

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



**“RESPUESTA INMUNITARIA, FACTOR DE
VARIACIÓN DE LA PRODUCTIVIDAD
NUMÉRICA DE LOS CONEJOS”**

TRABAJO FIN DE GRADO

Julio - 2017

Autor: Ángela Belmonte Manchado

Tutor: María José Argente Carrascosa



TÍTULO

Respuesta inmunitaria, factor de variación de la productividad numérica de los conejos.

TITTLE

Immune response as a factor of variation in the numerical productivity of rabbits.

RESUMEN

Se dispone de dos líneas de conejos seleccionadas divergentemente por variabilidad en tamaño de camada. Estas líneas difieren en más de 1,5 gazapos al parto para el carácter de selección. La hipótesis de trabajo es que las hembras que se adaptan peor al ambiente tienen una mayor sensibilidad a las enfermedades y al estrés, y como consecuencia muestran una mayor variabilidad en el tamaño de la camada.

El objetivo de este estudio es analizar el efecto de la selección por variabilidad en tamaño camada sobre la respuesta inmunitaria del animal a las enfermedades.

La línea de alta variabilidad tuvo 48 hembras y 17 machos, mientras que la línea de baja variabilidad estuvo formada por 62 hembras y 16 machos. A las 18 semanas de vida, la mitad de los animales de la línea de alta (A) y de baja variabilidad para el tamaño de camada (B) de la generación once fueron vacunados con el virus de la mixomatosis y la otra mitad con el virus de la enfermedad hemorrágica. A continuación se realizó una extracción seriada de sangre en todos los animales los días 0, 1, 2, 3, 4, 7 y 14. En todas las muestras se midieron los componentes de la serie blanca, roja y plaquetaria.

Al inicio del experimento las hembras de la línea A mostraron una mayor concentración de linfocitos que la línea B. Sin embargo el incremento de la respuesta inmunitaria fue mayor en la línea (B) seleccionada para reducir la variabilidad dl tamaño de camada. Este incremento fue del 46,5% en la línea B vs el 19,5% en la línea A.

En conclusión, la variabilidad en el tamaño de camada es un carácter que está relacionado con la adaptación del animal al medio ambiente y su sensibilidad a enfermedades. Reducir la variabilidad en tamaño de camada mejora la respuesta inmunitaria del animal a las enfermedades.

ABSTRACT

Two lines of rabbits are selected divergently by variability in litter size. These lines differ in more than 1,5 young rabbit for the selection character. The working hypothesis is that females that adapt worse to the environment have a greater sensitivity to disease and stress, and as a consequence show greater variability in litter size.

The objective of this study is to analyze the effect of selection by variability in litter size on the animal's immune response to diseases.

The line of high variability had 48 females and 17 males, while the line of low variability consisted of 62 females and 16 males. At 18 weeks of age, half of the animals of the line of high (A) and of low variability for the litter size (B) of generation eleven were vaccinated with the virus of the myxomatosis and the other half with the Hemorrhagic disease virus. Serial blood withdrawal was then performed on all animals on days 0, 1, 2, 3, 4, 7, and 14. All components of the white, red, and platelet series were measured.

At the beginning of the experiment the females of line A showed a higher concentration of lymphocytes than line B. However, the increase of the immune response was greater in the selected line to reduce the variability in the litter size. This increase was 46,5% in line B vs. 19,5% in line A.

In conclusion, the variability in litter size is a character that is related to the adaptation of the animal to the environment and its sensitivity to diseases. Reducing variability in litter size improves the animal's immune response to disease.

PALABRAS CLAVE

Conejo, selección, inmunidad, linfocitos, variabilidad del tamaño de camada, vacuna, mixomatosis, enfermedad hemorrágica.

KEYWORDS

Rabbit, selection, immunity, lymphocytes, variability in litter size, vaccine, myxomatosis, hemorrhagic disease.

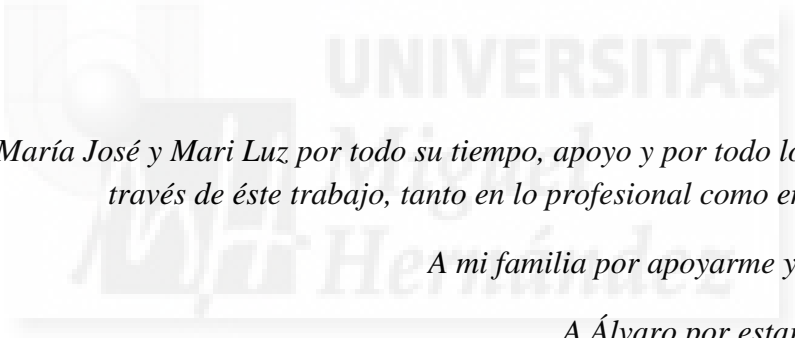
DATOS BIBLIOGRÁFICOS

Número de tablas: 10

Número de figuras: 32

Número de citas: 65





Gracias a María José y Mari Luz por todo su tiempo, apoyo y por todo lo aprendido a través de éste trabajo, tanto en lo profesional como en lo personal.

A mi familia por apoyarme y aguantarme.

A Álvaro por estar siempre ahí.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN.....	13
1.1. PRODUCCIÓN DE CARNE DE CONEJO.....	13
1.1.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA.....	14
1.1.2. IMPORTACIÓN Y EXPORTACIÓN DE LA CARNE DE CONEJO.....	16
1.2. ENFERMEDADES ZONÓTICAS EN EL CONEJO.....	18
1.3. ENFERMEDADES NO ZONÓTICAS EN EL CONEJO.....	21
1.3.1. ENTEROPATÍA MUCOIDE.....	22
1.3.2. MIXOMATOSIS.....	24
1.3.2.1. Myxoma virus.....	25
1.3.2.2. Síntomas de la enfermedad.....	26
1.3.2.3. Prevención, control y vacunación contra la mixomatosis.....	30
1.3.3. ENFERMEDAD HEMORRÁGICA VÍRICA DEL CONEJO.....	31
1.3.3.1. Virus de la enfermedad hemorrágica.....	32
1.3.3.2. Síntomas de la enfermedad hemorrágica.....	32
1.3.3.3. Prevención, control y vacunación contra la enfermedad hemorrágica.....	35
1.4. EL CONEJO COMO MODELO ANIMAL EN LAS INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS.....	36
1.5. APLICACIONES TERAPÉUTICAS DE LOS VIRUS EN HUMANOS...37	
1.6. EL SISTEMA INMUNE. LA DEFENSA DEL CUERPO CONTRA UNA INFECCIÓN.....	38
1.7. TIPOS DE VACUNAS.....	45
2. OBJETIVO.....	49
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	50
3.1. INSTALACIONES.....	50
3.2. MATERIAL ANIMAL Y SU MANEJO.....	53
3.3. VARIABLES ANALIZADAS.....	55
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	55
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	58

4.1. ESTUDIO DE LOS NIVELES BASALES DE LOS COMPONENTES DE LA SERIE BLANCA, ROJA Y PLAQUETARIA AL COMIENZO DEL EXPERIMENTO (DÍA 0).....	58
4.2. ESTUDIO EN LA EVOLUCIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA SERIE BLANCA DE LOS ANIMALES QUE COMPLETARON EL ESTUDIO VS LOS QUE NO LO COMPLETARON.....	62
4.3. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA SERIE BLANCA EN LAS HEMBRAS QUE COMPLETARON EL ESTUDIO.....	64
5. CONCLUSIONES.....	71
6. REFERENCIAS.....	72



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Parámetros serológicos normales en conejo y perro. Fuente: Dabbou et al. (2015), Lab9dejulio.com.ar (http://www.lab9dejulio.com.ar/informacion-tecnica/parametros-hematologicos-y-bioquimicos-sericos-de-distintas-especies_a289).....	44
Tabla 1.2. Vacunas proporcionadas por laboratorios dentro del territorio Español contra la MYXV y la EHC. Fuente: elaboración propia.....	46
Tabla 3.1. Lugares para la extracción de sangre en pequeños mamíferos. Fuente: Morton et al. (1993).....	54
Tabla 3.2. Número de bajas sufridas a lo largo del estudio. Fuente: elaboración propia.....	56
Tabla 4.1. Diferencias entre los parámetros de la serie blanca, roja y plaquetaria entre los animales que sobrevivieron de los que no sobrevivieron. Fuente: elaboración propia.....	58
Tabla 4.2. Diferencias entre los parámetros de la serie blanca, roja y plaquetaria entre hembras y machos. Fuente: elaboración propia.....	60
Tabla 4.3. Diferencias entre los parámetros de la serie blanca, roja y plaquetaria entre animales de la línea de baja variabilidad (línea B) y de la línea de alta variabilidad (línea A). Fuente: elaboración propia.....	61
Tabla 4.4. Diferencias en los glóbulos blancos totales entre los animales que sobrevivieron y los que no a lo largo del estudio. Fuente: elaboración propia.....	63
Tabla 4.5. Diferencias en los linfocitos entre los animales que sobrevivieron y los que no a lo largo del estudio. Fuente: elaboración propia.....	63
Tabla 4.6. Diferencias en los neutrófilos entre los animales que sobrevivieron y los que no a lo largo del estudio. Fuente: elaboración propia.....	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Evolución de la producción de carne de conejo en la Unión Europea entre 1987 y 2015. Fuente: MAGRAMA (2016).....	14
Figura 1.2. Distribución de la producción de la carne de conejo (toneladas) en España en 2015. Fuente: MAGRAMA (2016).....	15
Figura 1.3. Evolución de la producción de la carne de conejo en España. Fuente: MAGRAMA (2016).....	16
Figura 1.4. Evolución de las exportaciones e importaciones de España en la carne de conejo. Fuente: MAGRAMA (2016).....	17
Figura 1.5. Evolución en el comercio extracomunitario de España en el sector de la carne de conejo entre 1988 y 2015. Fuente: MAGRAMA (2016).....	17
Figura 1.6. La imagen de la izquierda muestra una camada con diferentes síntomas de tiña. La imagen de la derecha muestra la manifestación de la tiña en humanos. Fuente: Peinado (1988).....	19
Figura 1.7. La imagen de la izquierda muestra un conejo infestado de garrapatas, vectores portadores de la tularemia. La imagen de la derecha muestra los síntomas de tularemia en humanos. Fuente: Paradisi (http://mascotafiel.com/garrapatas-en-conejos/); SINC Científicas (http://www.agenciasinc.es/Noticias/Los-casos-de-tularemia-en-humanos-se-disparan-durante-los-anos-de-plaga-de-topillo).....	20
Figura 1.8. En las imágenes se muestran los efectos de la sarna tanto en conejos como en humanos. Fuente: Paradisi (http://mascotafiel.com/garrapatas-en-conejos/); Tavera (http://www.red-noticias.com/?p=67200).....	21
Figura 1.9. Necropsia, impactación del ciego (con material fecal muy duro y seco). Fuente: Eulogio (2013).....	22
Figura 1.10. Lesiones de la mixomatosis típica (mixomas). Fuente: Besalduch (2016).....	25
Figura 1.11. Izda: Esquema de la estructura de un virión de Leporipoxvirus (imagen tomada de ViralZone: SIB Swiss Institute of Bioinformatics). Dcha: Sección de células epiteliales conteniendo viriones maduros de Myxoma virus (Fenner et al., 1965).....	26
Figura 1.12. La patogénesis de la mixomatosis nodular. Fuente: Spiesschaert et al. (2011).....	28

Figura 1.13. Localización geográfica de los casos de EHC variante caracterizados en el laboratorio de la Universidad de Oviedo desde 2011. Se indican las Comunidades Autónomas del origen de las muestras. Naranja claro: primeros casos de la enfermedad en el país. Naranja y Rojo: evolución de la enfermedad por el país. Fuente: Parra et al. (2013).....	31
Figura 1.14. Conejo, epistaxis severa. Fuente: Spickler (2007).....	33
Figura 1.15. Hígado de conejo afectado por el virus hemorrágico. El área pálida es una necrosis del órgano. Fuente: Spickler (2007).....	34
Figura 1.16. Pulmones de un conejo afectado por el virus hemorrágico. La tráquea está con espuma, y los pulmones están moteados y no colapsados (edema pulmonar severo). Fuente: Spickler (2007).....	34
Figura 1.17. Bazo de conejo afectado por el virus hemorrágico. El bazo esta marcadamente agrandado y congestionado. Fuente: Spickler (2007).....	35
Figura 1.18. Representación de un neutrófilo. Fuente: Colaboradores de Wikipedia (https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Neutrophil&oldid=777745748).....	39
Figura 1.19. Imagen de un eosinófilo de conejo. Fuente: Lester et al. (2005).....	39
Figura 1.20. Imagen de un basófilo. Fuente: Lester et al. (2005).....	40
Figura 1.21. Imagen de un monocito y un linfocito de conejo. Fuente: Lester et al. (2005).....	41
Figura 1.22. Imagen tomada de un microscopio electrónico de un hematíe, plaqueta y linfocito T. Fuente: Colaboradores de Wikipedia (https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Plaqueta&oldid=99151341).....	43
Figura 3.1. Vista exterior de la granja de conejos. Fuente: tecnoagro.umh.es.....	50
Figura 3.2. Distribución de los módulos de jaulas en la nave de maternidad. Fuente: elaboración propia.....	51
Figura 3.3. Vista interior de la nave de cebo. Fuente: tecnoagro.umh.es.....	51

Figura 3.4. Disposición de las jaulas de la Nave de cebo. Fuente: elaboración propia.....	52
Figura 4.1. Evolución de los glóbulos blancos totales en las hembras de las líneas divergentes por variabilidad en tamaño de camada que sobrevivieron hasta el final del estudio. Fuente: elaboración propia.....	65
Figura 4.2. Evolución de los linfocitos en las hembras de las líneas divergentes por variabilidad en tamaño de camada que sobrevivieron hasta el final del estudio. Fuente: elaboración propia.....	66
Figura 4.3. Evolución de los neutrófilos en las hembras de las líneas divergentes por variabilidad en tamaño de camada que sobrevivieron hasta el final del estudio. Fuente: elaboración propia.....	67
Figura 4.4. Evolución de los monocitos en las hembras de las líneas divergentes por variabilidad en tamaño de camada que sobrevivieron hasta el final del estudio. Fuente: elaboración propia.....	68
Figura 4.5. Evolución de los eosinófilos en las hembras de las líneas divergentes por variabilidad en tamaño de camada que sobrevivieron hasta el final del estudio. Fuente: elaboración propia.....	69
Figura 4.6. Evolución de los basófilos en las hembras de las líneas divergentes por variabilidad en tamaño de camada que sobrevivieron hasta el final del estudio. Fuente: elaboración propia.....	70

1. INTRODUCCIÓN

1.1 PRODUCCIÓN DE CARNE DE CONEJO

El conejo silvestre fue descubierto por los fenicios cuando establecieron contacto con España hacia el año 1000 a.C., aunque serán los romanos los que resaltarán la importancia de esta especie al convertirla en el símbolo de nuestra Península (FAO, 1996). En la época de la civilización romana a la Península Ibérica se le denominaba con la palabra “Hispania”, cuyo significado era “tierra de conejos”.

Ciertamente, el inicio de la domesticación del conejo empezó hace aproximadamente 2000 años, por lo que constituye uno de los últimos animales en haber sido domesticado (Sandford, 1992). La cunicultura ha experimentado una importante evolución en los últimos años. Esta evolución ha venido condicionada por la profesionalización del sector, que ha motivado una concentración de la producción y el sacrificio.

También hay que resaltar la importancia de la carne de conejo, ya que es el quinto tipo de carne más consumida en España. Entre las razones sugeridas para el crecimiento en popularidad del conejo está su deliciosa carne, alta en proteínas, baja en calorías y grasa, su prolificidad y corta duración de gestación, la facilidad con que se puede criar, la pequeña inversión requerida para comenzar su cría, y el hecho de que esta especie pueda ser alimentada con forrajes y subproductos locales que no son de uso directo para los seres humanos (Burnett et al., 2003).

1.1.1 IMPORTANCIA ECONÓMICA

Nuestro país está entre los principales productores a nivel mundial y, junto con Italia y Francia, forma parte del grupo líder a nivel europeo (MAGRAMA, 2016). Tal y como muestra la figura 1.1, en 2015, Francia se situó en cabeza, seguida de España en segunda posición e Italia en tercer lugar.

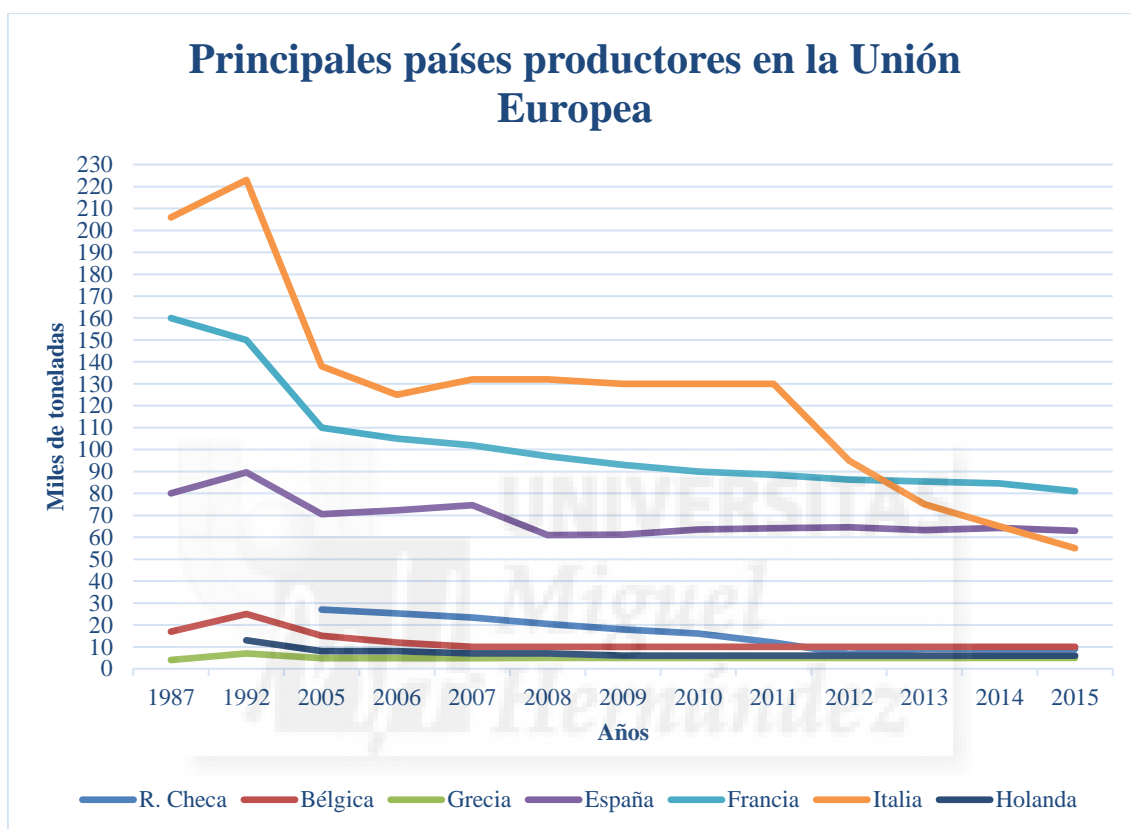


Figura 1.1. Evolución de la producción de carne de conejo en la Unión Europea entre 1987 y 2015. Fuente: MAGRAMA (2016).

Centrándonos en España, las comunidades que más carne de conejo producen son Cataluña y Galicia (ver Figura 1.2.).

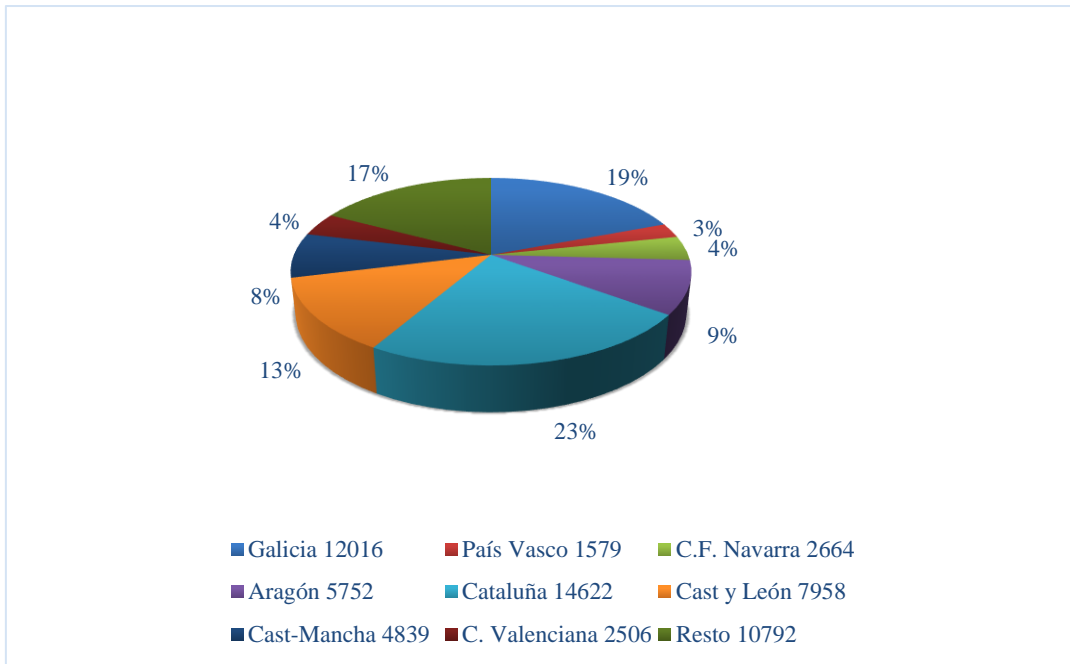


Figura 1.2. Distribución de la producción de la carne de conejo (toneladas) en España en 2015. Fuente: MAGRAMA (2016).

