

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA ANIMAL.
ZARAGOZA

UNIVERSIDAD DE

**EPIDEMIOLOGIA DE ENFERMEDAD HEMORRAGICA (VHD) Y
MIXOMATOSIS EN EL CONEJO SILVESTRE (*Oryctolagus cuniculus*
L. 1758) EN EL VALLE MEDIO DEL EBRO -MODELIZACION DE
VHD Y HERRAMIENTAS DE GESTION-**

Memoria presentada por D. Carlos Calvete Margolles
para optar al grado de DOCTOR en VETERINARIA.

Dirigida por los Doctores D. Javier Lucientes Curdi,
D. Rafael Villafuerte Fernández y D. Juan Antonio
Castillo Hernández.

Zaragoza, enero de 1999

AGRADECIMIENTOS

Desde aquí quiero expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que de una forma u otra han hecho posible la realización del siguiente trabajo:

En primer lugar a mis directores de tesis, por la paciencia que han mostrado conmigo a lo largo de todos estos años y por todo lo que he aprendido de ellos.

A Julio Guiral y Emilio Escudero, por su confianza y por mantener la financiación de los proyectos incluso en años de carestía económica.

A los profesores y becarios de la Unidad de Parasitología de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza, con quienes he pasado buenos ratos y han soportado con estoicidad la presencia en los laboratorios de gran parte del material de campo.

A Brian Cooke del CSIRO, con quien en sus múltiples visitas a nuestro país, mantuve interesantes conversaciones acerca de la VHD y de los resultados obtenidos en nuestros respectivos trabajos.

A Albert Pagés, quien me aclaró muchas dudas sobre las técnicas de diagnóstico y siempre estuvo dispuesto a que le enviásemos las muestras de sueros e hígados para su análisis aún sabiendo nuestras prolongadas demoras en el pago de los costes.

También quiero agradecer a Emilio Espejo las facilidades que nos dió para trabajar en la finca ARPAL, de la que es propietario, y sin cuya predisposición hubiera sido imposible la realización del presente trabajo.

De igual manera quiero agradecer el magnífico trato que hemos recibido durante todos estos años por parte de Santiago Peribáñez, guarda de la finca ARPAL, y toda su familia, quienes nos han hecho sentir como en casa, y de los que guardamos gratos recuerdos en las numerosas veladas que, regadas con abundante cerveza, hemos pasado juntos.

Mis agradecimientos también a Juan José Osácar, el otro conejero, por su ayuda y sobre todo por su paciencia e insistencia en el manejo de los hurones. Como él dice, fue allá en las calcinadas rastrojeras de Torrecilla de Valmadrid donde nos dimos cuenta del lío en que nos habíamos metido.

A Alvaro Gajón, que siempre estuvo dispuesto a ayudar en el trabajo de campo fuese cual fuese.

A mi familia, mis padres y hermana, que siempre me han apoyado y animado y que incluso en algunas ocasiones me han apoyado económicamente para poder llevar adelante este trabajo. Mención especial a mis dos cuñados, Gregorio y Agustín que han sido dos apoyos logísticos magníficos en numerosas ocasiones, y que gracias a sus dos ordenadores he podido acabar este trabajo.

En especial quiero expresar mi agradecimiento a Rosa Estrada, mi compañera en la vida y en el trabajo, quien ha estado a mi lado durante todo el duro trabajo de campo que yo solo no hubiera podido realizar. Sin su compañía, ayuda y apoyo es seguro que este trabajo no hubiera existido.

Por último quiero dedicar un recuerdo a todos los compañeros de cuatro patas y largas orejas sobre los que he realizado este estudio, pues de ellos aprendí lo que es vivir con coraje. Especial recuerdo a Ligamenta, una coneja cuya captura me costó una rodilla y que además, fue la única coneja vacunada que murió en la madriguera y en verano.

A todos ellos muchas gracias.

INDICE

Página

1-INTRODUCCION Y OBJETIVOS	1
2-REVISION BIBLIOGRAFICA	5
2.1-Introducción	7
2.2-Biología	7
2.2.1-Madrigueras	7
2.2.2-Estrategia de vida.....	8
2.2.3-Reproducción	10
2.2.4-Dinámica poblacional	12
2.2.4.1-Supervivencia y Mortalidad	12
2.2.4.2-Factores reguladores de la dinamica poblacional.....	14
2.2.4.2.1-Cambios en la alimentación	15
2.2.4.2.2-Migración	15
2.2.4.2.3-Predación.....	15
2.2.4.2.4-Enfermedades	16
2.3-Mixomatosis.....	18
2.3.1-Introducción	18
2.3.2-Historia	18
2.3.3-Etiología	19
2.3.3.1-Resistencia natural del virus.....	20
2.3.3.2-Clasificación del virus por su virulencia.....	20
2.3.4-Patogenia.....	22
2.3.5-Cuadro clínico	24
2.3.5.1-Lesiones macroscópicas	26
2.3.5.2-Lesiones microscópicas	26
2.3.6-Epidemiología.....	27
2.3.6.1-Especies sensibles.....	27
2.3.6.2-Fuentes de infección.....	28
2.3.6.3-Vías de transmisión	28
2.3.6.3.1-Transmisión por mosquitos	29
2.3.6.3.2-Transmisión por pulgas	31
2.3.6.4-Factores dependientes del hospedador	32
2.3.6.4.1-Edad.....	33
2.3.6.4.2-Inmunidad adquirida	33
2.3.6.4.3-Resistencia genética	34

2.3.6.4.4-Inmunidad paterna adquirida.....	35
2.3.6.4.5-Infecciones recurrentes de mixomatosis	36
2.3.6.5-Efecto de la temperatura ambiental	36
2.3.6.6-Dinámica de la enfermedad	38
2.3.6.7-Evolución en poblaciones silvestres	41
2.3.6.7.1-Mortalidad	41
2.3.6.7.2-Cambios en la virulencia	43
2.3.6.7.3-Coevolución del virus el conejo	47
2.3.7-Diagnóstico.....	49
2.3.8-Métodos de lucha.....	50
2.3.8.1-Inmunoprofilaxis vacunal	50
2.3.8.2-Lucha antivectorial	53
2.3.8.3-Otros métodos de lucha	53
2.4-Enfermedad Hemorrágica (VHD).....	55
2.4.1-Introducción	55
2.4.2-Historia.....	55
2.4.3-Etiología	58
2.4.3.1-Resistencia natural del virus	59
2.4.4-Origen.....	59
2.4.5-Patogenia.....	61
2.4.6-Cuadro clínico	64
2.4.6.1-Lesiones macroscópicas	65
2.4.6.2-Lesiones microscópicas	66
2.4.7-Epidemiología.....	66
2.4.7.1-Especies sensibles.....	67
2.4.7.2-Fuentes de infección y vías de transmisión	67
2.4.7.3-Factores dependientes del hospedador	70
2.4.7.3.1-Edad.....	70
2.4.7.3.2-Sexo	71
2.4.7.3.3-Inmunidad adquirida	72
2.4.7.3.4-Resistencia genética	73
2.4.7.4-Factores dependientes del entorno.....	73
2.4.7.5-Dinámica de la enfermedad	75
2.4.7.6-Evolución de la VHD en poblaciones silvestres.....	77
2.4.7.7-Interacción mixomatosis - VHD	78
2.4.8-Diagnóstico.....	79

2.4.9-Immunoprofilaxis vacunal	82
	Página
<hr/>	
3-MATERIAL Y METODOS.....	85
3.1-Area de estudio.....	87
3.1.1-Condiciones climáticas	91
3.1.1.1-Temperatura.....	91
3.1.1.2-Pluviometría y evaporación.....	92
3.2-Abundancia poblacional del conejo.....	94
3.3-Métodos de captura	95
3.4-Parámetros corporales e índices biológicos.....	96
3.5-Radiomarcaje	98
3.5.1-Seguimiento de los animales radiomarcados.....	99
3.5.2-Cálculo de las tasas de mortalidad	100
3.5.3-Análisis de los resultados.....	103
3.6-Técnicas laboratoriales.....	104
3.7-Modelización de la epidemiología deVHD.....	104
3.8-Cálculos estadísticos	105
4-RESULTADOS	107
4.1-Characterización de la población de conejos.....	109
4.1.1-Reproducción	109
4.1.1.1-Reproducción según índice de abundancia	109
4.1.1.2-Reproducción según índices reproductivos.....	112
4.1.2-Variación del peso corporal	115
4.1.3-Variación de la abundancia poblacional.....	116
4.2-Distribución temporal de VHD y mixomatosis	117
4.3-Indice de inmunidad frente a mixomatosis	120
4.3.1-Adultos	120
4.3.2-Jovenes	121
4.3.3-Comparación Adultos /Jovenes	123
4.4-Indice relativo de inmunidad frente a VHD.....	124
4.4.1-Adultos	125
4.4.2-Jovenes	126
4.4.3-Comparación Adultos /Jovenes	127

4.5-Mortalidad y sus causas	129
4.5.1-Mortalidad y efecto de la vacunación	132
4.5.1.1-Adultos.....	132
4.5.1.2-Jovenes.....	134
4.5.2-Mortalidad por inundación	138
4.5.3-Mortalidad por caza	139
4.5.3.1-Adultos.....	141
4.5.3.2-Jovenes.....	141
4.5.4-Mortalidad por predación	142
4.5.4.1-Adultos.....	142
4.5.4.2-Jovenes.....	145
4.5.4.3-Especies predadoras.....	147
4.5.5-Mortalidad por patologías	148
4.5.5.1-Adultos.....	148
4.5.5.2-Jovenes.....	154
4.5.5.3-Tasas de morbilidad y mortalidad de VHD.....	160
4.6-Modelización de VHD	161
4.6.1-Introducción	161
4.6.2-Descripción del modelo	161
4.6.2.1-Ciclo biológico.....	162
4.6.2.2-Mortalidad.....	163
4.6.2.3-Epidemiología de VHD.....	165
4.6.3-Evaluación de herramientas de gestión	167
4.6.3.1-Caza.....	168
4.6.3.2-Control de la predación.....	168
4.6.3.3-Inmunización frente a VHD.....	169
4.6.4-Análisis del modelo	169
4.6.4.1-Abundancia poblacional.....	169
4.6.4.2-Mortalidad por VHD.....	172
4.6.4.3-Mortalidad Jovenes/Adultos.....	175
4.6.4.4-Prevalencia de anticuerpos.....	178
4.6.4.5-Prevalencia Adultos/Jovenes.....	181
4.6.4.6-Variaciones interanuales.....	184
4.6.4.7-Variaciones intraanuales.....	185
4.6.4.7.1-Mortalidad por VHD.....	185
4.6.4.7.2-Prevalencia de anticuerpos.....	190

4.6.4.8-Herramientas de gestión	195
	Página
<hr/>	
4.6.4.8.1-Caza.....	195
4.6.4.8.2-Control de la predación	201
4.6.4.8.3-Inmunización frente a VHD	206
5-DISCUSSION	209
5.1-Discusión de la metodología	211
5.1.1-Índice de abundancia.....	211
5.1.2-Métodos de captura	212
5.1.3-Radiomarcaje	213
5.1.4-Obtención de muestras biológicas	215
5.2-Characterización de la población de conejos.....	216
5.2.1-Reproducción	216
5.2.2-Abundancia poblacional.....	219
5.3-Distribución temporal de VHD y mixomatosis	220
5.4-Serología de mixomatosis y VHD	222
5.5-Mortalidad	226
5.5.1-Adultos	226
5.5.2-Jovenes	226
5.6-Vacunación	228
5.7-Causas de mortalidad	229
5.7.1-Mortalidad por predación.....	230
5.7.1.1-Adultos	230
5.7.1.2-Jovenes	231
5.7.2-Mortalidad por patologías	231
5.7.2.1-Adultos	231
5.7.2.2-Jovenes	233
5.8-Tasas de morbilidad y mortalidad de VHD	234
5.9-Modelización de VHD.....	235
5.9.1-Efecto en la ecología del conejo silvestre	237
5.9.2-Herramientas de gestión.....	241
6-CONCLUSIONES	245
7-RESUMEN	251

8-BIBLIOGRAFIA257

INTRODUCCION Y OBJETIVOS

1-INTRODUCCION Y OBJETIVOS

El conejo silvestre (*Oryctolagus cuniculus*) ha sido para el hombre fuente de materias primas tan importantes como la piel y la carne. Con la domesticación de la especie en tiempos del imperio romano este aprovechamiento fue decayendo progresivamente hasta nuestros días, conforme se desarrollaron nuevas razas domésticas de elevada productividad. No obstante, debido a la mayor disponibilidad de tiempo para el ocio y la mayor sensibilización frente a los problemas medioambientales, en la actualidad el conejo silvestre sigue teniendo un gran interés desde el punto de vista cinegético y de la conservación del medio ambiente.

Tradicionalmente, en el aprovechamiento cinegético ha sido la especie que más rentas ha proporcionado en nuestro país en número de ejemplares y en toneladas de carne, siendo considerada la especie "comodín" de la caza menor al desviar hacia sí misma parte del esfuerzo de caza que de otra manera iría dirigido hacia especies más sensibles.

Desde el punto de vista de la conservación, el conejo silvestre es una de las especies de vertebrados más importantes en el mantenimiento de las cadenas tróficas de los ecosistemas mediterráneos. Su tamaño corporal, su abundancia y su relativa facilidad de captura son cualidades que hacen que el número de especies que potencialmente puedan preñar sobre él sea elevado (hasta 40 en la Península Ibérica; Soriguer 1981a), por lo que de su abundancia depende en gran medida el mantenimiento de la biodiversidad de estos ecosistemas.

Esta abundancia ha sido una de las características de las poblaciones naturales de esta especie, que en muchas ocasiones ha sido considerada como una peste por los daños producidos a la agricultura. Con la introducción de la mixomatosis en la década de los años cincuenta, esta abundancia se vio considerablemente mermada, alterando significativamente la distribución de la especie en nuestro país. Posteriormente, la aparición de la Enfermedad Hemorrágica a finales de los años ochenta y principios de los noventa, volvió a suponer una reducción significativa de la abundancia y del área de distribución de la especie, con la rarefacción e incluso la extinción de numerosas poblaciones.

Esta disminución en la abundancia del conejo silvestre ha afectado negativamente a especies predatoras que dependen directamente de él y que han visto reducidas las probabilidades de recuperación de sus propias poblaciones, así como a otras especies presa

secundarias para las cuales, posiblemente, se ha incrementado el impacto de predación al reducirse la disponibilidad de la presa primaria.

Desde el punto de vista cinético, la aparición de la Enfermedad Hemorrágica ha supuesto una merma considerable en la disponibilidad de piezas de caza, y por tanto la desviación del esfuerzo de caza hacia especies más sensibles, así como una mayor presión contra las especies predatoras por parte del colectivo de cazadores.

En el momento actual, a pesar de la importancia que la Enfermedad Hemorrágica tiene sobre la biología del conejo silvestre y sobre otras especies directa o indirectamente relacionadas, el estudio de esta enfermedad se ha centrado básicamente en aspectos laboratoriales y en su epidemiología en conejos domésticos, siendo muy escasos y de carácter fragmentario los conocimientos acerca de su impacto en poblaciones silvestres.

En este contexto, el principal objetivo del presente trabajo ha sido el estudio y seguimiento de diferentes parámetros de la enfermedad en una población de conejos silvestres a lo largo de diferentes ciclos reproductivos, con el fin de profundizar en el conocimiento de su epidemiología. Los resultados de este trabajo observacional nos han permitido elaborar un modelo matemático que recoge tanto la biología de la especie como la epidemiología de la Enfermedad Hemorrágica, y con el que ha sido posible reproducir y explicar aspectos importantes de la ecoepidemiología de esta enfermedad, así como simular el efecto de diferentes herramientas de gestión y su aptitud para la gestión y recuperación de la especie.

REVISION BIBLIOGRAFICA

2-REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1-Introducción

En este apartado hemos procedido a describir en primer lugar la biología del conejo silvestre, ya que sobre su conocimiento se basa la interpretación de los resultados obtenidos en el presente trabajo. Posteriormente, y como objetivo principal, hemos revisado los conocimientos existentes sobre mixomatosis y Enfermedad Hemorrágica (VHD), las cuales son los dos factores de mortalidad de naturaleza infecciosa más importantes para la especie.

2.2-Biología

El conejo es una especie con alta capacidad colonizadora, ya que además de su potencial reproductivo, puede explotar los recursos que le brindan una gran variedad de hábitats gracias a su adaptabilidad (Thompson y King 1994). Su sistema digestivo, y especialmente el mecanismo de la coprofagia, está adaptado para el aprovechamiento de nutrientes de baja calidad, optimizando la digestión de las proteínas y la absorción de vitaminas del complejo B. Este mecanismo, consistente en la formación de un tipo especial de heces blandas (cecotrofos) que son ingeridas por el conejo directamente desde el ano, es especialmente eficaz para su nutrición cuando el alimento es escaso o de muy pobre calidad (bajo contenido proteico o elevada cantidad de fibra), lo que le pone en ventaja frente a otras especies de herbívoros a la hora de colonizar hábitats marginales o soportar de forma transitoria condiciones ambientales adversas. Esta eficacia de su aparato digestivo se ve acompañada por la gran capacidad selectiva en la ingestión del alimento que tienen los conejos al detectar el contenido de proteína, agua y minerales de la vegetación, modificando las características de su ingesta en función de sus necesidades y de la naturaleza del alimento disponible (Myers y Poole 1963a; Myers y Bults 1977).

2.2.1-Madrigueras

Otro de los mecanismos que han favorecido la persistencia de esta especie en un amplio rango de hábitats es la construcción y uso de madrigueras, si bien el conejo no está especialmente adaptado para excavar. Aunque en zonas en las que existe una densa cobertura vegetal de tipo arbustivo los conejos prefieren permanecer la mayor parte de su tiempo sobre la superficie del suelo, (Wheeler y cols. 1981; King y cols. 1984; Kolb 1994)

las madrigueras se hacen casi indispensables para la reproducción, como protección frente a los predadores en áreas de escasa vegetación, y en aquellos hábitats que presentan condiciones adversas, permitiendo a los conejos soportar elevadas temperaturas en climas áridos o estar al abrigo de las bajas temperaturas y las grandes nevadas en climas fríos (Parer y cols. 1987).

Los conejos seleccionan de manera efectiva el lugar donde construir sus madrigueras. De este modo, en zonas frías o templadas las madrigueras son construidas preferentemente cerca de arbustos, árboles o acúmulos de piedras que sirvan de protección frente a los predadores. Por el contrario, en regiones áridas donde el factor crítico es la elevada temperatura que puede alcanzar el suelo, los conejos prefieren construir sus madrigueras en suelos profundos, que sean fácilmente excavables al menos hasta los 75 cm de profundidad con el fin de aislarse del calor, de tal manera que en zonas áridas de suelos poco profundos las madrigueras se construyen de forma aislada en aquellos lugares en los que existe un afloramiento de suelo más profundo (Parer y Libke 1985). En casos severos de carencia de agua en el medio, las madrigueras juegan un papel vital en la supervivencia de los conejos al reducir la pérdida del agua corporal por evaporación, pudiendo soportar los conejos hasta una pérdida del 50% de su peso durante períodos prolongados de carencia de agua y alimento (Hayward 1961; Cooke 1982b).

2.2.2-Estrategia de vida

La organización social de los conejos silvestres está basada en la formación de grupos familiares cuya función principal es la reproducción y la vigilancia conjunta frente a los predadores (Roberts 1988), más que la defensa y mantenimiento de recursos físicos como áreas de alimentación (Myers y Poole 1963b), si bien las madrigueras pueden ser objeto de posesión fuera de la temporada de cría como lugar de refugio (Mykytowycz 1961; Mykytowycz y Gambale 1965; Dunsmore 1974). El tamaño de los grupos de cría varía con la densidad poblacional y con las posibilidades que presenta el hábitat para excavar madrigueras. De esta manera, en poblaciones muy poco densas suele predominar la monogamia observándose preferentemente parejas de reproductores (Parer 1977), mientras que en poblaciones más densas el grupo social que comparte una misma madriguera suele ser más numeroso y con la razón de sexos favorable a las hembras (Roberts 1987).

Dentro de estos grupos sociales, los machos presentan una relación jerárquica, la cual puede manifestarse como una relación de dominancia lineal entre varios individuos (Mykytowycz 1958b; Myers y Poole 1959) o simplemente la dominancia simultánea de un

sólo macho sobre varios subordinados (Myers y Schneider 1964). Esta relación de dominancia parece determinar la prioridad de los machos para acceder a la cubrición de las hembras receptivas (Bell 1985).

Las hembras por su parte, presentan un comportamiento más variable, oscilando entre la aparente tolerancia mutua hasta el desarrollo de jerarquías muy similares a la de los machos, jerarquización derivada de la posesión y utilización de la madriguera durante la cría. El conjunto de hembras y sus relaciones jerarquizadas constituyen el núcleo a partir del cual se conforma el grupo familiar, siendo las responsables de la cohesión del mismo. La formación de nuevos grupos familiares para la reproducción parece ser que se realiza con la separación de algunas hembras de su grupo familiar inicial, su establecimiento en una nueva madriguera o en la misma si su tamaño lo permite y la adhesión al grupo de nuevos machos que establecerán entre sí sus jerarquías (Myers y Poole 1959).

Cuando la densidad poblacional aumenta, las tasas de agresión también lo hacen, aunque en este caso el incremento de agresividad entre los machos tiene lugar frente a los machos de otros grupos sociales como consecuencia de la defensa del territorio del grupo familiar y de las hembras, mientras que el aumento de la agresividad en éstas tiene lugar entre las hembras del mismo grupo social por mantener el dominio sobre la utilización de la madriguera y la defensa de sus crías.

El mantenimiento y vigilancia del territorio corre a cargo sobre todo del macho dominante, el cual lo delimita constantemente mediante la deposición de excrementos impregnados con secreciones de las glándulas anales, en letrinas situadas en lugares estratégicos o preeminentes (Mykytowycz y Gambale 1969), aunque estas letrinas son utilizadas en diferente grado por todos los componentes del grupo en función de su edad, sexo y posición social (Sneddon 1991). Este marcaje del territorio mediante las deposiciones olorosas, además, se ve acompañado con el marcaje de objetos dentro del territorio y de los mismos individuos que componen el grupo familiar con la orina y la secreción de las glándulas submandibulares del macho dominante, mediante el característico "mentoneo".

El área de campeo de un conejo silvestre varía considerablemente con el sexo, época del año, densidad poblacional y disponibilidad de alimento, oscilando entre las 0,05 ha hasta las casi 7 ha (Myers y Poole 1959; Fullagar 1981; Parer 1982; Gibb 1993; Villafuerte 1994). Las hembras suelen tener un área de campeo sensiblemente inferior a la de los machos, independientemente de las condiciones del hábitat. También durante la época de reproducción el área de campeo suele ser menor que durante el resto del año, expandiéndose cuando cesa la reproducción o cuando los recursos se van haciendo más escasos en proporción a las necesidades nutricionales de los animales. De esta manera, en áreas mediterráneas la máxima extensión de las áreas de campeo tiene lugar durante el verano, cuando la vegetación está seca y la calidad del alimento es escasa (Parer 1982). El

aumento en la densidad poblacional parece reducir también el área de campeo de cada individuo y el territorio del grupo (Myers y Poole 1959; Myers y Poole 1963b).

Normalmente los grupos familiares son muy estables, ya que los conejos adultos raramente abandonan el territorio o grupo de madrigueras en las que han criado por primera vez. Los animales subordinados o sin apego a ningún grupo familiar en concreto sí que pueden realizar pequeñas migraciones, pero siempre dentro de los límites de un área ya conocida previamente (Dunsmore 1974). Únicamente estímulos como una severa carencia de alimento o agua pueden provocar la migración de animales adultos en forma masiva (Parer 1982). Los principales desplazamientos dentro de las poblaciones de conejos son llevados a cabo por animales juveniles o subadultos al comienzo del verano, especialmente machos, los cuales pudieran ser forzados a abandonar la madriguera donde nacieron para no entrar en competencia con los machos dominantes (Mykytowycz y Gambale 1965; Dunsmore 1974), registrándose distancias de migración de hasta 1,5Km. (Parer 1982).

2.2.3-Reproducción

El conejo presenta un marcado carácter oportunista en la reproducción ya que ésta tiene lugar únicamente cuando las condiciones del medio son las adecuadas, por lo que tanto el inicio como el final de la temporada de cría, así como su duración, sufren importantes variaciones de un ciclo a otro y entre diferentes áreas. Ello es debido a la íntima relación entre reproducción y algunos factores climatológicos que afectan tanto a su fisiología como a la disponibilidad de alimento en el medio (Parer 1977; Wood 1980; Wheeler y King 1985a; Gilbert y cols. 1987; Williams y Moore 1989).

En general, los conejos alcanzan la madurez sexual, y por tanto son capaces de reproducirse, entre los 3 y los 9 meses de edad, con marcadas diferencias entre poblaciones (Soriguer 1981a; Myers y cols. 1994). El tamaño medio de camada oscila entre 3 y 6 gazapos, si bien varía notablemente entre poblaciones en función de las condiciones del medio y de componentes genéticos (Williams y Moore 1989). Parece ser que el tamaño de camada se va incrementando paulatinamente conforme avanza la época de reproducción y con la edad de la hembra, especialmente durante el primer y segundo año, (Myers y cols. 1994), para descender paulatinamente conforme avanza su edad (Myers 1964).

