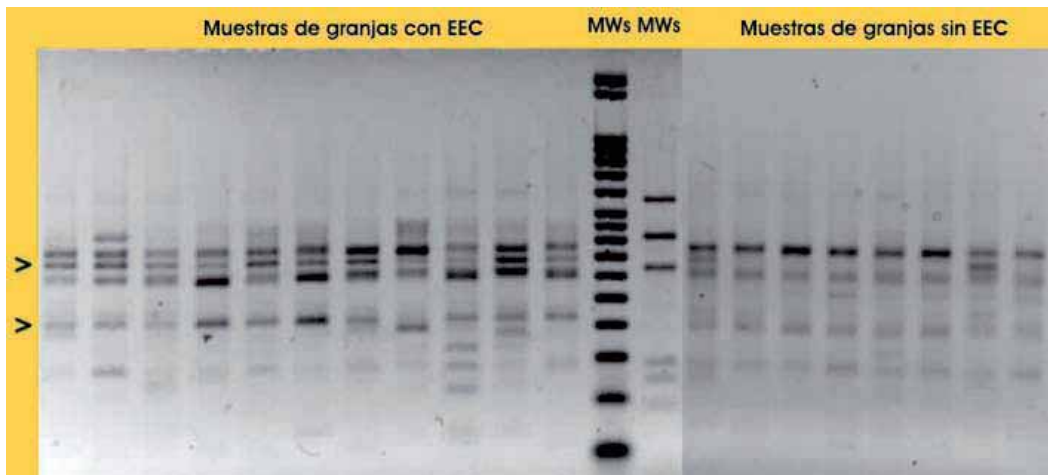
Cuando analizamos muestras de animales procedentes de granjas con clínica compatible con EEC, frente a muestras de animales procedentes de granjas aparentemente no afectadas por la EEC, pudimos observar un

aumento significativo de la intensidad de ciertas bandas de restricción (Figura 5). Este aumento parecía corresponder a una disbiosis intestinal, con dominio de dos componentes bacterianos diferentes.

La traducción de estas bandas alteradas a especie bacteriana, con la ayuda del programa informático diseñado por nuestro equipo, restringió la búsqueda de posibles bacterias implicadas en la etiopatogenia de la enfermedad, a un pequeño puñado de posibilidades. Todas éstas han sido, o están siendo, exploradas y nos han permitido aislar diferentes cepas con las que hemos llevado a cabo inoculaciones experimentales. Entre estas cepas, y coincidiendo con las hipótesis de trabajo planteadas, hemos localizado una especie bacteriana Gramnegativa y una especie bacteriana Grampositiva.

Hasta la fecha, las inoculaciones de cultivos puros de algunas cepas del componente Grampositivo de la EEC (*Clostridium perfringens*), han producido altas tasas de mortalidad –hasta del 45%– con cuadros incompletos de Enteropatía. La búsqueda ulterior, de mecanismos de virulencia que diferenciasen a las cepas de *Clostridium perfringens* implicadas directamente en la etiopatogenia de la EEC, de las cepas de *Clostridium perfringens* no implicadas directamente en la etiopatogenia de la enfermedad, nos ha permitido detectar diferencias en ciertas exoproteínas (Figura 6), que actualmente estamos estudiando para analizar su posible relación con exotoxinas bacterianas conocidas.

Figura 5: Perfil electroforético de los fragmentos de restricción obtenidos de muestras cecales de animales con o sin EEC. Marcados con > las bandas que aumentan su intensidad en animales con EEC.