En cuanto a la evolución de la producción de la carne de conejo, en la figura 1.3. se observa un brusco descenso en 1992 y 2007. Dos momentos donde el sector experimento una fuerte crisis, debido a la situación económica del país. En 2003 el número total de explotaciones era de 5.644, pero datos de 2008 muestran un total de 4.749 explotaciones, esto supone que ha habido un cierre del 15,9% del total de las explotaciones cunícolas de España (Serrano et al, 2009).

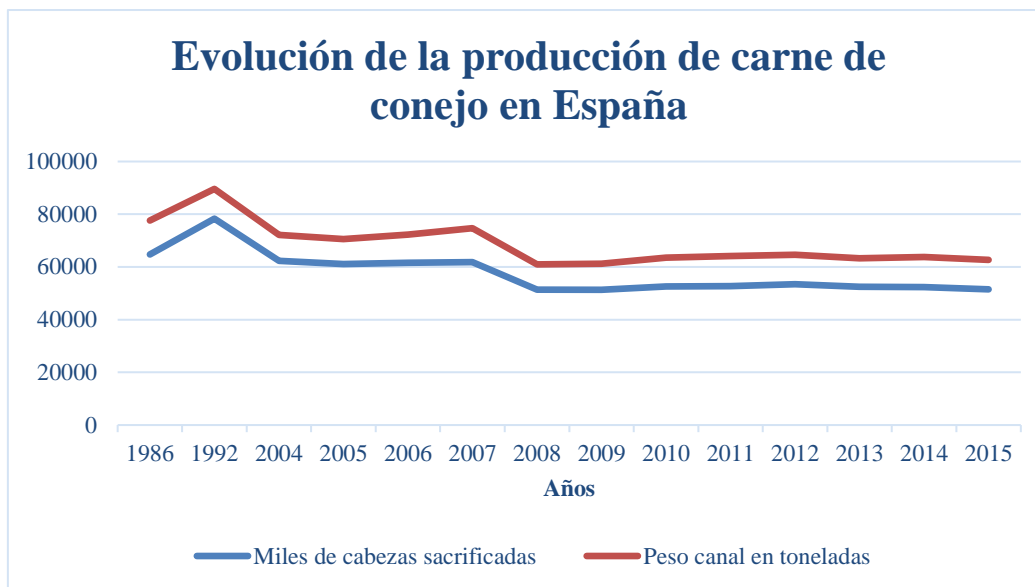


Figura 1.3. Evolución de la producción de la carne de conejo en España. Fuente: MAGRAMA (2016).

1.1.2 IMPORTACIÓN Y EXPORTACIÓN DE LA CARNE DE CONEJO

En el año 2010, las exportaciones de carne de conejo a países de la Unión Europea (UE) fueron de 3.794 toneladas de carne y 550.081 animales vivos (MAGRAMA, 2016). El principal cliente de la carne de conejo de España es Portugal con 2.406 toneladas. Además se exportaron 226 toneladas de carne a países terceros. Por lo que en el año 2010, España exportó un total de 4.020 toneladas de carne de conejo.

La figura 1.4 muestra cómo, a excepción del 2011 donde hubo una bajada en las toneladas exportadas, las cifras de exportación van aumentando paulatinamente, siendo el año 2014 el que presenta mayor volumen de carne exportada, 7.466 toneladas totales de las cuales 4.825 estaban destinadas a la UE.

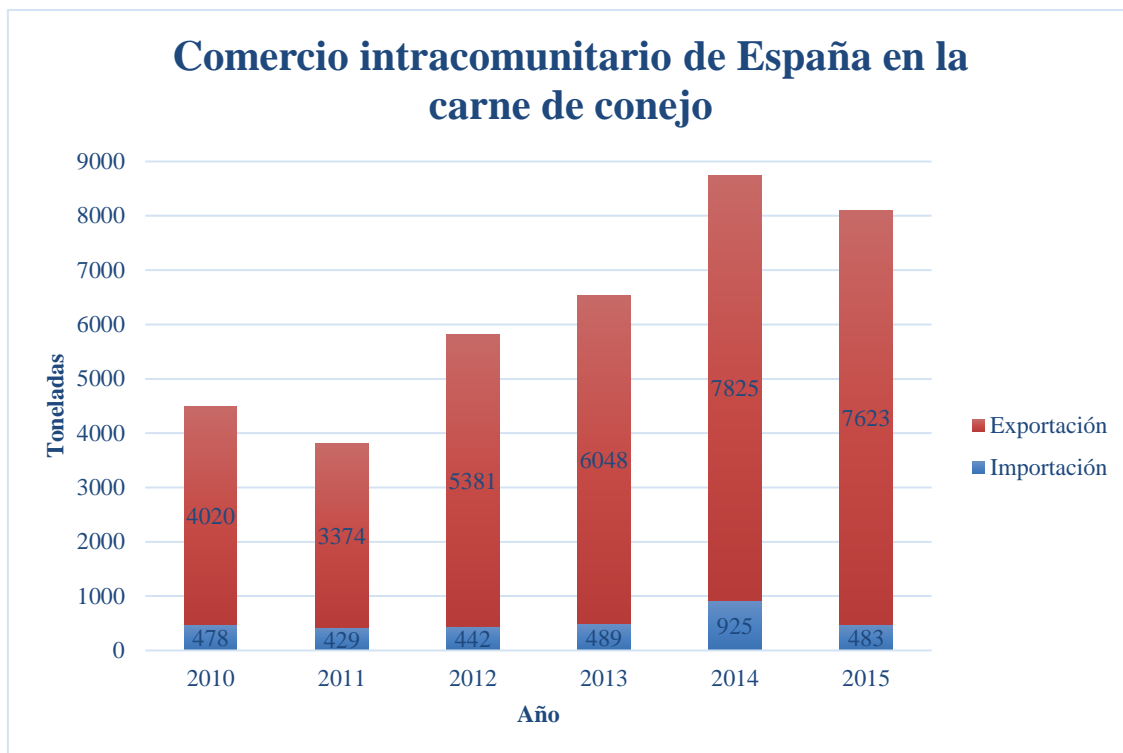


Figura 1.4. Evolución de las exportaciones e importaciones de España en la carne de conejo. Fuente: MAGRAMA (2016).

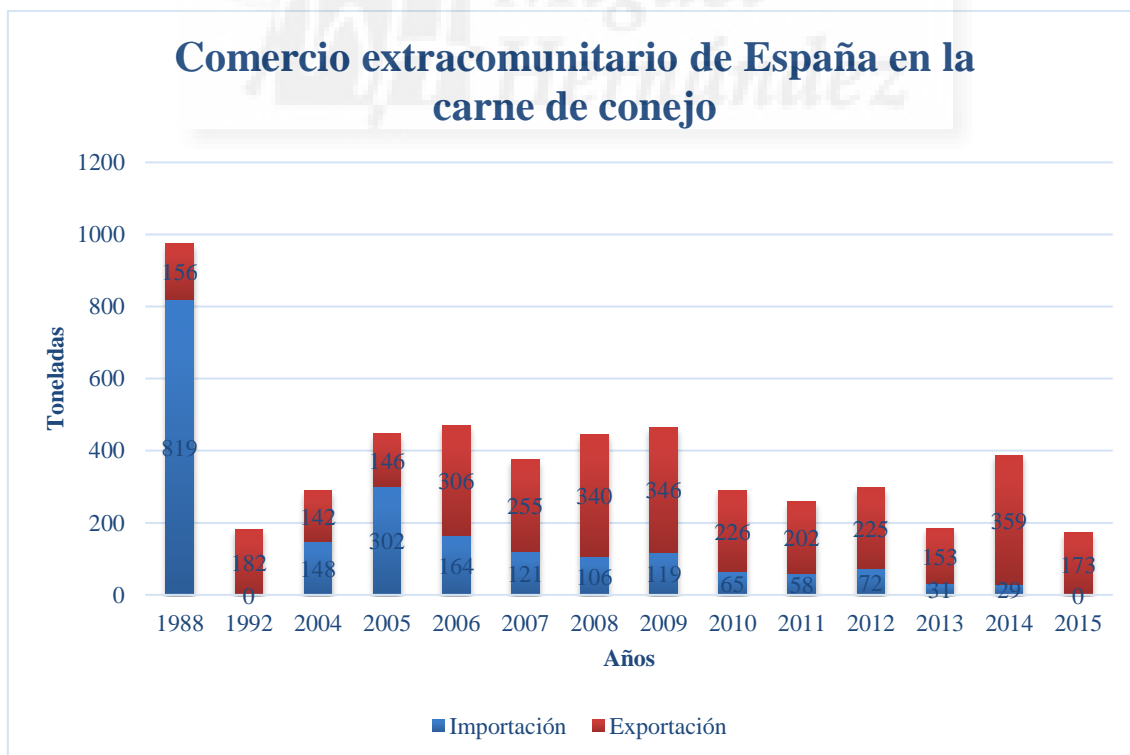


Figura 1.5. Evolución en el comercio extracomunitario de España en el sector de la carne de conejo entre 1988 y 2015. Fuente: MAGRAMA (2016).

En cuanto a la importación, España cubre casi la totalidad de la demanda del sector, siendo muy común el autoabasto. Las figuras 1.4. y 1.5. muestran el papel de España en la exportación y la importación de carne de conejo hacía países de la Unión Europea y fuera de la Unión Europea. Podemos observar en la figura 1.4. que España exporta una mayor cantidad de carne de conejo que la que importa, siendo el 2014 el año que más toneladas de carne de conejo se exportaron (7.825 toneladas). En la figura 1.5. se observa que España exporta menos toneladas de carne de conejo a países fuera de la Unión Europea, que a los países de la Unión.

1.2 ENFERMEDADES ZOONÓTICAS EN EL CONEJO

Las zoonosis son enfermedades que pueden transmitir los animales a los seres humanos o viceversa. Las enfermedades cuentan con diferentes modos de transmisión. Por ejemplo, las zoonosis directas son enfermedades que se transmiten por contacto directo con el animal o algún objeto contaminado que haya permanecido en contacto con él. Mientras que las zoonosis indirectas son enfermedades cuya transmisión necesita un intermediario (vector), como arácnidos (ácaros y garrapatas) o insectos (mosquitos).

Las enfermedades que se pueden transmitir pueden ser de tipo fúngico, bacteriano, vírico e incluso parasitario. Dentro de las infecciones por **hongos**, las dermatofitosis más frecuentes son las provocadas por los géneros *Trichophyton*, *Microsporum* y *Pneumocystis carinii*. El contagio es por contacto directo y quizás es una de las patologías que más frecuentemente se ve. El conejo puede tener zonas alopecias a veces marcadamente circulares, en las que el pelo se rompe con facilidad, pero otras veces el animal es portador asintomático y los síntomas sólo aparecen en su propietario. Se suelen ver ronchas y zonas circulares, con los bordes rojizos y habitualmente con prurito intenso, muy frecuentes en cuello, escote y brazos. A veces son difíciles de eliminar porque pueden quedar pelos contaminados que reinfectan al animal o a su propietario, sobre todo si está inmunodeprimido. La vía de transmisión es aerógena mediante el contacto directo entre animal sano y animal enfermo. También el *Trichophyton mentagrophytes* es otro hongo, responsable de la Tiña (figura 1.6.).



Figura 1.6. La imagen de la izquierda muestra una camada con diferentes síntomas de tiña. La imagen de la derecha muestra la manifestación de la tiña en humanos. Fuente: Peinado (1988).

Dentro del grupo de las **bacterias** nos encontramos diversas especies como la *salmonella* y la *Campylobacter spp.* que puede causar diarreas graves, fiebre alta y vómitos, y su paso al torrente sanguíneo en personas inmunodeprimidas puede dar lugar a graves infecciones o septicemias. La *pasteurella* o *bordetella* es el agente causal de muchas enfermedades en vía respiratorias, y los síntomas de la infección por *Burkholderia pseudomallei* pueden confundirse con los de la neumonía o la tuberculosis. La tularemia (figura 1.7.) es otra enfermedad bacteriana. Esta enfermedad fue introducida en España en el año 1997. Está producida por la *Francisella tulariensis*, y se transmite por contacto directo, consumo de carne o la picadura de un artrópodo como garrapatas, mosquitos, tabánidos, pulgas y piojos que haya picado antes a un animal enfermo. En roedores y lagomorfos, y en particular en el conejo, se desarrolla como un proceso septicémico muchas veces mortal y en casos más leves con fiebre, debilidad, úlceras y abscesos. En el hombre se produce un periodo de incubación de unos 3 a 5 días y da un cuadro de escalofríos, astenia, dolores musculares y articulares, cefaleas y vómitos. Esta bacteria tiene como peculiaridad que, según por donde acceda al organismo, produce distintos síntomas: las pequeñas heridas o picaduras de artrópodos producen una úlcera y necrosis superficial, así como tumefacción en un ganglio regional. Si penetra vía conjuntival suele verse una pápula ulcerada en el párpado inferior y también tumefacción ganglionar. Si la entrada es a través de aerosol puede producir neumonía, y por vía digestiva, gastroenteritis. La *Coxiella burnetti*, agente causante de la fiebre Q, es otra bacteria que afecta a animales y personas y que puede llegar a ocasionar problemas de infertilidad y abortos.



Figura 1.7. La imagen de la izquierda muestra un conejo infestado de garrapatas, vectores portadores de la tularemia. La imagen de la derecha muestra los síntomas de tularemia en humanos. Fuente: Paradisi <http://mascotafiel.com/garrapatas-en-conejos/>; SINC Científicas (<http://www.agenciasinc.es/Noticias/Los-casos-de-tularemia-en-humanos-se-disparan-durante-los-anos-de-plaga-de-topillo>).

Dentro de las enfermedades de origen **vírico**, cabe destacar la producida por el virus *Coriomeningitis linfocítica* que podemos encontrar en muchas especies de roedores y lagomorfos, y se puede contagiar a través de aerosoles, contacto directo o mordeduras. La infección en humanos puede ser desde asintomática hasta un cuadro gripal, que ocurre 5-10 días post exposición. Pocos pacientes progresan a meningitis aséptica, caracterizada por un alto recuento de linfocitos en el líquido cefalorraquídeo. Las secuelas son infrecuentes.

Dentro de las enfermedades provocadas por **parásitos**, cabe destacar la sarna (figura 1.8.), la giardiasis, y la leishmaniosis. Los ácaros *Sarcoptes sp.* y *Cheyletiella* son los agentes causales de la sarna, enfermedad de la piel causada por los conductos que construyen debajo de la piel. En los conejos producen alopecias y dermatitis. En humanos se produce una erupción pruriginosa papular en brazos, muslos, tórax y cintura. La infestación es autolimitada ya que los ácaros no se reproducen en la piel humana. El protozoo *Giardia lamblia* es el agente causal de la Giardiasis. Esta enfermedad es muy común en niños y personas inmunodeprimidas. Se transmite en las heces de una persona o animal infectado, y suele provocar alteraciones en las heces que se presentan pastosas y a veces, con mucosidad. La leishmaniosis está causada por el parásito *Leishmania infantum* y puede cursar con signos cutáneos más o menos graves y crónicos que a veces se confunden con otras enfermedades, o puede ser visceral y afecta a órganos internos como riñón e hígado

siendo este tipo de enfermedad mucho más grave. Siempre se pensó que tenía que existir una estrecha relación perro-humano para el desarrollo de esta enfermedad. Ahora se sabe que el conejo también la puede transmitir (Rodríguez et al., 2006; Díaz-Sáez et al., 2014; Díaz, 2015).



Figura 1.8. En las imágenes se muestran los efectos de la sarna tanto en conejos como en humanos. Fuente: Paradisi <http://mascotafiel.com/garrapatas-en-conejos/>; Tavera <http://www.red-noticias.com/?p=67200>

Sin embargo, se debe resaltar que la transmisión de enfermedades del conejo y roedor al hombre es rara, y normalmente se deben a mordeduras o rasguños, cursando generalmente en reacciones alérgicas leves.

1.3 ENFERMEDADES NO ZONÓTICAS EN EL CONEJO

Una enfermedad se origina al alterarse las funciones corporales normales del organismo, y puede presentarse como una **enfermedad general** de todo el organismo animal o bien afectar sólo a órganos concretos, **enfermedad orgánica** (Winkelmann et al., 1997).

La incidencia de enfermedades depende de:

- El estado general del animal (constitución).
- La inclinación a la enfermedad (predisposición).
- La actuación de agentes patológicos externos e internos.

Las pérdidas debidas a las enfermedades son subestimadas con frecuencia. Estas pérdidas no sólo se derivan de los ejemplares muertos, sino que el mayor quebranto económico

probablemente se debe a la infraproducción y falta de rentabilidad debida a la pérdida de tiempo y trabajo (Sandford, 1988).

Las enfermedades más difundidas entre los conejos son la enteropatía mucoide, la mixomatosis y la enfermedad hemorrágica vírica (González, 2006).

1.3.1 ENTEROPATÍA MUCOIDE

La **enteropatía epizoótica del conejo (EEC)**, denominada anteriormente enteropatía mucoide (Flatt et al., 1977), es una patología digestiva que desde mediados de 1996 ha marcado la producción en la cunicultura de Europa y de España en particular. Incidiendo de una forma negativa hasta en un 90-95% de las explotaciones cunícolas (Lebas, 2000). La EEC puede considerarse una enfermedad muy contagiosa con morbilidades que pueden llegar al 100%, y con un índice de mortalidad variable y alto que puede ir de un 30% a un 80%. Sin olvidar el descenso en la productividad derivado de un menor crecimiento en el animal y retrasos en la llegada a matadero, además del gasto añadido que suponen los tratamientos.



Figura 1.9. Necropsia, impactación del ciego (con material fecal muy duro y seco).
Fuente: Eulogio (2013).

La figura 1.9 muestra como el estómago está dilatado lleno de líquido y gas. Estas lesiones van asociadas a una parálisis cecal y presencia de moco gelatinoso en el colon e intestino

delgado. En la mayoría de las veces, no se observa inflamación en el intestino, aunque después se pueden complicar por lesiones de tipo bacteriano.

Respecto a su etiología, investigadores franceses, italianos y españoles han estado trabajando en la búsqueda del agente causal. Así, el grupo francés del Institut National de la Recherche Agronomique de Toulouse y el grupo italiano del Instituto Zooprofilattico de Milán centraron inicialmente su investigación en la búsqueda de agentes víricos que pudieran desencadenar dicha enfermedad. En este sentido, la presencia de Rotavirus en EEC experimentales determinó su estudio, pero al no conseguir reproducir la enfermedad tras su inoculación, no se pudo demostrar esta teoría. Posteriormente, otros virus han sido estudiados y descartados, como los calcivirus, pestivirus, circovirus, adenovirus, coronavirus y parvovirus, quedando aparcada finalmente esta línea viral de investigación. (Eulogio, 2013).

Los estudios realizados por Licois et al. (2005), Marlier et al. (2003), Szalo et al. (2007) y Huybens et al. (2009), en relación a la implicación de agentes bacterianos en esta enfermedad, tampoco han logrado reproducir el proceso. Estos autores indican en sus trabajos que la posible bacteria era difícil de cultivar, y que cuando se lograba cultivar, ésta perdía su virulencia.

Los grupos españoles del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, Cresa (Universidades Autónoma de Barcelona-Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentarias), y Universidad Politécnica de Madrid han centrado sus estudios en conocer los efectos de la flora intestinal sobre la aparición de la EEC. Para ello han investigado el papel de las Bacteroides, así como el del *Clostridium perfringens* y sus toxinas, sobre dicha enfermedad. Los Bacteroides, que forman parte de la flora intestinal, parece que cuando están en equilibrio fisiológico, permiten incluso controlar la enfermedad; y en cambio, un crecimiento desmesurado de estos parece contribuir a disbiosis intestinal y exacerbación de la sintomatología clínica de la EEC. Los estudios con *Clostridium perfringens*, tipo toxigénicos alfa y beta, han determinado una presencia variable en la enfermedad, y únicamente se ha observado la influencia de la presencia de estas toxinas, en determinados cuadros clínicos más característicos de la enfermedad. Así las alfa-toxinas se han relacionado con un contenido cecal líquido y las beta-toxinas con un contenido cecal compactado. Sin embargo, la función desempeñada por el *Clostridium*

perfringens como agente primario tampoco se ha podido demostrar en muchos de los procesos estudiados.