La ovulación en esta especie es inducida a través de la estimulación nerviosa del hipotálamo durante la cópula, y la hembra únicamente elicitla la monta del macho cuando

su dieta incluye vegetales en crecimiento, cuyos tejidos parecen contener sustancias que pueden actuar como factores estrogénicos (Poole 1960). Después de un período anual seco, las primeras concepciones suelen tener poco tiempo después de que han tenido lugar las primeras lluvias importantes y se ha iniciado el desarrollo de la vegetación (Delibes y Calderón 1979; Wood 1980; Wheeler y King 1985a); sin embargo, es necesario que estas condiciones se prolonguen en el tiempo para que la hembra pueda llevar a cabo la gestación y lactancia de la camada.

Si las condiciones ambientales se hacen adversas, el número de concepciones disminuye rápidamente mientras que se suprime la implantación de los embriones, los cuales hubieran dado lugar al nacimiento de camadas con pocas probabilidades de sobrevivir. En estos casos la reproducción se detiene, pero mientras el estatus nutricional de la hembra no se deteriore, ésta podrá llevar adelante la lactación de la camada actual y exhibir un ciclo folicular de 7 días de duración que le permitirá entrar en gestación tan pronto como las condiciones mejoren (Myers y Poole 1962). Este ciclo folicular se inicia inmediatamente después del parto, por lo que la hembra puede quedar gestante durante la primera semana posterior al mismo, simultaneando la gestación con la lactancia de la anterior camada. Como la duración de la gestación dura entre 28 y 30 días, las hembras de esta especie son capaces de traer al mundo una nueva camada de gazapos cada mes durante el período de reproducción (Mykytowycz 1959; Wood 1980).

La mortalidad intrauterina o reabsorción de embriones es un fenómeno frecuente en esta especie, y su magnitud varía entre poblaciones y períodos de cría, así como dentro de los mismos. Esta mortalidad intrauterina puede ser parcial, con frecuencias que pueden llegar al 46% de las hembras (Lloyd 1963), o suponer la pérdida de todos los embriones hasta en el 2% del total de hembras gestantes (Trout y Smith 1995). De manera similar a otros mamíferos, elevadas densidades poblacionales que incrementan las tasas de agresividad, o respuestas endocrinas asociadas al estrés en aquellas hembras de posición subordinada, pueden afectar a la reproducción de la especie aumentando la reabsorción embrionaria durante los primeros estadios e incluso inhibiendo el estro (Bell 1985).

La hembra es la encargada de construir la cámara de cría que cubre con hierba y pelo que ella misma se arranca del vientre. Esta cámara de cría o gazapera puede estar construida dentro de la estructura de la madriguera o apartada de ella. En su interior permanecen los gazapos que son amamantados una o dos veces diarias por la hembra (Gibb 1990) durante los primeros 19-21 días, momento a partir del cual los gazapos son destetados y emergen al exterior para alimentarse por sí mismos.

El índice de crecimiento de la vegetación y las precipitaciones son las dos variables que mejor predicen la reproducción en las hembras, incluyendo la evaporación en zonas áridas, aunque se observan dos tendencias: por un lado la posibilidad de ovulación parece fluctuar en relación a las precipitaciones y a cambios en el índice de crecimiento de la vegetación a corto plazo, mientras que la gestación, lactación y la producción de gazapos está más relacionada con la evaporación y con cambios en el índice de crecimiento de la vegetación a largo plazo. La reproducción en la hembra es por tanto un compromiso entre estímulos a corto y a largo plazo (Myers y cols. 1994).

Por el contrario la reproducción en los machos parece estar regida por factores climáticos y ritmos estacionales como el fotoperíodo (Boyd 1985 y 1986), ya que de forma general, con el aumento de la duración del día crece el tamaño medio testicular, aunque temperaturas extremadamente altas o bajas pueden reducir su fertilidad (Rogers y cols. 1994).

En general, si bien el inicio de la reproducción del conejo suele coincidir con el otoño-invierno, en consonancia al ciclo del crecimiento vegetal, y puede prolongarse hasta el verano en función de las condiciones climáticas y del medio, las mayores tasas reproductivas de la especie se suelen alcanzar en primavera, siendo mínimas durante el verano y otoño (Wheeler y King 1985a; Myers y cols. 1994).

2.2.4-Dinámica poblacional

2.2.4.1-Supervivencia y mortalidad

Todos los trabajos existentes hasta ahora acerca de la dinámica poblacional de esta especie han sido realizados antes de la aparición de la VHD, por lo que reflejan, básicamente, el impacto de predación y mixomatosis como principales factores de mortalidad.

El modelo de supervivencia seguido por esta especie, en la inmensa mayoría de las poblaciones estudiadas, está caracterizado por una baja tasa de supervivencia de las clases de menor edad, tasa de supervivencia que posteriormente se incrementa y estabiliza para los animales adultos (Tyndale-Biscoe y Williams 1955; Wheeler y King 1985; Gibb 1993; Villafuerte 1994). A pesar de ello, en la mayoría de las poblaciones este modelo de supervivencia supone un fuerte renuevo anual de la población, ya que aunque los conejos adultos pueden llegar a vivir hasta 3 e incluso más de 7 años (Gibb 1993; Villafuerte 1994), la mayoría de ellos no sobreviven más allá de un año, por lo que al comienzo de

cada período reproductor una elevada proporción de animales adultos son animales que han nacido durante la temporada anterior (King y Wheeler 1985).

En general, la principal causa de muerte entre los adultos parece ser la predación, y en mucho menor grado la mixomatosis, especialmente durante el invierno, debido a que a esta edad un elevado porcentaje de los conejos presentan anticuerpos (Tyndale-Biscoe y Williams 1955; King y Wheeler 1985; Wheeler y King 1985; Soriguer 1981a).

Respecto a otras clases de edad, es poco lo que se conoce acerca de las tasas de supervivencia de los gazapos durante sus primeras cuatro semanas de edad, antes de que tenga lugar su emergencia al exterior, aunque se ha estimado que la mixomatosis, inundaciones, carencias nutricionales, y sobre todo predación, son las principales causas de muerte; especialmente esta última en aquellas zonas en las que los nidos son de fácil acceso debido a la naturaleza poco consistente del suelo (Myers y Parker 1965; Wood 1980; Gibb 1993; Villafuerte 1994).

Los juveniles y subadultos son los que, con diferencia, cuentan con las menores tasas de supervivencia. Además de coccidiosis (Mykytowycz 1962; Stodart 1968) o carencia de alimento (Parer 1977), son la mixomatosis y la predación las dos principales causas de mortalidad entre estos animales, aunque el verdadero impacto que cada una de ellas ejerce en estas clases de edad sea difícil de establecer debido a la enorme dificultad que entraña estimar la verdadera causa de muerte (Parer 1977; Wood 1980; Soriguer y Rogers 1981; Richardson y Wood 1982), ya que animales enfermos ven facilitada su predación o pueden ser consumidos como carroña. En cualquier caso, la mortalidad para estas clases de edad suele ser muy elevada en términos generales, llegando incluso al 99,75% en animales inferiores a los 9 meses de edad (Wood 1980). Esta elevada mortalidad se ve favorecida por la dispersión que realizan estos animales a partir de su grupo de origen, lo que les expone a un deterioro de su condición física y a una mayor exposición a los predadores (Gibb y cols. 1978; Cowan 1987b).

Posteriormente, conforme avanza la edad de los conejos, éstos van adquiriendo experiencia en la estrategia de evitación y defensa ante los predadores (Vitale 1989), lo que unido a un comportamiento más sedentario y a la adquisición de resistencia a las enfermedades, incrementan las tasas de supervivencia hasta alcanzar los valores propios de los adultos.

2.2.4.2-Factores reguladores de la dinámica poblacional

Desde el punto de vista poblacional, el factor último que al parecer puede regular el crecimiento de una población es la cantidad de comida disponible. En estudios llevados a cabo sobre poblaciones experimentales confinadas en cercados, eliminada la mortalidad por predación y suplementando la alimentación de forma indefinida, incluso a muy elevadas densidades poblacionales se mantuvo la reproducción efectiva y el crecimiento de la población hasta el agotamiento del alimento y la posterior mortalidad de los conejos por inanición (Myers y Poole 1963b; Myers 1964). En otros estudios similares, se observó una marcada reducción de la fecundidad conforme poblaciones de baja densidad alcanzaban densidades medias (Lockley 1961; Myers y Poole 1962). Sin embargo, estos cambios en la fecundidad no son capaces de limitar el crecimiento poblacional cuando no existen restricciones en la calidad ni en la cantidad de alimento, puesto que esta reducción en los parámetros reproductivos es poco marcada aun a densidades poblacionales muy elevadas, así que las poblaciones son capaces de seguir creciendo a pesar del aumento del estrés social y de la mortalidad directamente relacionada con el aumento de densidad, (Myers y Poole 1963b; Myers 1964). Al parecer, la mortalidad debida a las interacciones sociales en una población de elevada densidad determina cual o cuales conejos, más que cuantos, van a sobrevivir (Gibb y cols. 1978).

Parece claro pues, que los mecanismos intrínsecos densodependientes como son la reducción de la fecundidad y las posibles interacciones sociales no son capaces de regular por sí mismos el crecimiento de una población de esta especie, siendo necesarios la intervención de otros factores extrínsecos para la regulación y estabilización de sus efectivos (Myers 1964; Gibb y cols. 1978; Wallage-Drees y Michielsen 1988). Lógicamente, este tipo de dinámica poblacional en la que el alimento es el único factor limitante, sólo puede darse en poblaciones experimentales en las que la predación y la emigración son minimizadas, o en contadas poblaciones naturales ubicadas en islas o en áreas en las que se encuentran aisladas por la orografía del terreno y el impacto de otros factores reguladores está atenuado (Myers y Poole 1963b).

En estado silvestre, la mayoría de las poblaciones no muestran variaciones tan exageradas en sus densidades poblacionales debidas únicamente a la disponibilidad de alimento, ya que en un amplio rango de posibilidades, su densidad suele estar regulada a corto y medio plazo por factores como las variaciones cíclicas en la calidad y cantidad del alimento, la migración, la mortalidad por predación y las enfermedades.

2.2.4.2.1-Cambios en la alimentación

Los cambios cíclicos (de carácter estacional o secundarios a cambios en la misma densidad poblacional) de la cantidad y calidad del alimento al que están sometidas las poblaciones naturales, estabilizan su densidad media al disminuir la amplitud de sus oscilaciones, impidiendo que ésta aumente por encima de niveles críticos que agoten totalmente los recursos del medio y provoquen descensos periódicos y caóticos de los efectivos poblacionales. Este mecanismo de variación en la calidad y cantidad del alimento actúa disminuyendo periódicamente tanto la tasa reproductiva de la población como aumentando la mortalidad de los animales durante los periodos de escasez (Myers y Poole 1963b; Wallage-Drees y Michielsen 1988).

2.2.4.2.2-Migración

La migración debida a causas sociales también puede actuar como agente estabilizador de las poblaciones de conejos, dispersando a parte de los animales sobre amplias áreas y disminuyendo su impacto específico sobre los recursos del medio. De esta manera, se protegen las reservas de alimento que posteriormente disminuirán la incidencia de fuertes mortalidades por inanición. También la migración supone la eliminación del excedente de animales de una población, los cuales al desplazarse hacia hábitats menos favorables sucumben más fácilmente a la predación, enfermedades u otro tipo de factores de mortalidad (Myers y Poole 1963b).

2.2.4.2.3-Predación

La predación es uno de los motores que ha guiado la evolución del conejo silvestre a lo largo de su historia, constituyendo uno de los principales sino el más importante factor de mortalidad, por lo que toda la estrategia vital de este lagomorfo se halla encaminada a contrarrestar su impacto.

Tradicionalmente se ha considerado que la predación no regula las poblaciones de las especies presa, sino que sólo elimina a los animales excedentes. Sin embargo, trabajos realizados sobre poblaciones de conejo silvestre (Myers y Parker 1975; King y Wheeler 1985) ya sugirieron el importante papel regulador que la predación podría ejercer sobre las mismas, impidiendo que sus densidades alcanzasen niveles tales que llegasen a agotar los recursos del medio. Trabajos más recientes (Newsome y cols. 1989; Trout y Tittensor 1989), han evidenciado este hecho con mayor fuerza, mostrando una capacidad de regulación de tal magnitud que puede incluso mantener a bajas densidades poblaciones de conejos que han sido afectadas previamente por otros factores negativos, tales como

sequías, fuertes nevadas o enfermedades, ralentizando su recuperación, lo que en ocasiones pudiera llevar a la rarefacción de la especie.

En general, el impacto de la predación sobre las poblaciones de conejos puede ser muy variable ya que presenta notables diferencias entre poblaciones y dentro de una misma población a lo largo de su historia, siendo determinada su magnitud por el número y densidad de las especies de predadores, y por el número y valor reproductivo de cada conejo consumido (Pech y cols. 1992; Villafuerte 1994).

Además, otros factores ajenos a los predadores pueden condicionar la importancia de la predación, como son: incidencia o no de enfermedades, una reducción en la calidad o cantidad del alimento, la cual produce cambios en la actividad de los conejos que facilita su predación (Gibb 1978; Cowan 1987b), o un aumento en la densidad poblacional que puede reducir ostensiblemente la razón entre el número de entradas de madriguera y el número de conejos (Parer 1977).

2.2.4.2.4-Enfermedades

Aunque se han diagnosticado múltiples patologías como causas de muerte en individuos aislados, o incluso se ha sugerido la posible interacción de las infecciones por helmintos con la mixomatosis (Mykytowycz 1959a; Boag 1985; Boag 1988) únicamente se ha reconocido la importancia de la mixomatosis y la Enfermedad Hemorrágica (VHD) en la dinámica poblacional de la especie, y en mucho menor grado la coccidiosis.

Algunos trabajos han sugerido la importancia de la coccidiosis del conejo, (producida por la infección de protozoos del género *Eimeria*) como un factor importante en la mortalidad de animales juveniles (Tyndale-Biscoe y Williams 1955; Stodart 1968), especialmente en poblaciones de elevada densidad mantenidas en cautividad y en donde la infección por *Eimeria stiedae* se ve facilitada (Mykytowycz 1962). Sin embargo, su importancia en la dinámica poblacional de la especie parece enormemente condicionada por las características del medio, al necesitar el parásito unas determinadas condiciones de humedad y temperatura que le permitan completar su ciclo biológico (Stodart 1968). Por este motivo, el interés suscitado por esta enfermedad parasitaria como factor controlador de las poblaciones de conejo silvestre ha ido disminuyendo ante la evidencia de que otras enfermedades como la mixomatosis, y más recientemente la VHD, sí parecen desarrollar un papel primordial en su dinámica poblacional.

La mixomatosis, enfermedad por excelencia de los conejos silvestres hasta la aparición de la VHD, ha sido una de las patologías de la fauna silvestre sobre la que más esfuerzos se han volcado para su investigación, debido a su tremendo potencial como factor regulador del crecimiento de las poblaciones de este lagomorfo, por lo que el bagaje de conocimiento científico sobre la misma es considerable. En la actualidad, la mixomatosis comparte su importancia con la VHD como objeto de estudio, ya que aunque la VHD es de más reciente aparición y los conocimientos sobre su ecoepidemiología en las poblaciones de conejos silvestres son relativamente escasos, éstos sugieren que esta nueva enfermedad vírica también puede ejercer un fuerte control sobre la dinámica poblacional de la especie.

En los siguientes apartados se expondrán los conocimientos más importantes que hay sobre ambas enfermedades.

2.3-Mixomatosis

2.3.1-Introducción

En este capítulo haremos una breve revisión de los conocimientos existentes sobre la mixomatosis. Comenzaremos por hacer referencia a su historia, como y porqué fue introducida entre las poblaciones silvestres, a su etiología, con especial atención a la clasificación de las diferentes cepas de virus en función de su virulencia; y también se comentarán los puntos más importantes de su patogenia y su característico cuadro clínico.

En el apartado de epidemiología se describirán aspectos tan importantes como las fuentes de infección y las vías de transmisión, así como los factores dependientes del hospedador y del medio externo, la dinámica de la enfermedad y la evolución de la misma entre las poblaciones de conejos silvestres, especialmente en lo concerniente a la coevolución de la virulencia del virus y la resistencia del hospedador.

Finalmente, trataremos de forma resumida las técnicas de diagnóstico y los métodos de lucha contra la enfermedad utilizados más comúnmente para la recuperación de las poblaciones de conejo silvestre.

2.3.2-Historia

El primer conocimiento que se tiene de esta enfermedad data de 1896, reconocida como una enfermedad letal que afectaba a los conejos de laboratorio (*Oryctolagus cuniculus*) en América del sur (Sanarelli 1898). Posteriormente se siguió observando afectando a conejos domésticos en Brasil, y no fue hasta 1930 cuando se reveló su importancia como epizootia en granjas cunícolas situadas en California (Kessel y cols. 1931).

La mixomatosis ya fue sugerida como medio de control de las poblaciones de conejos silvestres en Australia en 1918 (Fenner y Ross 1994); de hecho, en 1944 se llevaron a cabo estudios sobre su potencial de transmisión en condiciones naturales y a través de los posibles artrópodos vectores nativos de la zona, tanto en la isla de Wardang como en áreas semiáridas del interior del país. Sin embargo, la escasa efectividad conseguida en la propagación del virus hizo abandonar el proyecto hasta que en 1949 fue retomado debido al preocupante aumento de las poblaciones de conejos. En esta ocasión, el virus fue introducido en varios lugares del Valle de Murray durante mayo-diciembre de

1950 (Fenner y Ross 1994); en unos pocos meses la enfermedad se extendió a lo largo de todo el sistema fluvial de ese valle, produciendo una mortalidad superior al 99% y la extinción de la especie en numerosas zonas. Actualmente la enfermedad cursa de forma enzoótica, con epizootias asociadas al ciclo vital de los vectores.

En Europa, el interés por el virus como medio de controlar a los conejos silvestres data de los años 30, si bien esta idea tuvo su mayor impulso a raíz del éxito conseguido con la introducción del virus en Australia. El 14 de junio de 1952 una cepa de virus de la mixomatosis procedente del Laboratorio de Bacteriología de Lausanne fue inoculada por el francés Armand Delille a dos conejos capturados en su propiedad. En pocos meses la enfermedad se propagó por toda Francia, en 1953 llegó a Bélgica, Holanda, Alemania, Luxemburgo, y al resto de Europa entre 1954 y 1961 (Fenner y Ross 1994). En Gran Bretaña la mixomatosis fue detectada en 1953, aparentemente introducida de forma deliberada con animales enfermos (Armour y Thompson 1955) o posiblemente mediante artrópodos (*Anopheles atroparvus*) arrastrados por el viento (Sellers 1987), extendiéndose por todo el país en cuestión de dos años.

En España se detectaron los primeros casos en los meses de septiembre-octubre de 1953, en la provincia de Gerona (Sanchez y cols. 1954), si bien la aparición de la enfermedad como epizootia no tuvo lugar hasta septiembre de 1954, cuando la enfermedad apareció en múltiples puntos de esta provincia propagándose por toda la región del Ampurdán. Llegado el invierno la enfermedad remitió, pero durante el verano siguiente de 1955 reapareció de nuevo propagándose a otras 18 provincias españolas, entre ellas Zaragoza, afectando tanto a conejos domésticos como silvestres. En esta provincia la enfermedad alcanzó su máxima incidencia en 1957, siendo las zonas próximas al río Ebro las que fueron más rápida e intensamente afectadas (Muñoz 1960).

2.3.3-Etiología

El virus de la mixomatosis fue observado por primera vez por Aragañ (1927), quien ya describió su similitud morfológica con otros poxvirus. En la actualidad, el virus se ha clasificado como perteneciente a la familia *Poxviridae*, género *Leporipoxvirus*, el cual comprende tres virus altamente relacionados entre sí hallados en conejos americanos del género *Sylvilagus*, dos virus encontrados en ardillas norteamericanas y el virus fibroma de la liebre (*Lepus europaeus*). Se trata de un virus de gran tamaño, entre 220 y 280nm de diámetro, DNA bicatenario, con envoltura, y dos cuerpos laterales en el interior.

Aragão (1943) demostró que el hospedador natural del virus de la mixomatosis en Sudamérica es *Sylvilagus brasiliensis*, mientras que en Norteamérica, concretamente en California, una cepa diferente del virus fue aislada de *Sylvilagus bachmani*, aunque esta última cepa nunca ha sido introducida en poblaciones de *Oryctolagus cuniculus*.

Se ha podido cultivar artificialmente "in vivo" sobre animales sensibles. También es posible su cultivo en embrión de pollo de 7 días, donde al cabo de 3-4 días provoca la edematización de la membrana corioalantoidea y la formación de placas de 0,5-1mm de diámetro de color blanco, opacas y de bordes irregulares, lo que permite titular las suspensiones virales (Joubert y cols. 1972). También se ha podido cultivar satisfactoriamente en diversos sistemas celulares como fibroblastos de pollo, células de riñón de conejo o hámster, Hela BHK y otros.

2.3.3.1-Resistencia natural del virus

La resistencia natural del virus a agentes físicos es notable. El frío lo conserva perfectamente, siendo capaz de resistir congelado durante al menos 3 meses; por el contrario, una temperatura de 55-60°C altera en pocos minutos las propiedades biológicas del mismo, sobre todo si además está expuesto a radiaciones ultravioletas. Lo mismo ocurre con variaciones bruscas de temperatura, por lo que la estabilidad y aislamiento térmico de las madrigueras las convierte en refugios adecuados para su pervivencia (Joubert y cols. 1972). La luz solar es capaz de inactivar el virus en una o dos semanas de exposición, mientras que la desecación tiene poca influencia en su viabilidad, sobre todo en presencia de materia orgánica.

El virus también es capaz de soportar un amplio rango de pH, desde 4,6 hasta 12, condicionando en gran medida los productos desinfectantes de elección, como son el formol, la sosa cáustica y los amonios cuaternarios, todos ellos efectivos ante el virus.

En los cadáveres, la resistencia vírica se ha evaluado en unos 8 días aproximadamente, mientras que en la piel puede llegar a permanecer al menos 220 días (Joubert y cols. 1972).

2.3.3.2-Clasificación del virus por su virulencia

Todas las cepas de virus de la mixomatosis conocidas actualmente y que afectan a las poblaciones de *Oryctolagus cuniculus*, proceden únicamente de dos cepas originales brasileñas. Una de ellas, denominada cepa "Moses" o "Standard Laboratory Strain" (SLS) fue aislada de un conejo de laboratorio infectado naturalmente en Río de Janeiro (Moses 1911), siendo la cepa de virus que posteriormente sería liberada en Australia, tras 40 años de sucesivos pases en conejos de laboratorio. La otra cepa, denominada "Lausanne" fue aislada en 1949 (Bouvier 1954) y sufrió muy pocos pases en laboratorio antes de ser liberada en Francia en 1952 y propagarse a toda Europa, siendo esta última cepa más virulenta que la anterior.

Algunos años después de su establecimiento entre conejos silvestres en Australia y Europa, se observó una disminución en la virulencia del virus y en la mortalidad causada en las poblaciones silvestres, si bien todavía causaban mortalidades entre el 50 y el 95% en conejos testados en laboratorio. La virulencia de estas nuevas variantes del virus, denominadas cepas, medida en términos de letalidad, se consideró inversamente correlacionada con el tiempo medio de supervivencia de los conejos inoculados en laboratorio, lo cual permitió el desarrollo de tests laboratoriales para la caracterización de estas cepas en función de su virulencia. De este modo, y aunque el espectro de virulencia es de naturaleza continua, a efectos analíticos Fenner y Marshall (1957) establecieron una serie de "grados de virulencia" (I, II, IIIA, IIIB, IV y V) en orden decreciente, oscilando desde las cepas de grado I que cursan con una mortalidad superior al 99% hasta las cepas de grado V, con una mortalidad inferior al 50%.

Este sistema de gradación de la virulencia fue diseñado para poder comparar en laboratorio la virulencia de diferentes cepas de virus de una forma estandarizada, pero no para poder estimar la evolución de la virulencia del virus a lo largo del tiempo, tal y como se ha venido haciendo en numerosos trabajos (Fenner y Ratcliffe 1965; Edmonds y cols. 1975; Fenner y Myers 1978). Esta confusión en la utilización de este método de gradación ha provocado una percepción distorsionada acerca de la virulencia y su evolución a lo largo del tiempo (Parer y cols. 1994). Esto ha sido así porque Fenner y Marshall (1957) definieron la virulencia en términos de supervivencia, y el sistema de gradación ideado es, por tanto, una escala de tasas de supervivencia, las cuales se van reduciendo conforme la virulencia aumenta. Sin embargo, como muchos tests realizados a cepas campo fueron hechos únicamente sobre cinco conejos (muy pocos para obtener tasas de supervivencia), Fenner y Marshall usaron la media del tiempo de supervivencia en lugar de la tasa de supervivencia, ya que demostraron la existencia de una fuerte correlación entre ambas variables para un cierto número de cepas. El error, amplificado posteriormente en otros trabajos, fue suponer que esta correlación entre tasa y tiempo medio de supervivencia se da siempre y en todas las cepas, lo que ha llevado a dos consecuencias. La primera es que

ninguno de los trabajos realizados posteriormente estuvo dirigido a la búsqueda de cepas que produjesen largos tiempos de supervivencia y elevadas tasas de mortalidad simultáneamente, y la segunda es que las cepas se han venido clasificando por el tiempo medio de supervivencia de los conejos, cuando existen evidencias suficientes para creer que este tipo de clasificación es totalmente erróneo, y que cepas clasificadas como Grado III en función del tiempo de supervivencia, son en realidad clasificadas como Grado I por las tasas de mortalidad (Parer y cols. 1994).