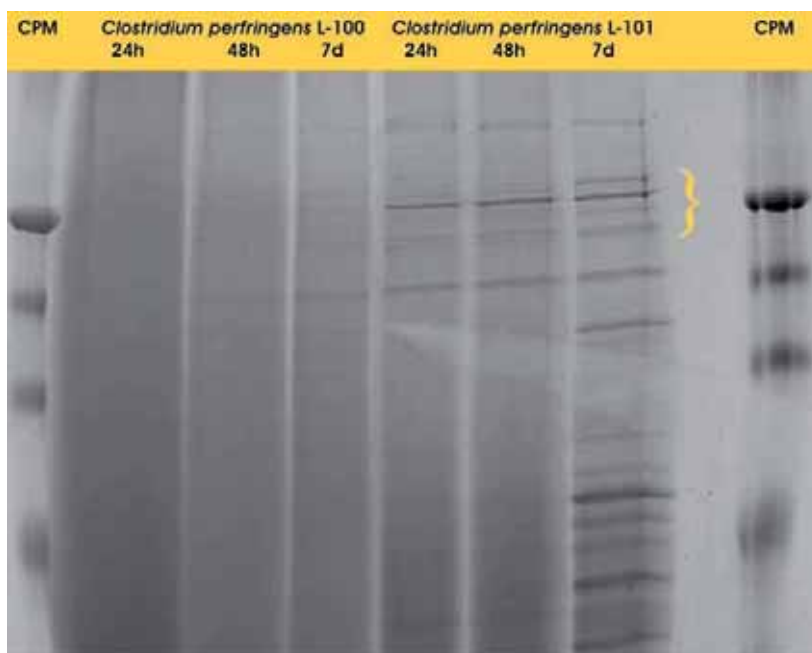


Figura 6: Análisis de los sobrenadantes, concentrados 50 veces, de cultivos de la cepa L-100 de *Clostridium perfringens* (avirulenta) y de la cepa L-101 de *Clostridium perfringens* (virulenta) obtenidos tras incubaciones de 24 horas, 48 horas y 7 días.

En la Figura 6 se ha marcado la zona donde se pueden apreciar bandas que, o sólo se expresan en la cepa L-101, o se expresan más rápidamente o más intensamente en dicha cepa.

Quitando el gen de la toxina alfa, que se encuentra tanto en las cepas virulentas como en las cepas avirulentas de *Clostridium perfringens*, no hemos encontrado, mediante estudios genéticos, ninguna relación con otros genes conocidos de toxinas bacterianas. Por ello, en un inmediato futuro procederemos al análisis de la secuencia de aminoácidos de algunas de las exoproteínas de la zona marcada en la Figura 6, para encontrar posibles homologías con toxinas

bacterianas conocidas.

La inoculación del componente Gramnegativo ha tenido un doble comportamiento dependiendo de si la inoculación se hacía a dosis única o se aplicaba de forma continua durante una semana.

Cuando el componente Gramnegativo fue inoculado, en grupos con EEC, por sonda gástrica y a dosis única de 109 UFC/animal, a gazapos recién destetados o a animales inmediatamente después de la aparición de los primeros signos de la enfermedad, se consiguió reducir un 50% la tasa de mortalidad respecto a la tasa de mortalidad de los hermanos que no fueron inoculados (Figura 7).

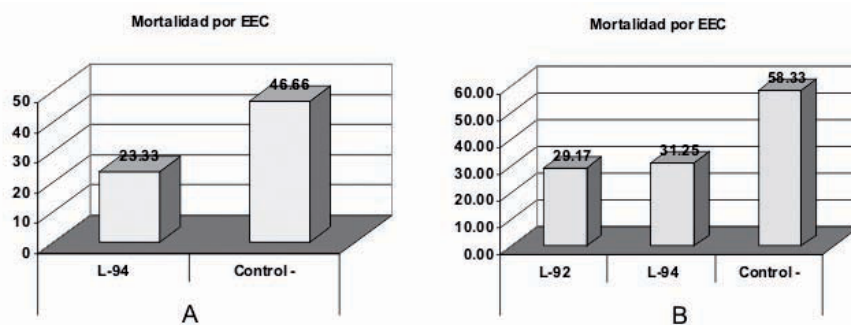


Figura 7: Efecto sobre la tasa de mortalidad, por EEC, de una única inoculación oral de las cepas L-92 y L-94 de *Bacteroides fragilis*, bien al destete de los animales (A) bien a la aparición de los primeros signos de enfermedad (B).

Por otro lado, cuando el cultivo bacteriano fue diluido 1:1000 en el agua de bebida, y se administró durante 7 días, a animales no afectados por EEC, se consiguió observar un cuadro similar de EEC, aunque con bajas tasas de mortalidad.

Este resultado, aparentemente contradictorio, puede no serlo tanto si se extrapolan los conocimientos que tenemos sobre otros procesos intestinales del conejo. Es de sobra conocido, que el sistema digestivo de este animal puede fácilmente sufrir desequilibrios en los componentes microbianos intestinales, desequilibrios que se traducen fácilmente en cuadros clínicos característicos. Así, el incremento incontrolado de *Eimeria* spp. conduce a coccidiosis, el incremento en el número de ciertas cepas de *Escherichia coli* se asocia a colibacilosis, y ciertas intervenciones incorrectas con antimicrobianos orales provocan cuadros de clostridiosis por inducir un desequilibrio en la microbiota intestinal. En el caso de *Bacteroides* spp. que nos ocupa, pudiera suceder que a niveles controlados estos microorganismos podrían jugar un papel positivo sobre la evolución de la EEC, mientras que un aumento incontrolado de esta especie bacteriana podría provocar una disbiosis intestinal con la consecuente aparición de signos clínicos.