La enfermedad se ha conseguido reproducir a partir de contenido intestinal contaminado vía oral, o por el contacto entre animales enfermos. Respecto a los síntomas clínicos, a parte de diarreas y alta mortalidad en el cebadero, habitualmente se describen como síntomas generales de pérdida de apetito, abatimiento, rechinar de dientes, hipotermia y deshidratación, distensión abdominal debido a la dilatación intestinal y del estómago, es este último caso por la presencia de un contenido muy líquido y con gas. En la necropsia, se observa la compactación del ciego con material cecal muy duro y seco. En muchos casos, estas lesiones van asociada a una parálisis cecal y presencia de moco gelatinoso en el colon e intestino delgado.

El momento de mayor susceptibilidad a la enfermedad son los días post-destete entre las semanas 3 y 10 de vida del animal. Una buena profilaxis y una dieta equilibrada que controle los cambios bruscos en el pH del intestino, parecen ser la mejor forma de controlar la enfermedad (Pérez, 2013).

1.3.2 MIXOMATOSIS

La **mixomatosis** fue descrita por primera vez en 1896 en Uruguay como una enfermedad fatal que afectaba a conejos criados en cautividad. Más adelante fue observada en conejos domésticos en Brasil y en 1930 se puso de manifiesto su importancia como epizootia en California, en explotaciones agrícolas dedicadas a la cunicultura. El virus de la mixomatosis (myxoma) fue introducido en el valle del río Murray, en Australia, en un intento de controlar la creciente población de conejo de monte. Dos años más tarde, una cepa del virus fue inoculada en dos conejos de una propiedad privada en Francia. En pocos meses la enfermedad se había propagado por todo el país. La enfermedad llega a España en 1954, provocando la primera y gran epizootia del conejo con la muerte del 90% de las poblaciones donde llegó (Spiesschaert et al., 2011).



Figura 1.10. Lesiones de la mixomatosis típica (mixomas). Fuente: Besalduch (2016).

1.3.2.1 Myxoma virus

El myxoma virus (MYXV) es el agente causal de la mixomatosis. El genoma de este virus está constituido por una gran cadena de ácido desoxirribonucleico (DNA) de 161,8kb, que codifica a 159 genes virales únicos, con repeticiones terminales invertidas. Cada terminación tiene doce genes virales, nueve de los cuales codifican diversas proteínas inmunomoduladoras que dan un total de 171 genes. El genoma viral se encuentra encapsulado en un virión (partícula infectiva libre en los virus, ver figura 1.11.). El ciclo de replicación del MYXV tiene lugar en el citoplasma de las células infectadas. El virus sólo infecta a conejos y liebres de origen europeo y no es patógeno para otras especies, aunque el MYXV puede replicarse en las células de muchas especies, incluyendo las células cancerosas humanas (Spiesschaert et al., 2011).

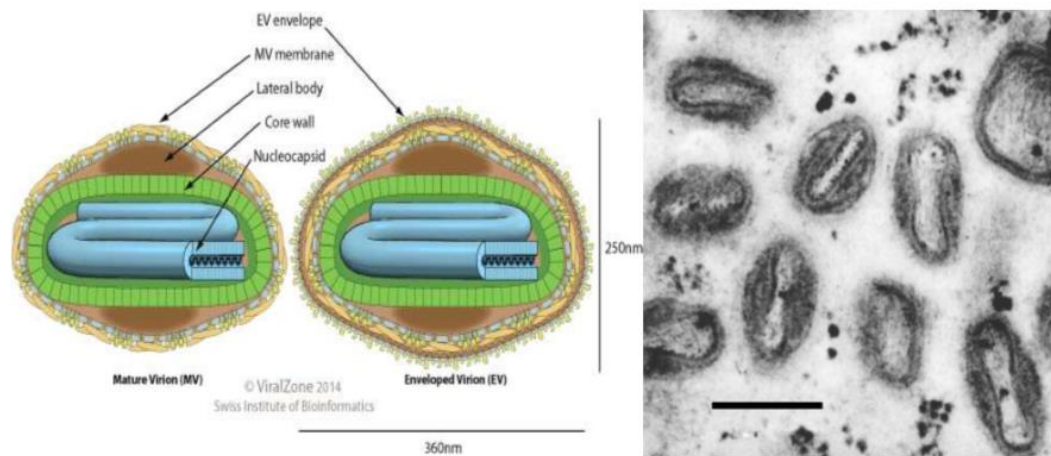


Figura 1.11. Izda: Esquema de la estructura de un virión de Leporipoxvirus (imagen tomada de ViralZone: SIB Swiss Institute of Bioinformatics). Dcha: Sección de células epiteliales conteniendo viriones maduros de Myxoma virus (Fenner et al., 1965).

1.3.2.2 Síntomas de la enfermedad

La aparición de síntomas y la gravedad de estos dependen en gran medida de la cepa de MYXV de que se trate y de la raza de conejo que esté infectado. Los conejos de laboratorio pueden infectarse por contacto directo con el virus, por medio de un artrópodo (insectos, arañas, y pulgas) o mediante inoculación directa (la figura 1.12). El MYXV no se replica en los insectos huéspedes, pero puede ser transportado en sus piezas bucales. Los individuos enfermos excretan grandes cantidades del virus por diversas vías – lesiones cutáneas, orina, excrementos –. Los conejos que son portadores del virus pero que todavía no han desarrollado la enfermedad, pueden transmitir el virus, mientras que individuos que se estén recuperando de la enfermedad, cuyas heridas hayan cicatrizado, no son portadores eficientes. La resistencia del virus de la mixomatosis a los agentes físicos es notable. Se conserva perfectamente en frío, pudiendo permanecer congelado durante al menos 3 meses. Por otro lado, la exposición a altas temperaturas (55-60°C), radiación ultravioleta, y alteraciones bruscas de temperatura pueden alterar sus propiedades biológicas, por lo que las condiciones que se dan en las madrigueras de los conejos son óptimas para la supervivencia del virus y potencian su transmisión. La exposición a la luz solar puede desactivar el virus en unas dos semanas, consiguiendo sobrevivir ocho días en el cadáver de un conejo infectado, aumentando este período hasta

220 días cuando ocurre en la piel. La infección comienza en las células dendríticas (células que forman parte de la inmunidad innata, cuya función es procesar material antigénico) situadas en el lugar de infección primaria, después circula por el sistema linfático y el vascular, a partir de estos infecta numerosos órganos secundarios (Spiesschaert et al., 2011).

En la figura 1.12 podemos observar como en el sitio de inoculación (A) la replicación viral primero se produce en las células epidérmicas periféricas y luego en las células más profundas de la dermis (B). Esto, inicialmente, induce una inflamación leve y atrae principalmente a los neutrófilos en los primeros tiempos de infección. Las células de Langerhans también están infectadas (C). Cuando estas células migran al nodo linfático de drenaje para presentar epítomos virales en la zona de células T, los linfocitos T se infectan con MYXV (D). Esto da lugar a la muerte celular de una amplia difusión en la zona de células T de muchos órganos linfoides y también permite al MYXV extenderse de una manera asociada a las células cuando estos linfocitos T infectados migran a través de la sangre y la circulación reticuloendotelial. Una vez en la sangre y la linfa, MYXV se propaga a través de los leucocitos infectados a diferentes órganos tales como el hígado, el bazo, otros ganglios linfáticos distantes, testículo y epidermis (E). La replicación de MYXV en estos órganos induce una fuerte polimorfonucleares por células afluenciadas y en la piel se forman lesiones secundarias que contienen altos títulos virales, lo que favorece la propagación exitosa por vectores mecánicos (F).

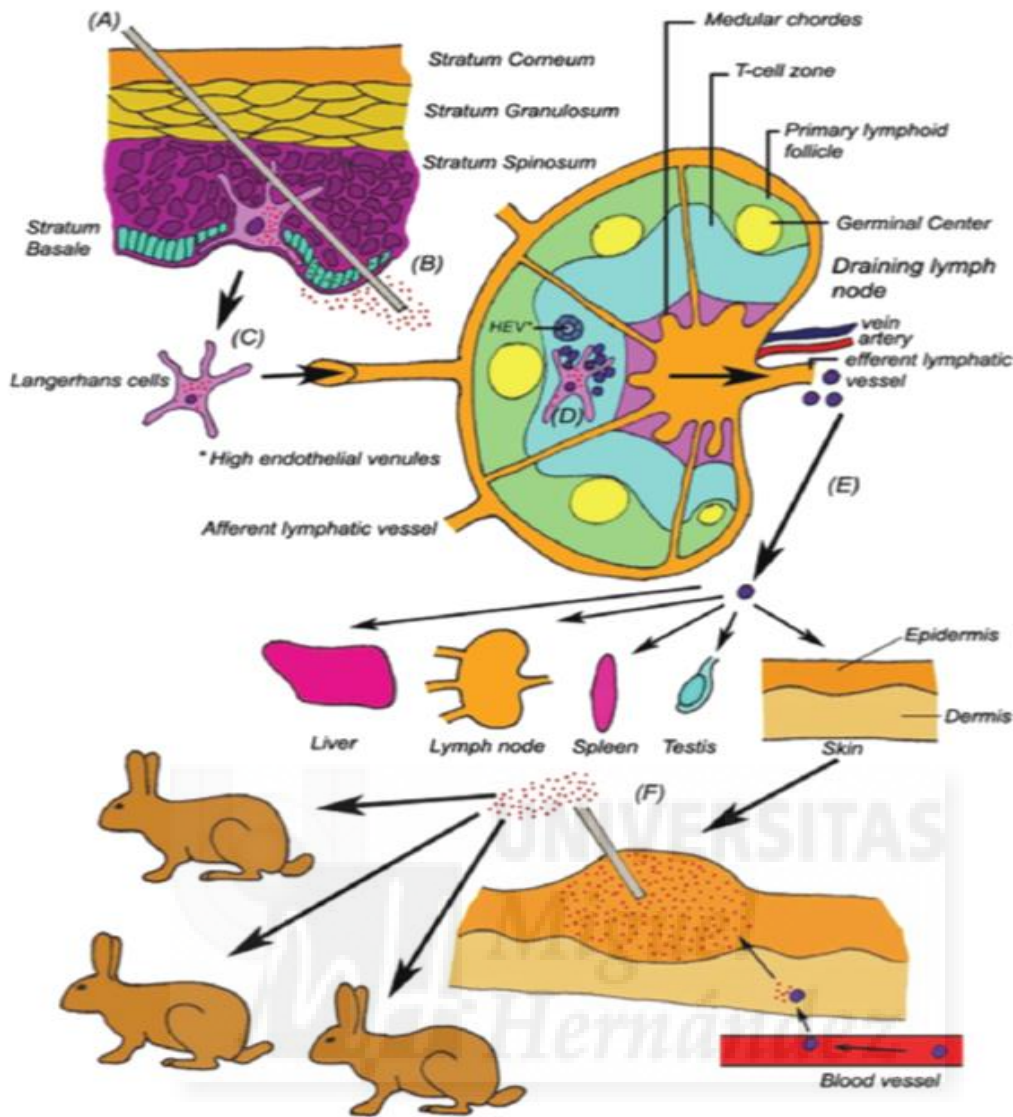


Figura 1.12. La patogénesis de la mixomatosis nodular. Fuente: Spiesschaert et al. (2011).

Todos los conejos de laboratorio presentan un edema color rosado en el sitio de inoculación (ver figura 1.12), seguido por una conjuntivitis progresiva y una secreción serosa/mucopurulenta en nariz y ojos. La infección también provoca inflamación en la zona anogenital, y posteriormente infecciones bacterianas en el tracto respiratorio. Todo esto provoca un colapso del sistema inmunitario del huésped. Los animales mueren después de 10-14 días de la infección (Spiesschaert et al., 2011).

La mixomatosis puede presentarse en:

- Forma aguda: frecuentemente en poblaciones que no hayan tenido ningún contacto con la enfermedad. La fase inicial dura de 24 a 48 horas y se caracteriza por la aparición de un mixoma primario que evoluciona muy rápidamente hacia un edema cefálico doloroso, asociado a una inflamación ocular y fluido nasal abundante, que se convierte más tarde en purulento. Posteriormente se da la generalización anogenital de los mixomas secundarios que invaden el ano y los genitales de los conejos infectados en dos o tres días. Veinticuatro horas después se da la fase terminal, con la generalización de los mixomas secundarios por toda la piel. La muerte suele ocurrir 12 días después de la inoculación.
- Forma subaguda: es menos exudativa que la forma aguda y ocurre cuando el virus prevalece durante varios años en la población, y cuando la presencia de una cepa menos virulenta coincide con la existencia de animales con mayor resistencia. Se caracteriza por la localización cefálica de los mixomas y a pesar de que la sintomatología siga la misma secuencia de eventos que la forma aguda, la muerte ocurre más tarde, en torno a un periodo entre las 3 a 5 semanas tras los primeros síntomas.
- Forma crónica: es una forma localizada, poco exudativa, benigna y que generalmente se cura espontáneamente. Surge en poblaciones que hayan sufrido un largo periodo de exposición a la mixomatosis y los conejos infectados presentan un buen estado general. Los mixomas son más escasos, pequeños, y su consistencia se va alterando, endureciéndose progresivamente. Tras 5 o 6 días los mixomas dan lugar a úlceras negras y comienzan a retroceder. Tras un periodo de tiempo de entre 2 a 8 semanas los mixomas cicatrizan por completo, aunque el pelo sólo vuelve a crecer en las áreas afectadas mucho tiempo después.
- Forma amixomatósica: se caracteriza por una sintomatología esencialmente respiratoria. Los conejos afectados, sobre todo juveniles de 40 a 50 días de vida, pueden presentar inflamación ocular, congestión auricular y algún edema anogenital. En individuos adultos pueden surgir mixomas planos poco evidentes junto con los síntomas respiratorios.

1.3.2.3. Prevención, control y vacunación contra la mixomatosis

La prevención de la mixomatosis es una cuestión de gran importancia en el conejo doméstico, debido a su alta tasa de prevalencia y mortalidad. Esta prevención se puede lograr mediante controles sobre los vectores tales como mosquitos y pulgas. Sin embargo, estas medidas sanitarias rara vez son suficientes. Por lo tanto, se debe diseñar una estrategia de vacunación eficaz para la protección contra MYXV.

Las vacunas, generalmente, han tenido éxito contra la lucha del MYXV, éstas poseen plásmidos capaces de proteger a los conejos de la enfermedad. Existen dos grupos de vacunas:

- El primer grupo de vacunas son heterólogas, están basadas en la utilización de un virus no patógeno como el *leporipoxvirus Shope fibroma virus* (SFV) estrechamente relacionado con el MYXV debido a su semejanza antigénica. El SFV es extraído de conejos de raza *Sylvilagus floridanus*, las posibles razones de elección de este virus atenuado (SFV) pueden estar en la supresión parcial o completa de varios de sus genes presentes en MYXV. La principal desventaja de estas vacunas es que sólo inducen una cantidad limitada de inmunidad protectora, no mayor de tres meses duración (Spiesschaert et al., 2011).
- El segundo grupo de vacunas consisten en cepas homólogas vivas y atenuadas, como por ejemplo la cepa SG33 y la cepa Borghi. Estas vacunas inducen una respuesta inmune protectora más fuerte que cualquiera de las vacunas actuales de SFV e inducen protección contra la enfermedad al menos cuatro meses tras la vacunación. La principal desventaja de estas vacunas es la inmunodepresión de conejos jóvenes tras la aplicación de la vacuna. También pueden aparecer lesiones en la piel, edemas y erupción en el punto de inyección después de la vacunación con SG33 (Spiesschaert et al., 2011).

En la actualidad se sigue un plan de vacunación para evitar el contagio de la mixomatosis, donde los gazapos son vacunados por primera vez a las tres o cuatro semanas de vida con el virus SFV, y después son revacunados con la vacuna homólogas para reforzar su respuesta inmunitaria contra el virus de la mixomatosis.

1.3.3 ENFERMEDAD HEMORRÁGICA VÍRICA DEL CONEJO

La **enfermedad hemorrágica vírica** (EHC) fue descrita por primera vez en 1984, en China, como un proceso agudo que afectó a un grupo de conejos de angora, importados de Alemania. En Europa, la enfermedad fue identificada por primera vez en Italia, en 1986, donde murieron 60 millones de conejos. La EHC llegó a la Península Ibérica en 1988, afectando tanto al conejo de monte como a los conejos domésticos. A pesar de que los primeros casos descritos ocurrieron en conejos oriundos de Alemania, no está claro que sea ese el origen de la EHC, ya que fueron encontrados anticuerpos anti-RHD en muestras de tejidos recogidas y conservadas en 1975 en Checoslovaquia. El periodo de incubación de la enfermedad hemorrágica vírica tradicional (EHC) dura de 2 a 3 días con una mortalidad cercana al 100% de los conejos adultos, pero quedan inmunes los gazapos de menos de dos meses.

En 2011 aparecieron en varias granjas españolas unos casos atípicos de la enfermedad hemorrágica (EHC) (ver figura 1.13), provocados por una cepa variante de la enfermedad que producía extrañamente la muerte de gazapos, preferentemente de 11 a 40 días, cuando era conocido que la EHC clásica de 1986 no afectaba a gazapos menores de 50 días. Esa cepa variante de la enfermedad se detectó en granjas de Navarra, Aragón, Cataluña y Comunidad Valenciana, además de Galicia y Portugal. En estos momentos está propagada por todas las provincias españolas (Dalton et al., 2012; Calvete et al., 2012; Grasa et al., 2012).



Figura 1.13. Localización geográfica de los casos de EHC variante caracterizados en el laboratorio de la Universidad de Oviedo desde 2011. Se indican las Comunidades Autónomas del origen de las muestras. Naranja claro: primeros casos de la enfermedad en el país. Naranja y Rojo: evolución de la enfermedad por el país. Fuente: Parra et al. (2013).

1.3.3.1 Virus de la enfermedad hemorrágica

El virus de la enfermedad hemorrágica (VEHC) es un *calicivirus* del género *Lagovirus* que causa la enfermedad hemorrágica (EHC) en conejos adultos europeos (*Oryctolagus cuniculus*), aunque la nueva variante mata a gazapos menores de 40 días. Todas las cepas patógenas se clasifican en un solo serotipo, pero se reconocen dos subtipos, VEHC-1 (de la variante tradicional) y VEHCa (de la nueva variante).

Aunque en determinadas condiciones el virus es extremadamente resistente, por ejemplo este permanece viable después de más de un año a -5 °C, durante 225 días en suspensión orgánica a 4 °C, y dos días a 60 °C tanto en suspensión orgánica como en seco y 3 días a temperatura ambiente. EHC causa una alta mortalidad en los animales domésticos y salvajes, adultos y jóvenes como ya se ha indicado, puesto que los individuos infectados con el virus sucumben a las 48-72 horas después de la infección. La enfermedad sólo es mortal en el caso del conejo, ninguna otra especie es fatalmente susceptible a la enfermedad (Abrantes et al., 2012).

1.3.3.2 Síntomas de la enfermedad hemorrágica

La enfermedad se caracteriza por una hepatitis necrotizante aguda, pero también pueden encontrarse hemorragias en otros órganos, como los pulmones, el corazón y los riñones debido a una coagulación intravascular diseminada. La transmisión del virus puede ocurrir por contacto directo o indirecto y a través de cualquier vía – oral, intranasal, intramuscular e intravenosa –. Sin embargo, la vía de infección más común es la oral (asociada a tasas de mortalidad más elevadas), seguida de la infección de la conjuntiva y de las vías respiratorias y por último a través del contacto con la piel. La transmisión del virus a grandes distancias puede deberse, según algunos investigadores, a pulgas y mosquitos que se hayan alimentado de individuos portadores del virus. También es posible que otras especies de huéspedes que no son susceptibles a la EHC puedan transmitir el virus de forma pasiva – depredadores y necrófagos pueden actuar como reservorios después de ingerir carne infectada –. El virus puede encontrarse activo en las heces de estos animales, debido a su elevada resistencia a pH ácido y a la acción de enzimas digestivas. De hecho, se ha probado que el zorro (*Vulpes vulpes*), uno de los depredadores del conejo de monte, no es susceptible a la infección por el *calicivirus*, lo

que lleva a algunos investigadores a suponer que este carnívoro tuvo un papel importante en la diseminación del virus durante las primeras epizootias (Roy et al., 2016; Leighton et al., 1995).