Más recientemente, en 1980 se identificaron, tanto en conejos domésticos como en silvestres, otras variantes causantes de fiebre y pequeñas lesiones cutáneas, pero acompañadas de un edema pulmonar intenso (Brun y cols. 1981b), dando lugar a lo que se conoce como mixomatosis amixomatósica. Otra variante recombinante, llamada virus maligno del fibroma, fue aislada a partir de los tumores inducidos por un lote de, a priori, virus del fibroma de Shope, comprobándose posteriormente que se trataba de un virus recombinante creado accidentalmente en laboratorio a partir de virus del fibroma y mixomavirus (Block y cols. 1985).

2.3.4-Patogenia

La patogenia de la mixomatosis en *Oryctolagus cuniculus* sigue un patrón similar a las infecciones producidas por otros poxvirus. El virus realiza su primera replicación en el punto de inoculación, produciendo el mixoma primario, que normalmente suele pasar desapercibido, y en el ganglio linfático regional correspondiente. Hacia el 4º día tiene lugar la viremia y la generalización al resto del organismo (Strayer y Sell 1983). Al tratarse de un virus ectodermotropo, las lesiones se centran sobre todo en el tejido nervioso y epitelial, especialmente en la piel, en donde tiene lugar la aparición de tumores nodulares, especialmente en cara, orejas, genitales y extremos de los miembros.

Su virulencia es elevada y un sólo virión inyectado es capaz de desencadenar la infección, especialmente si la vía de inoculación es intradérmica o subcutánea, ya que otras vías como la intramuscular o intravenosa resultan menos eficaces para favorecer la primera replicación del virus, lo que se traduce en un curso más leve de la enfermedad o incluso la ausencia de la misma (Joubert y cols. 1972).

Cepas virulentas inoculadas intradérmicamente siempre causan la muerte en 9-13 días de conejos no seleccionados genéticamente, si bien todavía no está muy claro el mecanismo exacto que la desencadena, pues las lesiones observadas no son suficientes para provocarla. Se supone que ésta tiene lugar por la inanición y las complicaciones

secundarias producidas sobre todo por el efecto inmunosupresor de la mixomatosis, provocado por la replicación del virus en los linfocitos (Heard y cols. 1990), lo que suele favorecer la aparición de infecciones bacterianas secundarias Gram (-) (Joubert y cols. 1972; Graham y cols. 1992), o la proliferación de helmintos parásitos (Mykytowycz 1959a; Boag 1988).

La incapacidad del conejo para lograr una respuesta inmune efectiva frente a la infección el virus es debida a la reducción de la inmunidad celular provocada por el virus (Mossman y cols. 1996b) pues si bien, aunque la inmunidad humoral no se ve afectada en gran medida, los anticuerpos circulantes, aún a elevados títulos, no protegen contra la diseminación del virus, la proliferación de las infecciones concomitantes bacterianas y la severa patología producida por el virus en los puntos de replicación (Fenner y Ratcliffe 1965; Graham y cols. 1992).

Aparentemente, uno de los variados mecanismos utilizados por el virus es la producción de factores que, transportados a la superficie de las células infectadas, inhiben o disminuyen considerablemente la infiltración celular inflamatoria, por lo que la eliminación efectiva del virus se imposibilita (Graham y cols. 1992). Además, el ADN vírico, de manera similar a otros poxvirus, contiene un gran número de factores codificados, como son el factor de crecimiento del mixoma, el inhibidor de la proteinasa o el factor de necrosis tumoral, entre otros, que no son en absoluto necesarios para asegurar la replicación del virus, pero que sí están relacionados directamente con la patogenicidad del mismo, pues su deplección, aunque sea parcial, produce cepas víricas de patogenicidad reducida (McFadden y cols. 1995; Mossman y cols. 1996a).

Otro aspecto importante de la mixomatosis son las secuelas de infertilidad total o parcial que sufren aquellos animales que se han recuperado de la enfermedad. A nivel de laboratorio, Sobey y Turnbull (1956) demostraron que tanto en machos como en hembras que habían padecido cuadros severos de mixomatosis, una proporción considerable sufrían secuelas de completa esterilidad o fertilidad reducida. No obstante, la cuestión es saber si este hecho tiene importancia en la naturaleza, puesto que estos animales gravemente infectados no sobreviven en las condiciones naturales, y aquellos que sobreviven por sufrir cuadros menos severos no presentan estas secuelas de infertilidad. Algunos autores australianos han fracasado en detectar estos efectos sobre la fecundidad en grandes muestras de hembras silvestres recuperadas de la enfermedad (Sobey y Turnbull 1956). Únicamente Ross y cols. (1989) en Gran Bretaña, detectaron indicios de reducción en la producción de esperma en 26 conejos silvestres machos recuperados de la enfermedad, aunque la evolución del desarrollo testicular y epididimal fue acorde con el período del año; sólo dos de los 13 machos adultos examinados (15%) entre diciembre y mayo

presentaron abundante esperma en el contenido del epidídimo, mientras que para la misma época debería haberse esperado al menos un 50% de animales con esa cantidad.

2.3.5-Cuadro clínico

En sus hospedadores naturales del género *Sylvilagus*, el virus produce únicamente un pequeño fibroma, a menudo localizado en la base de la oreja (Regnery y Miller 1972), sin que normalmente tenga lugar la enfermedad en forma generalizada. Sin embargo, en *Oryctolagus cuniculus* la enfermedad suele cursar de forma generalizada y frecuentemente es mortal.

Sintomatología:

El período de incubación dura entre 3 y 4 días de media, y puede oscilar entre los 2 y los 18 días, según la virulencia del virus y la cantidad inoculada.

La mixomatosis se presenta principalmente bajo las siguientes formas clínicas:

- Aguda
- Subaguda
- Crónica
- Amixomatósica

Forma aguda:

Es una forma frecuente en poblaciones que no han tenido contacto previo con el virus. La fase de inicio comprende las primeras 24-48 horas durante las cuales se desarrolla el mixoma primario y las lesiones cefálicas.

El mixoma primario aparece en el lugar de inoculación sin prodromos característico. Habitualmente se localiza en la base de las orejas o en la periferia de las órbitas, y muy pronto evoluciona a un edema cefálico doloroso asociado a una blefaroconjuntivitis aguda con lacrimo abundante que pasa a ser purulento. Los exudados mucopurulentos terminan por ocluir los párpados en unas horas.

Los pelos de la cara aparecen erizados y aglutinados por las secreciones, y la confluencia de los mixomas secundarios confiere el aspecto de "cara leonina" al animal mixomatoso. A partir de esta sintomatología, alcanzada a los 9-10 días de producida la infección, la búsqueda del alimento se hace muy difícil, ya que a la pérdida de visión se une la pérdida de olfato debido al edema, que acompañado además por el flujo nasal purulento, se produce en las fosas nasales.

A esta fase, sigue la que se podría llamar fase de estado, en la que se produce la generalización anogenital de los mixomas secundarios. En 2 ó 3 días los mixomas invaden el ano y la vulva en la hembra, y el ano, escroto y prepucio en el macho. En estas áreas aparece un edema circunscrito de color rojo-violáceo, y en el macho la inflamación impide el ascenso de los testículos a la cavidad abdominal, acompañándose de balanitis, fimosis y necrosis del glande.

Veinticuatro horas después de la aparición de las primeras manifestaciones anogenitales, 4 ó 5 días después de la aparición de los primeros síntomas clínicos, tiene lugar la fase terminal, en la cual tiene lugar la generalización de los mixomas secundarios por toda la piel. Se trata de nódulos de consistencia elástica y del tamaño de una avellana, a veces confluyentes. No presentan temperatura elevada y no son dolorosos. Se limitan a la piel, sin afectar al tejido conjuntivo subcutáneo y, aunque pueden aparecer sobre todo el cuerpo, son más numerosos en la base de las orejas y en la cara. Habitualmente se presenta hipertrofia de los ganglios linfáticos correspondientes a la región invadida.

Avanzada la fase anterior de generalización, el apetito desaparece totalmente, el adelgazamiento es rápido y la muerte sobreviene después de una postración completa, unos 12 días después de haberse producido la infección.

Forma subaguda:

Esta presentación es siempre menos exudativa que la forma aguda, y se caracteriza por la localización cefálica de los mixomas. Se da cuando la enfermedad lleva varios años entre la población de conejos y coinciden cepas poco virulentas y animales con un relativo grado de resistencia.

La duración de la enfermedad es más larga, entre 3 y 5 semanas después de observados los primeros síntomas, pero la sintomatología, aunque retrasada en su presentación, es muy similar a la descrita en la forma aguda. La mortalidad sigue siendo elevada.

Forma crónica:

Es una forma localizada, poco exudativa, benigna y autocurable que suele aparecer después de un largo período epizootico. Los animales presentan siempre un buen estado general y mantienen todos sus reflejos instintivos.

Las características de los mixomas difieren de las de otras formas, ya que su número es siempre escaso, apreciándose en ocasiones uno o dos solamente. Su tamaño es pequeño, no alcanzando más que en raras ocasiones tamaños superiores a un guisante. Su

consistencia se va afirmando con el tiempo, y llegan a ser muy duros debido a una esclerosis por cicatrización. Se localizan esencialmente en la cabeza y el metatarso, y muy raramente en la región dorsal. Inicialmente presentan un aspecto exudativo, aun cuando no muestran ninguna tendencia a la extensión local o regional. Suelen ser, además, planos o ligeramente cóncavos y raramente protuberantes. Al cabo de 5-6 días dan lugar a una escara de color negruzco, perdiendo totalmente su carácter exudativo e iniciando su regresión.

Finalmente, al cabo de 2-8 semanas, y fruto de la cicatrización, aparecen áreas alopécicas en los lugares donde se asentaban los mixomas, alopecias que pueden permanecer visibles durante mucho tiempo (Joubert y cols. 1972).

Forma amixomatósica:

Es la variante conocida más recientemente. En general, y aun cuando los animales enfermos pueden presentar variaciones individuales, se caracteriza por una sintomatología eminentemente respiratoria. Aparecen animales afectados con blefaroconjuntivitis, congestión auricular y cierto edema anogenital, sobre todo gazapos de 40-50 días de vida, pero su evolución es siempre hacia un coriza sero-purulento similar al de la pasterelosis.

En animales adultos surgen mixomas plano o ligeramente convexos muy poco evidentes, junto con los síntomas respiratorios. La afección respiratoria no es, sin embargo, exclusiva de esta forma de presentación, pues en los casos de mixomatosis típica también se registran lesiones pulmonares y viscerales, con hemorragias frecuentes asociadas a endoarteritis de los vasos sanguíneos, así como lesiones en el epitelio bronquial (Joubert y cols. 1972).

2.3.5.1-Lesiones macroscópicas

Las lesiones patognomónicas principales son los mixomas o pseudotumores cutáneos. Al corte, el tejido es liso, uniforme, homogéneo, de color rosáceo y más o menos exudativo según la forma clínica. Las lesiones viscerales accesorias son discretas y prueban la generalización por viremia de la enfermedad. Los testículos, sin embargo, están congestivos e hipertrofiados. En el caso de la forma amixomatósica es frecuente encontrar numerosas hemorragias en pulmón, tanto en su superficie como en su interior, y la aparición a veces, de nódulos protuberantes de color grisáceo en su superficie (Rosell y cols. 1984).

2.3.5.2-Lesiones microscópicas

Al microscopio, en los mixomas se observan inclusiones citoplasmáticas eosinófilas o cuerpos de Splendore en las células, además de lesiones degenerativas no específicas. La epidermis sufre una necrosis como consecuencia de la degeneración causada por la pérdida de la función trófica de la dermis. En ésta, las células sufren una transformación con producción de una sustancia rica en mucina. La hiperplasia dérmica se traduce por la aparición de células multipolares con largas prolongaciones anastomosadas. Por último, el útero presenta unas condiciones inadecuadas para la nidación, desprovisto de glándulas secretorias y con el corion citogénico fibrótico (Joubert y cols. 1972).

2.3.6-Epidemiología

2.3.6.1-Especies sensibles

La mixomatosis afecta exclusivamente a los lagomorfos, aunque la gravedad de la enfermedad varía considerablemente en función de la especie implicada y la cepa de virus. *Oryctolagus cuniculus* es la especie más sensible para todas las cepas conocidas; *Lepus europaeus* también puede sufrir muy ocasionalmente la enfermedad, mientras que *Sylvilagus brasiliensis*, en el cual la enfermedad cursa de forma leve o inaparente, se considera reservorio de las cepas de virus causantes de la mixomatosis en *Oryctolagus cuniculus* en el centro y sur de América (Fenner y Ross 1994).

En América del norte (California), *Sylvilagus bachmani* se considera el reservorio de la cepa "California" que afecta a las explotaciones cunícolas de aquella zona, mientras que *Sylvilagus floridanus* es el reservorio del virus del fibroma de Shope en el este de los Estados Unidos.

La resistencia de cada una de estas especies frente a la infección, varía considerablemente con la cepa vírica implicada. Así, mientras Regnery y Marshall (1971) observaron que la infección de cuatro especies norteamericanas de conejos (*Sylvilagus audubonii*, *Sylvilagus floridanus*, *Sylvilagus idahoensis* y *Sylvilagus nuttallii*) con cepa "California" no fueron capaces de desarrollar el título suficiente de virus en las lesiones como para que pudiesen ser transmitidos a través de mosquitos, Regnery (1971) demostró que la infección de estas mismas especies (exceptuando *Sylvilagus idahoensis*) con cepas brasileñas (Lausanne) fue capaz de producir un cuadro grave y la posterior muerte en ejemplares de *Sylvilagus nuttallii*, demostrando la posibilidad de que esta cepa puede afectar a las poblaciones naturales de este lagomorfo causando elevadas mortandades.

2.3.6.2-Fuentes de infección

Se considera que las fuentes del virus son por un lado los propios conejos enfermos, los portadores del virus, y los cadáveres y restos de conejos muertos por la enfermedad, y por otro lado los reservorios: artrópodos, y las propias madrigueras (Joubert y cols. 1972).

Los animales enfermos excretan cantidades considerables de virus por varias vías simultáneamente, como son las lesiones cutáneas (mixomas), orina, e incluso excrementos. Los conejos infectados pero que todavía no han desarrollado la enfermedad, pueden actuar como portadores precoces debido a la elevada viremia y a la aparición de los primeros mixomas. Por el contrario, aquellos animales que están en franca recuperación de la enfermedad, y cuyas lesiones se hallan en fase de cicatrización no parecen ser portadores convalecientes, ya que se ha fracasado en los intentos de aislar el virus de estas lesiones una vez cicatrizadas (Joubert y cols. 1972).

Los cadáveres de los conejos muertos por la enfermedad se consideran también fuentes del virus, si bien de forma indirecta, al igual que pueden ser fuentes del virus el alimento o utensilios contaminados. Su importancia epidemiológica sería el prolongado tiempo que el virus puede permanecer viable en la piel de los cadáveres (Joubert y cols. 1972).

Algunos artrópodos chupadores como los mosquitos y las pulgas pueden ser fuente de infección debido a que son capaces de transportar el virus en sus piezas bucales. Estos artrópodos además, pueden actuar como reservorio del virus durante largo tiempo, especialmente si estas especies hibernan.

Las madrigueras representan el reservorio perenne natural de mayor riesgo, tanto por las pulgas quiescentes que conservan el virus como por el substrato que constituye la misma tierra. Este mantenimiento hipogeo del virus explica la persistencia de la enfermedad en aquellos focos en los que su manifestación es poco frecuente (Joubert y cols. 1972).

2.3.6.3-Vías de transmisión

Aunque las vías de transmisión pueden clasificarse como directas o indirectas, el principal requisito para que la infección tenga lugar es la inoculación del virus a través de una solución de continuidad del revestimiento cutáneo o mucoso, siendo depositado el

virus sobre un tegumento lesionado inicialmente, bien por la picadura de un artrópodo vector o por un agente inanimado (Joubert y cols. 1972).

El contagio por contacto directo es bastante infrecuente, ya que la simple cohabitación de un conejo enfermo con uno sano cuya piel y mucosas estén íntegras no suele conllevar la infección de éste; sin embargo, la existencia de lesiones puede facilitar la penetración del virus al organismo, bien a través de la piel o de mucosas como la conjuntiva ocular o la mucosa genital durante el coito (Mykityowycz 1958a; Joubert y cols. 1972). La vía aerógena también se ha mostrado como posible vía de infección en condiciones de hacinamiento.

Todas estas vías de transmisión son de importancia secundaria en comparación a la transmisión mediante artrópodos vectores, en la cual la transmisión vectorial es exclusivamente mecánica. El virus no se replica en el artrópodo, sino que las partículas víricas permanecen en las piezas bucales protegidas por las proteínas procedentes de los exudados mixomatosos. De este modo, cuando un artrópodo pica a un conejo infectado, transmite el virus al picar posteriormente a un conejo sano de una manera más efectiva que la puramente mecánica, puesto que el artrópodo inocula ciertas sustancias de difusión que favorecen la multiplicación del virus en el conejo receptor (Joubert y cols. 1972).

En teoría, cualquier artrópodo hematófago puede actuar como vector, ya que la transmisión del virus es puramente mecánica y por lo tanto no es necesario el grado de especificidad requerido como cuando la transmisión es biológica. No sería el caso de las garrapatas, las cuales pican una sola vez en cada estado de su desarrollo, y al mudar a la siguiente fase mudan también las piezas bucales contaminadas (Joubert y cols. 1972), por lo que su papel vectorial se podría considerar inexistente. Sin embargo, la importancia epidemiológica de cada uno de los posibles artrópodos vectores viene condicionada por factores como la especificidad de hospedador (preferencias de alimentación), densidad de las poblaciones del artrópodo y su biología (Fenner y cols. 1956). De todos los artrópodos que pueden actuar como vectores son los mosquitos (Fenner y cols 1952) y pulgas (Bull y Mules 1944) los que han demostrado una mayor importancia epidemiológica.

2.3.6.3.1-Transmisión por mosquitos

Solamente los mosquitos hembras son hematófagos y representan el modo habitual de transmisión exclusivamente mecánica y horizontal de la mixomatosis durante el verano y el otoño (Joubert y cols. 1972). En laboratorio se ha demostrado la capacidad vectorial de numerosas especies de mosquitos, pertenecientes a los géneros *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* y *Culiseta*. Además de su papel vectorial, los mosquitos pueden actuar como reservorios

durante el período invernal, ya que el virus puede persistir en las piezas bucales de mosquitos hibernantes de la especie *Anopheles atroparvus* por más de 220 días (Andrewes y cols. 1956). También, estos dípteros pueden condicionar la intensidad de la enfermedad en brotes que coincidan con sus máximos de abundancia poblacional, sobre todo durante el verano y otoño, y aquellas especies con gran autonomía de vuelo pueden contribuir a la propagación de la enfermedad a zonas más o menos alejadas. Además, algunas especies de mosquitos mediterráneos suelen realizar una quiescencia invernal incompleta por lo que durante el transcurso de ésta pueden realizar varias tomas de sangre y completar la transmisión del virus durante esta época del año (Joubert y cols. 1972).

La contaminación de los mosquitos parece tener lugar sobre todo por la picadura en las lesiones mixomatósicas o la absorción de los exudados cutáneos con virus (Muir-head y Thompson 1956), por lo que un elemento epizootiológico fundamental es la abundancia de lesiones exudativas y su accesibilidad a estos vectores. Debido a la transmisión mecánica del virus, el mosquito puede actuar como vector de la enfermedad inmediatamente después de abandonar al conejo infectado (Andrewes y cols. 1956), y la duración de su infectividad varía según la especie de mosquito, oscilando entre los 17 y los 25 días cuando el mosquito está activo, o más tiempo en el caso de que hiberne (Joubert y cols. 1972). La capacidad vectorial de la especie de mosquito está relacionada con el tamaño y disposición de sus piezas bucales (Fenner y cols. 1956), ya que a mayor tamaño, más cantidad de virus podrá transmitir y más tiempo permanecerá infectivo. Al parecer, la cantidad de virus depositada por un mosquito es normalmente muy pequeña, pues aunque un mosquito con un abundante carga vírica en su proboscide pueda depositar 100 dosis infectantes sobre la piel de un conejo, debe ser muy común la inoculación de un sólo virión (Fenner y cols. 1956).

Si un mosquito es portador del virus en su proboscide, y posteriormente se alimenta sobre un conejo con anticuerpos anti-mixomatosis, los viriones no son neutralizados por los anticuerpos existentes en la sangre y fluidos ingeridos por el mosquito, por lo que el efecto epidemiológico de conejos inmunes sólo debe considerarse como un factor que diluye la proporción de picaduras potencialmente infecciosas sobre el total de la población cunícola (Fenner y cols. 1956).

El papel de los mosquitos en la epidemiología de la enfermedad, no sólo se limita a la transmisión mecánica sino a la selección natural de cepas atenuadas del virus, ya que la eficacia de su transmisión está estrechamente correlacionada con la cantidad de virus existente en las lesiones del conejo así como con el tiempo de duración de las mismas, por lo que aquellas cepas que aumenten la supervivencia del conejo y que simultáneamente

presenten elevados títulos de virus en las lesiones son positivamente seleccionadas por los mosquitos (Fenner y cols. 1956).

2.3.6.3.2-Transmisión por pulgas

Aunque los mosquitos son el principal vector de la mixomatosis en Australia, no ocurre lo mismo en otras zonas. En Gran Bretaña el principal vector de la mixomatosis, sugerido por Rothschild (1953) y confirmado posteriormente por las experiencias de Muirhead-Thomson (1956), son las pulgas de la especie *Spilopsylus cuniculi*, específica del conejo. Las pulgas se contaminan también a través de las lesiones cutáneas, realizando una transmisión puramente mecánica del virus a través de su piezas bucales, por lo que también pueden actuar como vectores inmediatamente después de ingerir el virus, aunque suelen perder su poder infectivo a los 5-7 días (Armour y Thompson 1955). Respecto a los mosquitos, las pulgas desarrollan su papel de reservorios mucho más eficazmente que éstos, debido a su mayor resistencia a un rango más amplio de temperaturas y a la falta de alimento, ya que las pulgas pueden permanecer sin alimentarse más de 100 días y conservar el virus infectante en sus piezas bucales durante este tiempo (Chapple y Lewis 1965), especialmente en las condiciones tan estables de humedad y temperatura de las madrigueras.

La proporción de pulgas de una determinada población que se infecta en el curso de una epizootia de mixomatosis depende de varios factores interrelacionados (Mead-Briggs y Vaughan 1975).

En primer lugar, del estado de evolución de la enfermedad, puesto que estos autores observaron que, independientemente de la cepa vírica implicada, muy pocas pulgas eran capaces de transmitir la enfermedad si eran apartadas del conejo durante los primeros 10-12 días posteriores a la infección de éste.

También la virulencia de la cepa causante de la epizootia influye en la proporción de pulgas infectantes, ya que las cepas virulentas (grado I), al matar al conejo durante los primeros 10-15 días de la infección, únicamente permiten que el 12% de las pulgas sean infectivas. Cuando el hospedador está infectado con cepas de virulencia intermedia (grado IIIa/b), sólo el 8% de las pulgas alimentadas sobre conejos que sobreviven a la enfermedad es infectante, mientras que en aquellos casos en los que el conejo es capaz de sobrevivir entre 17 y 44 días, el porcentaje medio de pulgas infectantes asciende al 42%. Sin embargo, se ha observado una relación inversa entre el tiempo de supervivencia del hospedador y la proporción de pulgas infectantes, obteniéndose la mayor proporción de pulgas infectantes en aquellos conejos que sobreviven entre 20-30 días (Mead-Briggs y Vaughan 1975; Vaughan 1981). Además, debido a la natural coevolución de la virulencia del virus y la resistencia del hospedador, la proporción de pulgas que se infectan está correlacionada negativamente con este último factor (Mead-Briggs y Vaughan 1980).

En un principio se creyó que las pulgas eran sedentarias y vivían siempre sobre el mismo hospedador, por lo que se consideró que su poder vectorial en la naturaleza sería escaso, al estar limitadas las ocasiones de transmisión del virus a las horas posteriores a la muerte del hospedador, cuando se viesan obligadas a contactar con un nuevo conejo. Siguiendo esta hipótesis, se estimó que las pulgas aumentarían las probabilidades de propagación de las cepas más virulentas (al cursar con mayor mortalidad entre los conejos), mientras que la transmisión de cepas poco virulentas que no matasen al conejo se consideró muy baja (Fenner y Ross 1994).