En los perfiles de RFLP también hemos podido observar que, en los casos de EEC, parece haber una disminución concomitante de *Escherichia coli*, disminución que pudiera estar relacionada en algunos casos con la acción de bacteriófagos –virus bacterianos–, como pudimos comprobar en las primeras fases de este proyecto. No obstante, y por observaciones transmitidas por algunos veterinarios de campo, ciertas intervenciones terapéuticas con antibacterianos eficaces contra *Escherichia coli*, como gentamicina o neomicina, parecen inducir EEC en algunos casos.

Aquí nos gustaría añadir que la restricción directa de pienso, por reducción del aporte del mismo a los comederos, o indirecta por la restricción del aporte de agua a los bebederos, reduce la tasa de mortalidad debida a EEC. Una reducción similar en las tasas de mortalidad pueden obtenerse con piensos hiperenergéticos o con baja concentración de proteína.

Efectos colaterales del proyecto

La utilización de la técnica de RFLP, que pusimos a punto para analizar los cambios en la microbiota intestinal de los gazapos afectados por EEC, nos ha permitido observar perfiles característicos en otras enfermedades digestivas del conejo, por lo que puede ser una herramienta útil para el diagnóstico de otros procesos infecciosos.

Además, debido a su capacidad de discriminación, esta técnica la estamos usando para el análisis del efecto, sobre los diferentes componentes de la microbiota intestinal, de los cambios en la composición de materias primas de piensos o de la adición de diferentes suplementos al pienso o al agua de bebida.

En último lugar, aunque no por ello menos importante, **la EEC ha revelado carencias importantes en el arsenal terapéutico de los conejos**. En cunicultura hay registrados un muy reducido número de antibióticos, lo que obliga, según la legislación vigente, a períodos de retirada de 28 días. Períodos que, de respetarse en la práctica, representarían su no utilización durante el engorde o una salida de los animales, hacia el matadero, con un sobrepeso que sería penalizado económicamente.

En estos últimos años nuestros equipos han participado en diferentes etapas de las necesarias para el registro de los siguientes antimicrobianos para conejo: aminosidina, apramicina, bacitracina de zinc, tiamulina y tilosina. Además, a corto plazo, participaremos en diferentes ensayos para el registro de tetraciclina y tilmicosina.

Agradecimientos

Los estudios en los que hemos basado la información depositada en este trabajo han recibido el soporte técnico y económico del INIA (OT00-040-C2-2), del DARP-IRTA y de algunos laboratorios que han realizado el esfuerzo de registrar nuevas moléculas de antimicrobianos para conejo (Andrés Pinaluba, Elanco, Alpharma o Maymó). También queremos agradecer el apoyo recibido por CONACUN, INTERCUN, ASESCU y la Federació d'Associacions de Cunicultors de Catalunya.



NO ESTÁS SOLO

HIPRALONA ENRO-S

LA PRIMERA SOLUCIÓN PARA CUNICULTURA

Enrofloxacinó, en solución oral

Composición por ml: enrofloxacinó 100 mg. Indicaciones: aves (pollos de engorde): Colibacilos, Salmonelas y Micoplasmias. Conejos: Pasteurellosis. Contraindicaciones: No deben tratarse animales con trastornos del crecimiento cartilaginoso, afectados por insuficiencia renal o hepática, ni en infecciones producidas por microorganismos resistentes a las quinolonas. Precauciones especiales: Como todas las fluorquinolonas, el uso de este producto debe restringirse a aquellos casos en los que las bacterias se muestren resistentes a otros antibióticos. Previo a su uso, se realizará una confirmación bacteriológica del diagnóstico y un test de sensibilidad de la bacteria causante del proceso. Si no existe mejora en los tres días siguientes de iniciada la terapia puede estar indicado un cambio en la terapia escogida. No manipular el producto si existe hipersensibilidad a las fluorquinolonas. Evitar el contacto con la piel y los ojos. Usar guantes y manipular el producto con cuidado para evitar el contacto durante su incorporación al agua de bebida. En caso de contacto accidental lavar inmediatamente con agua abundante. No fumar, comer o beber mientras se manipula el producto. Si aparecen síntomas tras exposición, como una erupción cutánea, consultar a un médico y presentar dichas advertencias. La inflamación de la cara, labios u ojos o dificultad respiratoria son signos más graves que requieren atención médica urgente. Eliminar los restos de producto no usado y los envases vacíos de forma segura para el medio ambiente. Guardar en lugar fresco y al abrigo de la luz. Mantener fuera del alcance de los niños. Prescripción veterinaria. Para uso veterinario. Tiempo de espera: carne de pollo: 4 días, carne de conejo: 2 días. Huevos: no está permitido su uso en aves ponedoras cuyos huevos se destinen al consumo humano. Número de registro: 0430-ESP LABORATORIOS HIPRA, S.A. Avda. La Seta 133, 17170 Amer (Girona), www.hipra.com



www.hipralonaenros.info