El período de incubación de la enfermedad oscila de 1 a 3 días, los conejos suelen sucumbir entre 12 - 36 horas después de la aparición de fiebre ($> 40\text{ }^{\circ}\text{C}$). Los animales pueden manifestar tres cursos diferentes de la enfermedad según sea la evolución clínica de esta:

- Forma hiperaguda. Los animales no muestran signos de la enfermedad y mueren de repente.
- Forma aguda. Los síntomas de la manifestación aguda son anorexia, apatía y congestión, así como signos de daño neurológico. También puede aparecer parálisis y ataxia. En ocasiones también aparecen signos respiratorios, como traqueítis, disnea y cianosis; y una secreción espumosa y nasal sanguinolenta; lagrimeo, hemorragias oculares y epistaxis (ver figura 1.14).
- Forma subaguda. Presenta síntomas similares que la forma aguda pero más leves y la mayoría de los conejos infectados con la forma subaguda sobreviven. Una ventaja de que los conejos pasen la enfermedad en esta forma es que desarrollan anticuerpos contra VEHC, que les confieren protección contra la reinfección.



Figura 1.14. Conejo, epistaxis severa. Fuente: Spickler (2007).

El hígado (ver figura 1.15), el pulmón (ver figura 1.16) y el bazo (ver figura 1.17) son los tejidos diana de VEHC. Se pueden ver en varios órganos (pulmones, corazón y riñones) hemorragias y congestiones por una coagulación intravascular diseminada masiva que suele causar la muerte del animal. La enfermedad provoca un agotamiento de los linfocitos B y T en el hígado y el bazo, lo que provoca el deterioro de la respuesta inmune finalizando en la muerte del conejo a los 2-3 días. Por el contrario, los conejos que presentan resistencia a la enfermedad desarrollan inmunoglobulinas IgM, IgA e IgG, ofreciendo una respuesta inmunitaria eficaz.



Figura 1.15. Hígado de conejo afectado por el virus hemorrágico. El área pálida es una necrosis del órgano. Fuente: Spickler (2007).



Figura 1.16. Pulmones de un conejo afectado por el virus hemorrágico. La tráquea está con espuma, y los pulmones están moteados y no colapsados (edema pulmonar severo). Fuente: Spickler (2007).



Figura 1.17. Bazo de conejo afectado por el virus hemorrágico. El bazo esta marcadamente agrandado y congestionado. Fuente: Spickler (2007).

1.3.3.3 Prevención, control y vacunación contra la enfermedad hemorrágica

Existe una terapia que ha demostrado que actúa con éxito en situaciones de emergencia, se adquiere una inmunidad pasiva en conejos que presenten la enfermedad con signos subclínicos o sin signos clínicos. Esta terapia consiste en la inoculación de un antisuero hiperinmune, que confiere una protección a corto plazo y la prevención de la muerte. Sin embargo, esta terapia no es eficaz en animales que presentan signos clínicos, por lo que, hasta el momento no existe cura para los conejos moribundos infectados con VEHC.

Actualmente, la prevención y el control de la enfermedad son de suma importancia, y se lleva a cabo por medidas de bioseguridad como la vacunación. Debido a la falta de un sistema de cultivo celular eficiente para la replicación del virus, las vacunas comerciales de VEHC se producen a partir de tejidos de conejos infectados experimentalmente, seguido de su inactivación. Aunque las vacunas disponibles en el mercado han demostrado ser eficaces en sistemas de cría convencional, en las poblaciones de conejos salvajes las campañas de vacunación son económicamente y logísticamente inviables y sus efectos se consideran insignificantes. La administración de las vacunas a conejos silvestres implica la captura y manipulación de éstos, la interacción con los conejos silvestres les provoca estrés y este factor podría aumentar las tasas de mortalidad. La eficiencia en la inmunización contra esta enfermedad en el conejo silvestre podría verse mejorada con el desarrollo y la administración de vacunas con capacidad de transmisión horizontal, vacunas que se pudieran administrar por vía oral o nasal, o la fabricación de vacunas bivalentes.

Las medidas de bioseguridad para el control y prevención de la enfermedad hemorrágica del conejo, incluida la vigilancia, el saneamiento, desinfección y cuarentena, como ya se ha comentado, son de gran importancia para limitar la propagación y para asegurar la prevención de la enfermedad, en particular en la cría industrial del conejo. En países como el nuestro (España) donde nos podemos encontrar conejos silvestres infectados con VEHC, estas medidas podrían impedir la infección en criaderos, y evitar sus consecuencia negativas sobre la rentabilidad de las explotaciones (Rosell, 2000).

1.4. EL CONEJO COMO MODELO ANIMAL EN LAS INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS

El conejo es un modelo de investigación para enfermedades humanas más interesante que los ratones, esto se debe a que existe una menor divergencia en la secuencia de bases del gen IL17A entre el conejo europeo y la especie humana (Neves et al., 2015). En los lepóridos, la proteína IL17A ha sido implicada en la defensa del huésped contra patógenos extracelulares, como la *Francisella tularensis* que infecta liebres y conejos y causa la enfermedad zoonótica tularemia (ver figura 1.7.). Ello refuerza la hipótesis de que el conejo europeo podría ser un modelo animal para estudios de inmunología innata en humanos. Además, el conejo es relativamente barato en su adquisición, alojamiento y mantenimiento en comparación con los modelos que emplean animales más grandes (Bosze et al. 2006). Por otro lado, es una especie fácil de criar y de manejar, y es un modelo bien establecido en términos de ser reconocido por la comunidad científica y órganos reguladores de medicamentos. Los conejos son, en cuestión evolutiva, más cercanos a los primates que los roedores y ofrecen además un fondo genético más diverso que las cepas de roedores consanguíneos y exógenos disponibles en el mercado, lo que hace que el modelo se aproxime más a los humanos. Además, la genómica del conejo y la proteómica están avanzando rápidamente, ello ha permitido la creación y caracterización de varias líneas transgénicas que ya están disponibles comercialmente.

Por otro lado, ciertas investigaciones humanas no pueden ser adecuadamente modeladas en invertebrados o especies de roedores y en algunos casos, las características especiales de la anatomía y la fisiología del conejo lo hacen único y apropiado para el estudio de ciertas enfermedades humanas. Algunos de los campos para los cuales el conejo a menudo

sirve como un modelo experimental primario incluyen la aterosclerosis, la osteoartritis, la oftalmología, enfermedades infecciosas como la tuberculosis o cognitivas como el Alzheimer.

1.5. APLICACIONES TERAPÉUTICAS DE LOS VIRUS EN HUMANOS

Los estudios realizados por Abrantes et al. (2012) y Spiesschaert et al. (2011), al profundizar en el conocimiento del MYXV y VEHC, han abierto la posibilidad de su utilización en el campo de la inmunoterapia contra el cáncer en humanos.

Si nos centramos en el MYXV este virus es inofensivo para otras especies diferentes a los lagomorfos, como ratones o humanos, pero su interés reside en que este virus actúa localizando y destruyendo células tumorales humanas. En este sentido, el equipo de Spiesschaert et al. (2011) ha demostrado que el MYXV es capaz de infectar una amplia variedad de líneas de células cancerosas humanas *in vitro*, y es un seguro y potente virus oncolítico *in vivo*. Rahman et al. (2013) aislaron la proteína M029 del MYXV, que es un factor de virulencia crítico en la mixomatosis en conejos. La importancia de esta proteína (M029) es que regula la replicación del virus en la célula. Observándose que los virus mutantes para la proteína M029 no son capaces de replicarse en diversas líneas celulares de cáncer en humanos. Cuando los virus mutantes se probaron en conejos, se observó una ausencia de la propagación viral y una reducción extrema en la replicación del virus en el sitio primario de la infección al estar extremadamente atenuada la expresión de la proteína M029. Después de la recuperación completa de los animales infectados con mutantes M029, se observó niveles muy variables de protección contra una posterior infección por MYXV. Aunque actualmente no sea muy eficaz en tratamientos terapéuticos en humanos, sí se puede aprovechar dicha proteína para prevenir la infección en conejos.

Por otro lado, Abrantes et al. (2012) afirman que mediante la manipulación del VEHC se pueden incorporar antígenos que pueden presentarse a células inmunes y provocar una respuesta inmune adecuada mediada por células humorales. Además, las partículas parecidas al virus de VEHC tienen la ventaja de ser fáciles de producir por su bajo coste y, al provenir de un virus no humano, no son susceptibles a anticuerpos neutralizantes preexistentes, proporcionando así una herramienta molecular fiable para aplicaciones terapéuticas.

1.6. EL SISTEMA INMUNE. LA DEFENSA DEL CUERPO CONTRA UNA INFECCIÓN

Para entender la reacción que experimenta el sistema inmune del conejo primero tenemos que estudiar las herramientas que utiliza para combatir la enfermedad. La sangre contiene células blancas o inmunes, para combatir la infección, y glóbulos rojos, para transportar oxígeno a los tejidos y órganos. En la serie blanca nos encontramos cinco tipos diferentes de leucocitos, cada uno con funciones específicas. Se pueden dividir en dos tipos principales: los **granulocitos** y **agranulocitos**.

Los **granulocitos** se producen en la medula ósea y tienen pequeños gránulos de material dentro de sus membranas celulares, que desempeñan un papel importante en su función, ya que las células pueden liberar los gránulos para matar las bacterias, hongos y otros invasores. Hay tres tipos de granulocitos: neutrófilos, eosinófilos y basófilos.

Neutrófilos (NEU) (ver figura 1.18), tienen forma globular, aunque ésta cambia con el movimiento. Miden de 9 a 12 μm de diámetro. Su núcleo es heterocromático y posee de tres a cinco lóbulos, lo que le da un aspecto polinuclear. Los neutrófilos poseen los orgánulos celulares habituales: complejo de Golgi, retículo endoplasmático rugoso, ribosomas, mitocondrias, microtúbulos y microfilamentos. Su función primordial consiste en colaborar con los linfocitos para defender al cuerpo de las infecciones bacterianas y micóticas siendo el primer tipo de célula inmune que responde y llega al sitio de la infección. El neutrófilo tiene una vida útil de unos tres días. Su papel en la respuesta inmunitaria es eliminar por fagocitosis y digestión lisosomática las bacterias y otros agentes infecciosos (o sus antígenos), que han activado dicha respuesta (Paniagua et. al, 2007). En conejos sanos, representan aproximadamente el 20-40% de todos los glóbulos blancos de la sangre. El rango normal para el recuento de neutrófilos es de 1.490 a 3.210 células/ μl en animales adultos (Lester et al., 2005).

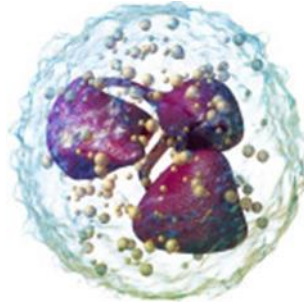


Figura 1.18. Representación de un neutrófilo. Fuente: Colaboradores de Wikipedia (<https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Neutrophil&oldid=777745748>)

Eosinófilos (EOS) (ver figura 1.19), tienen aspecto globular, miden de 10 a 14 μm . El núcleo es algo menos heterocromático que el de los neutrófilos y presentan un par de lóbulos unidos por un puente grueso, lo que le da un aspecto de gafas antiguas. Muchos parásitos, como los helmintos, provocan la formación de anticuerpos IgE. Los eosinófilos, que poseen receptores para el fragmento Fc de la IgE, se unen al parásito y lo eliminan mediante la secreción del contenido de sus gránulos. Los eosinófilos no fagocitan bacterias, endocitan complejos antígeno-anticuerpo, evitando que estos complejos se unan al complemento y desencadenen una reacción tisular. También intervienen en fenómenos anafilácticos donde los basófilos liberan factores quimiotácticos (fenómeno por el cual bacterias y células uni o pluricelulares dirigen sus actuaciones por la concentración de diferentes sustancias químicas en el medio donde se encuentren) que atraen a los eosinófilos, y éstos segregan histaminasa, que contrarresta los efectos inflamatorios de la histamina (Paniagua et. al., 2007). En conejos sanos, representan aproximadamente 2-3% de todos los glóbulos blancos de la sangre. El rango normal para el recuento de eosinófilos es de 100-150 células/ μl en animales adultos (Lester et al., 2005).

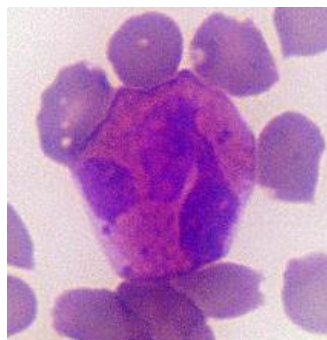


Figura 1.19. Imagen de un eosinófilo de conejo. Fuente: Lester et al. (2005).

Basófilos (BAS) (ver figura 1.20), no parece que estén presentes en todos los vertebrados; de hecho, no se han descrito en algunos mamífero como el ratón, rata y gato. En el conejo suelen alcanzar tamaños similares a los eosinófilos. Su núcleo es menos heterocromático que el de los eosinófilos y es redondeado, de contorno algo irregular. Los basófilos intervienen en reacciones de anafilaxia ante ciertos antígenos denominados *alérgenos*, que son sustancias químicas como pólenes y polvo unidas a proteínas. Por lo que se relacionan con procesos de alergias. Los linfocitos producen IgE que se unen a ellos, como reacción frente a estos antígenos. A su vez, los basófilos se unen a la IgE mediante receptores de su superficie celular para el fragmento Fc de estas inmunoglobulinas. Esta unión libera el contenido de los gránulos, lo que produce la reacción de anafilaxia. Los basófilos también colaboran con los neutrófilos. No son fagocíticos; simplemente endocitan complejos antígeno-anticuerpo (Paniagua et al., 2007). En conejos sanos, representan aproximadamente 1-4% de todos los glóbulos blancos de la sangre. El rango normal para el recuento de basófilos es de 60-360 células/ μ l en animales adultos (Lester et al., 2005).

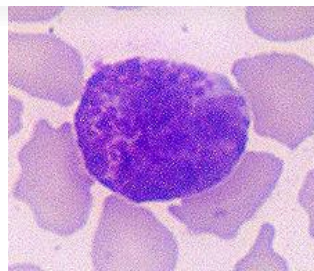


Figura 1.20. Imagen de un basófilo de conejo. Fuente: Lester et al. (2005).

Los **agranulocitos**, también conocidos como **leucocitos mononucleares**, son las células blancas de la sangre con un núcleo lobulado. Se caracterizan por la ausencia de gránulos en su citoplasma y en conejo representan el 60-80% de todas las células blancas de la sangre. Un aumento de su número es una indicación de las infecciones virales y las

condiciones inflamatorias crónicas. Los dos tipos de agranulocitos en la circulación de la sangre son los linfocitos y los monocitos.

Linfocitos (LYM) (ver figura 1.21.), son los leucocitos más pequeños, miden unos 8 μm . Poseen un núcleo esférico heterocromático, con nucléolo poco visible, y escaso citoplasma. Existen dos tipos de linfocitos: linfocitos B y T, éstos linfocitos son células vírgenes, que no han tenido contacto con el antígeno. Los linfocitos B forman folículos en los ganglios linfáticos y en el bazo, mientras que los linfocitos T se asientan en la zona paracortical profunda de los ganglios y en las vainas periarteriales del bazo (Paniagua et al., 2007). En conejos sanos, representan aproximadamente 60-75% de todos los glóbulos blancos de la sangre. El rango normal para el recuento de linfocitos es de 3.360 a 7.000 células/ μl en animales adultos (Lester et al., 2005).

Monocitos (MON) (ver figura 1.21.), miden de 10 a 15 μm , son redondeados y tienen más citoplasma que los linfocitos. El núcleo es arriñonado y menos heterocromático que el de los linfocitos. Algunos monocitos viajan a los tejidos del cuerpo, fuera de la corriente sanguínea. Cuando hacen esto, se transforman y se convierten en macrófagos. La función de un macrófago es similar a la de un monocito (Paniagua et al., 2007). Los monocitos comparten con los neutrófilos la función de fagocitosis, pero viven un tiempo mucho más largo. En conejos sanos, representan aproximadamente 1-5% de todos los glóbulos blancos de la sangre. El rango normal para el recuento de monocitos es de 50 a 450 células/ μl en animales adultos (Lester et al., 2005).

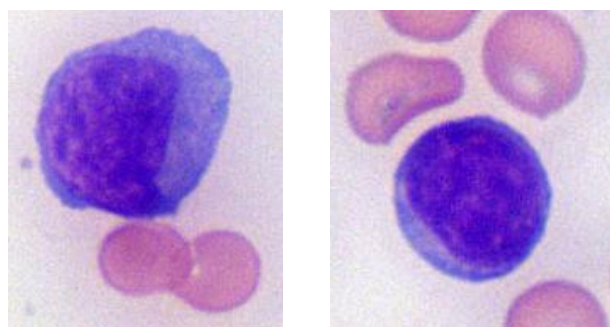


Figura 1.21. Imagen de un monocito y un linfocito de conejo. Fuente: Lester et al. (2005)

Dentro de la serie roja se definen los siguientes parámetros:

Hemoglobina (Hg), pigmento rojo contenido en los hematíes de la sangre de los vertebrados, cuya función consiste en captar el oxígeno de los alveolos pulmonares y comunicarlo a los tejidos, y en tomar el dióxido de carbono de estos y transportarlo de nuevo a los pulmones para expulsarlo (OUP, 2017)

Hematocrito (HCT), volumen de los glóbulos rojos con relación al total de la sangre; se expresa de manera porcentual (OUP, 2017). Esta medición depende del número de glóbulos rojos y de su tamaño.

Volumen corpuscular medio (VCM), corresponde al promedio del volumen de cada eritrocito, y es un parámetro estable en el tiempo (Torrens, 2015).

Hemoglobina corpuscular media (HCM), es una medida de la masa de la hemoglobina en un glóbulo rojo (Torrens, 2015).

Concentración media de hemoglobina corpuscula (CHCM), representa la concentración de hemoglobina en un volumen determinado de glóbulos rojos. Se expresa en porcentaje (Torrens, 2015).

Distribución de los glóbulos rojos (RDWc), mide el grado de anisocitosis; es decir la heterogeneidad en los tamaños celulares de los glóbulos rojos (Romero et al., 1999).

Dentro de la serie plaquetaria se analizan los siguientes parámetros:

Plaquetas (PLT) (ver figura 1.22.), son componentes exclusivos de los mamíferos. Tienen forma biconvexa y contorno oval, miden unos 3 μm . Son pequeños fragmentos del citoplasma de su célula precursora (*megacariocito*), rodeados de membrana, sin núcleo y con diversas granulaciones. Las plaquetas intervienen en el mecanismo de la *hemostasia* (coagulación), (Paniagua et al., 2007).

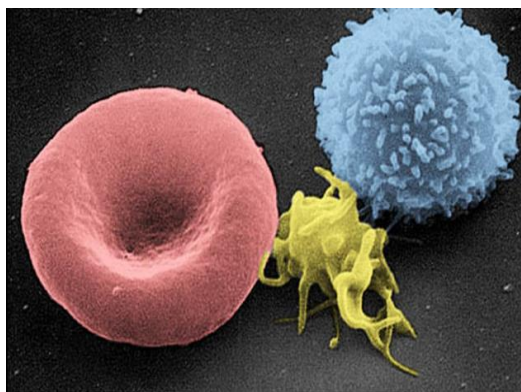


Figura 1.22. Imagen tomada de un microscopio electrónico de un hematíe, plaqueta y linfocito T. Fuente: Colaboradores de Wikipedia (<https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Plaqueta&oldid=99151341>)

Plaquetocrito (PCT), es un análogo al hematocrito que indica el volumen plaquetar con respecto al volumen total de sangre (Gutiérrez-Romero et al., 2013).

Volumen plaquetario medio (MPV), medición geométrica del tamaño de las plaquetas y tiene una relación inversa con el número de éstas. Es un indicador de la activación plaquetaria (Gutiérrez-Romero et al., 2013).

Índice de dispersión de plaquetas (PDWc), mide la anisocitosis plaquetaria; es decir si existen grandes diferencias de tamaño entre unas plaquetas y otras. Se expresa en porcentaje (Melo et al., 2012).

El sistema inmune de los animales reacciona a diversos estímulos exógenos por los cambios de la reactividad del sistema inmune. Un funcionamiento óptimo del sistema inmune y el equilibrio inmunorregulador dependen de una interferencia mutua entre las reacciones inmunes. Una disminución de la reactividad del sistema inmune después de la influencia de factores exógenos puede resultar en inmunosupresión, es decir, disfunción inmune permanente o temporal que conduce a una susceptibilidad aumentada de organismos a agentes patógenos (Mojziso va et al., 2012). La tabla 1.1. muestra los valores de referencia de un hemograma y una bioquímica en conejo y perro.

Tabla 1.1. Parámetros serológicos normales en conejo y perro.