Posteriormente, el descubrimiento de la existencia de un considerable intercambio de pulgas entre hospedadores (Mead-Briggs 1964) y los resultados obtenidos en trabajos como los de Mead-Briggs y Vaughan (1975) o Vaughan (1975), demuestran que los sifonápteros también han contribuido de forma significativa al mantenimiento del virus en la naturaleza y a la selección de cepas moderadamente virulentas, aunque es necesario una mínima abundancia de estos artrópodos para asegurar la transmisibilidad y la aparición de brotes de enfermedad (Shepherd 1980).

Las variaciones en la densidad y la movilidad de la población de pulgas son factores que, tal y como se tratará más adelante, pueden condicionar la epidemiología de la enfermedad en aquellas zonas como Gran Bretaña en que estos artrópodos constituyen el principal vector del virus (Joubert y cols. 1972). De la misma manera, el grado de atracción que sienten las pulgas, especialmente *Spilopsyllus cuniculi*, por sus hospedadores en función de la edad, sexo y estado fisiológico, hace variar las probabilidades de infección de los conejos. Así, durante la primera semana después del nacimiento, los gazapos son atractivos para esta especie de pulgas, estando más expuestos a sus picaduras infectantes, mientras que en las dos o tres semanas siguientes este riesgo desaparece en gran medida (Sobey y Conolly 1975).

2.3.6.4-Factores dependientes del hospedador

La gravedad de la enfermedad está condicionada por factores dependientes del hospedador como son: la edad, la inmunidad adquirida, la resistencia genética y la inmunidad paternal adquirida.

2.3.6.4.1-Edad

Sobey y cols. (1970) en sus experiencias desarrolladas con conejos domésticos y silvestres con un cierto grado de resistencia a la mixomatosis, e infectados con cepas de elevada virulencia, observaron que cuando la infección tenía lugar entre las 10 y las 19 semanas de vida, el tiempo de supervivencia medio de los conejos y la tasa de supervivencia disminuían, para aumentar y estabilizarse posteriormente en animales de más edad.

En trabajos de campo, la proporción de animales silvestres juveniles observados con síntomas de mixomatosis suele ser inferior a la de los adultos, hecho que todos los autores consideran debido a que los animales más jóvenes mueren más rápidamente que los adultos una vez que son infectados (Williams y Parer 1972d; Fullagar 1977; Ross y cols. 1989; Rogers y cols. 1994). Incluso se ha observado que muchos de ellos, como consecuencia del papel que desempeñan las pulgas como vectores del virus, mueren antes incluso de su emergencia de la madriguera (Shepherd y Edmonds 1978a), lo que hace difícil su localización en la naturaleza así como la estimación de la mortalidad debida a esta enfermedad.

2.3.6.4.2-Inmunidad adquirida

Cuando un conejo es infectado, la aparición de los primeros anticuerpos circulantes puede ser detectada hacia el día 7º postinfección (Fenner y Woodrooffe 1953), alcanzando los niveles más elevados hacia el día 28. Estos anticuerpos permanecen durante largos períodos de tiempo, presentando estos animales una resistencia ante las reinfecciones que prácticamente dura toda su vida.

En hembras lactantes, estos anticuerpos son traspassados a la camada de gazapos, de tal manera que el título de anticuerpos en la madre y su progenie a partir del nacimiento son idénticos. Estos anticuerpos son detectables en laboratorio hasta las 4-5 semanas de edad, aunque estos animales jóvenes, procedentes de hembras inmunes, siguen presentando mayor resistencia a la enfermedad incluso hasta las 8 semanas de vida (Fenner y Marshall 1954). Esto es especialmente importante si tenemos en cuenta que juveniles nacidos de hembras no inmunes son mucho más susceptibles a la mixomatosis que los adultos, incluso con cepas atenuadas, y que esta inmunidad pasiva adquirida a través del calostro pudiera proteger totalmente a los recién nacidos, o en animales de más edad, convertir una infección muy grave o letal en una enfermedad leve que les inmunizara durante largo tiempo contra las reinfecciones. Por el contrario, los resultados obtenidos

por Sobey y Conolly (1975) sugieren que esta inmunidad pasiva no aumenta la resistencia de los juveniles a la infección, si bien es verdad que estos autores compararon el tiempo de supervivencia de los gazapos inmunizados con el de individuos adultos y no con lotes de gazapos control.

La importancia ecológica de la inmunidad adquirida depende en gran medida de las tasas de renovación de la población, o lo que es lo mismo, de las tasas de supervivencia de los individuos inmunes, ya que cuando en una población de conejos silvestres la supervivencia es reducida, la influencia de la inmunidad adquirida sobre la epizootiología de la enfermedad es relativamente pequeña en comparación a cuando la supervivencia aumenta, ya que si comúnmente los conejos sobreviven durante más de una epizootia de mixomatosis, la inmunidad adquirida reduce considerablemente la proporción de conejos sensibles durante las siguientes epizootias (Fenner y Ross 1994).

2.3.6.4.3-Resistencia genética

En Australia las primeras grandes mortalidades producidas por la mixomatosis ejercieron una pobre selección sobre los conejos debido a su letalidad. Sin embargo, conforme la prevalencia de cepas menos virulentas se fue imponiendo, aumentó considerablemente la selección de conejos más resistentes genéticamente a la infección, ya que una supervivencia igual o superior al 10% garantiza el éxito de los procesos de selección genética (Fenner 1986). Esta rápida aparición de resistencia genética fue decreciendo posteriormente, siguiendo un período caracterizado por un relativo equilibrio virus-hospedador (Sobey y Conolly 1986), hecho que concuerda con lo observado en laboratorio, donde al parecer la resistencia genética a la enfermedad aumenta rápidamente durante las primeras cinco o seis generaciones, para estabilizarse posteriormente (Sobey 1969).

En Gran Bretaña, el desarrollo de la resistencia genética, aparentemente, fue mucho más lento que en Australia, si bien algunos autores (Ross y Sanders 1984) sugieren que tal apreciación pudiera ser debida únicamente a la escasez de estudios previos y al muestreo de una sola población de conejos en el trabajo de Vaughan y Vaughan (1968). Estos autores interpretaron como primer signo de resistencia genética el aumento del tiempo de supervivencia postinfección de algunos conejos, a pesar de que las tasas de mortalidad permanecieron invariables. Ya en 1970, se detectaron fuertes evidencias de un aumento en la resistencia cuando Ross y Sanders (1977) estimaron tasas de mortalidad muy inferiores a las encontradas por Vaughan y Vaughan (1968), encontrando incluso animales resistentes a la infección a cepas muy virulentas de grado I, lo que hace suponer que los

conejos de este país pudieran desarrollar una resistencia genética muy superior a la desarrollada por los conejos australianos, ya que éstos, al proceder de unas pocas parejas liberadas en aquel país, pudieran tener una menor variabilidad genética.

La aparición mas tardía de esta resistencia en Gran Bretaña pudo deberse a la permanencia de un mayor número de cepas más virulentas que en Australia, lo que habría limitado la aparición de conejos resistentes. Además, la mayoría de las epizootías en Australia tienen lugar durante los meses de verano, y las altas temperaturas propias de la estación atenúan considerablemente la patogenicidad de la enfermedad, lo que habría favorecido la selección de resistencia (Fenner y Ross 1994).

La resistencia frente a un tipo determinado de cepa es parcialmente específica (Ross y Sanders 1977) ya que la resistencia desarrollada contra una cepa moderada no protege en la misma medida frente a otra cepa más virulenta, aunque sí es responsable de un incremento significativo del tiempo de supervivencia.

2.3.6.4.4-Inmunidad paternal adquirida

En sus experimentos, Sobey y Conolly (1986) aparearon machos recuperados de la enfermedad con hembras que no habían tenido contacto con el virus, y observaron que cuando la cópula tenía lugar durante los primeros siete meses posteriores a la infección, estos machos eran capaces de conferir un cierto grado de resistencia a los gazapos frente a la mixomatosis durante los siguientes siete meses. Esta protección se manifestaba incluso si el padre biológico era otro conejo no resistente, a condición de que hubiese tenido lugar el apareamiento con el macho resistente. Los autores sugirieron que posiblemente, el semen de los machos recuperados de la mixomatosis contenga algún factor que aumenta la resistencia de la progenie, y el hecho de que la eficacia de esta protección fuera superior cuando la camada de gazapos era expuesta a la misma cepa de virus que su progenitor, hace sospechar que este factor sea algún componente viral.

Otros autores como Williams y Moore (1991) observaron hechos similares en la progenie de machos silvestres inmunes, cuyo efecto protector perduró en la descendencia más allá de las 30 semanas de edad, sugiriendo que este tipo de resistencia puede jugar un papel muy importante en la reducción de la incidencia de la mixomatosis en poblaciones silvestres al complementar la resistencia genética de los conejos. Estos autores llaman la atención sobre la posibilidad de que la resistencia genética a la enfermedad medida hasta ahora en las poblaciones silvestres, en realidad incluya la resistencia debida tanto a la selección genética como a la inmunidad paternal adquirida, sobre todo en aquellas

poblaciones estudiadas en las que existiera una proximidad temporal entre una epizootía de mixomatosis previa y la temporada de cría.

2.3.6.4.5-Infecciones recurrentes de mixomatosis

Williams y cols (1972a) sugirieron la posibilidad de que el virus de la mixomatosis pudiera persistir en forma latente en algunos de los conejos que se han recuperado de una forma aguda de la enfermedad, sufriendo recurrencias de la enfermedad que provocarían lesiones infecciosas. La reactivación de estos virus estaría relacionada con situaciones de estrés, ya que estos autores en sus experiencias observaron la aparición de la enfermedad en un conejo portador de anticuerpos, mantenido en ambiente controlado y sujeto a fuertes aumentos de la temperatura ambiental. Esta posibilidad constituiría un importante mecanismo mediante el cual el virus podría persistir varios meses en una población de conejos en ausencia de franca enfermedad o de artrópodos vectores que pudieran conservarlo en las piezas bucales.

Aunque, al parecer, la constatación de la existencia de estos animales reservorios capaces de transmitir el virus, no ha sido posible por parte de investigadores australianos, en un estudio llevado a cabo sobre la mixomatosis en este país, Fullagar (1977) observó en sucesivas ocasiones a los mismos individuos silvestres con síntomas de mixomatosis, aunque siempre con cuadros leves. De manera similar, en Gran Bretaña Ross y cols. (1989) observaron a cinco conejos, que constituían el 2% del total, con síntomas en dos o más ocasiones, separadas en el tiempo al menos tres meses, y otros 13 conejos (6%) con niveles detectables de anticuerpos anti-mixomatosis fueron vistos más tarde afectados con signos de enfermedad, aunque nunca en forma grave. Si bien ambos autores sugieren que realmente pueden existir animales reservorios, ninguno de ellos descarta la posibilidad de que no se trate más que de reinfecciones.

2.3.6.5-Efecto de la temperatura ambiental

En los años 30 y 40 algunos investigadores australianos demostraron que la exposición de conejos, infectados con cepas virulentas, a elevadas temperaturas propiciaba su curación (Marshall 1959). Sucesivas observaciones de la mortalidad ocurrida durante las epizootias demostró que ésta era superior durante las epizootias invernales que durante el verano, por lo que se suscitó la posibilidad de que las temperaturas también podrían estar influenciando notablemente la mortalidad causada por la enfermedad en las poblaciones de conejos silvestres.

Marshall (1959) reprodujo en laboratorio las condiciones ambientales propias de algunas zonas de Australia y demostró que, si bien el rango de la variación de la temperatura en aquellas zonas no era capaz de alterar el curso de la enfermedad provocada

por cepas de elevada virulencia, sí que afectó profundamente su desarrollo cuando la cepa de virus implicada poseía una virulencia atenuada, similar a la de las cepas campo. En este caso, temperaturas elevadas propias del verano permitieron la recuperación de un 70% de los conejos infectados, mientras que sólo el 8% de ellos se recuperaron cuando estuvieron sometidos a temperaturas invernales.

Los mecanismos implicados no están muy claros, si bien se observó que las elevadas temperaturas pueden inhibir la replicación del virus en las células, disminuir el título de virus circulantes y por tanto dificultar o imposibilitar la infección generalizada de todo el organismo. La detección de anticuerpos se realizó de forma más precoz y a títulos más elevados en los conejos mantenidos a elevadas temperaturas, mientras que en los conejos mantenidos a temperaturas frías raramente se detectaron anticuerpos antes de su muerte, lo que posiblemente fue debido a la invasión de las células del sistema inmune por parte del virus (Marshall 1959).

Experiencias similares han sido realizadas por Sobey y cols. (1967) quienes en sus experimentos determinaron que mientras la exposición a temperaturas cálidas tenía poco efecto en la recuperación de la enfermedad de animales no seleccionados, en aquellos que genéticamente ya tenían un cierto grado de resistencia, la exposición a temperaturas más cálidas entre el día tercero y quinceavo posteriores a la infección, prolongó el tiempo de supervivencia y aumentó la proporción de curaciones.

Así pues, las elevadas mortalidades observadas en conejos silvestres durante las epizootias de invierno pueden estar causadas, al menos parcialmente, por la influencia de las bajas temperaturas (Sobey y cols. 1967; Williams y cols. 1972b), y estar producidas por cepas de virus, que testadas en condiciones de laboratorio, presenten una virulencia atenuada (Marshall 1959).

Este mecanismo ha supuesto que la introducción de la pulga *Spilopsyllus cuniculi* en Australia ha trasladado el inicio de las epizootias anuales desde el verano a la primavera, con un incremento considerable de la mortalidad (Shepherd y Edmonds 1978). Sin embargo en Gran Bretaña no se ha detectado esta diferencia de mortalidad en función de la época del año (Ross y cols. 1989), lo que pudiera deberse a que las temperaturas estivales en este país no son tan elevadas como las que tienen lugar en Australia (Fenner y Ross 1994), y por lo tanto no hay lugar a una variación tan sustancial en la patogenia de la enfermedad.

2.3.6.6-Dinámica de la enfermedad

Los factores físicos naturales se combinan para someter la evolución epizootiológica de la mixomatosis a unos ritmos estacionales, dependientes de la actividad máxima de los vectores. Así, el periodo estivo-otoñal, en el que suele cursar con carácter epizoótico, se corresponde con el aumento de la densidad de los mosquitos transmisores, siendo favorable la diseminación de la enfermedad por las zonas más húmedas y en las cercanías de los cursos de agua. El período de invierno-primavera, de carácter oligozoótico, es debido a la persistencia del virus en las madrigueras y sobre todo al papel de reservorios que tienen las pulgas que se encuentran en estado quiescente (Joubert y cols. 1972), por lo que los conejos son infectados por las picaduras de las pulgas y probablemente durante las tareas de ampliación de las madrigueras.

Claramente, esta diferenciación tan neta en la incidencia de la enfermedad tiene numerosas excepciones, ya que la importancia del papel que puedan desempeñar mosquitos y pulgas en la epizootiología de la enfermedad, así como en la conservación del virus, cuenta con grandes variaciones entre zonas geográficas.

En zonas de Australia en las que el papel vectorial está desempeñado casi exclusivamente por mosquitos, la epizootiología de la enfermedad es relativamente simple, mostrando un patrón de epizootías confinadas al verano-otoño (Shepherd 1980), debido a que en ésta época tienen lugar las mayores densidades de estos dípteros (Fenner y Ratcliffe 1965).

Posteriormente, con la introducción de la pulga *Spilopsyllus cuniculi* en aquel país (en 1966), la dinámica se asemeja en algunas zonas a la existente en numerosas áreas de Europa continental, en la que ambos tipos de vectores intervienen de manera significativa, siendo las pulgas las responsables de las epizootías invernales y primaverales (Shepherd y Edmonds 1978a). Estos sifonápteros intensifican los focos de enfermedad, favoreciendo la diseminación a corta distancia (Joubert y cols. 1972), ya que el hecho de que las pulgas se transfieran entre hospedadores contiguos favorece la diseminación más lenta de la enfermedad al tiempo que aumenta la tasa de transmisión (Williams y Parer 1972; Fullagar 1977), lo que se traduce en un fuerte incremento de la seroprevalencia al final de la epizootía; hasta el 80-90% según Shepherd (1980). Esta eficacia en la transmisión del virus está directamente correlacionada con la abundancia de pulgas sobre los conejos, por lo que a mayor índice de parasitación corresponde una mayor tasa de mortalidad (Shepherd 1980; Trout y cols. 1992). Además, en las regiones donde está presente, parece ser que *Xenopsylla cunicularis* puede actuar como vector de la enfermedad durante los meses de verano (Launay 1982), continuando el papel vectorial de *Spilopsyllus cuniculi*.

Por este motivo *Xenopsylla cunicularis* está siendo reintroducida desde 1993-94 en aquellas zonas más áridas de Australia para potenciar el control de las poblaciones de conejos.

En zonas como Gran Bretaña o el norte de Francia, se considera a *Spilopsyllus cuniculi* como el principal vector de la mixomatosis (Mead-Briggs y Vaughan 1980). En este caso, la dificultad de comprensión del modelo epizootiológico parece aumentar, ya que hasta el momento no se ha conseguido discernir con seguridad cual o cuales son las causas de la estacionalidad en la incidencia de la enfermedad, aunque es menos marcada que en aquellas áreas en las que los mosquitos tienen un papel más relevante.

Esta estacionalidad de la enfermedad cuando es transmitida por pulgas, es aparentemente contradictoria con los resultados obtenidos por Ross y cols. (1989) en un estudio realizado en los años 70 en zonas de Gran Bretaña, en el cual se estimó que como media, el número de pulgas por conejo no descendió por debajo de 20 en cualquier época del año a pesar de las variaciones estacionales de la abundancia de estos artrópodos. Teniendo en cuenta que del total de pulgas que se alimentan sobre un conejo infectado con una cepa de virus de grado III, aproximadamente el 42% son capaces de transmitir el virus a otro conejo sano (Mead-Briggs y Vaughan 1975) y que aproximadamente el 45% de las pulgas que abandonan a un conejo son capaces de encontrar otro hospedador (Mead-Briggs 1964), resulta que de una infestación de 20 pulgas sobre un conejo infectado, al menos 3 de ellas serán capaces de encontrar un nuevo hospedador y transmitirle el virus, sin tener en cuenta que tanto las pulgas como el virus en las piezas bucales de éstas son capaces de resistir varios meses (Ross y cols. 1989).

Por lo tanto, aunque parece claro que es perfectamente viable el mantenimiento y diseminación de la enfermedad a partir únicamente de la transmisión por pulgas, la mixomatosis en aquel país suele presentar dos picos anuales, con un pico principal entre agosto y enero y un pico secundario entre febrero y abril, a pesar de que los conejos son portadores de pulgas durante todo el año en número suficiente como para asegurar la transmisión del virus de manera constante, por lo que terceros factores como las variaciones estacionales en el número de pulgas por hospedador y las variaciones en las tasas de transferencia entre hospedadores podrían explicar los cambios en la prevalencia y tasa de propagación de la mixomatosis (Ross y cols. 1989). De este modo, el brote observado en primavera, poco después del inicio de la época de reproducción de los conejos, podría ser debido a la mayor actividad de las pulgas (*Spilopsyllus cuniculi*) sobre las conejas gestantes y lactantes (Mead-Briggs y cols. 1975), mientras que las diferencias observadas cada año en el período de incidencia de la enfermedad serían consecuencia de variaciones en el inicio del período de reproducción de los conejos, así como por la

proporción de animales inmunes a la enfermedad existentes en ese momento (Ross y cols. 1989).

Por otro lado, la incidencia otoñal de la enfermedad es más imprecisa en aquel país, llegando incluso a determinarse dos picos de máxima incidencia. El primer pico sería consecuencia de la dispersión de las pulgas a partir de las conejas a finales de la estación de reproducción, mientras que los picos más tardíos podrían estar causados por la transferencia de pulgas desde los conejos muertos (por enfermedad, predación, etc) a los supervivientes (Mead-Briggs y cols. 1975) de una forma más paulatina que la anterior, ya que la mayor mortalidad entre los conejos suele tener lugar entre los meses de agosto a diciembre de forma progresiva, lo que hace que la incidencia de la mixomatosis durante el invierno sea muchos menos definida que durante el otoño o primavera (Ross y cols. 1989).

La epidemiología de la enfermedad en Francia es similar a la de Gran Bretaña, si bien los mosquitos parecen jugar un papel más importante que en aquel país. Las mayores epizootías suelen tener lugar a últimos de verano y principios de otoño, aunque existen notables variaciones entre áreas tanto en el período de incidencia como en su duración (Rogers y cols. 1994), posiblemente debido a que el papel que juegan cada una de las distintas especies de ectoparásitos varía de una región a otra.

Las pulgas son portadores del virus durante las epizootías, pero también lo son aún cuando la enfermedad no es evidente entre los conejos. El hecho de que el virus siga existiendo en los vectores pero que no sea detectable la enfermedad entre los conejos parece que tiene que ver con el estatus inmunitario de la población de conejos, que al parecer sigue un patrón cíclico en algunas regiones francesas. Así, en la Camarga (Vandewalle 1986), todos los conejos adultos presentan anticuerpos después de una epizootía (normalmente a finales de agosto o principios de septiembre), y esta elevada prevalencia se mantiene hasta enero-febrero. Posteriormente, cuando la proporción de animales positivos en la población va decreciendo paulatinamente hasta el 20-30% en abril-mayo, tiene lugar el comienzo de la siguiente epizootía. Una proporción variable (0-25%) de juveniles son portadores también de anticuerpos hasta la edad de 2 meses, pero durante una epizootía esta proporción aumenta rápidamente hasta alcanzar el 100% a finales de agosto, para seguir después el modelo de los adultos.

En la Vauclusa todos los adultos tienen anticuerpos desde octubre hasta junio, después de lo cual la proporción desciende hasta el 50% en agosto. A partir de septiembre, y a causa de una nueva epizootía, la proporción asciende hasta cerca del 100%. De nuevo, entre el 10-50% de los conejos jóvenes tienen anticuerpos hasta la edad de 2 meses, y en junio-julio menos del 10% de jóvenes todavía los tienen, pero la

proporción sube hasta el 50-60% hacia finales de octubre, y al 90-100% en enero (Arthur y Louzis 1988; Rogers y cols. 1994).

Los escasos estudios realizados en España confirman este último patrón, ya que después de una epizootía, aproximadamente el 90% de los conejos presentan anticuerpos, descendiendo hasta el 50% cinco meses más tarde. En el sudeste de España, el período más usual de incidencia de la mixomatosis comprende los meses de julio a octubre, aunque también se observa la incidencia de la enfermedad en invierno-primavera, o incluso en algunos años no se llega a detectar la enfermedad (Soriguer 1980a; Soriguer 1981a).

Como modelo más complejo se conoce la existencia de dos patrones cíclicos en la Ile-de-France. Cuando no tiene lugar la epizootía de otoño o invierno, el 50-60% de los adultos que tienen anticuerpos detectables en mayo declina al 10-20% para enero-febrero. Durante el verano, el 15-20% de los jóvenes (más de 2 meses) tienen anticuerpos maternos, pero en agosto-septiembre los pierden y desde octubre a noviembre, cuando los jóvenes de la anterior estación constituyen tres cuartas partes de la población, la proporción con anticuerpos detectables permanece a cero hasta el comienzo de la siguiente epizootía. Después de una nueva epizootía, la proporción de portadores de anticuerpos se incrementa rápidamente para la siguiente primavera, estabilizándose en agosto en valores próximos al 60-70%. Sobre el 30-40% de los jóvenes del año tienen anticuerpos.

El segundo tipo de ciclo comienza después de una epizootía de otoño-invierno, y su efecto es estimular un nivel más elevado de resistencia en invierno y primavera. Después de una epizootía de otoño, el 70-90% de los adultos y los jóvenes tienen anticuerpos en noviembre, o 30-40% para febrero-marzo después de una epizootía de invierno, siendo la mayoría de ellos conejos jóvenes nacidos en la anterior estación reproductiva (Rogers y cols. 1994).

2.3.6.7-Evolución en poblaciones silvestres

2.3.6.7.1-Mortalidad

Durante la primera epizootía de mixomatosis en Gran Bretaña se estimó una mortalidad próxima al 99% de los conejos (Hudson y cols. 1955; Brown y cols. 1965). En los años posteriores, el número de conejos fue incrementándose paulatinamente con marcadas fluctuaciones locales, conforme aumentaba la resistencia de los conejos hacia la enfermedad y se seleccionaban cepas menos virulentas. Recientemente, Trout y cols

(1986) han estimado que la población de conejos en 1979 era aproximadamente el 20% de la que existía antes de la irrupción de la mixomatosis.