Hemograma		
	<i>Conejo</i>	<i>Perro</i>
RBC (m/mm ³)	5,8	ND
Hb (g/dl)	11,99	12-18
HCT (%)	38,02	37-55
MCV (fl)	65,58	60-77
MCH (pg)	20,61	19,5-24,5
MCHC (g/dl)	31,53	32-36
RDW (%)	10,81	ND
PLT (m/mm ³)	260,5	200-900
PCT (%)	0,09	ND
MPV (fl)	6,74	ND
PDW (%)	6,77	ND
WBC (m/mm ³)	9,59	ND
LYM (%)	60-80	12-30
MON (%)	1-9	3-10
NEU (%)	20-35	60-70
EOS (%)	0,1-2	2-10
BAS (%)	2-5	0-1
<i>Análisis bioquímico en sangre</i>		
BUN (mg/dl)	20,87	ND
GOT (U/l)	29,06	Hasta 60
TP (g/dl)	4,6	5,3-7,8
Albumina (g/dl)	2,91	3,1-4,6
Urea (mg/dl)	29,28	20-120
Colesterol (mg/dl)	48,66	140-210
<i>Parámetros inmunes</i>		
Lisozimas (µg/ml)	5,64	ND

ND = No disponible; RBC = Recuento de glóbulos rojos; Hb = Hemoglobina; HCT = Hematocrito; MCV = Volumen corpuscular medio; MCH = Hemoglobina corpuscular media; MCHC = Concentración media de hemoglobina corpuscular; RDW = Intervalo de distribución de eritrocitos; PLT = Plaquetas; PCT = Plaquetocrito; MPV = Volumen plaquetario medio; PDW = Distribución del volumen plaquetario; WBC = Recuento de glóbulos blancos; LYM = linfocitos; MON = monocitos; NEU = neutrófilos; EOS = eosinófilos; BAS = basófilos; BUN = Nitrógeno ureico en sangre; GOT = Transaminasa glutámico oxalacética; TP = Total proteína. Fuente: Dabbou et al. (2015), Lab9dejulio.com.ar (http://www.lab9dejulio.com.ar/informacion-tecnica/parametros-hematologicos-y-bioquimicos-sericos-de-distintas-especies_a289)

1.7. TIPOS DE VACUNAS

Las vacunas constituyen la mejor medida preventiva contra las enfermedades, siempre que se apliquen racionalmente, en la edad adecuada y repetidas con regularidad. Actualmente, hay distintas estrategias en la fabricación de las vacunas, basadas tanto en la información que hay disponible sobre los gérmenes que previene la vacuna, como de la forma en que infecta las células y cómo responde el sistema inmunológico a ella. Hoy en día hay cinco tipos principales de vacunas (NIAID, 2013):

Las vacunas **vivas y atenuadas**. Estas vacunas contienen una versión del virus vivo que se ha debilitado para que no cause enfermedad grave con sistemas inmunes saludables (NIAID, 2013).

Las vacunas **inactivadas**. Estas vacunas se producen inactivando o matando al virus. Las vacunas inactivadas producen respuestas inmunes diferentes que las vacunas vivas atenuadas. Lo más normal es que se necesiten dosis múltiples para acumular y/o mantener la inmunidad (NIAID, 2013).

Las vacunas **toxoides**. Estas vacunas previenen enfermedades causadas por bacterias que producen toxinas en el cuerpo. Las toxinas se debilitan para que no puedan causar enfermedad. En la fabricación de estas vacunas, las toxinas debilitadas son llamadas toxoides. Cuando el sistema inmunológico recibe una vacuna que contiene un toxoide, aprende a combatir la toxina natural (NIAID, 2013).

Las vacunas de **subunidades** incluyen sólo partes del virus o bacterias, o subunidades, en lugar de todo el germen. Debido a que estas vacunas contienen sólo los antígenos esenciales y no todas las otras moléculas que componen el germen, los efectos secundarios son menos comunes (NIAID, 2013).

Las vacunas **conjugadas** combaten a bacterias que tienen antígenos con un revestimiento exterior de polisacáridos. Este tipo de revestimiento disfraza el antígeno, lo que dificulta que un sistema inmunitario inmaduro lo reconozca y responda a él (NIAID, 2013).

En el Real Decreto 1547/2004, podemos consultar las normas de ordenación de las explotaciones cunícolas, en donde se establece que el ganadero tendrá que llevar a cabo un programa sanitario encaminado al control de la MYXV y la EHC.

En la tabla 1.2. se muestran las vacunas aprobadas en España para combatir la MYXV y la EHC. Como podemos observar hay vacunas exclusivas para cada enfermedad, pero también hay vacunas que estimulan la respuesta inmunológica a las dos enfermedades.

Tabla 1.2. Vacunas proporcionadas por laboratorios dentro del territorio Español contra la MYXV y la EHC.

<i>Nombre del producto</i>	<i>Tipo</i>	<i>Cepa</i>	<i>Contra</i>	<i>Laboratorio</i>
CUNIPRAVAC®RHD	Inactivada	3116-AP	EHC	
ERAVAC® (nueva variante)	Inactivada	V-1037	EHC	HIPRA
MIXOHIPRA FSA	Atenuada	-	MYXV	
MIXOHIPRA® H	Atenuada	VMI30	MYXV	
ARVILAP	Inactivada	LO1	EHC	
NOVARVILAP (nueva variante)	Inactivada	GU2013	EHC	Laboratorios Ovejero
POX-LAP	Atenuada	LEÓN 162	MYXV	
CYLAP HVD	Inactivado	Sobrino	EHC	Zoetis
DERVAXIMYXO	Atenuado	SG33	MYXV	
DERCUNIMIX	Atenuada	SG33	MYXV	Merial España
	Inactivada	AG88	EHC	

Fuente: elaboración propia.

La vacuna proporcionadas por HIPRA frente a la EHC (CUNIPRAVAC®RHD) proporciona inmunidad a los 6 días después de la vacunación y dura 12 meses. Se administra por vía subcutánea (0'5 mL/conejo) y el plan de vacunación recomendado es:

- Conejos reproductores a los 2 meses de edad. Revacunar una vez al año.
- Conejos de engorde a partir de los 30 días de edad. De presentarse la enfermedad, es aconsejable vacunar al destete.

Actualmente ha aparecido una nueva variante de EHC (RHDV-2), por lo que HIPRA tienen otra variante de la vacuna (ERAVAC®). Tras la vacunación, la inmunidad aparece a los 7 días. Se administra por vía subcutánea (0'5 mL/conejo), y el plan de vacunación recomendado es:

- Conejos de engorde a partir de los 30 días de edad.

También HIPRA posee dos tipos de vacuna contra la MYXV. Una de ellas es una vacuna atenuada heteróloga (MIXOHIPRA FSA) y la otra es una vacuna atenuada homóloga (MIXOHIPRA[®] H). Hay dos formas de administración para estas vacunas, por vía subcutánea (0,5 mL/conejo) y por vía intradérmica (1 mL/conejo). Respecto, al plan de vacunación:

- Se recomienda vacunar a los conejos reproductores a los 2,5 meses de edad, preferiblemente en primavera u otoño y revacunar cada 6 meses.
- Y a los conejos de engorde a los 30 días de edad.

La vacuna queda interferida con la inmunidad pasiva, que desaparece a los 25-30 días de vida. Por este motivo no es aconsejable vacunar conejos de menos de 30 días de edad.

Los Laboratorios Ovejero también tienen una vacuna contra la EHC (ARVILAP) que se administra por vía subcutánea (1mL/conejo), y sus recomendaciones son:

- Vacunar a los conejos reproductores a los 2 meses de edad. Recuerdo cada año.
- Y aconsejable vacunar a los conejos de engorde al destete.

Estos laboratorios también tienen vacuna frente a la nueva variante de la EHC (NOVARVILAP) que se administra por vía subcutánea (0,5mL/conejo):

- Los gazapos nacidos de madres vacunadas presentan inmunidad a los 15 días de vida y durante al menos 2 meses.

La vacuna proporcionada por los Laboratorios Ovejero contra la MYXV (POX-LAP), se debe de administrar por vía subcutánea (0,5mL/conejo). Sus recomendaciones son:

- Vacunar a los reproductores a las 4 semanas de edad o 10-12 semanas de edad, y dar una dosis de recuerdo cada 4 meses.
- Los conejos de engorde vacunar a las 4 semanas de edad.

El laboratorio Zoetis España tiene una vacuna contra la EHC (CYLAP-HVD) que se administra por vía subcutánea (1 mL/conejo). Sus recomendaciones son:

- Vacunar los conejos reproductores a los 2,5-3 meses de edad. Revacunar cada 12 meses.

Finalmente, los Laboratorios Merial ofrecen una vacuna para combatir solo la MYXV (DERVAXIMYXO), y otra que actúa frente a la MYXV y a la EHC (DERCUNIMIX). DERVAXIMYXO se administra por vía intradérmica (0,10 mL/conejo), y sus recomendaciones son:

- Vacunar a los conejos reproductores a las 4 semanas de edad. Revacunar 6 semanas después y a partir de la primera revacunación cada 4 meses.
- Y a los conejos de engorde a las 4 semanas de edad.

La inmunidad se inicia a los 7 días de vacunación. Esta inmunidad persiste hasta el final del periodo de engorde y hasta 4 meses después de haber completado el calendario de vacunación.

Respecto a la vacuna DERCUNIMIX, ésta se administra por vía intradérmica (0,20 mL/conejo), y se recomienda:

- Vacunar a los conejos reproductores a las 10 semanas de edad, después de la primera vacuna contra la MYXV. Recuerdo cada 12 meses para ambas enfermedades.

2. OBJETIVO

Se dispone de dos líneas de conejos seleccionadas divergentemente por variabilidad en tamaño de camada. Después de diez generaciones de selección, las líneas divergieron en más de 1.5 gazapos al cuadrado al parto. La hipótesis de trabajo es que las hembras que se adaptan peor al ambiente tienen una mayor sensibilidad a las enfermedades y al estrés, y como consecuencia muestran una mayor variabilidad en el tamaño de la camada.

El objetivo de este estudio es analizar el efecto de la selección por variabilidad en tamaño camada sobre la respuesta inmunitaria del animal a las enfermedades.

Las vacunas son un método de lucha contra las enfermedades infecciosas, éstas recrean la enfermedad sin producir la infección, y de esta manera estimulan el sistema inmunitario para que desarrolle defensas que actuarán en el momento en que se contacte con el microorganismo que produce la infección y la enfermedad; es decir, la vacunación del animal puede ayudarnos a medir su respuesta a enfermar.

Por ello, en este trabajo se analizarán las diferencias en los componentes de la serie blanca, roja y plaquetaria entre los animales de la línea de alta (A) y de baja variabilidad para el tamaño de camada (B), tras su vacunación con el virus de la mixomatosis y el de la enfermedad hemorrágica del conejo.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. INSTALACIONES

Los animales utilizados en este experimento se alojaron en la Granja Docente de Conejos de la Universidad Miguel Hernández de Elche, ubicada en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (EPSO). En la figura 3.1 se muestra una vista exterior de dicha granja.



Figura 3.1. Vista exterior de la granja de conejos. Fuente: tecnoagro.umh.es

La granja de conejos está formada por dos naves, la nave 1 es donde se encuentran los animales objeto del presente estudio, y la nave 2 en donde podemos encontrar los animales de cebo y los animales de reposición de la nave 1. Entre las dos naves hay una zona común por donde se accede a las dos naves. Anexa a las naves está el laboratorio en el cual se ha realizado la toma de muestras para su posterior análisis.

La nave 1 es la denominada Nave de maternidad, esta nave consta de 28 módulos de jaulas ergonómicas de tipo polivalente de acero galvanizado, estos módulos están dispuestos en 4 filas sobre los fosos de deyecciones de la nave, habiendo un pasillo entre cada fila. Cada módulo consta de 12 jaulas, 6 a cada lado. La numeración de cada fila y jaula permite la localización de los animales, a cada fila de jaulas se le ha asignado dos letras del alfabeto ya que constan de dos tiras de jaulas (ver figura 3.3.). La primera fila tiene la letra A (a la izquierda) y B (a la derecha), y a lo largo de la fila se empieza a numerar desde la jaula más próxima a la puerta de acceso a la nave hasta el final de la fila que corresponde al número 42 (ver detalles en la figura 3.2.).

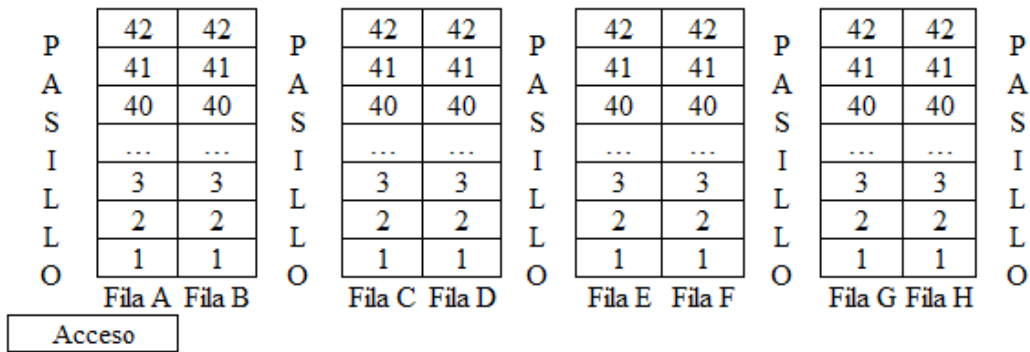


Figura 3.2. Distribución de los módulos de jaulas en la nave de maternidad. Fuente: elaboración propia.

La nave 2 se denomina Nave de cebo. Sus dimensiones son similares a la nave de maternidad. Las jaulas destinadas a animales de cebo se encuentran en la cabecera de la nave, detrás de éstas se encuentran las jaulas de reposición. Los animales de cebo se alojan en 20 módulos de iguales dimensiones que los de la nave de maternidad, en la zona de reposición hay 216 jaulas, de las que 120 son jaulas polivalentes de reposición/gestación y las 96 jaulas restantes son solo de reposición. En cuanto a la numeración de las filas, las de cebo solo tienen dos letras y las de reposición tienen cuatro letras (ver figura 3.4.). Las filas se empiezan a numerar desde la zona más alejada a la puerta de acceso a la nave.



Figura 3.3. Vista interior de la nave de cebo. Fuente: tecnoagro.umh.es

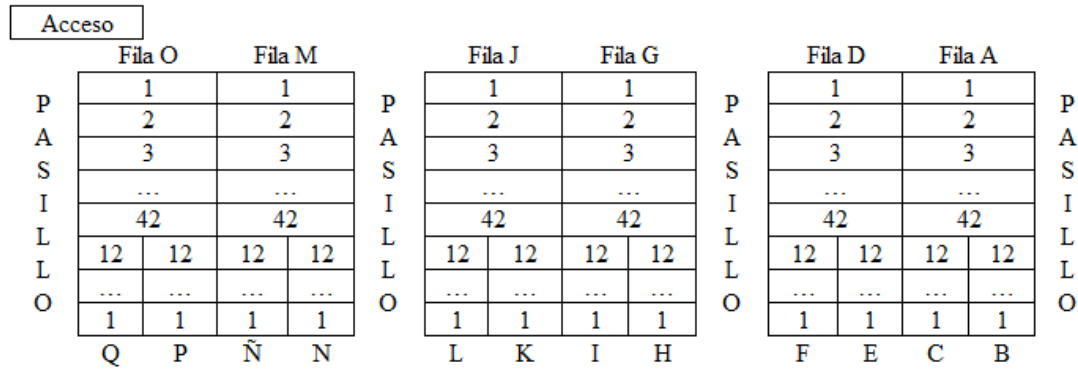


Figura 3.4. Disposición de las jaulas de la Nave de cebo. Fuente: elaboración propia.

En cada jaula hay un bebedero de tipo chupete que está conectado a un depósito auxiliar ubicado en la cabecera de la fila, a través de una conducción que recorre toda la fila (ver figura 3.3.). Dichos depósitos están conectados a la red general de agua potable. Las jaulas también disponen de unos comederos que diariamente se rellenan con ayuda de unas tolvas correderas semiautomáticas, éstas dejan caer el pienso a cada comedero que es compartido por cuatro jaulas. En las zonas de reposición la administración de la comida se realiza de forma manual, ya que el sistema de tolvas correderas no llega a estas jaulas.

Las dos naves tienen un ambiente controlado que consta de:

- Un sistema de iluminación artificial con un fotoperiodo constante de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad, para lograr que la luz sea uniforme en toda la nave hay 12 focos halógenos, distribuidos en 3 filas paralelas a las jaulas. Este sistema está conectado a un temporizador que controla las horas de encendido y apagado.
- Un sistema de ventilación de tipo forzado de barrido lateral. El aire entra por el lateral de la nave atravesando 4 paneles húmedos tipo ‘cooling’, cuyas medidas son 0,85m x 1,20m, en la nave 1 y de 1,35m x 1,20m en la nave 2. En la cara opuesta de los paneles están situados 4 ventiladores que extraen el aire de cada una de las naves, estos ventiladores se regulan de forma automática dependiendo de la temperatura ambiental.

Las naves disponen de una fosa de deyecciones situada debajo de las jaulas. La retirada del estiércol se realiza tres veces por semana mediante un sistema mecánico de palas de arrastre accionadas eléctricamente por un motor. Las palas empujan el estiércol

acumulándolo en la fosa al exterior de las naves, desde donde será retirado con la ayuda de un tractor.

3.2. MATERIAL ANIMAL Y SU MANEJO

Los conejos utilizados en este estudio pertenecieron a la generación once de un experimento de selección divergente por varianza residual del tamaño de camada. La varianza residual del tamaño de camada se estimó como la varianza fenotípica del tamaño de camada dentro de hembra después de corregirlo por los efectos del año-estación y el estado de lactación. El estado de lactación incluyó 3 niveles, hembras nulíparas, hembras no nulíparas con solape lactación-gestación y hembras no nulíparas sin solape lactación-gestación. La presión de selección en las hembras fue del 20% en cada una de las líneas. Los machos fueron elegidos dentro de familias de padre para evitar el incremento de la consanguinidad. El estudio constó de 108 hembras y 33 machos. La línea de alta variabilidad (línea A) tuvo 48 hembras y 17 machos, mientras que la línea de baja variabilidad (línea B) estuvo formada por 62 hembras y 16 machos. A las 18 semanas de vida, la mitad de los animales fueron vacunados contra la MYXV y la otra mitad contra la EHC. Se realizó una extracción seriada de sangre en todos los animales los días 0, 1, 2, 3, 4, 7 y 14 tras la vacunación. Antes de cada extracción de sangre los animales fueron:

- Pesados. Los animales se pesaron en una báscula adaptada a sus dimensiones, se colocaban en un recipiente, previamente tarado, y suficientemente alto para que el animal no se pudiera salir mientras se le tomaba el peso.
- Tomada su temperatura. Dentro del recipiente se les tomaba la temperatura de la oreja a los machos y de la vulva a las hembras. Se utilizaba un termómetro digital para ello, que era desinfectado con alcohol después de su uso con cada animal.
- Anotado su estado sanitario. A la vez que se realizaban las anteriores tareas se comprobaba si el animal tenía alguna herida o patología respiratoria/digestiva. Las heridas eran desinfectadas con Povidona Yodada (antiséptico).

La extracción de la muestra de sangre se realizó en la vena central de la oreja del animal siguiendo las recomendaciones de Morton et al. (1993), tal y como recoge la tabla 3.1. Para ello se introdujo al animal en una bolsa acolchada que limitaba sus movimientos, ya que al introducir la aguja éste se podía mover y evitar así causarle alguna herida.

Tabla 3.1. Lugares para la extracción de sangre en pequeños mamíferos.

<i>LUGARES DE EXTRACCIÓN</i>										
	<i>Cef</i>	<i>Alar</i>	<i>Oreja</i>	<i>Amp</i>	<i>Cocc</i>	<i>Orb</i>	<i>Yug</i>	<i>Fem</i>	<i>Card</i>	<i>Mam</i>
Perro	+++	-	-	-	-	-	+++	+	-	-
Conejo	-	-	+++	-	-	-	+	-	+/-	-
Cabra	+	-	-	-	-	-	+++	-	-	+
Oveja	+	-	-	-	-	-	+++	+	-	-
Cerdo	-	-	+	-	+	-	+++	-	-	-
Rata	-	-	-	+	+++	-	++	-	+	-
Ratón	-	-	+	+++	+	-	+/-			

- No recomendado; + Alternativa posible; ++ Vía aceptable; +++ Vía preferente; Cef = cefálica; Alar = vena braquial o del ala; Oreja = vena de la oreja; Amp = amputación de la extremidad del rabo (arteria y vena); Cocc = vena coccígea; Orb = seno venoso orbital; Yug = vena yugular; Fem = femoral; Card = corazón; Mamm = vena mamaria. Fuente: Morton et al. (1993).

Antes de proceder a la extracción se desinfectaba la zona con alcohol, la muestra se tomaba con una aguja del calibre de 18-22 pulgadas. El procedimiento fue el siguiente:

1. Se extraía 3 mL de sangre y se introducían en un tubo que contenía una solución anticoagulante de EDTA (vacutainer tapa lila). Se recomienda que los tubos tengan un anticoagulante, ya que la producción de suero sanguíneo es relativamente pobre y la obtención de elementos a partir del plasma puede ser de 20-25% superior a la del suero (Morton et al., 1993).
2. Se movía el tubo por inversión para homogeneizar la sangre y evitar que se formara un coágulo.
3. Se identifica la muestra con el número designado a cada animal.