Tal y como ya se ha dicho, este incremento en la densidad de conejos se corresponde con un cambio en la epidemiología de la enfermedad. Durante la primera epizootia de 1953, Armour y Thompson (1955) estimaron que virtualmente todos los conejos que fueron infectados por la cepa virulenta del virus murieron por la enfermedad. En 1962, una epizootia causada por una cepa de moderada virulencia, causó la muerte del 90% de la población aproximadamente (Chapple y Lewis 1965). Posteriormente, en epizootias ocurridas en los años 70 (Ross y cols. 1989), la dispersión fue más lenta e incompleta ya que la enfermedad no alcanzó a todas las áreas en las que existían conejos e incluso animales que se encontraban dentro de las áreas afectadas escaparon a la infección; se estimó que solo el 25-27% de los conejos fueron infectados, y de estos sólo el 47-69% murieron. Por lo tanto, la incidencia de la mixomatosis en una población con una relativa elevada proporción de animales inmunes (principalmente adultos), y con una considerable resistencia genética, supuso que únicamente el 12-19% de los animales murieron directamente por la enfermedad.

A pesar de esta reducción en la mortalidad, la mixomatosis sigue ejerciendo un papel primordial en el control de las densidades de conejos en Gran Bretaña, como lo demostraron Trout y cols (1993), quienes mediante campañas de vacunación y reducción del número de pulgas por tratamiento con insecticidas de las madrigueras y los propios conejos, observaron incrementos de la densidad poblacional de dos a tres veces los valores iniciales.

Otro tanto ocurre en Australia, en donde las fuertes mortalidades ocurridas durante las primeras epizootias disminuyeron de magnitud rápidamente. Más recientemente, y gracias a la introducción de la pulga *Spilopsyllus cuniculi* en 1966, se ha observado un notable incremento en la mortalidad (Sobey 1977; Shepherd 1980), si bien puede presentar fuertes variaciones, desde el 3,7-13,5% durante una epizootia de primavera-verano en una población de conejos con una elevada resistencia genética (Parer 1977), hasta el 100% durante una epizootia de invierno en una población sin tan apenas resistencia genética (Williams y cols. 1972b). Con todo, en la actualidad la mixomatosis sigue siendo un factor importante de mortalidad entre los conejos australianos, apoyada por la predación en pequeñas poblaciones y la lucha mantenida por parte del hombre, especialmente en áreas agrícolas. Este hecho ha sido demostrado por Parer y cols (1985) quienes mediante la introducción de cepas poco virulentas durante dos años, observaron como las poblaciones se multiplicaron por 8 y por 12. Sin embargo, en algunas áreas alejadas en donde las actividades agrícolas son marginales, se viene observando la recuperación de las

poblaciones a niveles próximos a los existentes antes de la mixomatosis (Ross y cols. 1994).

En el continente europeo, aunque la propagación de la mixomatosis ha sido bien documentada, especialmente en Francia, los estudios de la enfermedad en conejos silvestres, por el contrario, no se iniciaron hasta veinte años después (Rogers y cols. 1994), lo que ha limitado enormemente el conocimiento de la evolución de la enfermedad. En Francia se estimó que durante el primer año posterior a la mixomatosis la población se redujo en un 90%. Al igual que ocurrió en Gran Bretaña, las poblaciones se fueron recuperando lentamente con marcadas diferencias locales, dependiendo de factores ambientales como el tipo de suelo, hábitat y prácticas de agricultura, y posiblemente caza y predación (Arthur y cols 1980).

En Francia la mortalidad se ha estimado que varía entre el 39 y el 61%, con pocas diferencias entre años. Arthur y Louzis (1988) estimaron que en cada epizootía anual son infectados entre el 30 y el 60% de los animales, de los cuales mueren el 54-69%, resultando una mortalidad total del 22-36%. La mortalidad más elevada corresponde a las epizootías de verano (43%), y la más baja en otoño (13%), donde a pesar de que la prevalencia de la enfermedad es muy elevada entre juveniles y subadultos, la mortalidad es reducida. Existe no obstante, una gran variabilidad en la mortalidad entre áreas (Rogers y cols. 1994).

Se podría considerar que es la interacción entre la resistencia a la enfermedad y la variedad de cepas, el principal factor que determina la importancia de los brotes de mixomatosis sobre los conejos, sin embargo la estimación real de la mortalidad causada por esta enfermedad en las poblaciones silvestres se ve dificultada enormemente debido a la influencia de otros factores como el clima, la disponibilidad de vectores, la estructura de la población cunícola y la predación (Ross 1982).

2.3.6.7.2-Cambios en la virulencia

Desde la introducción del virus en Australia y Europa se ha venido observando una evolución que ha originado la aparición de nuevas cepas menos virulentas que las originales, existiendo varias teorías que explican esta tendencia:

Para Dwyer y cols. (1990) las cepas de grados I y II matan a los animales tan rápidamente que la probabilidad de que se transmitan entre los conejos es baja (Sobey y cols. 1983). Por otra parte, las cepas de grado V producen un número tan pequeño de

partículas víricas en la piel de sus hospedadores que los vectores difícilmente pueden adquirir una dosis infectante para transmitir la enfermedad eficazmente. La concentración de partículas víricas en la piel de un conejo infectado en función del tiempo, aporta una nueva interpretación del fenómeno. Así, las cepas de grado I producen un rápido incremento en la concentración de virus, pero matan al hospedador al poco tiempo de haberse alcanzado un nivel alto. Por el contrario, las cepas de grado V provocan una concentración baja de virus que rápidamente desaparece. Las condiciones más ventajosas corresponden a las cepas de grado III y IV, que se caracterizan por unos niveles altos y mantenidos durante un tiempo relativamente largo.

La fuerza de esta selección a favor de las cepas menos virulentas se pudo comprobar en varias experiencias en las que las cepas campo de grado III compitieron con una nueva introducción a gran escala de la cepa Lausanne, la cual persistió en el campo únicamente durante 10 semanas antes de ser sustituida por las cepas menos virulentas, gracias a las ventajas de transmisión que éstas presentan al prolongar el período de infectividad de los conejos (Shepherd y Edmonds 1977).

Por otro lado, la resistencia a la mixomatosis por parte de los conejos aumenta el tiempo y la tasa de supervivencia, de manera que las cepas más virulentas tienden a comportarse de manera similar a las cepas de virulencia intermedia, mejorando su facilidad de transmisión y su incidencia relativa. Así, la interacción de virulencia y resistencia se traduce en brotes moderadamente severos de larga duración, de modo que el clímax de la asociación correspondería a cepas de alta virulencia afectando a una población resistente (Edmonds y cols. 1975). La resistencia a la enfermedad es, por tanto, el factor que limita la selección de cepas progresivamente más virulentas, cuya aparición está determinada por las mutaciones genéticas (Ross y Sanders 1987; Dwyer y cols. 1990).

Las cambiantes condiciones climáticas y ambientales también pueden ejercer cierta influencia en la selección de cepas. Una epizootia en verano puede favorecer a las cepas virulentas porque las altas temperaturas suavizan el efecto de la enfermedad; en invierno, por el contrario, las cepas atenuadas mejoran su capacidad de transmisión, ya que el frío tiende a exacerbar su virulencia (Sobey y cols. 1983).

La coexistencia de varias cepas en una misma población cunícola permitiría un importante grado de flexibilidad para adaptar la enfermedad a las condiciones medioambientales (Sobey y cols. 1983). Sin embargo, en un brote ocasionado por una cepa altamente virulenta y otra moderada, la primera infectaría un número de conejos relativamente pequeño y desaparecería ante la competencia de la segunda, más fácilmente transmisible (Ross y Sanders 1987). Por su parte, la asociación entre una cepa moderada y

otra poco virulenta se traduciría en un predominio de la primera, la cual mataría a los animales antes de que pudieran transmitir eficazmente la segunda, que terminaría por desaparecer (Dwyer y cols. 1990). No parece pues, probable, la persistencia durante largo tiempo de varias cepas de diferentes grados a un nivel local, sin embargo, es evidente que a una escala geográfica más amplia, distintas cepas de desigual virulencia afectan a las diferentes poblaciones de conejos. Una explicación a este fenómeno radica en el grado de resistencia genética de cada población, que llevaría aparejado una cepa determinada, manteniéndose un equilibrio dinámico en la relación (Dwyer y cols. 1990). Por otra parte, además de la relación de competencia y desplazamiento, la coexistencia temporal de varias cepas puede propiciar la aparición de cepas recombinantes con características diferentes a las originales (Parer y cols. 1985).

Respecto a diferencias entre países, tal y como ya se ha dicho, la recuperación de las poblaciones de conejos durante los primeros años posteriores a la introducción de la mixomatosis en Australia fue debida, en parte, a la selección natural de cepas de virus menos virulentas, de tal manera que existen evidencias de que desde 1959 la virulencia de la mayoría de las cepas de campo han correspondido al grado III (Dunsmore y cols. 1971).

En Europa, por el contrario, no se observó una selección tan rápida de cepas menos virulentas, como lo demuestra el hecho de que nueve años después de la introducción del virus en Gran Bretaña, un 20% de las cepas aisladas en conejos silvestres fueron clasificadas como grado I o II, y en Francia, 10 años después de la introducción, el 30% de las cepas fueron también de grado I o II (Joubert y cols 1972), en comparación al 6% de Australia (Fenner y Woodrooffe 1965). Posteriormente se han detectado nuevos cambios en la virulencia del virus en los tres países. En Australia, la reducción en la virulencia se prolongó hasta últimos de los años 60, cuando aproximadamente el 30% de las cepas eran de grado IV y muy pocas de grado II. En Gran Bretaña, cepas de grado IV han sido siempre muy poco comunes, y en los últimos tiempos, especialmente entre 1962 y 1975, y entre 1975 y 1981 se ha registrado un incremento en la virulencia del virus, especialmente en las cepas de grado II (Ross y Sanders 1987). En Francia, la última información que se dispone es que la virulencia se redujo entre 1962 y 1968, cuando las cepas de grado IV constituyeron más del 60% del total (Fenner y Ross 1994).

Varias hipótesis se han barajado para la explicación de estas diferencias entre países:

a) La primera hipótesis es que los diferentes vectores principales de la enfermedad (pulgas en Gran Bretaña y mosquitos en Francia y Australia) hayan ejercido una presión selectiva diferente entre las diferentes cepas. Se ha sugerido la posibilidad de que los mosquitos, al tener piezas bucales de mayor tamaño que las pulgas, podrían transmitir más

eficientemente cepas más atenuadas del virus que se encuentran a títulos más bajos en las lesiones de los conejos enfermos que las cepas de mayor virulencia (Ross 1982). Sin embargo, en los trabajos teóricos realizados por Dwyer y cols. (1990) las evidencias son totalmente opuestas, pues si bien la eficacia de transmisión del virus aumenta en relación lineal con el título de virus tanto para las pulgas como para los mosquitos, estos últimos parecen ser más eficaces a la hora de transmitir cepas que presentan elevados títulos, por lo que aunque estos autores sugieren la posibilidad de que sea el comportamiento y/o la dinámica poblacional de las poblaciones de ambos artrópodos la causa de esta selección, todavía no están muy claros cuales son los verdaderos mecanismos que subyacen en la selección de cepas de diferente virulencia en ambos sistemas vectores-conejo (Dwyer y cols. 1990).

b) La segunda hipótesis implica que, como los incrementos en la virulencia del virus están asociados al incremento genético de la resistencia en los conejos, es posible que los conejos de Gran Bretaña hayan desarrollado una resistencia mayor que los de Australia, provocando un mayor aumento en la virulencia del virus.

c) La tercera sugiere que las diferencias de las cepas liberadas en cada uno de los países ha podido influenciar el desarrollo posterior de nuevas cepas, ya que la cepa "Standard Laboratory"(SLS) fue mantenida en laboratorio mucho tiempo antes ser liberada en Australia, al contrario de la cepa "Lausanne" liberada en Europa (Ross 1982).

En cualquier caso, y apuntando hacia la futura evolución del virus, cabe preguntarse si su variabilidad genética será suficiente para la aparición de cepas todavía más virulentas que las clasificadas como tipo I. En este sentido, algunos investigadores han observado una gran variabilidad en la virulencia de cepas tipo I (Fenner 1983), como ocurre entre las cepas SLS y la Glenfield, ya que, aunque ambas cursan con una elevada mortalidad entre conejos no seleccionados, cuando la inoculación se realiza a conejos altamente resistentes a la infección, mientras la cepa SLS cursa con una relativa baja mortalidad, la cepa Glenfield sigue manteniendo una alta tasa de mortalidad. Por este motivo, dado que la categorización de la virulencia de las diferentes cepas se hace en función de la virulencia sobre conejos no seleccionados, es posible que dentro de las cepas clasificadas actualmente como tipo I, se hayan incluido este tipo de cepas hipervirulentas, difíciles de distinguir de las anteriores por sus efectos en conejos no seleccionados, pero cuya existencia sugeriría una mayor capacidad de variación por parte del virus respecto a su virulencia (Dwyer y cols. 1990).

Por último hay que tener en cuenta las reservas que el método de gradación de la virulencia diseñado por Fenner y Marshall (1957) suscita en la actualidad (Parer y cols.

1994) y la posible reinterpretación de la virulencia de las cepas campo. De esta manera, aunque se considera que la mayoría de las cepas existentes en Australia y Gran Bretaña son de grado III (Fenner y Myers 1978; Ross 1982; Dwyer y cols. 1990), de hecho, la mayoría de ellas en ambos países podrían ser clasificadas como grado I en función de las tasas de mortalidad. De manera similar Edmonds y cols. (1975) clasificaron como grado III al 55-57% de las cepas recolectadas en Victoria (Australia) entre 1959 y 1974 según el tiempo medio de supervivencia, sin embargo un análisis posterior de los datos muestra que atendiendo a la tasa de mortalidad, casi todas ellas pertenecieron al grado I de virulencia (Parer y cols. 1994). Y es que, tal y como se ha señalado en el apartado de Etiología, el tiempo medio de supervivencia no es una variable adecuada para predecir la virulencia, pues se ha demostrado que algunas cepas que ocasionan una alta tasa de mortalidad, presentan un tiempo de supervivencia más largo que otras cepas atenuadas (Parer y cols. 1994).

2.3.6.7.3-Coevolución de la virulencia del virus y la resistencia del conejo

Fenner y Ratcliffe (1965) predijeron que la relación entre la virulencia del virus y la resistencia del hospedador podría tomar dos direcciones distintas, llevando cada una de ellas a una situación de clímax diferente:

1) La primera posibilidad tendría lugar entre conejos genéticamente resistentes infectados con cepas de virus de elevada virulencia para conejos no seleccionados. Esta situación se semejaría a la asociación existente hoy en día entre el virus y los conejos del género *Sylvilagus* de América, en los cuales la infección por el virus produce lesiones benignas que permanecen infectivas durante varias semanas y que raramente producen mortalidad.

2) La segunda posibilidad es que la selección genética de los conejos no fuese indefinida, llegando a un punto en el cual se estabilizaría junto a la evolución de la virulencia del virus. En esta situación clímax la mixomatosis sería causa de una mortalidad moderada entre los conejos, pero permitiendo la transmisión del virus y la supervivencia del hospedador.

En la actualidad existen evidencias de que la evolución genética de los conejos hacia la resistencia puede haber llegado a su máximo en algunas áreas (Ross 1982), lo que indica que la segunda opción es la situación hacia la que evolucionan en estos momentos las poblaciones. Sin embargo, Fenner y Myers (1978) ya sugirieron que esta estabilización de la evolución en la resistencia genética de los conejos pudiera ser

transitoria y signo de haber alcanzado los límites de la selección con la actual variabilidad genética, pero que a largo plazo pudiera existir una nueva evolución basada en mutaciones del virus y de los propios conejos.

Otras aproximaciones al problema han sido llevadas a cabo por autores como Anderson y May (1982a), usando datos sobre los cambios acaecidos en la virulencia del mixomavirus en Australia y mediante un simple modelo matemático. Estos autores concluyeron que la máxima tasa reproductiva del virus, y por tanto del equilibrio en el sistema virus-hospedador, tendría lugar con las cepas de grado IV. Aunque en la realidad, las cepas predominantes en la naturaleza son las pertenecientes al grado III, esta desviación en los resultados finales puede ser achacada a las simplificaciones del modelo, pero lo más significativo es que los resultados sugieren que posiblemente el equilibrio de esta relación virus-hospedador se establezca durante mucho tiempo a un nivel intermedio de virulencia, lo que asegurará la supervivencia en el tiempo tanto de los conejos como de la enfermedad.

Otros autores han desarrollado diferentes modelos, todavía más complejos, para predecir la evolución de la mixomatosis en Australia, incluyendo un mayor número de parámetros como la densidad poblacional y la capacidad de carga del medio. Así, Seymour (1992) establece que una vez la enfermedad consigue asentarse en una población, el transcurso de su evolución puede provocar, bien la aniquilación de la población de conejos, o bien alcanzar un estado en el que la enfermedad curse con epizootias recurrentes, o bien que actúe de forma endémica. Para un virus de una virulencia determinada, la secuencia de estas posibilidades puede tener lugar conforme aumente la resistencia de los conejos, pero en la naturaleza depende de la interacción entre la virulencia del virus, la resistencia de los conejos y la capacidad del medio.

En la evolución de la virulencia (atenuación) se reconocen dos factores principales: el primero es la "producción" de vectores infectivos que puedan propagar el virus, lo cual está en función de la sintomatología producida por la cepa en cuestión. El segundo componente es la susceptibilidad de los conejos a ser infectados por estos vectores, lo que depende tanto de la resistencia genética de los conejos como de la probabilidad de ser picados por un vector infectante (determinado al fin y al cabo por la densidad de conejos y ésta por su tasa de reproducción).

En una situación de enfermedad endémica, la selección natural actúa maximizando la tasa reproductiva del virus con respecto a su virulencia (Anderson y May 1982a), lo que tiene lugar con cepas de grado IIIB, hecho que coincide con lo observado en numerosas áreas. En esta situación enzoótica cabría esperar una muy reducida evolución en la

resistencia genética de los conejos, debido a que la distribución de la susceptibilidad dentro de la población entraría en equilibrio (Seymour 1992).

Por el contrario, la interacción entre virulencia y resistencia en poblaciones sujetas a epizootías parece más compleja debido a los sucesivos y cíclicos cambios en las proporciones de animales inmunes y sensibles. En poblaciones sujetas a ciclos de enfermedad de gran amplitud, las poblaciones de conejos permanecerían en bajas densidades durante largo tiempo, y a elevadas densidades solamente durante breves períodos debido a la mortalidad causada por las epizootías. En esta situación, sólo los conejos más resistentes sobrevivirían a la siguiente epizootía, constituyendo el grueso de las poblaciones durante los intervalos de baja densidad, lo que favorecería la selección de cepas de elevada virulencia durante largos períodos (Ross 1982), mientras que la selección de las cepas más atenuadas tendría lugar únicamente durante los breves períodos en los que aumentase la densidad poblacional. En este caso pues, no cabría esperar una marcada atenuación de la virulencia, sin embargo la resistencia de los conejos iría aumentando progresivamente debido a la mayor oportunidad que tendrían los conejos más resistentes para reproducirse. Como la resistencia se incrementaría y la virulencia se mantendría más o menos estable, progresivamente la amplitud de los ciclos decrecería, aumentando su frecuencia, hasta tal punto que el nivel de resistencia se estabilizaría, tal y como se ha descrito para la situación endémica, hecho que concuerda plenamente con lo observado en Australia (Fenner y Ratcliffe 1965).

Otros modelos han sido desarrollados por Dwyer y cols (1990), teniendo en cuenta el título de virus en las lesiones y algunos parámetros demográficos de los conejos. Una de las "predicciones" más llamativas estimadas por estos autores es que el efecto del virus en el control de las poblaciones depende estrechamente de la virulencia del virus y de las tasas de mortalidad natural de su hospedador, por lo que la evolución de las poblaciones bajo la influencia de la mixomatosis será diferente en cada zona, hecho también observado en Australia (Parer y cols. 1994).

Es interesante recalcar que los resultados de estos modelos no puedan ser aplicados plenamente a otros sistemas conejo-mixomavirus, como por ejemplo el que tiene lugar en Gran Bretaña (Ross 1982). Ello indica que todavía quedan muchos parámetros por conocer, especialmente en lo que concierne a niveles de transmisión del virus en conejos genéticamente resistentes y a la evolución de la virulencia, por lo que aún estamos lejos de predecir con suficientes garantías la futura evolución de la enfermedad (Fenner y Ross 1994).

2.3.7-Diagnóstico

El diagnóstico inicial de la mixomatosis está basado en el reconocimiento del cuadro clínico, muy característico en las formas agudas, y en la epizootiología de la enfermedad. Sin embargo, para establecer el diagnóstico diferencial entre la forma amixomatósica y otras enfermedades que afecten al sistema respiratorio es necesario recurrir a técnicas laboratoriales que permitan la detección del virus, como pueden ser la Microscopía electrónica, la Inmunofluorescencia directa, o técnicas de anatomopatología para la observación de las inclusiones de Splendore y de las lesiones tisulares epidérmicas o dérmicas propias de la enfermedad. También son útiles las técnicas de identificación serológica como la Inmunofluorescencia directa, la Fijación del complemento o la Inmunofluorescencia indirecta.

En otras ocasiones también se recurre al cultivo del virus en medios celulares, como la línea RK13 o el embrión de pollo.

Para la detección de anticuerpos, la primera técnica laboratorial que se generalizó en Australia fue la inmunodifusión (Sobey y cols. 1966), si bien esta técnica sólo detectaba anticuerpos precipitantes de un antígeno soluble del mixoma más que anticuerpos reaccionantes con el virión. Esta técnica presentaba una cuantificación problemática y no se prestaba a la detección de las diferentes clases de inmunoglobulinas implicadas en la reacción (Wetherall y cols. 1983).

Posteriormente se han desarrollado tests más acordes a las necesidades de valoración de la inmunidad humoral en experiencias de vacunación y en poblaciones de conejos silvestres, tales como la técnica de ELISA, que permite diferenciar los tres tipos de inmunoglobulinas implicadas en la reacción inmunitaria, IgG, IgM e IgA (Wetherall y cols. 1983; Kerr 1997)

2.3.8-Métodos de lucha

La mixomatosis constituye en la actualidad uno de los principales factores de mortalidad en las poblaciones de conejo silvestre. Por este motivo, mientras en Australia se investiga para potenciar todavía más este impacto negativo, en países como España o el sur de Francia las actuaciones persiguen un objetivo totalmente opuesto, reducir su impacto para fomentar las poblaciones de conejos silvestres.

En este sentido, las actuaciones más tradicionalmente realizadas son la vacunación en campo de ejemplares silvestres con vacunas comerciales homólogas o heterólogas, y, vista la importancia epidemiológica de las pulgas, la reducción de su número para disminuir la incidencia de la enfermedad.

2.3.8.1-Immunoprofilaxis vacunal

Todas las vacunas comerciales existentes están fabricadas con virus vivos, si bien se clasifican en dos grupos: vacunas heterólogas y vacunas homólogas.

Vacunas heterólogas:

Debido a la importancia económica de la especie como productora de carne o piel, y a la necesidad de su fomento como especie silvestre en los países mediterráneos, durante los primeros años posteriores a la irrupción de la mixomatosis ya se practicaron campañas de vacunación a gran escala. El producto utilizado fue una vacuna viva fabricada con el virus del fibroma. Este virus fue aislado por Shope (1932) afectando a *Sylvilagus floridanus*, y aunque está relacionado antigénicamente con el virus de la mixomatosis, difiere en que en *Oryctolagus cuniculus* sólo produce lesiones tumorales benignas. En la actualidad, la inoculación con esta vacuna produce cierta protección contra la mixomatosis (Shope 1932) en el 70% de los animales adultos y en el 60% en animales de 4-6 semanas de vida, si bien la protección ni es completa ni su duración prolongada, por lo que se recomienda la revacunación cada 4-6 meses si se pretende que la protección sea continua.

La respuesta inmune es precoz, ya que en un principio se manifiesta en un bloqueo de células sensibles y, posteriormente, en la producción de anticuerpos. La vía que favorece una respuesta más rápida es la intradérmica, por lo que se recomienda la utilización del inyector Dermoject (Joubert y Brun 1976), si bien por vía subcutánea el período de protección se prolonga. Al tercer día ya se aprecia inmunidad que confiere un nivel de protección cercano al 100%.

Aunque se ha observado que la progenie de hembras vacunadas con este virus confieren cierto grado de protección a sus camadas (Sobey y Conolly 1986), no se recomienda inocular la vacuna a animales menores de 4 semanas debido a su extrema sensibilidad al virus del fibroma de Shope (Brun y cols. 1981a).

Vacunas homólogas:

Debido a la relativa baja eficacia de la vacunación con virus fibroma de Shope, y en vista de la imposibilidad de obtener productos vacunales inactivados, se investigó en la línea de obtener una vacuna viva a partir de cepas atenuadas del virus de la mixomatosis mediante pases en cultivos celulares, de tal manera que persistiese el poder inmunógeno pero no la patogenicidad.

Aunque en un principio se obtuvieron algunos fracasos debido a la reversión de su poder patógeno (Jacotot y cols 1967), se obtuvo la cepa SG33 a partir de una cepa campo poco virulenta pasada sucesivas veces en cultivo celular de riñón de conejo y en fibroblastos de embrión de pollo a 33°C (Saurat y cols 1978). Esta nueva vacuna otorga una protección más efectiva frente a la mixomatosis, sin reversión de su virulencia y provocando sólo pequeñas lesiones en el punto de inoculación debido a la replicación del virus. Sin embargo, debido al fuerte efecto inmunosupresor del virus, su aplicación en animales en deficiente estado sanitario ha provocado en numerosas ocasiones la aparición de infecciones bacterianas secundarias (Brun y cols. 1981a). Por este motivo algunos autores recomiendan una primera vacunación con virus del fibroma de Shope seguida de una segunda revacunación con SG33 seis a ocho semanas más tarde (Joubert y cols. 1982)

Posteriormente, una nueva vacuna homóloga elaborada por laboratorios españoles a partir de la Cepa León 162 se ha venido utilizando de forma común en nuestro país. Esta cepa procede de una cepa de campo atenuada después de ciento sesenta y dos pases, dos de ellos en conejo, cuarenta en membrana corioalantoidea de embrión de pollo y ciento veinte en línea celular RK-13. Esta cepa vacunal se mostró estable e inocua para los conejos, incluso para hembras gestantes y gazapos de 3-4 semanas, manteniendo su infecciosidad a nivel dérmico, pero perdiendo características como la letalidad, la capacidad de producir hipertermia o la capacidad de provocar lesiones pulmonares; estimándose incluso, la posibilidad de la difusión vacunal desde animales inoculados a animales testigo contacto (Argüello 1986).

Con esta vacuna, la aparición de la inmunidad tiene lugar hacia los 2-3 días después de la vacunación, con un período de protección eficaz de un año aproximadamente. La inmunidad transmitida por el calostro desde madres vacunadas a sus gazapos les confieren protección frente a la infección durante la lactancia (Argüello 1986). En este caso también se recomienda la inoculación vía intradérmica debido a su mayor respuesta inmunitaria.

Nuevos ensayos han sido realizados por Pages (1988) sobre la vacunación con vacunas homólogas en conejos silvestres, obteniendo resultados similares en cuanto a niveles de protección e inocuidad, si bien este autor no observó la difusión del virus

vacunal a animales testigo contacto. También determinó que las únicas vías adecuadas para la administración de la vacuna son la intradérmica en primer lugar y la subcutánea, fracasando en sus intentos de inmunizar a los conejos por las vías aerosol, ocular, oral e intramuscular.

Si bien, la inmunización de una población silvestre mediante la utilización de estas vacunas es posible, la necesidad de la captura de una elevada proporción de la población dificultan tremendamente su aplicación, tanto por los problemas técnicos de la captura como por su elevado coste económico. Además, si bien ambos tipos de vacunas parecen dar buenos resultados en condiciones laborales o de explotaciones industriales, los pobres resultados obtenidos por Gallego y cols. (1989) en la profilaxis vacunal de la mixomatosis en conejos domésticos manejados extensivamente en áreas hiperenzoóticas, utilizando tanto vacunas heterólogas como homólogas, no abren muchas esperanzas a la utilidad de esta actuación, pues si bien los animales vacunados presentaron unas formas de enfermedad más crónicas que los conejos silvestres de la zona, la elevada morbilidad sufrida sugiere pocas garantías de éxito en su aplicación a conejos silvestres.

2.3.8.2-Lucha antivectorial

La lucha antivectorial se ha centrado básicamente, en la utilización de productos insecticidas para la reducción de la población de pulgas existente en el interior de las madrigueras (Launay y Chapuis 1984; Trout y cols. 1992), si bien en la actualidad todavía no está totalmente claro qué producto o productos son los de elección, ni el protocolo de actuación para conseguir la mejor relación coste/efectividad. Los métodos empleados hasta ahora para la aplicación del insecticida, han sido el tratamiento de las madrigueras e incluso los conejos con insecticidas en polvo (piretrinas) en el caso de Trout y cols. (1992) o la colocación de un collar antiparasitario impregnado de diclorvos a conejos silvestres (Launay y Chapuis 1984). Si bien el resultado ha sido efectivo para reducir la carga parasitaria de pulgas, el considerable trabajo de campo que conlleva la captura de los conejos o el tratamiento seriado de las madrigueras y el relativo desconocimiento de su efectividad en otras zonas ha hecho que, hasta el momento, su aplicación generalizada y racional no haya proliferado entre aquellos colectivos interesados en la recuperación de la especie.

2.3.8.3-Otros métodos de lucha

Además de los clásicos métodos de lucha comentados anteriormente, en los últimos años han surgido nuevos proyectos que, de hacerse realidad, podrían constituir nuevos métodos de lucha más efectivos y fáciles de aplicar, lo que garantizaría su utilización generalizada y la reducción global del impacto de la mixomatosis sobre las poblaciones de conejo silvestre.

A nivel todavía muy incipiente estarían otras formas de lucha frente a las pulgas, como el empleo de análogos de hormonas juveniles que impidiesen el desarrollo completo de las larvas, o la utilización de organismos vivos como el *Bacillus thuringiensis* o ciertos nematodos que aumentaría la mortalidad de las pulgas (Launay 1980).

En fase más avanzada de desarrollo se encuentran aquellos proyectos que buscan cepas vacunales transmisibles de forma natural, de tal manera que el fomento de las poblaciones naturales de pulgas o la utilización de las mismas criadas en cautividad como medio de introducción de las cepas vacunales entre las poblaciones de conejos silvestres, deberían reducir considerablemente la mortalidad causada por las cepas salvajes. El mayor problema de este proyecto es encontrar una cepa vírica lo suficientemente atenuada para minimizar los efectos negativos en los individuos infectados, pero que sea capaz, al

mismo tiempo, de transmitirse a una tasa superior a la de las cepas campo y competir con ellas.

Otras líneas de investigación están desarrollando, mediante ingeniería genética, virus recombinantes de baja virulencia para inmunizar a los conejos frente a la mixomatosis y a la Enfermedad hemorrágica. Hasta el momento se ha conseguido construir un virus recombinante mixoma-VHD mediante la recombinación entre los genes VVTK del poxvirus pSC11 (con el gen VP60 del virus VHD) y el gen TK de la cepa vacunal de la mixomatosis SG33 (Betagnoli y cols.1994), y se ha comprobado la posibilidad de vehicular este virus recombinante hacia los conejos silvestres mediante la utilización de cebos, utilizando como modelo el virus recombinante vacuna-rabia (Guillot, 1994) utilizado en la vacunación oral de los zorros frente a la rabia.

2.4-Enfermedad Hemorrágica (VHD)

2.4.1-Introducción

Los estudios realizados acerca de esta enfermedad son mucho más escasos que para la mixomatosis, por lo que todavía persisten numerosas incógnitas sobre su patogenia y epidemiología. En el presente capítulo hemos realizado la revisión de estos conocimientos siguiendo el mismo esquema que en el capítulo dedicado a la mixomatosis.

En primer lugar se ha hecho referencia a la historia de la enfermedad y al probable origen del virus, así como la caracterización del mismo en el apartado de etiología. Posteriormente se ha revisado la patogenia y el cuadro clínico de la enfermedad, aunque debido a los objetivos del presente trabajo, ha sido en el apartado de epidemiología donde se ha llevado a cabo una revisión más profunda, incluyendo puntos como especies sensibles a la infección, fuentes de infección y vías de transmisión, factores dependientes del hospedador y del entorno que condicionan la gravedad de la enfermedad, y en especial, la dinámica y evolución de la misma entre poblaciones de conejos silvestres. Por último, hemos hecho referencia a las técnicas de diagnóstico y a la inmunoprofilaxis vacunal como único método de lucha contra esta enfermedad, caracterizando los diferentes tipos de productos vacunales y su eficacia.

2.4.2-Historia

La enfermedad hemorrágica del conejo fue descrita por primera vez como un proceso agudo que apareció durante la primavera y verano de 1984 en la República Popular de China, en la provincia de Jiangsu, afectando a un lote de conejos de Angora importados desde la República Federal de Alemania (Liu y cols. 1984; Xu y cols. 1988). En un primer momento las pérdidas ocasionadas por esta enfermedad en China se cifraron en decenas de millones de conejos (Lenghaus, com. per.), hasta que se instauraron las primeras medidas de lucha basadas en la práctica del vacío sanitario y la profilaxis vacunal, lográndose la erradicación de la enfermedad en las explotaciones cunícolas.

En Europa, esta enfermedad fue descrita por primera vez en Italia en 1986 (Cancellotti 1990), país en el cual se estimaron unas pérdidas de más de 60 millones de conejos (Lenghaus, com. per.). Las primeras informaciones publicadas en Europa acerca de esta enfermedad aparecieron entre los años 1987 y 1988 (Gorski y cols. 1988; Sesevickova y cols. 1988; Löligger y cols. 1989), basadas sobre todo en los datos

publicados en China. En este mismo año, 1987, la enfermedad es detectada en Checoslovaquia y Rumania (Morisse y cols. 1991).

En la primavera y verano de 1988 es descrita por primera vez en España, afectando tanto a conejos domésticos como a silvestres en áreas relativamente distantes como Asturias y Murcia, para, en ese mismo año, ser detectada en León, Segovia, Canarias y Almería (Argüello y cols. 1988). En conejos silvestres, la enfermedad fue detectada en regiones adyacentes de Murcia (Sucina) en diciembre de 1988 y en Lorca en abril de 1989 (Leon Vizcaino, no publicado). Un año más tarde, durante la primavera de 1990, fue detectada en el Parque Nacional de Doñana, de tal manera que en solo dos años el virus se extendió a lo largo de todo el país.

Los primeros casos en Francia fueron diagnosticados en julio-agosto de 1988 al este del país (Morisse 1989), y en Alemania en la segunda mitad de 1988 (Löligler y Eskens 1991). En este mismo año, la enfermedad fue detectada en Suiza y Dinamarca (en 1990 en la isla de Gotland y en 1993 en la parte sur de Suecia). La rápida y simultánea propagación de la enfermedad a puntos tan distantes sugiere la intervención humana en la diseminación del agente etiológico, posiblemente a través del comercio de conejos vivos y productos cunícolas. Por este medio se supone que el virus alcanzó islas como las Canarias, Baleares, Córcega y Sicilia casi simultáneamente a la detección de la enfermedad en otras partes de Europa, así como también pudo cruzar el mar Mediterráneo hacia Egipto y Túnez (Cooke, no publicado). En Gran Bretaña, los primeros casos fueron diagnosticados en conejos domésticos en marzo de 1992, con un pequeño número de localizadas y pequeñas epizootías sin relación aparente en su origen y sin cubrir una gran extensión (Fuller y cols. 1993; Chasey 1994).

En diciembre de 1988 fue detectada en Méjico una epizootía de esta enfermedad (Gregg y cols. 1991) que fue controlada y erradicada del país mediante estrictas medidas de cuarentena y sacrificio completo de granjas. Aunque esta epizootía se consideró asociada a la importación de un cargamento de carne de conejo congelada procedente de China, y es improbable que el virus alcanzase este país transportado por el viento, realmente no se llegó a comprobar que este cargamento fuera la verdadera fuente del virus (Chasey 1994).

Esta enfermedad vírica supuso un azote en la economía de la cunicultura en numerosos países, y provocó desastrosas consecuencias en las poblaciones de conejos silvestres europeos; sin embargo, investigadores australianos mostraron interés en su utilización como posible arma biológica para reducir las poblaciones silvestres de este lagomorfo, dado el carácter de plaga que tienen en aquel país. Esta idea surgió

principalmente de la capacidad de transmisión por contacto directo que tiene este virus, sin necesidad de vectores como el virus de la mixomatosis, el cual ve restringida su efectividad por este motivo. Aunque el modo de transmisión directo podría provocar que la enfermedad se extinguiese en poblaciones de baja densidad, tiene la gran ventaja de que puede ser introducido fácilmente mediante la infección de conejos por vía oral con la utilización de cebos (Lenghaus com. per.). Por este motivo, un aislamiento del virus realizado en Checoslovaquia, fue importado a Australia en 1991 bajo estrictas medidas de cuarentena al Australian Animal Health Laboratory de Geelong, con el fin de llevar a cabo experimentos preliminares sobre la utilidad e inocuidad de su posible introducción a gran escala en aquel país. Posteriormente, en 1995, el virus fue experimentalmente introducido en la isla de Wardang para la observación de la epizootiología de la enfermedad en condiciones naturales; sin embargo, en octubre de ese mismo año, la enfermedad se detectó a pocos kilómetros de la costa australiana cerca de la isla de Wardang y, en cuestión de tres meses, se diseminó sobre una superficie próxima al millón de kilómetros cuadrados (Cooke com. per.), aunque posteriormente la velocidad de diseminación se redujo considerablemente.

Esta nueva enfermedad del conejo ha recibido numerosas denominaciones; ya al poco de descubrirse en China fue llamada "septicemia hemorrágica" o "Hepatitis necrótica infecciosa" (Marcato y cols. 1988). En enero de 1989, investigadores franceses e italianos propusieron a la Oficina Internacional de Epizootias denominar definitivamente a este proceso como "Viral Haemorrhagic Disease" (VHD) o enfermedad vírica hemorrágica, siendo aceptada en mayo de ese mismo año, al tiempo que se inscribió la enfermedad en la Lista B del Código Zoonosario Internacional (Morisse y cols. 1991). Sin embargo, nuevas denominaciones han sido propuestas como la más ampliamente utilizada "Rabbit Haemorrhagic Disease (RHD)" (Mitro y Krauss 1993), o la más reciente "Rabbit Calicivirus Disease" (RCD), propuesta por investigadores australianos, ya que la denominación "hemorrágica" no está de acuerdo con las discretas lesiones macroscópicas que algunos autores encuentran (Gunning y Proud 1994; Lenghaus com. per.). Incluso se ha propuesto la denominación de "Hepatitis Infecciosa Necrótica de los Lepóridos" (Marcato y cols. 1991) como denominación más general que englobaría tanto a esta nueva enfermedad de los conejos como al EBHS (European Brown Hare Syndrome) o síndrome de la liebre parda europea, síndrome que fue detectado por primera vez en 1985 afectando a diferentes especies de liebres (*Lepus europaeus* y *Lepus timidus*) en varios países de Europa del norte y oeste, y que debido a su tremenda similitud con la VHD, tanto en las lesiones anatomopatológicas como en su etiología, patogenia y epizootiología, ha propiciado que el estudio de ambas enfermedades se haya desarrollado en estrecha relación (Morisse y cols. 1991).

2.4.3-Etiología

En los primeros momentos, la etiología fue atribuida a numerosas y heterogéneas causas, entre las que cabe destacar bacterias del género *Pasterella*, y procesos tóxicos relacionados con pesticidas (Morisse 1989). Posteriormente, se pudo comprobar la naturaleza infecciosa de la enfermedad mediante la infección de conejos sanos a través de la inoculación de suspensiones de órganos procedentes de conejos muertos por esta causa, y sobre todo, por la demostración de la presencia del antígeno y de los anticuerpos específicos mediante técnicas de hemoaglutinación e inhibición de la hemoaglutinación, ya que el virus, en la mayoría de las ocasiones, presenta propiedades aglutinantes sobre eritrocitos de oveja, aves y humanos, especialmente de tipo O (Liu y cols. 1984; Pu y cols. 1985; Du y cols. 1986; Xu y cols. 1988). La naturaleza vírica del agente etiológico se puso de manifiesto gracias a técnicas como la microscopía electrónica, con la que se evidenció la existencia de partículas víricas en el interior de las células de animales infectados (Liu y cols. 1984; Pu y cols. 1985; Xu y cols. 1988).

La identificación posterior del virus evidenció que se trata de un virus esférico, sin envoltura, cuya cápside es icosaédrica, no lisa y formada por 32 capsómeros (Xu y Chen 1989), con un diámetro que suele oscilar entre los 30 y 35 nm (Tesouro-Vallejo 1990; Le Gall y cols. 1992) o hasta 40nm (Ohlinger y Thiel 1991). En un principio surgieron numerosas divergencias respecto a su clasificación, ya que para algunos investigadores se trataba de un virus ADN de tipo parvovirus (Xu 1988; Gregg y House 1989; Du 1991; Xu 1991) mientras que para otros se trataba de un virus ARN de tipo calicivirus (Ohlinger y cols 1989; Plana y cols. 1989; Smid y cols. 1989; Lavazza y cols. 1990; Parra y Prieto 1990; Le Gall y cols. 1992). Esta última posibilidad se ha confirmado con el tiempo a partir de los primeros trabajos en los que se observó la similitud entre el genoma del virus VHD y el genoma del calicivirus felino, y sobre todo a que la inoculación intrahepática de ARN purificado procedente de viriones de VHD, reprodujo la enfermedad en conejos, recuperándose de sus órganos partículas víricas completas idénticas a aquellas de las que se había extraído el ARN (Ohlinger y Thiel 1991).

Estos resultados discordantes en la caracterización del virus, según Morisse y cols. (1991), pudieron ser debidos a la imposibilidad de cultivo del virus en medios celulares (Pages 1989; Tesouro-Vallejo 1990), lo que ha obligado a estudiarlo únicamente a partir de triturados de órganos, aunque algunos autores chinos aparentemente consiguieron el cultivo en línea celular DJRK (obtenida a partir de trituraciones de riñón de gazapos). Estos investigadores lograron que el virus mantuviese su poder patógeno incluso hasta el decimoquinto pase (Chuan y cols. 1991; Xu 1991). Otra posibilidad que fue apuntada en

su momento por Morisse y cols. (1991) es que en realidad existieran dos virus distintos con expresión clínica poco o nada diferenciada.

Respecto a la similitud entre los virus causantes de la EBHS y VHD también han existido discrepancias, puesto que, aunque algunos autores afirman haber conseguido la transmisión cruzada del agente etiológico del EBHS a conejo, e incluso del conejo a la liebre (Liu y cols. 1984; Morisse y cols. 1990), sin embargo son de mayor peso los intentos fallidos de conseguir esta transmisión cruzada (Lenghaus 1993; Lavazza y cols. 1996), aceptándose que VHD y EBHS son dos enfermedades distintas causadas por dos calicivirus emparentados pero distintos (Capucci y cols. 1991; Le Gall y cols. 1992; Lenghaus 1993; Le Gall y cols. 1996). La infección cruzada de liebres y conejos con virus VHD y EBHS respectivamente, si bien produce un ligero nivel de anticuerpos, no es capaz de crear inmunidad frente a la posterior infección del virus específico para cada especie (Lavazza y cols. 1996).

2.4.3.1-Resistencia natural del virus

En trabajos realizados sobre la resistencia del virus, Xu (1991) demostró que el virus puede permanecer viable hasta 413 días a -5°C , o 4,5 años liofilizado a -70°C . Por su parte, Smid y cols. (1991) comprobaron que el virus es capaz de sobrevivir al menos 225 días en una suspensión orgánica a 4°C , al menos 105 días en estado seco sobre tejido de algodón a 20°C , y al menos dos días a 60°C , tanto en suspensión orgánica como en estado seco. También es capaz de soportar durante una hora a 37°C sumergido en formaldehído al 0,4% o 12 horas a 4°C , pero es sensible a 3 horas a 37°C o a 3 días a temperatura ambiente (Smid y cols. 1989). Respecto al pH, Xu y Chen (1989) describieron que el virus es estable durante 60 minutos a un $\text{pH}=3$, pero que es inactivado a temperaturas superiores a 50°C . También es resistente a la acción del éter y el cloroformo.

2.4.4-Origen

El origen de la VHD es todavía incierto, y aunque investigadores chinos creen que la enfermedad se importó desde Alemania, no existe evidencia de que la enfermedad existiese por esas fechas en este país (Chasey 1994); por este motivo y por el hecho de que la enfermedad apareció en varios países en un corto período de tiempo, Löliger y Eskens (1991) sugieren la posibilidad de que la VHD tuviese varios orígenes simultáneamente. Sin embargo, el estudio de la cadena genómica de virus de VHD procedentes de Checoslovaquia y Austria, muestra que el grado de relación entre ambos aislamientos es

muy elevado, por lo que probablemente fue un solo virus el que se extendió rápidamente a lo largo de Europa (Milton y cols. 1992).

Otra hipótesis, aunque poco probable, es la que considera que el virus, originario del continente americano, fue introducido en Europa a través de las frecuentes importaciones de *Sylvilagus floridanus* y de liebres (*Lepus europaeus*) procedentes de Argentina a Italia. Esta hipótesis no se ha podido contrastar debido a la carencia de investigaciones específicas dirigidas a estimar la presencia o no del virus en especies de lagomorfos originarias de América (Cooke, no publicado).

Por otro lado, algunos investigadores (Chasey, 1995) encontraron en Gran Bretaña conejos silvestres seropositivos a VHD, a pesar de que en el momento de la realización del muestreo la enfermedad sólo había sido detectada en unas pocas granjas (Fuller y cols. 1993); de manera similar, controles realizados en Checoslovaquia sobre sueros conservados desde 1975 detectaron la presencia de anticuerpos anti-VHD en un porcentaje elevado de animales, lo que sugiere la posibilidad de que una forma de la enfermedad, de naturaleza subclínica, hubiera estado presente en Europa hace ya algún tiempo (Rodak y cols. 1991). Una hipótesis similar se ha formulado para la EBHS, ya que existen evidencias serológicas de que los virus ya estaban presentes entre las liebres de Gran Bretaña en los años 60 y la enfermedad clínica desde mediados de los 70 (Duff y cols. 1994). Muchas de las liebres importadas cada año a Italia procedentes de Argentina presentan también anticuerpos frente a este virus, a pesar de que la enfermedad no ha sido nunca detectada en su país de origen (Cooke, no publicado). Esto puede sugerir que el virus atenuado ha permanecido en Argentina desde los tiempos en que fue introducido con su hospedador, mientras que la forma virulenta de EBHS, de más reciente evolución, ha permanecido restringida a Europa. Así pues, la observación de virus similares entre conejos y liebres europeos y la falta de evidencia, hoy por hoy, de que existan virus similares en lagomorfos americanos, indica que el virus tiene un origen europeo.

Studdert (1994) sugirió que, vistos los indicios de la existencia de un virus apatógeno mucho más antiguo (Rodak y cols 1990), una mutación en unos pocos nucleótidos críticos pudiera haber producido un virus mutante dominante dentro de su quasispecie, tal y como existen evidencias de que el parvovirus canino es un mutante procedente del virus de la panleucopenia felina. En el caso de la VHD, este nuevo mutante representaría un virus con una mejor adaptación que el preexistente a su hospedador el conejo, o bien la mejor adaptación de este virus a otra especie, si el virus hubiese pasado desde las liebres (EBHS) a los conejos. Esta mutación podría haber afectado a parte de los nucleótidos responsables de la cápside proteica, permitiendo al virus una unión más perfecta a los receptores de la superficie celular de los conejos, o

bien, un cambio en la proteasa que haría posible la degradación del fibrinógeno de su hospedador, potenciando su patogenicidad.

Posteriormente se ha demostrado la existencia de este calicivirus apatógeno, denominado RCV (calicivirus del conejo) y que está estrechamente emparentado con el VHD (Capucci y cols. 1996), por lo que se considera que este nuevo calicivirus podría ser el verdadero precursor del VHD. El principal órgano de replicación del RCV es el intestino, a diferencia del VHD, que se replica preferentemente en hígado y bazo. Antigénicamente son muy similares, de tal manera que los conejos que son infectados por el RCV no sufren mortalidad, quedando inmunizados frente a la infección por VHD. Por el contrario, la infección experimental de liebres con RCV no protege contra el EBHS.

En el momento presente pues, la hipótesis que ha cobrado mayor fuerza es que un virus, inicialmente apatógeno para los lagomorfos, evolucionó hacia dos formas diferentes, causantes de la EBHS en las liebres y de la VHD en los conejos; esto implicaría que los nuevos virus tienen una mayor ventaja en su selección sobre las formas anteriores menos patógenas, lo que les permite establecerse con éxito entre las poblaciones de lagomorfos.

2.4.5-Patogenia

Una vez el virus ha penetrado en el organismo, la primera replicación viral puede tener lugar en las criptas del intestino delgado (si la penetración es vía oral) (Gregg y cols 1991) para después invadir los órganos diana, como el hígado, bazo, resto del sistema inmune y endotelios (Huang 1991; Guittre y cols. 1996). Mediante estudios inmunohistológicos se ha revelado la existencia de antígeno intranuclear e intracitoplasmático en hepatocitos, lo que sugiere que la morfogénesis del virus tiene lugar en el núcleo celular (Gong y Ji 1991; Marcato y cols. 1991), de tal manera que las partículas víricas producidas en el núcleo van migrando paulatinamente al citoplasma a través de la membrana nuclear lesionada, por sus poros más dilatados o a través del espacio perinuclear, produciéndose la liberación del virus en el momento de la lisis celular. Otros autores sin embargo, solamente han detectado el antígeno vírico en el citoplasma celular (Rodak y cols. 1992; Park y cols. 1992) considerando que la morfogénesis del virus tiene lugar únicamente en este espacio. El virus también se ha podido detectar en macrófagos pulmonares, bazo y nódulos linfáticos (Stoerckle-Berger y cols. 1990).