Para que la oreja dejara de sangrar se presionaba con un algodón humedecido en alcohol hasta que la hemorragia cesaba.

Una vez recogidas las muestras, se realizó un hemograma completo de cada una de las muestras utilizando el analizador de hematología Abacus Junior Vet5 de la marca Diatron.

3.3. VARIABLES ANALIZADAS

En la serie blanca se analizaron:

- Glóbulos blancos totales (WBC, $10^9/L$).
- Linfocitos (LYM, $10^9/L$).
- Neutrófilos (NEU, $10^9/L$).
- Monocitos (MON, $10^9/L$).
- Eosinófilos (EOS, $10^9/L$).
- Basófilos (BAS, $10^9/L$).

En la serie roja se estudiaron:

- Glóbulos rojos totales (RBC, $10^{12}/L$).
- Hemoglobina (HGB, g/dL).
- Hematocrito (HCT, %).
- Volumen corpuscular medio (MCV, fL).
- Hemoglobina corpuscular media (MCH, pg).
- Concentración media de hemoglobina corpuscular (MCHC, g/dL).
- Distribución de los glóbulos rojos (RDWc, %).

Mientras en la serie plaquetaria se analizaron:

- Plaquetas (PLT, %).
- Plaquetocrito (PCT, %).
- Volumen plaquetario medio (MPV, fL).
- Índice de distribución plaquetaria (PDWc, $10^9/L$).

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

En este trabajo se han llevado a cabo tres estudios:

a) Estudio de los niveles basales de los componentes de la serie blanca, roja y plaquetaria al comienzo del experimento (día 0).

Se ha analizado si hubo diferencias al comenzar el experimento entre los individuos que i) finalizaron o no el experimento, ii) entre hembras y machos, y iii) entre los animales de

la línea de alta y de baja variabilidad en tamaño de camada para los diferentes componentes de la serie blanca, roja y plaquetaria. El modelo utilizado fue el siguiente:

$$y_{ijk} = \text{SUP}_i + \text{SEX}_j + \text{LIN}_k + e_{ijk}$$

Donde

y_{ijk} es la variable medida, SUP es el efecto de sobrevivir hasta el final del experimento (con dos niveles: los animales que llegaron al 14° día del experimento y los que no), SEX es el efecto de sexo (con dos niveles: hembra o macho), LIN es el efecto de línea (con dos niveles: animales de la línea de alta o de baja variabilidad para el tamaño de camada), y e es el error.

Estos análisis se realizaron con el procedimiento GLM del SAS (2017).

b) Estudio en la evolución de los componentes de la serie blanca de los animales que completaron el estudio vs los que no lo completaron.

La tabla 3.2 muestra la evolución en el número de bajas a lo largo del estudio.

Tabla 3.2. Número de bajas sufridas a lo largo del estudio.

Día	<i>No sobrevivieron</i>			
	Línea baja variabilidad		Línea alta variabilidad	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras
0	0	0	0	0
1	0	0	0	2
2	0	3	1	1
3	0	1	0	1
4	1	2	0	0
7	2	0	2	3
14	1	6	2	1
Total	4	12	5	8

Fuente: elaboración propia.

La mayor parte de los animales que no completan el experimento mueren en la primera semana del experimento. Por ello se analizó la evolución de los componentes de la serie blanca entre los animales que sobrevivían vs los que no, hasta el 7° día del experimento. El modelo utilizado fue:

$$y_{ijklm} = \text{SUP}_i + \text{SEX}_j + \text{LIN}_k + \text{VAC}_l + \text{DIA}_m + \text{SUP}_i * \text{DIA}_m + e_{ijklm}$$

Donde

SUP es el efecto de sobrevivir hasta el final del experimento (con dos niveles: los animales que llegaron al 14º día del experimento y los que no), SEX es el efecto de sexo (con dos niveles: hembra o macho), LIN es el efecto de línea (con dos niveles: animales de la línea de alta o de baja variabilidad para el tamaño de camada), VAC es el efecto del tipo de vacuna utilizado (con dos niveles: vacunación contra la mixomatosis o para la vírico hemorrágica), DIA es el efecto del día de extracción y e es el error.

Estos análisis se realizaron con el procedimiento GLM del SAS (2017).

c) Estudio de la evolución de los componentes de la serie blanca en las hembras que completaron el estudio.

Se analizó la evolución de los componentes de la serie blanca en las hembras de la línea de alta y de baja variabilidad en tamaño de camada a lo largo de los primeros 14 días tras su vacunación, y sí su respuesta a la vacuna fue diferente entre los animales vacunados contra la mixomatosis o la enfermedad vírico hemorrágica. Para ello se utilizó el modelo:

$$y_{ijk} = \text{LIN}_i + \text{VAC}_j + \text{DIA}_k + \text{LIN}_j * \text{VAC}_j * \text{DIA}_k + p_{ijkl} + e_{ijk}$$

Donde

LIN es el efecto de línea (con dos niveles: animales de la línea de alta o de baja variabilidad para el tamaño de camada), VAC es el efecto del tipo de vacuna utilizado (con dos niveles: vacunación contra la mixomatosis o para la vírico hemorrágica), DIA es el efecto del día de extracción (con siete niveles: día 0, 1, 2, 3, 4, 7 y 14 tras la vacunación), LIN*VAC*DIA es la interacción triple de línea por vacuna y día, p es el efecto permanente de hembra y e es el error.

Estos análisis se realizaron con el procedimiento MIXED del SAS (2017).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ESTUDIO DE LOS NIVELES BASALES DE LOS COMPONENTES DE LA SERIE BLANCA, ROJA Y PLAQUETARIA AL COMIENZO DEL EXPERIMENTO (DÍA 0)

La tabla 4.1. muestra la medias por mínimos cuadrados y su error estándar para la temperatura, el peso y los distintos componentes de la serie blanca, roja y plaquetaria, al inicio del experimento, entre los individuos que sobrevivieron y no sobrevivieron hasta el final del experimento.

Tabla 4.1. Diferencias entre los parámetros de la serie blanca, roja y plaquetaria entre los animales que sobrevivieron de los que no sobrevivieron.

<i>Variables, ud</i>	<i>Sobrevivieron</i>	<i>No sobrevivieron</i>	<i>P</i>
	LSMEAN±SE	LSMEAN±SE	
T ^a , °C	39,73±0,09	39,66±0,15	ns
Peso, g	3490±53	3456±94	ns
<i>Serie Blanca</i>			
WBC, 10 ⁹ /L	8,85±0,27	9,56±0,47	ns
LYM, 10 ⁹ /L	5,79±0,19	5,68±0,32	ns
NEU, 10 ⁹ /L	2,32±0,22	3,16±0,38	ns
MON, 10 ⁹ /L	0,25±0,02	0,29±0,03	ns
EOS, 10 ⁹ /L	0,40±0,06	0,35±0,10	ns
BAS, 10 ⁹ /L	0,09±0,005	0,09±0,01	ns
<i>Serie Roja</i>			
RBC, 10 ¹² /L	6,32±0,06	6,21±0,10	ns
HGB, g/dL	11,57±0,13	11,26±0,23	ns
HCT, %	38,18±0,37	37,68±0,64	ns
MCV, fL	60,43±0,36	60,64±0,62	ns
MCH, pg	18,31±0,13	18,12±0,23	ns
MCHC, g/dL	30,31±0,18	29,92±0,31	ns
RDWc, %	15,80±0,16	15,73±0,27	ns
<i>Serie Plaquetaria</i>			
PLT, %	322,84±13,72	357,29±23,38	ns
PCT, %	0,24±0,01	0,26±0,02	ns
MPV, fL	7,37±0,06	7,27±0,11	ns
PDWc, 10 ⁹ /L	32,69±0,20	32,74±0,34	ns

T^a: temperatura corporal, ns: no hay diferencias significativas, LSMEAN: medias de mínimos cuadrados, SE: error estándar, T^a: temperatura, WBC: glóbulos blancos totales, LYM: linfocitos, NEU: neutrófilos, MON: monocitos, EOS: eosinófilos, BAS: basófilos, RBC: glóbulos rojos totales, HGB: hemoglobina, HCT: hematocrito, MCV: Volumen corpuscular medio, MCH: Hemoglobina corpuscular media, MCHC: Concentración media de hemoglobina corpuscular, RDWc: distribución de los glóbulos rojos, PLT: plaquetas, PCT: plaquetocrito, MPV: volumen plaquetario medio, PDWc: índice de distribución plaquetaria. Fuente: elaboración propia.

Los animales utilizados en este estudio pertenecieron a un experimento de selección divergente por variabilidad del tamaño de camada, tal y como se ha descrito en el apartado de material y métodos de este trabajo. Los animales que no sobrevivieron al final del experimento mostraron un peso similar a los que lo completaron ($P > 0.05$). En ambos grupos, el peso se situó en torno a un valor de 3500 g (tabla 4.1). Atendiendo al peso, se puede considerar que los animales de este trabajo eran de formato mediano (Baselga et al., 1996). La temperatura fue similar en ambos grupos ($P > 0.05$), y está dentro del rango de valores encontrados en la bibliografía en animales sanos (de 39.3 °C a 40.5 °C, González et al., 1971). Tampoco, para el resto de variables analizadas en sangre, se encontraron diferencias al inicio de experimento entre los animales que completaron o no el ensayo (tabla 4.1). Los valores hallados están dentro del rango de valores encontrados en la bibliografía (Lab9dejulio.com.ar). Nuestros resultados indican que ambos grupos de animales iniciaron el experimento en las mismas condiciones sanitarias.

La tabla 4.2. muestra la medias por mínimos cuadrados y su error estándar para la temperatura, el peso y los distintos componentes de la serie blanca, roja y plaquetaria, al inicio del experimento, en hembras y machos. No hubo diferencias entre sexos para la temperatura y el peso corporal. En la serie blanca, los machos mostraron una mayor cantidad de glóbulos blancos totales ($9,97 \pm 0,45 \cdot 10^9/L$) que las hembras ($8,44 \pm 0,29 \cdot 10^9/L$, $P < 0.01$), debido a una mayor cantidad de linfocitos ($6,80 \pm 0,31 \cdot 10^9/L$ en machos vs. $4,67 \pm 0,20 \cdot 10^9/L$ en hembras, $P < 0.001$).

En la serie roja, hubo diferencias en los glóbulos rojos totales ($6,45 \pm 0,10 \cdot 10^{12}/L$ en machos vs. $6,08 \pm 0,06 \cdot 10^{12}/L$ en hembras, $P < 0.01$), en la hemoglobina ($11,86 \pm 0,22$ g/dL en machos vs. $10,97 \pm 0,14$ g/dL en hembras $P < 0.001$), en el hematocrito ($39,55 \pm 0,61$ % en machos vs. $36,32 \pm 0,39$ % en hembras $P < 0.001$), y en el volumen corpuscular medio ($61,25 \pm 0,59$ fL en machos vs. $59,81 \pm 0,38$ fL en hembras $P < 0.05$).

En la serie plaquetaria, también los machos mostraron mayores valores para el volumen plaquetario medio ($7,58 \pm 0,10$ fL en machos vs. $7,06 \pm 0,07$ fL en hembras, $P < 0.001$), y para el índice de distribución plaquetaria ($33,30 \pm 0,33 \cdot 10^9/L$ en machos vs. $32,13 \pm 0,21 \cdot 10^9/L$ en hembras, $P < 0.01$).

La bibliografía también muestra valores superior en los machos que en hembras para la cantidad de glóbulos blancos, glóbulos rojos, hemoglobina y volumen plaquetario (Faria et al., 2009)

Tabla 4.2. Diferencias entre los parámetros de la serie blanca, roja y plaquetaria entre hembras y machos.

<i>Variables, ud</i>	<i>Hembras</i>	<i>Machos</i>	<i>P</i>
	LSMEAN±SE	LSMEAN±SE	
T ^a , °C	39,77±0,09	39,63±0,14	ns
Peso, g	3468±56	3479±89	ns
<i>Serie Blanca</i>			
WBC, 10 ⁹ /L	8,44±0,29	9,97±0,45	**
LYM, 10 ⁹ /L	4,67±0,20	6,80±0,31	***
NEU, 10 ⁹ /L	3,06±0,24	2,42±0,37	ns
MON, 10 ⁹ /L	0,27±0,02	0,27±0,03	ns
EOS, 10 ⁹ /L	0,36±0,06	0,38±0,09	ns
BAS, 10 ⁹ /L	0,08±0,006	0,09±0,01	ns
<i>Serie Roja</i>			
RBC, 10 ¹² /L	6,08±0,06	6,45±0,10	**
HGB, g/dL	10,97±0,14	11,86±0,22	***
HCT, %	36,32±0,39	39,55±0,61	***
MCV, fL	59,81±0,38	61,25±0,59	*
MCH, pg	18,05±0,14	18,38±0,22	ns
MCHC, g/dL	30,20±0,19	30,03±0,29	ns
RDWc, %	15,96±0,17	15,58±0,26	ns
<i>Serie Plaquetaria</i>			
PLT, %	339,68±14,38	340,45±22,51	ns
PCT, %	0,24±0,01	0,25±0,02	ns
MPV, fL	7,06±0,07	7,58±0,10	***
PDWc, 10 ⁹ /L	32,13±0,21	33,30±0,33	**

T^a: temperatura corporal, ***: P<0.001, **: P<0.01, *: P<0.05, ns: no hay diferencias significativas, LSMEAN: medias de mínimos cuadrados, SE: error estándar, T^a: temperatura, WBC: glóbulos blancos totales, LYM: linfocitos, NEU: neutrófilos, MON: monocitos, EOS: eosinófilos, BAS: basófilos, RBC: glóbulos rojos totales, HGB: hemoglobina, HCT: hematocrito, MCV: Volumen corpuscular medio, MCH: Hemoglobina corpuscular media, MCHC: Concentración media de hemoglobina corpuscular, RDWc: distribución de los glóbulos rojos, PLT: plaquetas, PCT: plaquetocrito, MPV: volumen plaquetario medio, PDWc: índice de distribución plaquetaria. Fuente: elaboración propia.

La tabla 4.3. muestra la medias por mínimos cuadrados y su error estándar para la temperatura, el peso y los distintos componentes de la serie blanca, roja y plaquetaria, al inicio del experimento, entre la línea de baja (B) y de alta variabilidad (A) para el tamaño de camada. La temperatura corporal fue ligeramente superior en los animales de la línea

B que en los de la línea A ($39,84 \pm 0,10$ °C en la línea B vs. $39,55 \pm 0,12$ °C en la línea A, $P < 0,05$).

Tabla 4.3. Diferencias entre los parámetros de la serie blanca, roja y plaquetaria entre animales de la línea de baja variabilidad (línea B) y de la línea de alta variabilidad (línea A).

<i>Variables, ud</i>	<i>Línea B</i>	<i>Línea A</i>	<i>P</i>
	LSMEAN±SE	LSMEAN±SE	
T ^a , °C	39,84±0,10	39,55±0,12	*
Peso, g	3483±68	3464±71	ns
<i>Serie Blanca</i>			
WBC, 10 ⁹ /L	8,88±0,35	9,53±0,36	ns
LYM, 10 ⁹ /L	5,40±0,24	6,07±0,25	*
NEU, 10 ⁹ /L	2,76±0,28	2,72±0,29	ns
MON, 10 ⁹ /L	0,27±0,02	0,26±0,02	ns
EOS, 10 ⁹ /L	0,36±0,07	0,39±0,07	ns
BAS, 10 ⁹ /L	0,08±0,007	0,09±0,007	ns
<i>Serie Roja</i>			
RBC, 10 ¹² /L	6,44±0,08	6,10±0,08	***
HGB, g/dL	11,67±0,17	11,16±0,18	ns
HCT, %	38,84±0,47	37,03±0,49	**
MCV, fL	60,37±0,46	60,69±0,47	ns
MCH, pg	18,13±0,17	18,30±0,17	ns
MCHC, g/dL	30,06±0,23	30,17±0,24	ns
RDWc, %	15,95±0,20	15,58±0,21	ns
<i>Serie Plaquetaria</i>			
PLT, %	347,63±17,31	332,50±17,82	ns
PCT, %	0,26±0,01	0,24±0,01	ns
MPV, fL	7,39±0,08	7,25±0,08	ns
PDWc, 10 ⁹ /L	32,75±0,25	32,68±0,26	ns

T^a: temperatura corporal. ***: $P < 0,001$, **: $P < 0,01$, *: $P < 0,05$, ns: no hay diferencias significativas, LSMEAN: medias de mínimos cuadrados, SE: error estándar, T^a: temperatura, WBC: glóbulos blancos totales, LYM: linfocitos, NEU: neutrófilos, MON: monocitos, EOS: eosinófilos, BAS: basófilos, RBC: glóbulos rojos totales, HGB: hemoglobina, HCT: hematocrito, MCV: Volumen corpuscular medio, MCH: Hemoglobina corpuscular media, MCHC: Concentración media de hemoglobina corpuscular, RDWc: distribución de los glóbulos rojos, PLT: plaquetas, PCT: plaquetocrito, MPV: volumen plaquetario medio, PDWc: índice de distribución plaquetaria. Fuente: elaboración propia.

En la serie blanca, sólo la cantidad de linfocitos fue diferente entre líneas ($P < 0.05$), mostrando la línea de baja variabilidad una menor cantidad ($5,40 \pm 0,24 \cdot 10^9/L$ en la línea B) que la línea de alta variabilidad ($6,07 \pm 0,25 \cdot 10^9/L$ en la línea A).

En la serie roja, sin embargo la línea de baja variabilidad mostró mayores valores que la línea de alta variabilidad en la cantidad de glóbulos rojos totales ($6,44 \pm 0,08 \cdot 10^{12}/L$ en la línea B vs. $6,10 \pm 0,08 \cdot 10^{12}/L$ en la línea A, $P < 0.001$) y el hematocrito ($38,84 \pm 0,47$ % en la línea B vs. $37,03 \pm 0,49$ % en la línea A, $P < 0.01$).

En la serie plaquetaria, no se han observado diferencias significativas entre las líneas.

La mayor cantidad de linfocitos encontrada en la línea seleccionada para incrementar la variabilidad del tamaño de camada (línea A), sugiere que esta línea es más susceptible a los microorganismos habitualmente en una granja que la línea seleccionada por homogeneidad (línea B).

4.2. ESTUDIO EN LA EVOLUCIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA SERIE BLANCA DE LOS ANIMALES QUE COMPLETARON EL ESTUDIO VS LOS QUE NO LO COMPLETARON

La tabla 4.4. muestra la evolución de los glóbulos blancos en la primera semana del experimento en los animales que sobreviven y no sobreviven al final del ensayo. Se observa que hubo diferencias entre grupos, y tanto los animales que sobrevivieron como los que no lo hicieron presentan una evolución ascendente desde el día 0 al día 4, para a partir de éste momento cae la cantidad total de glóbulos blancos.

También, los linfocitos muestran una evolución ascendente hasta el 3^{er} día del experimento, tanto en los animales que sobreviven como en los que no lo hicieron (tabla 4.5). Sin embargo, los animales que completaron el experimento mostraron un mayor incremento en su respuesta inmunitaria al 3^{er} día tras la vacunación que los que no lo hicieron, concretamente este incremento fue del 25% en los animales que sobreviven vs. del 14% en los que no sobrevivieron ($P < 0.05$).

Tabla 4.4. Diferencias en los glóbulos blancos totales entre los animales que sobrevivieron y los que no a lo largo del estudio.

<i>Días</i>	<i>Sobrevivieron</i>	<i>No sobrevivieron</i>	<i>P</i>
	LSMEAN±SE	LSMEAN±SE	
<i>Glóbulos blancos totales, 10⁹/L</i>			
0	9,02±0,42	9,73±0,58	ns
1	10,55±0,42	10,33±0,58	ns
2	10,30±0,42	9,99±0,59	ns
3	11,21±0,42	11,14±0,64	ns
4	11,21±0,42	12,23±0,67	ns
7	11,02±0,42	11,53±0,70	ns

ns: no hay diferencias significativas, LSMEAN: medias de mínimos cuadrados, SE: error estándar. Fuente: elaboración propia.

Tabla 4.5. Diferencias en los linfocitos entre los animales que sobrevivieron y los que no a lo largo del estudio.

<i>Días</i>	<i>Sobrevivieron</i>	<i>No sobrevivieron</i>	<i>P</i>
	LSMEAN±SE	LSMEAN±SE	
<i>Linfocitos, 10⁹/L</i>			
0	6,13±0,32	6,03±0,44	ns
1	6,88±0,32	6,35±0,44	ns
2	6,90±0,32	6,05±0,45	*
3	7,68±0,32	6,87±0,48	*
4	7,21±0,32	6,58±0,51	ns
7	7,25±0,32	5,92±0,53	*

*: P<0.05, ns: no hay diferencias significativas, LSMEAN: medias de mínimos cuadrados, SE: error estándar. Fuente: elaboración propia.