La primera alteración que ocurre en los hepatocitos infectados es una degeneración hídrica, con un fuerte aumento del retículo endoplásmico y un notable aumento en el

número de polisomas. En los hepatocitos en avanzado estado de necrosis se observa una disminución del tamaño celular, y cariólisis con formación de vesículas citoplasmáticas. La necrosis hepática posiblemente esté exclusivamente producida por la replicación del virus; sin embargo, también se ha considerado la posibilidad de que sean los propios inmunocomplejos inducidos por el virus (antígeno-anticuerpo) los responsables del daño hepático, ya que podrían provocar microtrombosis y por tanto necrosis (Marcato y cols. 1991).

En los primeros momentos de la enfermedad se suele observar un descenso en el valor hematocrito, así como la aparición de eritroblastos acidófilos en sangre circulante (signos de una anemia regenerativa secundaria a las hemorragias). También se observa una marcada linfopenia que se va agravando con la evolución de la enfermedad, una trombopenia producida por la elevada cantidad de plaquetas que están siendo consumidas en la formación de trombos de fibrina, e incluso, en ocasiones, la aparición de complejos solubles dentro de las 24 primeras horas, como signo de un aumento en los niveles de productos de degradación de la fibrina, consecuencia de la división del fibrinógeno en fibrina (indicativo de un aumento en la coagulación plasmática) (Ueda y cols 1992; Guelfi y cols. 1993).

Sin embargo, la considerable reducción de los niveles de fibrinógeno en sangre, característica en los CID, no se detecta en la VHD a pesar de que el fibrinógeno es consumido, lo que sugiere un aumento compensatorio en su síntesis (Ueda y cols. 1992). También se observan otras alteraciones en la hemostasia, compatibles todas ellas con la existencia de un CID, como son la disminución de los factores de coagulación VII y X debido a la reducción de su síntesis por la necrosis hepática existente (Guelfi y cols. 1993). En algunos animales se observa además una neutropenia periférica debido al traslado de estas células hacia el sector marginal de los vasos y tejidos. Llegado este momento, aproximadamente unas 30 horas después de la infección, algunos conejos presentan una asociación simultánea del CID y de una insuficiencia hepatocelular, lo que les lleva rápidamente a la muerte, mientras que otros animales, que presentan un CID aislado, consiguen aumentar su supervivencia (Guelfi y cols. 1993).

De esta manera, aunque parece que el CID es un paso intermedio hacia el desarrollo de la forma aguda de la VHD, todavía no están claros los mecanismos desencadenantes del mismo. Hay autores que piensan que el mecanismo que provoca el CID es la lesión de las células endoteliales por parte del virus (Marcato y cols. 1988; Huang 1991), mientras que para otros está provocado por la liberación de factores tisulares como consecuencia de la severa necrosis hepática (Ueda y cols. 1992; Guelfi y cols. 1993), o por la liberación de grandes cantidades de CSF (Factor estimulante de colonia) y de

linfoquinas como la TNF (Factor de necrosis tumoral) como consecuencia de la lisis de los tejidos linfoides, lo que induciría la producción de trombina (Guardo 1991). En este sentido se ha señalado la presencia de un excesivo número de mastocitos en los capilares sanguíneos, lo que sugiere que estas células liberan numerosos mediadores de la inflamación asociados a reacciones alérgicas de tipo I, por lo que la histamina liberada podría incrementar la permeabilidad de los capilares (Xu y Chen 1989).

La muerte súbita de los animales parece, pues, causada por una disfunción orgánica múltiple, producida sobre todo por una masiva activación de los mecanismos de coagulación de la sangre, lo que produce un síndrome de coagulación intravascular diseminada (CID) y por tanto la producción de numerosas tromboembolias de fibrina en la totalidad de los órganos, especialmente en los pulmones, por lo que los conejos mueren rápidamente debido a un fallo respiratorio (edema pulmonar) y cardíaco (Lenghaus 1993). Sin embargo, aunque esta infartación generalizada pueda ser la causa de muerte más frecuente, la única lesión realmente constante en la VHD es la hepatitis, por lo que el síndrome hemorrágico no se debe considerar como patognomónico de la enfermedad debido a su variabilidad (Gregg y cols. 1991). De hecho, este síndrome hemorrágico parece ser de aparición menos frecuente entre los conejos más jóvenes (Lenghaus 1993).

Para algunos autores, el sistema inmune es uno de los más afectados por el virus (Huang 1991), ya que se ha observado a macrófagos fagocitar a linfocitos necróticos en el bazo y nódulos linfáticos. De este modo el contenido de linfocitos T se reduce considerablemente en la sangre circulante durante todo el transcurso de la enfermedad, ya que son selectivamente destruidos en los órganos linfáticos periféricos. Bazo y nódulos linfoides se van haciendo progresivamente más atróficos y las funciones del sistema hematopoyético se ven alteradas, siendo la principal causa de la linfocitopenia y la leucocitopenia, de tal manera que los conejos infectados son incapaces de desarrollar una respuesta inmune contra el virus. La actividad de los macrófagos, que son las células responsables de contactar con los antígenos y presentarlos a las células T-helper, se ve reducida, sugiriendo que el virus de la VHD interfiere de alguna manera reduciendo la fagocitosis de estas células. Por este motivo, cuando existe un bajo nivel de anticuerpos circulantes originados durante los primeros estados postvacunales, la interacción entre estos anticuerpos y los receptores propios de los macrófagos pueden reforzar la actividad fagocítica de los macrófagos, potenciando la respuesta inmunitaria (Huang 1991).

También se ha sugerido la importancia del interferón en el desarrollo de la enfermedad, ya que en conejos vacunados o recuperados de la VHD se han encontrado tasas muy elevadas de esta sustancia hacia el día 18 postinfección, mientras que en animales muertos por la enfermedad, las tasas encontradas han sido muy bajas. Parece

pues, que la respuesta individual de los animales frente a la infección viene determinada por la capacidad de producir interferón, ya que se ha observado una relación directa entre la rapidez en la aparición de interferón y la recuperación de los animales (Huang 1991).

2.4.6-Cuadro clínico

Durante el transcurso de una epizootía, la enfermedad se puede presentar bajo diferentes formas (Xu y Chen 1989):

Forma Peraguda:

Se suele observar cuando la enfermedad incide por primera vez en la población (Xu, Z.J. y cols. 1985). Los conejos infectados suelen morir súbitamente, sin que se pueda observar ninguna anormalidad clínica precedente (Liu y cols 1984). Ocasionalmente, se observa una descarga espumosa de carácter hemorrágico por las narices o vagina (Xu, Z.J. y cols. 1985).

Forma aguda:

Esta forma de la enfermedad predomina en áreas donde se ha hecho epidémica (Xu, Z.J. y cols. 1985), durando entre 12 y 36 horas el curso de la enfermedad (Chen 1986). Los animales afectados normalmente muestran depresión, apatía y anorexia. La temperatura corporal es a menudo elevada al comienzo de la enfermedad, para después descender por debajo de los valores normales en los estadios terminales (Xu y Chen 1988). Muchos animales presentan aumento de la frecuencia respiratoria y cianosis, constipación o diarrea con hematuria (Chen 1986). En el momento de la muerte, algunos animales presentan convulsiones y/o trastornos nerviosos, e incluso pueden gritar antes de morir (Chen 1986). Aproximadamente en el 10-20% de los conejos muertos tiene lugar una descarga espumoso-sanguinolenta por las fosas nasales (Rosell y cols. 1989; Xu, Z.J. y cols 1985)

Forma subclínica:

Esta forma se encuentra frecuentemente en los últimos estados de una epizootía (Xu, Z.J. y cols. 1985; Xu y Chen 1988). Los conejos exhiben depresión, anorexia y fiebre. Los síntomas clínicos duran dos o tres días y los animales, normalmente, sobreviven (Xu y Chen 1988; Cancellotti y Renzi 1991).

Otros autores han descrito formas crónicas de la enfermedad (Xu y Cheng 1989; Cancellotti y Renzi 1991; Muguruza y cols. 1993; Simon y cols. 1993) en la que los animales mueren tras varias semanas de enfermedad.

2.4.6.1-Lesiones macroscópicas

Macroscópicamente, las alteraciones visibles son muy variables de un caso clínico a otro, si bien las más fácilmente detectables afectan sobre todo a pulmones y tráquea y en menor medida al hígado.

La tráquea suele presentar congestión y hemorragias y en ocasiones un contenido espumoso sanguinolento (Argüello y cols. 1988; Pagés 1989; Rosell y cols. 1989; Tesouro-Vallejo cols. 1990; Marcato y cols. 1991; Lenghaus 1993). Los pulmones presentan un grado de congestión variable, acompañado de edema y hemorragias, también de intensidad variable (petequias, equimosis y subfusiones), incluso con zonas de clara hepatización (Argüello y cols 1988; Rosell y cols. 1989; Tesouro-Vallejo y cols. 1990; Marcato y cols. 1991; Lenghaus 1993).

El hígado, en las formas sobreagudas, suele aparecer aumentado de tamaño, congestivo, y de color más oscuro con el dibujo lobulillar muy marcado (Argüello y cols. 1988; Pagés 1989; Tesouro-Vallejo y cols. 1990), mientras que en las formas agudas está hipertrofiado y de un color pálido-amarillento con una consistencia friable (Tesouro-Vallejo y cols 1990; Lenghaus 1993).

Respecto a otros órganos, el bazo puede estar o no aumentando de tamaño y congestivo (Argüello y cols. 1988; Pagés 1989; Rosell y cols. 1989; Tesouro-Vallejo y cols. 1990; Marcato y cols. 1991; Lenghaus 1993). Los riñones pueden aparecer congestivos y aumentados de tamaño, con hemorragias subcapsulares que van desde las equimosis hasta las subfusiones, su consistencia puede ser blanda con el borde renal fruncido y deformado, y tanto la zona medular como la cortical pueden aparecer congestivas y hemorrágicas (Argüello y cols. 1988; Rosell y cols. 1989). También se han observado petequias y congestión en timo, músculo cardíaco, cuerpo del estómago, intestino delgado y grueso, mucosas y cerebro (Argüello y cols. 1988; Rosell y cols. 1989; Marcato y cols. 1991).

En general, si el síndrome hemorrágico es severo, se observa congestión generalizada de toda la canal, con dilatación de los vasos sanguíneos repletos de sangre no coagulada en su interior, e incluso se puede observar ascitis e hidrotórax serohemorrágicos. Sin embargo, cuando la severidad del síndrome hemorrágico es mínima, únicamente se observan animales sin lesiones aparentes, salvo una ligera alteración hepática (Rosell y cols. 1989; Lenghaus 1993).

2.4.6.2-Lesiones microscópicas

El hígado es el órgano más severamente afectado, mostrando hemorragias intralobulares y un cierto anisomorfismo de los hepatocitos. La lesión más evidente es una necrosis multifocal, la cual, tal y como su nombre indica, se observa en focis diseminados por todo el parénquima, afectando a uno o varios hepatocitos que muestran lisis citoplasmática o una reducción acidófila del tamaño celular. Estos foci pueden confluir y formar áreas locales de necrosis, con especial incidencia en la periferia de los lóbulos. En el interior de esos foci necróticos se observan lisis celulares, degeneración hidrópica del citoplasma, esteatosis microvascular, pigmentos biliares e incluso deposición de pigmentos férricos. Ocasionalmente algunos hepatocitos pueden mostrar megalocitosis, binucleación y calcificación distrófica granular. También se observa un infiltrado de células inflamatorias, principalmente linfocitos en los espacios portales o sinusoidales. Las lesiones traqueales y pulmonares son principalmente hiperemia y edema, frecuentemente asociados a hemorragias y a la existencia de microtrombos en los capilares alveolares. Respecto a otros órganos y tejidos es de destacar la cariorrexis del tejido linfoide (bazo, timo, nódulos linfoides) que conduce a su deplección y linfopenia, y la aparición de microtrombosis, especialmente en los glomérulos capilares (Marcato y cols. 1991).

En otros trabajos (Marcato y cols. 1988; Marcato y cols 1989), se ha citado encefalomiелitis no supurativa (con ocasionales inclusiones acidófilas en el citoplasma de las neuronas y células gliales de la médula espinal y encéfalo), gastritis, necrosis adrenocortical, congestión y hemorragia endometrial, degeneración de los acinis e islotes pancreáticos, necrosis focal de la vesícula biliar y exudado de células inflamatorias llenando las vías respiratorias y los alvéolos.

Las lesiones ultraestructurales suelen consistir en lesiones degenerativas y necróticas en hepatocitos, con acumulación de lipofucsina y cuerpos mielínicos, deplección del glicógeno, fragmentación de las membranas citoplasmáticas, dilatación vesicular y degranulación del retículo endoplásmico, aparición de grandes vacuolas llenas de un material granular osmofílico y alteraciones mitocondriales y nucleares (aparición de cuerpos anulares, aumento de la deposición de gránulos intercromatínicos, picnosis y rotura de membrana) (Marcato y cols 1991).

2.4.7-Epidemiología

Es en este aspecto donde se observan las mayores diferencias en el nivel de conocimientos sobre la VHD entre poblaciones de conejos domésticos y silvestres, con reducidas referencias a estos últimos. Por este motivo y siempre que ha sido posible, en cada uno de los apartados hemos preferido tratar por separado los datos referidos a cada población.

2.4.7.1-Especies sensibles

La enfermedad parece afectar únicamente a conejos (Xu 1991), puesto que la infección experimental a ratón blanco, cobayo, pollo SPF de 21 días, hámster, chinchillas, lechones privados de calostro y *Sylvilagus floridanus* no ha dado resultados (Pagés 1989; Smid y cols 1991; Ronsholt y cols. 1991; Gregg y cols 1991; tampoco la inoculación experimental de mil veces la dosis letal LD₅₀ para conejos en caballo, vaca, oveja, ciervo, cabra, cerdo, perro, gato, gallina e incluso hurón, rata y zorro, además de numerosas especies autóctonas australianas, incluyendo aves y reptiles (Gould y cols. 1997).

Quizá sea entre conejo y liebre (*Lepus europaeus*) donde más resultados inciertos se hayan obtenido, puesto que, como ya se ha comentado, algunos autores afirman haber conseguido la transmisión cruzada entre liebres y conejos, reproduciendo una enfermedad similar a la VHD en conejos inyectados con suspensiones orgánicas procedentes de liebres muertas por EBHS (Morisse y cols. 1991), o bien reproduciendo la EBHS en liebres a partir del agente etiológico de la VHD aislado en conejos (Di Modugno y Nasti 1990), si bien estos últimos autores fracasaron en el intento, en posteriores trabajos, de reproducir la VHD a partir del agente etiológico de la EBHS. Esto mismo fue observado por Nauwynck y cols. (1993), quienes fracasaron al intentar infectar conejos con el virus de la EBHS, obteniendo únicamente una discreta respuesta inmunitaria que no fue suficiente para protegerles de la posterior inoculación de virus VHD. Otros trabajos también han fracasado en el intento de producir enfermedad en liebres (*Lepus europaeus*) mediante la inoculación del virus de la VHD o viceversa (Lenghaus com. pers.; Smid y cols. 1991; Lavazza y cols. 1996).

2.4.7.2-Fuentes de infección y vías de transmisión

La transmisión del virus es horizontal, por contacto directo o indirecto, y a través de todas las rutas (Xu 1991), ya que experimentalmente se ha comprobado que la infección de un animal es posible por las vías oral, intranasal, intramuscular e intravenosa (Capucci y cols. 1991; Guelfi y cols. 1993); sin embargo, en la realidad la principal vía de infección

parece ser la oral, seguida de la conjuntival y respiratoria, y por último la traumática en piel (Xu y Chen 1989). La morbilidad es similar en todas las vías, aunque la mortalidad parece superior entre los animales infectados por vía oral (Xie y cols. 1986).

En general se cree que una vez el virus ha penetrado en la población cunicola de una granja, la principal vía de transmisión entre los animales es el contacto directo (Morisse 1989; Pagés 1989; Rosell y cols. 1989; Xu y Chen 1989), si bien la vía oral-fecal puede ser importante debido a la contaminación de utensilios, vehículos, agua, etc, con los excrementos de los conejos (Xu y Chen 1989), ya que al tener lugar en el hígado la primera replicación viral, los virus pueden alcanzar fácilmente la luz intestinal vía biliar y ser eliminados con las heces, si bien en algunos trabajos se pone en duda la presencia de partículas víricas viables en heces y orina (Collins y cols. 1996).

También se ha sugerido el papel del aire como difusor de las partículas víricas, ya que conejos mantenidos en convivencia de zona pero no de jaula con conejos infectados, han reproducido la enfermedad a los 6-7 días (Argüello y cols. 1988). Sin embargo, algunos investigadores estiman que la infección por VHD no parece propagarse entre conejos a través del aire más allá de los 50cm. (Lenghaus com. per.). Datos comparativos de liebres en Italia muestran que mientras existe una elevada prevalencia de anticuerpos frente a EBHS tanto en las liebres salvajes como en algunas granjas de liebres, en otras no se ha registrado todavía la enfermedad, sugiriendo que el virus puede ver limitada su extensión allí donde el contacto directo entre animales parece bajo (Cooke 1994).

Respecto a la transmisión del virus a grandes distancias, se ha dado bastante importancia a la intervención humana mediante el transporte de animales y sus productos, o la propagación del virus a través de las propias personas o sus vehículos (Rodak y cols. 1991; Villafuerte y cols. 1994; Chasey y cols. 1995). Por el contrario, otros autores admiten con mayores probabilidades el papel del viento como primer agente diseminador del virus (Rosell y cols. 1989; Chasey 1995) o incluso la acción de aves silvestres, al igual que ocurrió en su día con la mixomatosis en la isla de Gotland (Chasey 1995).

Tampoco se ha descartado la posibilidad de que sean artrópodos chupadores los que transmitan la infección a largas distancias (Morisse 1989); de hecho, se han podido aislar partículas víricas en pulgas y mosquitos que previamente habían picado a conejos infectados (Gould y cols. 1997). También se ha comprobado laboratorialmente que algunas especies de pulgas (*Spilopsyllus cuniculi* y *Xenopsylla cunicularis*) y de mosquitos (*Culex annulirostris*), son capaces de transmitir la VHD a conejos domésticos, siempre y cuando la transmisión ocurra inmediatamente, ya que pulgas infectadas y mantenidas a temperatura ambiente (23°C) no fueron capaces de transmitir el virus después de 4 días, y

sólo en una de tres ocasiones, pulgas contaminadas y mantenidas a 4°C durante 4 semanas sí que fueron capaces de transmitir el virus (Lenghaus 1993).

Otra posibilidad a tener en cuenta es el papel que puedan jugar en la diseminación del virus otras especies de hospedadores no susceptibles que portasen el virus de forma pasiva (Mitro y Krauss 1993). En este sentido, se ha apuntado la posibilidad de que los predadores o carroñeros puedan actuar como reservorios después de comer carne infectada. Así, se ha demostrado que las heces de perros alimentados con hígados de conejos infectados por VHD son vehiculadoras del virus (Simón y cols. 1994) gracias a su resistencia de este ante pH bajos y a la acción de las enzimas proteolíticas. Por lo tanto, aunque se ha demostrado que los zorros no son susceptibles a la infección por el virus (Leighton y cols. 1995; Simon y cols. 1994) puede que hayan desarrollado un importante papel en la diseminación del virus durante las primeras epizootías. Una experiencia similar con una especie totalmente ajena al entorno de *Oryctolagus cuniculus* la realizaron Gregg y cols. (1991). Estos autores infectaron por vía oral a un ejemplar de *Sylvilagus floridanus*, el cual no sufrió enfermedad, sin embargo un *Oryctolagus cuniculus* puesto una semana después junto a este murió por VHD, posiblemente debido a que el *Sylvilagus floridanus* eliminó el virus activo a través de las heces.

En cualquier caso, las principales fuentes de infección parecen ser los conejos enfermos o infectados de forma subclínica (Xy y Chen 1989), como se ha demostrado que puede ocurrir con gazapos lactantes de menos de 20 días de edad, los cuales pueden vehicular el virus a sus madres adoptivas (Rosell y cols. 1989). Los animales enfermos pueden eliminar el virus en forma de aerosol a través de las vías respiratorias, por la saliva y por las heces (Cooke 1994), pero en muchos casos, los conejos mueren tan rápidamente que hay pocas posibilidades de que el virus pueda ser eliminado con las mismas. La orina también puede ser una vía de eliminación de virus si los riñones se ven afectados por el virus. En cualquier caso, aquellos animales que mueren 3 ó 4 días después de la infección, pueden tener más oportunidades de diseminar el virus que aquellos que mueren más rápidamente. Además, como la dosis mortal necesaria es mínima (Lenghaus 1993; Muguruza y cols. 1993), es posible que entre los conejos silvestres el frecuente acicalamiento del pelo y el marcaje oloroso mediante heces y orina que utilizan estos animales en su comportamiento social y territorial tenga un importante papel en la diseminación del virus (Cooke 1994).

Sobre la persistencia del virus en el medio hay muy pocos datos, a pesar de que es un tema crucial en la epidemiología de la VHD. Quizás algunas especies de artrópodos chupadores puedan actuar como reservorios, tal y como se ha comentado anteriormente (Lenghaus 1993). Algunos autores, en base a la dinámica de la enfermedad entre los

conejos silvestres, sugieren que son los propios conejos los reservorios del virus (Leon y Cooke no publicado) y que éste se encuentra ampliamente distribuido entre las poblaciones. Cancellotti y Renzi (1991) sugieren también la existencia de conejos portadores del virus, los cuales son los responsables de que existan animales con anticuerpos en granjas donde nunca ha existido la enfermedad, mientras que más recientemente, Simon y cols. (1998) en un estudio sobre diferentes poblaciones de conejo silvestre encuentran que el 1,6% de los conejos capturados y analizados en laboratorio presentan simultáneamente anticuerpos y virus VHD en sus órganos, especialmente entre conejos subadultos.

También se considera que la supervivencia del virus en la superficie durante el verano es imposible debido a la desecación, las elevadas temperaturas y la radiación UV, aunque es posible que el virus pueda persistir en el interior de las madrigueras de los conejos. Datos comparativos sobre la extensión de la EBHS sugieren que este virus es más abundante en países fríos. En áreas de clima más cálido como nuestro país, el virus se detectaría mucho más infrecuentemente, al contrario que el de la VHD, el cual tendría asegurada la supervivencia en climas más extremos en el interior de las madrigueras. Sin embargo esta hipótesis no parece del todo válida, puesto que la especie de liebre europea (*Lepus europaeus*) cuenta con una distribución restringida en la Península Ibérica, siendo mucho más abundante otras especies como *Lepus capensis*, por lo que la distribución de la EBHS podría estar influenciada en realidad por la diferente susceptibilidad al virus de cada una de las especies de liebres, más que por la propia climatología. Por otro lado, si el virus de la VHD estuviera permanentemente en el medio, cabría esperar que no existiesen variaciones tan marcadas en la incidencia de la enfermedad, y que el virus afectase a los conejos sensibles conforme fuesen reclutados por la población (Cooke 1994).

2.4.7.3-Factores dependientes del hospedador

2.4.7.3.1-Edad

La mortalidad causada por la VHD está altamente correlacionada con la edad del hospedador, ya que mientras entre los animales adultos suele cursar con mortalidades próximas al 100%, los conejos con pocos días o semanas de edad son prácticamente inmunes, ocurriendo la mayoría de las mortalidades entre aquellos animales mayores de 3 meses (Morisse y cols. 1991; Smid y cols. 1991; Xu 1991). Lenghaus (1993) observó como ninguno de los 100 conejos adultos infectados, tanto inoculados como por contacto directo, sobrevivieron a la enfermedad, mientras que dos de los 17 conejos entre 7-9 semanas de edad sobrevivieron junto a cuatro de nueve animales de 5 semanas de vida. El

grupo de mayor supervivencia fue el compuesto por gazapos de 4-10 días de edad en el que sobrevivieron los 23 animales infectados, a pesar de que desarrollaron lesiones histológicas y excretaron suficientes virus para matar por contacto a conejos adultos. Similares resultados obtuvieron Argüello y cols. (1988) en donde la VHD no causó mortalidad entre animales con edades inferiores a 28 días. Sin embargo, se han citado casos de conejos domésticos de 25 días muertos por VHD que a juicio de los autores pueden ser consecuencia de la persistencia del virus en la explotación o a un cambio en la virulencia del agente, tal y como ocurre con la mixomatosis atípica, en la cual, cuando el proceso cobra virulencia se ven afectados también los gazapos lactantes a pesar de ser una clase de edad poco susceptible a la infección (Rosell y cols. 1989).

En un principio, algunos autores sugirieron que la menor mortalidad acaecida entre los animales más jóvenes se debía a las diferencias existentes en la función hepática entre éstos y los conejos adultos, lo que hacía a los hepatocitos menos sensibles a la infección por el virus (Morisse y cols. 1991). Sin embargo, una vez que se ha sabido que la infección tiene lugar incluso en los animales más jóvenes, y el hecho de que en estos animales no es frecuente el desarrollo de la masiva coagulación de la sangre (CID), es posible que la infección curse de manera menos grave debido a la inmadurez de su sistema inmunológico, por lo que una elevada proporción de jóvenes pueden sobrevivir y ser inmunizados entre los 20 y los 45 días de edad, tiempo en el que pueden sobrevivir sin la ayuda de su madre (Lenghaus 1993). Por otro lado, Gould y cols. (1997) encontraron mediante técnicas PCR una sensible reducción en los niveles de virus circulante en conejos con menos de 8 semanas de vida respecto a animales de mayor edad, sugiriendo la posibilidad de que estos animales se conviertan posteriormente en adultos inmunes a la enfermedad.