Tabla 4.6. Diferencias en los neutrófilos entre los animales que sobrevivieron y los que no a lo largo del estudio.

<i>Días</i>	<i>Sobrevivieron</i>	<i>No sobrevivieron</i>	<i>P</i>
	LSMEAN±SE	LSMEAN±SE	
<i>Neutrófilos, 10⁹/L</i>			
0	2,08±0,34	2,90±0,47	ns
1	2,74±0,34	3,17±0,47	ns
2	2,41±0,34	3,03±0,48	ns
3	2,55±0,34	3,17±0,52	ns
4	2,95±0,34	4,41±0,55	**
7	2,67±0,34	4,28±0,57	**

** : P<0.01, ns: no hay diferencias significativas, LSMEAN: medias de mínimos cuadrados, SE: error estándar. Fuente: elaboración propia.

Respecto a los neutrófilos, los individuos que no completaron el experimento partieron con una cantidad de neutrófilos similar a los que lo completaron. Sin embargo, a partir del 4º día tras la vacunación, los animales que no finalizaron el experimento mostraron una cantidad mayor de neutrófilos, prácticamente ésta fue el doble que la del inicio.

En los valores obtenidos para los monocitos, eosinófilos y basófilos no se encontraron diferencias a lo largo de la primera semana del experimento ($P>0.05$) entre los animales que completaron y los que no completaron el estudio.

Estos resultados muestran como una respuesta deficiente del sistema inmunitario está relacionada con una mayor mortalidad.

4.3. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA SERIE BLANCA EN LAS HEMBRAS QUE COMPLETARON EL ESTUDIO

La figura 4.1. presenta la evolución de los glóbulos blancos totales en las hembras que sobrevivieron hasta el final del experimento, de la línea de alta (A) y de baja variabilidad (B), tras su vacunación con el virus de la mixomatosis y con el virus de la enfermedad hemorrágica. En este experimento, tal y como recoge la bibliografía tras la vacunación, el número de glóbulos blancos se incrementa notablemente, alcanzando su máximo el 3^{er} día (los valores obtenidos oscilan de 9 a $12 \cdot 10^9/L$ vs los $4,18 \pm 1,44 \cdot 10^9/L$ encontrados en de la bibliografía, Duarte et al., 2004). Por otro lado, independientemente de la línea, se aprecia una respuesta diferencial entre los animales vacunados con el virus de la mixomatosis y los de la enfermedad hemorrágica. Concretamente, se observar una respuesta más persistente en el tiempo con la vacuna para la enfermedad hemorrágica.

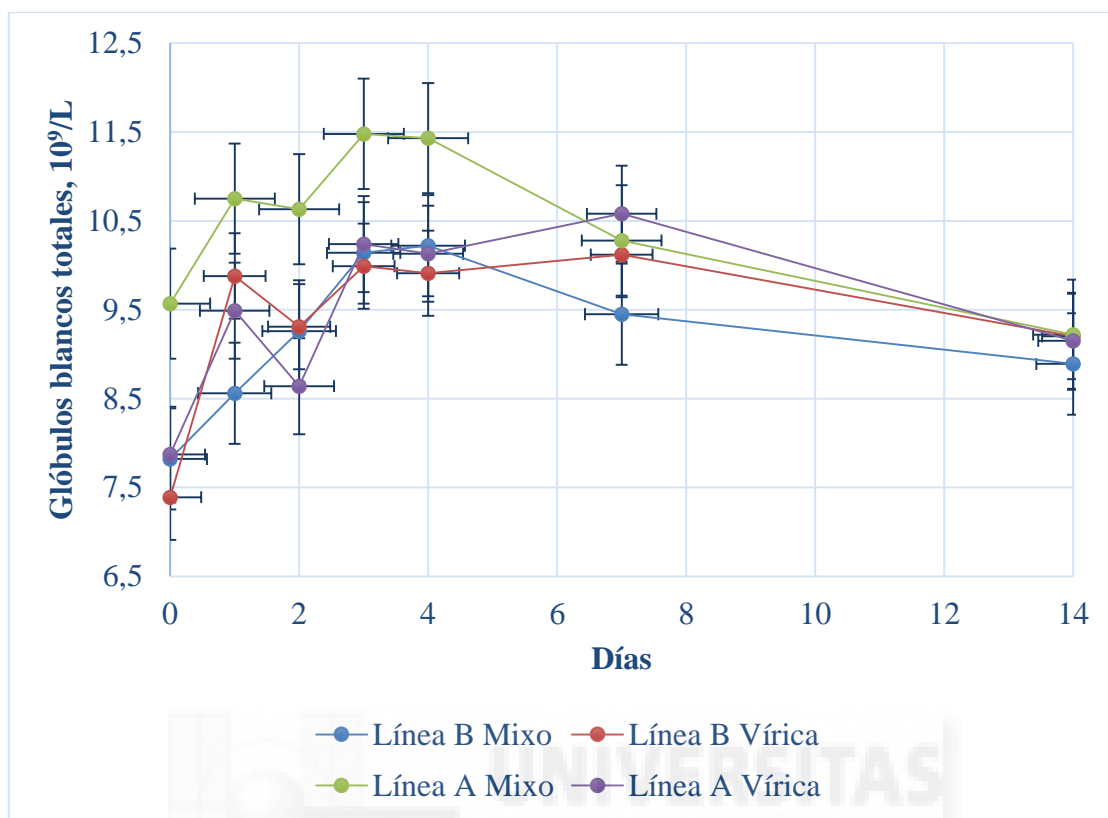


Figura 4.1. Evolución de los glóbulos blancos totales en las hembras de las líneas divergentes por variabilidad en tamaño de camada que sobrevivieron hasta el final del estudio. Línea B Mixo: línea de baja variabilidad vacunada con el virus de la mixomatosis. Línea B Vírica: línea de baja variabilidad vacunada con el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo. Línea A Mixo: línea de alta variabilidad vacunada con el virus de la mixomatosis. Línea A Vírica: línea de alta variabilidad vacunada con el virus de la enfermedad hemorrágica en conejo. Fuente: elaboración propia.

La figura 4.2. muestra la evolución de los linfocitos en las hembras que sobrevivieron hasta el final del experimento de la línea de alta (A) y de baja variabilidad (B) para el tamaño de camada tras su vacunación con el virus de la mixomatosis y el de la enfermedad hemorrágica. Al igual que con los glóbulos blancos totales, los animales incrementan su concentración de linfocitos tras la vacunación, alcanzado el máximo el 3^{er} día. Sin embargo, este incremento fue mayor en la línea seleccionada para disminuir la variabilidad del tamaño de camada (51% tras la vacunación con el virus de la mixomatosis y 42% tras la vacunación con el virus de la enfermedad hemorrágica) que en la línea seleccionada para incrementar dicha variabilidad (18% tras la vacunación con el virus de la mixomatosis y 21% tras la vacunación con el virus de la enfermedad hemorrágica).

También, se observa una respuesta más persistente en el tiempo tras la vacunación con el virus de la enfermedad hemorrágica, tanto en la línea de alta (A) como de baja (B) variabilidad.

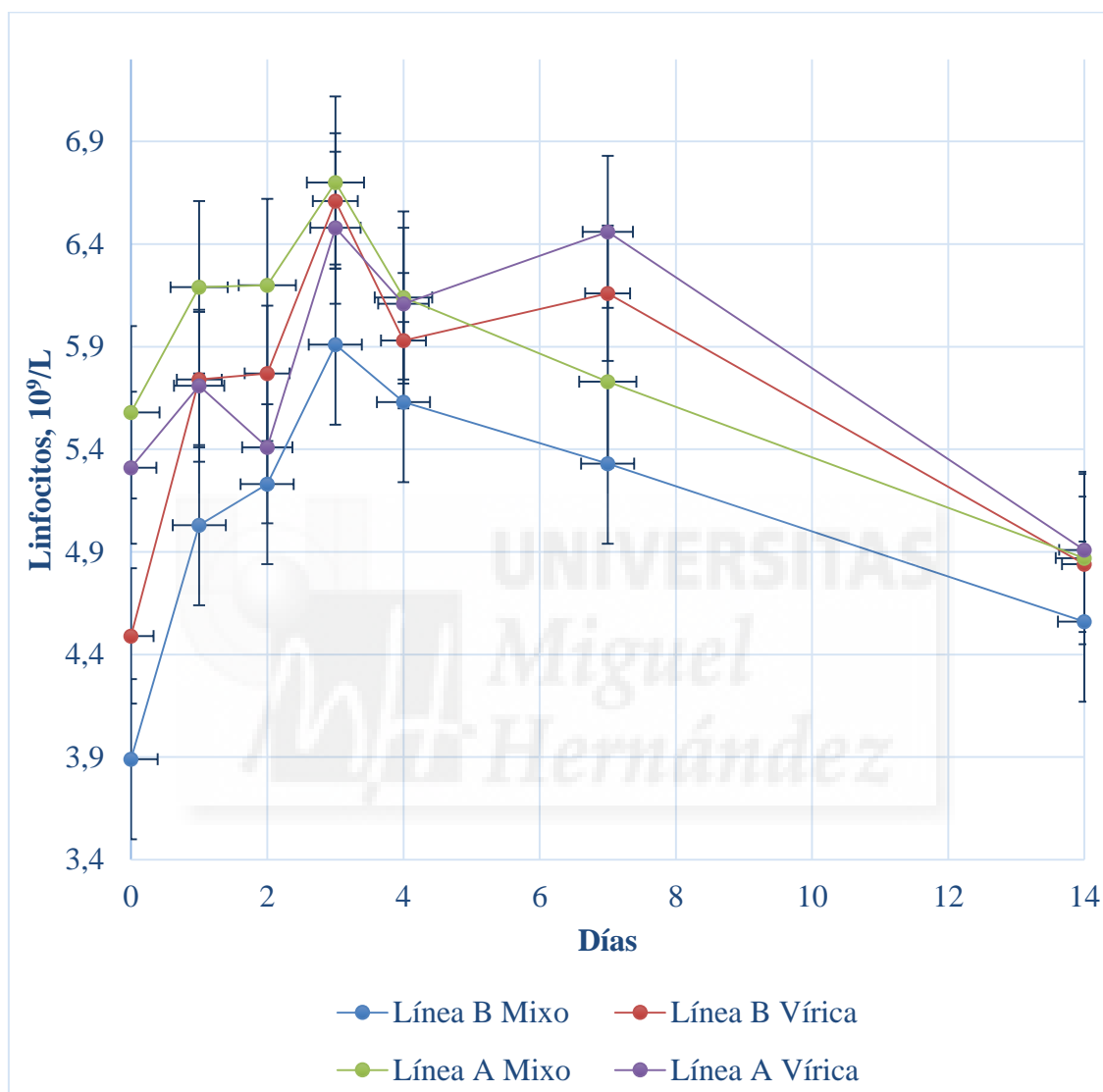


Figura 4.2. Evolución de los linfocitos en las hembras de las líneas divergentes por variabilidad en tamaño de camada que sobrevivieron hasta el final del estudio. Línea B Mixo: línea de baja variabilidad vacunada con el virus de la mixomatosis. Línea B Vírca: línea de baja variabilidad vacunada con el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo. Línea A Mixo: línea de alta variabilidad vacunada con el virus de la mixomatosis. Línea A Vírca: línea de alta variabilidad vacunada con el virus de la enfermedad hemorrágica en conejo. Fuente: elaboración propia.

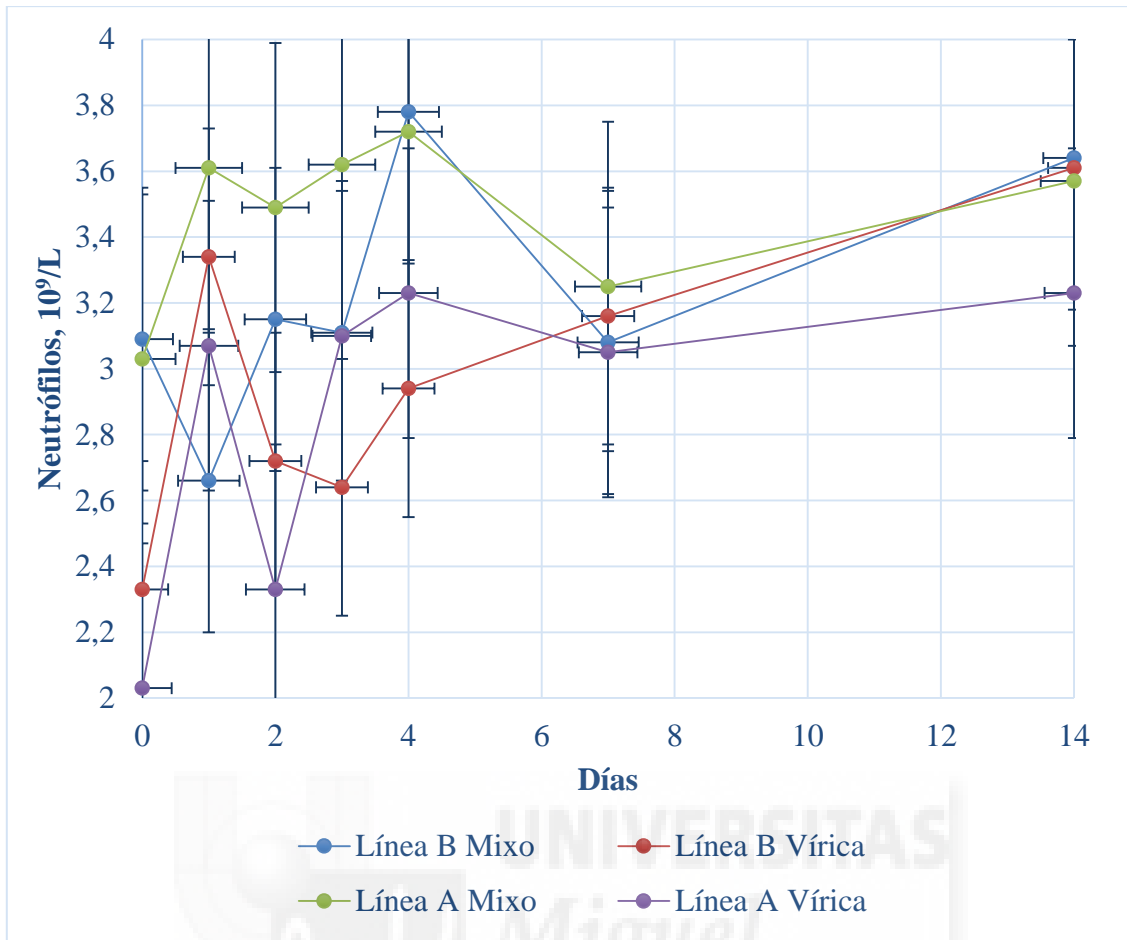


Figura 4.3. Evolución de los neutrófilos en las hembras de las líneas divergentes por variabilidad en tamaño de camada que sobrevivieron hasta el final del estudio. Línea B Mixo: línea de baja variabilidad vacunada con el virus de la mixomatosis. Línea B Vírica: línea de baja variabilidad vacunada con el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo. Línea A Mixo: línea de alta variabilidad vacunada con el virus de la mixomatosis. Línea A Vírica: línea de alta variabilidad vacunada con el virus de la enfermedad hemorrágica en conejo. Fuente: elaboración propia.

Respecto a la cantidad de neutrófilos en sangre, se observa un efecto del tipo de vacuna sobre su evolución. En este sentido, tanto los animales de la línea de alta (A) como los de la línea de baja variabilidad (B) tras su exposición al virus de la enfermedad hemorrágica presentaron un pico de neutrófilos el 1^{er} día del experimento (el incremento fue del 50% en la línea A y del 43% en la línea B). Sin embargo, este pico se situó en el 4^o día en los animales vacunados con el virus de la mixomatosis, tanto de la línea A como B (el incremento fue del 27% en la línea A y del 27% en la línea B).

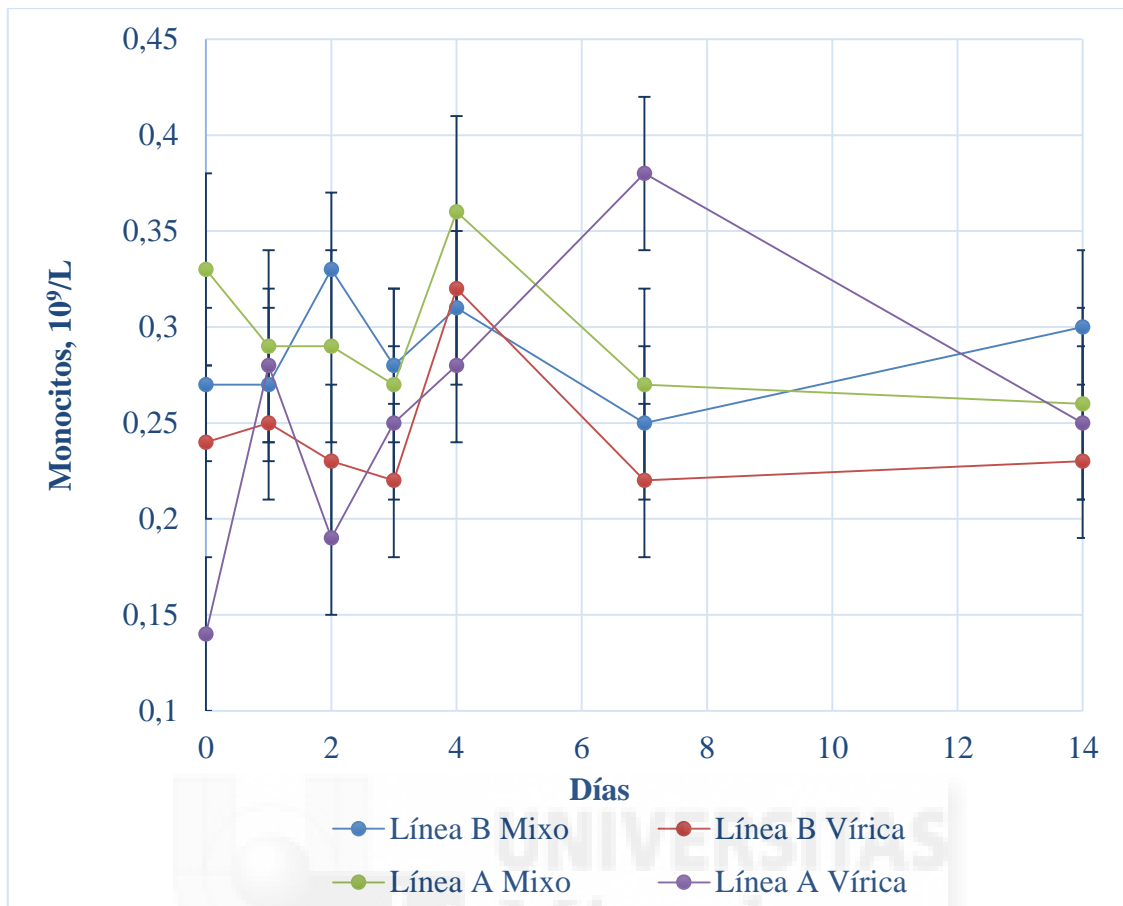


Figura 4.4. Evolución de los monocitos en las hembras de las líneas divergentes por variabilidad en tamaño de camada que sobrevivieron hasta el final del estudio. Línea B Mixo: línea de baja variabilidad vacunada con el virus de la mixomatosis. Línea B Vírica: línea de baja variabilidad vacunada con el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo. Línea A Mixo: línea de alta variabilidad vacunada con el virus de la mixomatosis. Línea A Vírica: línea de alta variabilidad vacunada con el virus de la enfermedad hemorrágica en conejo. Fuente: elaboración propia.

Respecto los monocitos, la figura 4.4. no muestra un patrón claro en su evolución entre líneas o tipo de vacuna.

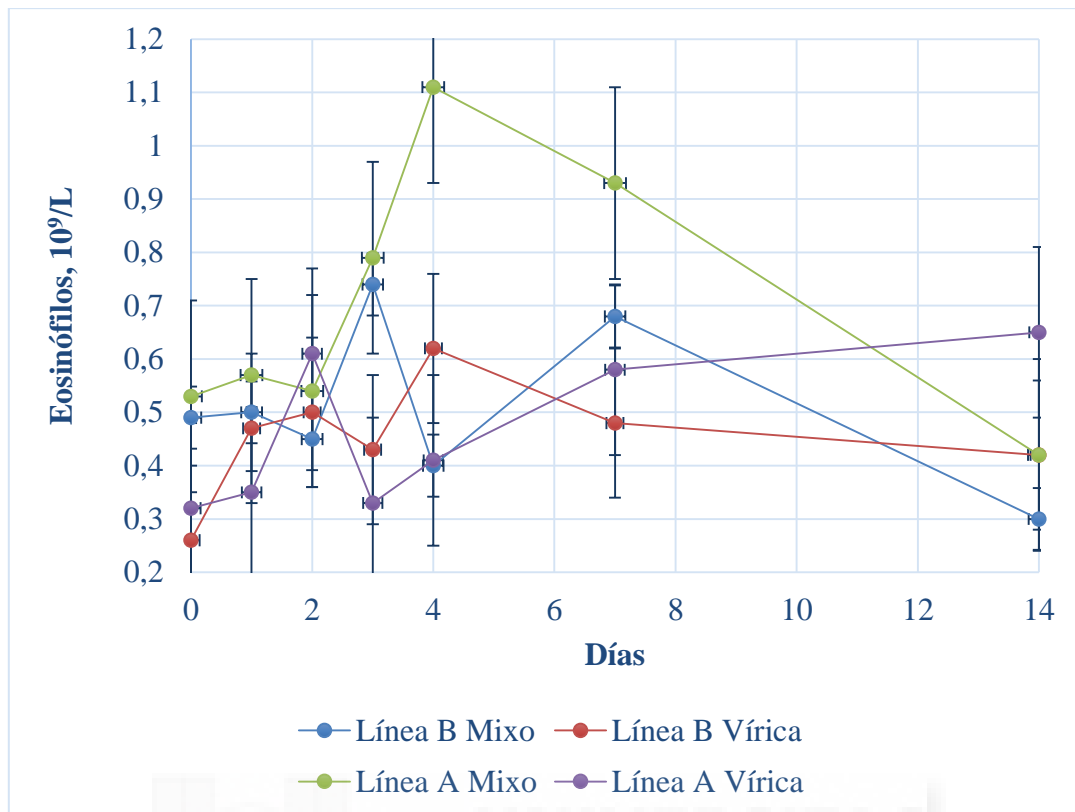


Figura 4.5. Evolución de los eosinófilos en las hembras de las líneas divergentes por variabilidad en tamaño de camada que sobrevivieron hasta el final del estudio. Línea B Mixo: línea de baja variabilidad vacunada con el virus de la mixomatosis. Línea B Vírica: línea de baja variabilidad vacunada con el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo. Línea A Mixo: línea de alta variabilidad vacunada con el virus de la mixomatosis. Línea A Vírica: línea de alta variabilidad vacunada con el virus de la enfermedad hemorrágica en conejo. Fuente: elaboración propia.

Respecto a la concentración de eosinófilos, parece que en todas las líneas e independientemente del tipo de vacuna utilizado, la máxima respuesta se produce antes del 4º día. Sin embargo, la figura 4.5 no permite concluir un patrón claro en la evolución de los eosinófilos, entre líneas o tipo de vacuna.

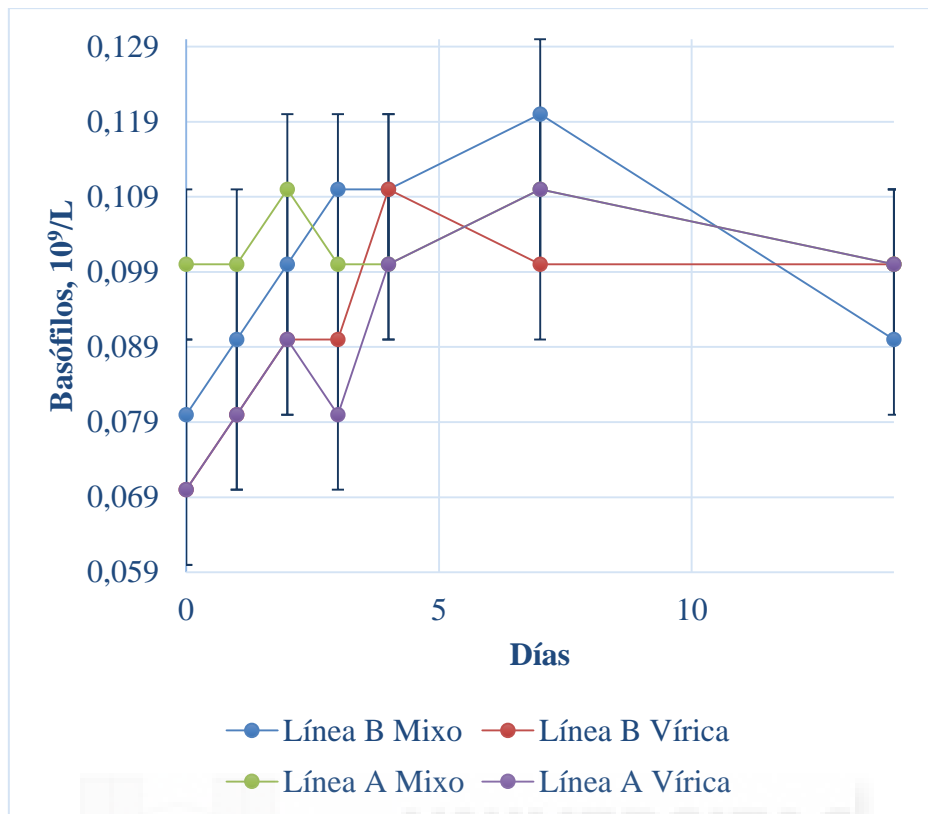


Figura 4.6. Evolución de los basófilos en las hembras de las líneas divergentes por variabilidad en tamaño de camada que sobrevivieron hasta el final del estudio. Línea B Mixo: línea de baja variabilidad vacunada con el virus de la mixomatosis. Línea B Vírica: línea de baja variabilidad vacunada con el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo. Línea A Mixo: línea de alta variabilidad vacunada con el virus de la mixomatosis. Línea A Vírica: línea de alta variabilidad vacunada con el virus de la enfermedad hemorrágica en conejo. Fuente: elaboración propia.

La concentración de basófilos en sangre de conejo presenta valores bajos, asociados a grandes intervalos de confianza, lo que no nos permite apreciar un claro patrón entre líneas y tipo de vacuna (figura 4.6).

5. CONCLUSIONES

Se puede concluir que la variabilidad en el tamaño de camada es un carácter que está relacionado con la adaptación del animal al medio ambiente y su sensibilidad a enfermedades, y que la selección para disminuir la variabilidad en tamaño de camada muestra una respuesta correlacionada con la respuesta inmunitaria del animal.



6. REFERENCIAS

Abrantes, J., van der Loo, W., Le Pendu, J., Esteves, P.J. 2012. Rabbit haemorrhagic disease (RHD) and rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV): a review. *Veterinary Research*. 43:12.

Baselga, M.; Santacreu, M.A.; Argente, M.J.; Cifre, J. 1996. Genética y Selección del conejo de carne. Capítulo II del Tomo X "Producciones cunícola y avícolas alternativas" de la colección: ZOOTECNIA. Bases de Producción Animal. Editorial Mundi-Prensa.

Besalduch, S. 2016. Mixomatosis. El gran reto de la cunicultura. ASESCU. Boletín de cunicultura nº180

Blanco, J.E., Blanco, M., Blanco, J., Mora, A., Balaguer, L., Cuervo, L., Balsalobre, C., Muñoa, F. 1997. Prevalence and characteristics of enteropathogenic *Escherichia coli* with the eae gene in diarrhoeic rabbits. *Microbiology and Immunology*. 41(2): 77-82

Bolentín Oficial del Estado (BOE). 2004. Real Decreto 1547/2004, de 25 de junio, por el que se establecen normas de ordenación de las explotaciones cunícolas. Dep: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Ref: BOE-A-2004-12011

Bosze, Z. and Houdebine, L.M. 2006. Application of rabbits in biomedical research: a review. *World Rabbit Sci*. 14:1-14.

Burnett N., Mathura K., Metivier K.S., Holder R.B., Brown G., Campbell M. 2003. An investigation into haematological and serum chemistry parameters of rabbits in Trinidad. *World Rabbit Science*. 14:175-187.

Calvete, C. Calvo, J.H., Sarto, P. 2012. Detección de una nueva variante del virus de la enfermedad hemorrágica en conejos silvestres en España. 37º Symposium de cunicultura de ASESCU. Barbastro 23-25 Mayo 2012. pp112-115

Colaboradores de Wikipedia. Neutrófilo [en línea]. Wikipedia, La enciclopedia libre, 2017 [fecha de consulta: 22 de mayo del 2017]. Disponible en (<https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Basophil&oldid=779693796>).

Colaboradores de Wikipedia. Plaqueta [en línea]. Wikipedia, La enciclopedia libre, 2017 [fecha de consulta: 22 de mayo del 2017]. Disponible en (<https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Basophil&oldid=779693796>).

Dabbou, S., Rotolo, L., Kovitvadhi, A., Bergagna, S., Dezzutto, D., Barbero, R., Rubiolo, P., Schiavone, A., De Marco, M., Helal, A.N., Zoccarato, I., Gasco, L. 2015. Rabbit dietary supplementation with pale purple coneflower. 1. Effects on the reproductive performance and immune parameters of does. *Animal*. 10(7): 1101–1109.

Dalton, K.P., Nieceza, I., Balseiro, A., Muguerza, M.A., Rosell, J.M., Casais, R., Álvarez, Á.L., Parra, F. 2012. Variant rabbit hemorrhagic disease virus in young rabbits, Spain. *Emerging Infectious Diseases*. 18(12): 2009-2012.

Díaz J.J. 2015. Zoonosis en conejos. *Ateuves* 58: 18-20.

Díaz-Sáez V., Merino-Espinos G., Morales-Yuste M., Corpas-López V., Pratlong F., Morillas-Márquez F., Martín-Sánchez J. 2014. High rate of *Leishmania infantum* and *Trypanosoma nabiasi* infection in wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in sympatric and syntrophic conditions in an endemic canine leishmaniasis area. *Epidemiological consequences*. *Vet Parasitol*. 202(3-4):119-27.

Duarte, M.A., Scorza, T. 2004. Efecto de las dietas suplementadas con ácidos grasos saturados o poliinsaturados sobre parámetros hematológicos, hemostáticos y lipoproteicos: relación con modificaciones histológicas en aorta torácica y abdominal en conejos. *Acta Científica Venezolana*, 55: 264-275.

Eulogio, J. 2013. Revisión y conclusiones de la enteropatía epizootica del conejo. *Cunicultura* (<http://cunicultura.com/2013/06/revision-y-conclusiones-de-la-enteropatia-epizootica-del-conejo>)

Faria, P., Oswaldo, R., Mendible, R., Valeska, F., Virgilio, S., José, V. 2009. Valores hematológicos en conejo doméstico (*Oryctolagus cuniculus*) y niveles de progesterona en conejas gestantes. *Mundo Pecuario*. 3:219-272.

Fenner F., Ratcliffe F.N. 1965. *Myxomatosis*. Cambridge University Press.

Flatt, R.E., DeYoung, D.W., Hogle, R.M. 1977. Suppurative otitis media in the rabbit: prevalence, pathology, and microbiology. *Laboratory Animal Science*. 27(3): 343-347.

González, P. 2006. *Fundamentos de Cunicultura*. I.S.B.N.: 84-689-6336-4

González, R.R., Kluger, M.J., Hardy, J.D. 1971. Partitional calorimetry of the New Zealand White rabbit at temperature 5-35°C. *Journal of Applied Physiology* 31: 728-734.

Grasa, J.R., Malo, M. 2012. Enfermedad Vírica-Hemorrágica: nueva variante. 37° Symposium de cunicultura de ASESCU. Barbastro 23-25 Mayo 2012. pp8-35

Gutiérrez-Romero, A., Gutiérrez-Grobe, Y., Carrillo-Esper, R. 2013. Volumen plaquetario medio: el tamaño sí importa. *Med Int Mex* 29:307-310.

Harkness, John E., Wagner, Joseph E. 1997. *Biología y clínica de conejos y roedores*. Ed. ACRIBIA, I.S.B.N.: 84-200-0438-3

Huybens, N., Houeix, J., Licois, D., Mainil, J., Marlier, D. 2009. Inoculation and bacterial analyses of fractions obtained from the reference inoculum TEC4 which experimentally reproduces epizootic rabbit enteropathy. *World Rabbit Science*. 17 (4): 185-193.

Kpodekon, M., Toleba, S.S., Boko, C., Dagnibo, M., Djago, Y., Dossa, F., Farougou, S. 2015. Frequency of enteropathogenic *Escherichia coli* in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in the municipality of Abomey-Calavi in Benin sub-equatorial area. *Revue de Medecine Veterinaire*. 166(3-4): 84-89.

Lab9dejulio.com.ar. Parámetros hematológicos y bioquímicos séricos de distintas especies. En http://www.lab9dejulio.com.ar/informacion-tecnica/parametros-hematologicos-y-bioquimicos-sericos-de-distintas-especies_a289 (Última visita 20/12/16).

Lebas, F. 2000. Particle size in compound feeds and digestive tract activity in the rabbit [Granulométrie des aliments composés et fonctionnement digestif du lapin]. *Productions Animales*. 13(2):109-116.

Lebas, F., Coudert, P., de Rochambeau, H., Thébault, R.G. 1996. *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO)*. Colección FAO: Producción y sanidad animal. El CONEJO, cría y patología. ISSN 1014-6423

Leighton, F.A., Artois, M., Capucci, L., Gavier-Widén, D., Morisse, J.P. 1995. Antibody response to rabbit viral hemorrhagic disease virus in red foxes (*Vulpes vulpes*) consuming livers of infected rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Wildlife Diseases*. 31(4):541-544.

Lester, V. K., Tarpley, H. L., Latimer, K.S. 2005. Small Mammal Hematology: Leukocyte Identification in Rabbit and Guinea Pig. <http://www.medirabbit.com/EN/Hematology/Cells/Leukocyte.htm>. (Última consulta 20/05/17)

Licois, D., Wyers, M., Coudert, P. 2005. Epizootic Rabbit Enteropathy: Experimental transmission and clinical characterization. *Veterinary Research*. 36(4): 601-613.

Marlier, D., Dewrée, R., Delleur, V., Licois, D., Lassence, C., Poulipoulis, A., Vindevogel, H. 2003. A review of the major causes of digestive disorders in the European rabbit. [Description des principales étiologies des maladies digestives chez le lapin européen (*Oryctolagus cuniculus*)]. *Annales de Medecine Veterinaire*. 147(6): 385-392.

Masmudur M. Rahman, Jia Liu, Winnie M. Chan, Stefan Rothenburg, Grant McFadden. 2013. Myxoma Virus Protein M029 Is a Dual Function Immunomodulator that Inhibits PKR and Also Conscripts RHA/DHX9 to Promote Expanded Host Tropism and Viral Replication. 9(7): e1003465

Melo, M., Murciano, T. 2012. Interpretación del hemograma. *Pediatría Integral* XVI(5): 413.e1-413.e6

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medioambiente (MAGRAMA). *Subdirección general de productos ganaderos*. 2016. Sectores ganaderos. Cunícola. El sector de la carne de conejo en cifras. Principales indicadores económicos en 2015. Publicado en Mayo de 2016.

Mojziso, J., Massányi, P., Danko, J., Trbolova, A., Petrovova, E., Mazensky, D., Vdoviakova, K., Luptakova, L., Torma, N. 2012. Changes of the immunological and haematological parameters in rabbits after bendiocarbamate application. *Journal of Environmental Science and Health*. 47: 1244-1248.

Morton, B.D., Abbot, D., Barclay, R., Close, B.S., Ewbank, R., Gask, D., Heath, M., Mattic, S., Poole, T., Seamer, J., Southee, J., Thompson, A., Trussel, B., West, C. and Jennings, M. 1993. Extracción de Sangre en los Mamíferos y Aves de Laboratorio. *Laboratory Animals* 27, 1-22.

National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID). 2013. Understanding How Vaccines Work. <http://www.niaid.nih.gov/topics/vaccines/> (Última consulta 23/02/2017)

Neves, F., Abrantes, J., Almeida, T., Costa, P.P., Esteves, P.J. 2015. Evolutionary insights into IL17A in lagomorphs. *Mediators of Inflammation*. doi:10.1155/2015/367670

Oxford University Press (OUP). 2017. Hemoglobina. En <https://es.oxforddictionaries.com/definicion/hemoglobina> (última consulta 16/05/2017)

Oxford University Press (OUP). 2017. Hematocrito. En <https://es.oxforddictionaries.com/definicion/hematocrito> (última consulta 16/05/2017)

Paniagua, R., Nistal, M., Sesma, P., Álvarez-Uría, M., Fraile, B., Anadón, R., Sáez, F.J. 2007. *Citología e histología vegetal y animal*. Vol. 2. *Histología vegetal y animal*. 4ª Ed. McGraw-Hill. I.S.B.N.: 978-84-481-5595-7

Paradisi, A. Las garrapatas en conejos: qué son, cómo se transmiten y cuál es el tratamiento. En <http://mascotafiel.com/garrapatas-en-conejos/> (Última consulta 24/05/2017)

Paradisi, A. Sarna en conejos: causas, síntomas y tratamiento. En <http://mascotafiel.com/sarna-en-conejos/> (Última consulta 24/05/2017)

Parra, F., Dalton, K.P. 2013. La nueva enfermedad hemorrágica del conejo. 38º Symposium de cunicultura de ASESCU. *Cunicultura*. En <http://cunicultura.com/2013/08/la-nueva-enfermedad-hemorragica-del-conejo> (Última consulta 03/12/2016)

Peinado, J. 1988. La tiña o dermatomicosis de los conejos. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Hojas divulgativas nº 5/88 HD

Pérez, J.E. 2013. Revisión y conclusiones de la enteropatía epizoótica del conejo. *Cunicultura*. Vol. 38: 9-12.

Rahman, M.M., Liu, J., Chan, W.M., Rothenburg, S., McFadden, G. 2013. Myxoma Virus Protein M029 Is a Dual Function Immunomodulator that Inhibits PKR and Also Conscripts RHA/DHX9 to Promote Expanded Host Tropism and Viral Replication. *PLoS Pathogens*. 9(7): e1003465

Rodríguez, M., Penzo, S., Rodríguez, J. 2006. Infecciones transmitidas por mascotas. Revista Pediátrica online. 3(3). ISSN 0718-0918

Romero, J., Carbia, C.C., Ceballo, M. F., Díaz, N.B. (1999). Índice de distribución de glóbulos rojos (RDW): Su aplicación en la caracterización de anemias microcíticas e hipocrómicas. ISSN 0025-7680. 59: 17-22

Rosell, J.M. 2000. Enfermedades del conejo. Editorial Mundi-Prensa

Roy, P., Upadhyay, R.K. 2016. Assessment of rabbit hemorrhagic disease in controlling the population of red fox: A measure to preserve endangered species in Australia. Ecological Complexity. 26(1): 6-20.

Sandford, J.C. 1988. El conejo doméstico. Biología y producción. Ed ACRIBIA, S.A. I.S.B.N.: 84-200-0628-9

Sandford, J.C. 1992. Apuntes sobre la historia del conejo. V Congreso Mundial de Cunicultura. Oregón 25-29 Julio 1992

Serrano, P., Pascual, M., Gómez, E.A. 2009. Gestión técnica/económica en España: una asignatura pendiente. Boletín de cunicultura n° 161 pp 46-48

SNIC Científicas. Los casos de tularemia en humanos se disparan durante los años de plaga de topillo. En <http://www.agenciasinc.es/Noticias/Los-casos-de-tularemia-en-humanos-se-disparan-durante-los-anos-de-plaga-de-topillo> (Última consulta 24/05/2017)

Spickler, A.R. 2007. Enfermedad hemorrágica viral del conejo, enfermedad del conejo causada por un calicivirus. En <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php?lang=es> (Última consulta 12/05/17)

Spiesschaert, B., McFadden, G., Hermans, K., Nauwynck, H., van de Walle, G.R. 2011. The current status and future directions of myxoma virus, a master in immune evasion. Veterinary Research. 42:76-85.

SSAS. 2017. User's Guide: Statistics (Version 9.2 Ed.) SAS Inst. Inc., Cary, NC. USA

Szalo, I.M., Lassence, C., Licois, D., Coudert, P., Poulipoulis, A., Vindevogel, H., Marlier, D. 2007. Fractionation of the reference inoculum of epizootic rabbit enteropathy in discontinuous sucrose gradient identifies aetiological agents in high density fractions. *Veterinary Journal.* 173(3): 652-657.

Tavera, A. Reflexión de la salud: la sarna o escabiosis o escabiasis. En <http://www.red-noticias.com/?p=67200> (Última consulta 24/05/2017)

Torrens, M. 2015. Interacción clínica del hemograma. *Revista Médica Clínica Las Condes* 26(6): 713-725

University of Maryland / Medical Center (UM). Índices de glóbulos rojos - Información general. En <http://www.umm.edu/health/medical/spanishency/articles/indices-de-globulos-rojos> (Última consulta 16/05/2017)

Winkelmann, J., Lammers, H.J. 1997. *Enfermedades de los conejos.* Ed ACRIBIA, S.A. I.S.B.N.: 84-200-0842-7