2.4.7.3.2-Sexo

En lo referente al sexo, Liu y cols. (1984) no encontraron diferencias de susceptibilidad entre machos y hembras en animales domésticos; sin embargo, Rosell y cols. (1989) observaron una mortalidad del 90% en hembras frente a un 70% en los machos, ya que al inicio de los brotes de la enfermedad se vieron más afectadas las hembras recién paridas, en especial dentro de la primera quincena post-parto. Similares resultados obtuvieron Villafuerte y cols. (1994) durante la primera epizootia de VHD en conejos silvestres, con una mortalidad del 60% en hembras frente al 51% en machos, sugiriendo un mayor contacto social, una utilización más frecuente de las madrigueras o un estado de inmunosupresión por la gestación como posibles factores predisponentes para aquellas, aunque en ninguno de los dos trabajos la diferencia fue estadísticamente

significativa. Simon y cols. (1998) no encuentran diferencias en la prevalencia de infección entre ambos sexos, si bien la prevalencia de anticuerpos es superior en las hembras.

2.4.7.3.3-Inmunidad adquirida

Otro factor que determina la supervivencia de los conejos es su nivel de anticuerpos frente a VHD. En animales juveniles los anticuerpos maternos desaparecen rápidamente, ya que las crías de madres inmunes son resistentes a la infección por inoculación o contacto directo entre las 6, 8 y 10 semanas de edad, sin embargo sucumben a la enfermedad si contactan con el virus entre las 12 y 15 semanas. Estos supervivientes procedentes de padres inmunes son capaces de desarrollar una inmunidad plena y estable a elevados títulos (Lenghaus com. per.).

En adultos, los animales que han sobrevivido a la enfermedad mantienen unos niveles protectivos de anticuerpos al menos durante los siguientes 12-18 meses. También se han encontrado anticuerpos en animales ubicados en granjas o áreas donde nunca ha sido detectada la enfermedad ni donde se han practicado campañas de vacunación (Chasey 1995; Dugast 1995). La prevalencia de estos anticuerpos en áreas indemnes es relativamente elevada, ya que en Checoslovaquia Rodak y cols. (1990) encontraron mediante técnicas ELISA una seroprevalencia del 19,4%, similar al hallazgo de Pu y cols. (1985) en China con un 17,4% e inferiores al 39% estimado por Smid y cols. (1991). Más significativo es la existencia de sueros procedentes de conejos de laboratorio y conservados desde 1973-83 (Smid y cols. 1991) o 1975-87 (Rodak y cols. 1991) que son positivos a VHD, incluso con prevalencias del 76,2% (Rodak y cols. 1991) 12 años antes de que tuviese lugar la primera epizootia de esta enfermedad. Estos anticuerpos se han demostrado efectivos en la protección de los conejos frente a la infección del virus, con tasas de mortalidad del 4,3%, 22,2% y 97,2% en tres lotes de conejos con alto, medio y bajo nivel de anticuerpos (Rodak y cols. 1990).

Tal y como ya se ha comentado, la existencia de estos anticuerpos probablemente es debida a la infección previa de una cepa avirulenta del mismo virus (Rodak y cols. 1990; Smid y cols. 1991; Dugast 1995), lo que Capucci y cols. han denominado calicivirus del conejo (RCV). Este hallazgo cobra su máxima importancia en la epidemiología de la VHD en conejos silvestres en Gran Bretaña, ya que en áreas en las cuales no se había detectado todavía la presencia de la enfermedad, Chasey y cols. (1997) encontraron una proporción de seropositivos frente a VHD entre los conejos adultos muy elevada (22 animales de un total de 27), los cuales sobrevivieron en su totalidad a la inoculación experimental del virus, lo que explicaría la baja incidencia producida por la VHD entre las poblaciones silvestres de aquel país.

También han sido halladas en Francia poblaciones de conejos silvestres en las que no se ha constatado la mortalidad por VHD y que sin embargo han presentado niveles de

prevalencia de anticuerpos muy elevados, lo que sugiere la intervención del virus apatógeno RCV en competencia con el de la VHD, disminuyendo su impacto (Dugast 1995; Marchandeu y cols. 1998).

2.4.7.3.4-Resistencia genética

Parecen existir diferencias genéticas en la sensibilidad a la infección por VHD, ya que Argüello y cols. (1988) observaron en animales adultos una mortalidad superior entre animales rústicos que entre las razas industriales más seleccionadas, mientras que Lenghaus (com. per.) ha encontrado variedades de conejos de Chinchilla que son más resistentes a la enfermedad, sin que en ello medie la existencia o no de anticuerpos previos. Autores como Chasey y cols (1997) estiman la mortalidad por VHD en inoculaciones experimentales a conejos domésticos de raza Neozelandesa entre el 90% y el 75%, a diferencia de las elevadas mortalidades encontradas en otros trabajos.

2.4.7.4-Factores dependientes del entorno

Son numerosas las referencias que describen una fuerte estacionalidad en la incidencia de la VHD, tanto en conejos domésticos como en silvestres. Ya en 1985, Xu, Z.J. y cols. (1985) observaron que las epizootias de VHD en conejos domésticos usualmente comenzaban en el mes de noviembre y se prolongaban hasta marzo del siguiente año. Mitro y Krauss (1993) también encontraron que la mayoría de los casos de VHD ocurridos entre 1988-89 se concentraban entre los meses de octubre y febrero. De manera similar, Lavazza y cols. (1990) detectaron una mayor incidencia en invierno. Fuller y cols. (1993) describieron las primeras epizootias ocurridas en Gran Bretaña en los meses de marzo y abril de 1992, y Chasey (1995) en junio de 1993. En general parece, pues, aceptado que la mayoría de los casos de VHD tienen lugar durante los meses fríos (Xu y Chen 1989) aunque la enfermedad pueda incidir durante todo el año (Xu 1991).

Algunos autores relacionan esta estacionalidad con la dificultad que tiene el virus para sobrevivir en el medio con las elevadas temperaturas propias del verano y otoño (Xu, Z.J. y cols. 1985; Xu y Chen 1989). Otros sugieren que es debido a la estacionalidad de la cría, ya que, durante la primera mitad del año la población cunícola de una granja consiste en un elevado porcentaje de animales menores de dos meses (resistentes a la VHD) y animales adultos vacunados, mientras que en la segunda mitad del año la población está compuesta principalmente por animales mayores de dos meses sin vacunar, por lo que en esta situación la mortalidad por VHD puede llegar a ser elevada (Rodak y cols. 1991).

Una tercera hipótesis tenida en cuenta en Australia es la posible intervención de artrópodos vectores, los cuales presentan los mayores índices de actividad en condiciones climáticas atemperadas, como es el otoño y la primavera (Cooke 1996).

Entre las poblaciones de conejos silvestres de España, Leon y Cooke (no publicado) describieron la primera epizootia de VHD en Sucina (Murcia) en el mes de diciembre, y en mayo de 1990. También en Bullas (Murcia) la primera epizootia fue detectada a finales de primavera, y en Lorca en abril. Sin embargo en Alquian (Almería) se detectó entre los meses de junio-julio. Peiro y Seva (1991) denuncian que desde 1989 las epizootias de VHD en el sudeste español suelen estar muy localizadas hacia el final del invierno en 1990 (febrero-marzo) y primavera (abril-mayo) en 1991. De igual modo, la primera epizootia detectada a 12 Km del Parque Nacional de Doñana fue en el mes de enero, afectando al mismo parque entre los meses de abril y mayo de ese mismo año (Villafuerte y cols. 1994), desde entonces la incidencia de la enfermedad cursa anualmente a finales de invierno o en la primavera (Villafuerte com. per.). Más recientemente, la primera epizootia detectada en el continente Australiano comenzó en el mes de octubre de 1995, en plena primavera austral (Linton, com. per.).

Es interesante observar que también se observa una fuerte estacionalidad en la incidencia de la EBHS en liebres, ya que Gavier-Widen y Mörner (1991) estiman que casi todas las mortalidades de liebres causadas por esta enfermedad en Suecia y Dinamarca, tienen lugar entre los meses de octubre, noviembre y diciembre, y en menor medida en enero, febrero y septiembre, siendo muy rara su aparición el resto del año. En otros trabajos sugieren que esta estacionalidad puede ser debida, además de la variación en las temperaturas, a la mayor densidad de las poblaciones de liebre durante esa época del año y al hecho de que el mayor número de cazadores que salen al campo en esas fechas incrementaría el número de liebres encontradas muertas (Gavier-Widen y Mörner 1993). Esta coincidencia en la estacionalidad de ambas enfermedades puede ser la razón por la que algunos autores (Cancellotti y Renzi 1991) hayan observado simultáneamente la incidencia de VHD en conejos domésticos y la EBHS en liebres silvestres, y no al hecho de que fuera un mismo agente etiológico.

Otros factores predisponentes, como problemas sanitarios (parasitismo) y de manejo (estrés) pueden ser los responsables de la permanencia de la VHD en una granja (Pagés 1989; Rosell y cols. 1989; Mitro y Krauss 1993) prolongando el número de pérdidas en el tiempo. Brotes de VHD en granjas se han asociado a cambios bruscos de temperatura así como a una baja en la alimentación debido a un cambio de pienso (Rosell y cols. 1989). En un trabajo realizado en Suecia sobre 2818 liebres, los 260 ejemplares muertos por EBHS mostraron un peso significativamente menor que los animales muertos

por otras causas, sugiriendo que los animales estresados por deficiencias nutricionales, pesticidas o enfermedades crónicas pueden ser más susceptibles a la infección (Gavier-Widen y Mörner 1993).

2.4.7.5-Dinámica de la enfermedad

En conejos domésticos, la dispersión de la enfermedad no siguió un patrón de focos contiguos sino en mosaico, apareciendo en lugares no conexiónados y dejando en medio zonas indemnes (Morisse 1989; Rodak y cols. 1991). Esto fue especialmente manifiesto en los primeros y aislados brotes detectados en Gran Bretaña durante los años 1992 y 1993, en donde, aparentemente, no existió un origen común y además no se registró la propagación de la enfermedad a partir de los mismos, quedando restringida la VHD a los focos primarios iniciales (Fuller y cols. 1993; Chasey 1995). En todos los países, las mayores mortalidades se detectaron en las explotaciones tradicionales familiares o minifundistas, posiblemente debido a la alimentación de los conejos con forraje verde y subproductos de hortalizas recogidos directamente del campo y sin tratamiento previo (Loliger y Eskens 1991; Morisse y cols. 1991), o por sus problemas sanitarios y de manejo crónicos (Pagés 1989). También se ha sugerido que la protección de las grandes explotaciones para evitar la entrada de artrópodos vectores sea la causa de que en éstas la incidencia de la VHD fuese menor (Morisse 1989).

Las epizootias de VHD entre los animales domésticos suelen tener su punto álgido 2-3 días después de la introducción del virus, y su duración oscila entre 7 y 13 días (Morisse 1989; Xu y Chen 1989; Fuller y cols. 1993), aunque también se han observado períodos de mortalidad de 42 días (Rosell y cols. 1989) e incluso de varios meses en algunos casos en que la presentación de la enfermedad cursó en forma peraguda en los primeros días para después aparecer los primeros casos de evolución crónica (Cancellotti y Renzi 1991). De manera similar, las tasas de mortalidad han sido muy variables, oscilando entre el 15 y el 71% en Gran Bretaña (Fuller y cols. 1993), el 5% y el 90% en Alemania (Loliger y Eskens 1991) o el 80% en adultos en Francia (Morisse 1989). Aunque la tasa de mortalidad más frecuente entre aquellos animales que son infectados por el virus es próxima al 100%, el número de bajas acaecidas en las explotaciones depende estrechamente de la tasa de morbilidad, la cual puede oscilar entre un 30% y un 80% dependiendo del tipo de alojamiento de los animales; a mayor agrupamiento de los animales, mayor tasa de contacto entre animales enfermos y sanos y por tanto mayor número de bajas (Mitro y Krauss 1993).

En conejos silvestres, de nuevo, se observan patrones similares en la diseminación de la enfermedad, pues si bien hay autores que describen la propagación de la enfermedad a partir de un foco más o menos próximo (Villafuerte y cols. 1994), en otros casos se observa también la aparición en mosaico entre áreas próximas, quedando algunas de ellas indemnes (Leon y Cooke no publicado). La velocidad estimada de propagación de la enfermedad entre las poblaciones silvestres ha sido muy variable. Leon y Cooke (no publicado) calcularon una velocidad máxima próxima a los 15-22 Km/mes, relativamente elevada en su opinión, y que podría deberse a las grandes áreas de campeo que tienen los conejos silvestres en las zonas áridas. Por otro lado, la velocidad de propagación de la VHD fue estimada por Villafuerte y cols. (1994) próxima a 4 Km/mes y de 2 Km/mes en el interior de la reserva del parque, donde el movimiento de personas es restringido. Más extrema todavía es la dispersión del virus en el continente australiano, donde en cuestión de muy pocos días la enfermedad fue detectada en una superficie de más de 12.000 Km², con una velocidad media que osciló entre 5 y 18 kilómetros/día (Cooke 1996). En esta ocasión también se observó que la enfermedad se distribuía en forma de parches, con grandes zonas indemnes intermedias que posteriormente fueron infectadas con mayor lentitud (Linton, com. per.). Esta rápida propagación de la enfermedad sorprendió a los investigadores australianos ya que la propagación experimental de la VHD en la isla Wardang fue mucho más lenta e inefectiva (Cooke com. per.).

El descenso de las poblaciones silvestres causado por la primera epizootia fue estimado por Leon y Cooke (no publicado) en Murcia próximo al 80%, sugiriendo una morbilidad y una mortalidad ambas del 90% y una relación de recuperados/no infectados de 9/10. Peiró y Seva (1991) estimaron en, al menos, un 75% el descenso de las poblaciones en Alicante durante la primera epizootia en 1989; y Ceballos y cols (1990) en Navarra sobre el 70-80%, siendo Villafuerte y cols. (1994) el trabajo en el que se estimó la mortalidad más baja, con un 55% aproximadamente durante los 32 días que aparentemente duró la epizootia, si bien estos autores reconocen que la desaparición de cadáveres por parte de especies carroñeras pudieron encubrir nuevas mortalidades ocurridas posteriormente. Por otro lado, en Australia las poblaciones de las zonas afectadas sufrieron un descenso del 95% en cuatro semanas, estimándose que el 80% de los conejos supervivientes habían desarrollado anticuerpos frente a la VHD. En análisis posteriores se determinó que menos del 1% de los conejos mayores de 7 semanas habían sobrevivido frente al 5% o más de los conejos más jóvenes (Cooke com per.).

Para la dinámica de la enfermedad entre los conejos silvestres se ha sugerido la existencia de ciclos de dos años, ya que cuando la enfermedad incide por primera vez en una población de conejos tiene lugar una elevada mortalidad, sobreviviendo únicamente aquellos animales que no han contactado con el virus o aquellos que han sobrevivido a la

enfermedad. Si la epizootía tiene lugar cuando hay una elevada proporción de juveniles por debajo de los dos meses de edad, el número de animales supervivientes e inmunizados será superior que si la enfermedad incide cuando la mayoría de la población es de edad más avanzada, siendo menor la contribución de estos animales al contingente de reproductores del siguiente año. Con la reproducción de este contingente la población aumenta, al tiempo que disminuye la proporción de animales resistentes, tanto por el reclutamiento de nuevos animales como por el elevado renuevo de los animales adultos, propiciando el desencadenamiento de una nueva epizootía. Por lo tanto se puede suponer que la enfermedad no ocurre en fase en grandes áreas, sino como un mosaico de pequeñas epizootías como consecuencia de la yuxtaposición de diferentes poblaciones con un estado de inmunidad muy variado. (Morisse y cols. 1991; Cooke 1994; Leon y Cooke no publicado).

2.4.7.6-Evolución de la VHD en poblaciones silvestres

En cunicultura industrial, los efectos de la VHD sobre la población cunícola se han controlado fácilmente gracias a la aplicación de vacunas inactivadas; sin embargo, en las poblaciones silvestres la enfermedad ha seguido su curso natural, afectando en mayor o menor medida a sus efectivos poblacionales.

Inmediatamente después de ocurrir las primeras epizootías, algunos investigadores ya apuntaron la posibilidad de que en aquellas áreas en donde los conejos tuviesen mejores posibilidades de reproducción, las poblaciones se recuperarían más rápidamente que en aquellas áreas menos favorables, debido sobre todo al número de conejos jóvenes que pudieran quedar inmunizados durante una epizootía (Leon y Cooke no publicado). De hecho, mientras la población de conejos en el Parque Nacional de Doñana se encuentra actualmente a un tercio de su nivel original (Villafuerte com. per.), Blanco y Villafuerte (1994) en un estudio realizado mediante encuestas y trabajo de campo sobre el impacto de la VHD en las poblaciones de toda España, estimaron que, en términos generales y en el momento del estudio, las poblaciones se encontraban por debajo del 50% de los niveles previos a 1988, si bien detectaron notables diferencias entre áreas, ya que allí donde el hábitat reunió condiciones idóneas para los conejos y otros factores de mortalidad como la predación o la caza habían sido minimizados, las poblaciones se estaban recuperando más rápidamente que en aquellas áreas marginales en las que no se practicaba ningún manejo conservador. En estos casos, el descenso de las poblaciones se estimó alrededor del 70%.

En la actualidad, la mortalidad causada por la VHD entre las poblaciones silvestres parece haber disminuido, si bien este descenso no cabe esperar que sea debido tanto a una

disminución del poder patógeno como a un cambio en la epizootiología de la enfermedad (Cooke 1994). De hecho, considerando el patrón de la enfermedad, con epizootias en forma de mosaico y ocurriendo infrecuentemente entre las poblaciones, cabría esperar una baja tasa de evolución en la resistencia genética por parte de los conejos (Cooke 1994).

2.4.7.7-Interacción mixomatosis - VHD

Una de las cuestiones más frecuentemente planteadas por los investigadores que estudian los efectos de la VHD sobre las poblaciones silvestres, es acerca de la posible interacción entre esta enfermedad y la mixomatosis, así como su naturaleza. La importancia de esta cuestión radica en si el impacto de la mixomatosis, enfermedad más antigua entre los conejos silvestres, se ve potenciado o disminuido con la incidencia de la VHD. Lógicamente la interpretación de esta posible interacción variará dependiendo del fin perseguido: la recuperación de la especie en Europa o el control de la misma en Australia.

En un principio, y en base a lo observado en España, se consideró la interacción como de simple coexistencia, ya que mientras la VHD incide sobre todo en invierno-primavera, la mixomatosis lo hace principalmente en los meses de verano, por lo que la interacción debería ser bastante escasa (Cooke 1994). Otros autores como Lenghaus (1993) sugieren que, como la mixomatosis es el principal factor de mortalidad entre los juveniles, reducirá por tanto el número de conejos indemnes a VHD en esta clase de edad (Lenghaus 1993).

Sin embargo, recientes experiencias han abierto nuevos interrogantes sobre la posible interacción entre ambas enfermedades. Así, de una superinfección con VHD realizada a 6 conejos silvestres con signos clínicos de mixomatosis, sólo 2 murieron por esta enfermedad, muriendo el resto por la mixomatosis. De manera similar, conejos domésticos infectados con formas severas de mixomatosis (Standard Laboratory Strain) o intermedias (cepa Uriarra) murieron de mixomatosis o VHD cuando fueron superinfectados con VHD ocho días después de ser infectados con el virus de la mixomatosis. Por otro lado, dos de dos conejos de laboratorio infectados con una cepa moderadamente virulenta (cepa Gungahlin) y superinfectados con VHD, sobrevivieron y seroconvirtieron a VHD, siendo refractarios a posteriores infecciones por este virus, mientras que conejos domésticos infectados con VHD tres semanas después de haberse recuperado de las cepas Uriarra o Gungahlin murieron de VHD (Lenghaus com. per.)

En vista de los anteriores resultados se han formulado dos hipótesis: o bien la infección primaria con virus de la mixomatosis estimula de alguna manera el sistema inmune de los conejos permitiéndoles resistir la infección por VHD, o bien el efecto inmunosupresor de la mixomatosis previene una reacción inmune exagerada contra el virus de la VHD impidiendo la aparición del CID, y por tanto la muerte de los conejos.

2.4.8-Diagnóstico

Un diagnóstico provisional puede ser hecho en base a los hallazgos epizootiológicos, signos clínicos y lesiones macroscópicas, pero es importante diferenciar la VHD de otros procesos agudos como las pastereosis y enterotoxemias (Xu, Z.J. y cols. 1985; Liu y cols. 1984). Por este motivo, aunque algunos autores consideran que las lesiones microscópicas observadas en hígado, y a veces en bazo, podrían considerarse como patognomónicas de la VHD (Fuchs y Weissenböck 1992), en general se ha recomendado la utilización de otros métodos de diagnóstico más específicos como son la Hemoaglutinación (HA), ELISA y Microscopía Electrónica (ME) para la detección del antígeno y la Inhibición de la Hemoaglutinación (IH) y ELISA para la detección de anticuerpos (Capucci y cols. 1991).

No obstante, se advierte del riesgo de no poder detectar el antígeno serológicamente debido a la proteólisis que sufre la proteína VP60 de la envoltura externa, tanto en virus VHD como EBHS, ya que esta proteólisis tiene lugar en el mismo cadáver y aparentemente está relacionada con las alteraciones patológicas que tienen lugar en el hospedador, pudiendo conducir a errores en el diagnóstico de ambas enfermedades (Capucci y cols. 1991).

El test de la Hemoaglutinación (HA) fue el primer test laboratorial usado para el diagnóstico de la VHD, aprovechando las propiedades hemoaglutinantes del virus descritas por Liu y cols. (1984) con eritrocitos humanos de tipo O. El método fue descrito en detalle por Pu y cols. (1985) y ha sido y es el más frecuentemente utilizado en el diagnóstico de rutina por los investigadores chinos primero, y por los europeos después (Capucci y cols. 1991). El test de la HA se basa en la capacidad del virus de hemoaglutinar eritrocitos humanos tipo O con títulos que oscilan entre los 10×10^{10} y 10×10^{18} (Xu 1990); si se utilizan otro tipo de eritrocitos o de diferentes especies, la hemoaglutinación es menos evidente (Liu y cols. 1984; Pu y cols. 1985).

La capacidad hemoaglutinante de los extractos de órganos está relacionada con la cantidad de virus, y ésta con el contenido en sangre o vascularización del órgano en

cuestión (Xu 1990); por este motivo, los órganos con mayor poder hemoaglutinante suelen ser el hígado, bazo, pulmón, riñones e incluso el suero sanguíneo, seguidos por la tráquea y de una forma más moderada el corazón, cerebro y nódulos linfáticos mesentéricos (Pagés 1989; Xu y Chen 1989; Xu 1990). La actividad hemoaglutinante del virus permanece estable después de tratamientos con éter, cloroformo o calor a 50°C durante 60 minutos o 56°C durante 15 minutos. El almacenamiento de los órganos en refrigeración, incluso durante largos períodos, no reducen significativamente los títulos de HA; sin embargo, repetidos procesos de congelación y descongelación sí que pueden hacerlos disminuir o incluso desaparecer (Capucci y cols. 1991).

Aunque la HA ha sido y es ampliamente utilizada, su baja sensibilidad y especificidad, combinadas con la dificultad de su estandarización y la necesidad de un aporte constante de eritrocitos tipo O son sus principales inconvenientes. Además se ha comprobado que la HA en comparación a otras técnicas como la Inmuno Electromicroscopía o ELISA, produce un 8% de falsos positivos, posiblemente debido a la presencia de otros agentes hemoaglutinantes como pasterelas y parvovirus, y un 9% de falsos negativos de los cuales un 4% son debidos a una baja concentración de antígenos. El restante 5% presumiblemente es debido bien a la proteólisis parcial de la proteína VP60, la cual tiene lugar sobre todo en animales en los cuales la enfermedad cursa de forma subaguda o crónica (Capucci y cols. 1991; Capucci y cols. 1996), o bien a la aparición de formas degradadas de las partículas víricas producidas por una expresión defectuosa de su genoma, o a una delección de parte del mismo, fenómeno que tiene lugar con marcada intensidad en los casos en que la enfermedad es de curso crónico (Granzow y cols. 1996), dando lugar a partículas de menor tamaño y no hemoaglutinantes.

Posteriormente, las limitaciones de esta técnica han sido más evidentes al confirmarse la existencia de cepas patógenas de virus VHD no hemoaglutinantes, o que son hemoaglutinantes únicamente a temperaturas próximas a 4°C. (Capucci y cols. 1996; Kesy y cols. 1996). Por este motivo, se recomienda que para el diagnóstico de la enfermedad se analicen varios animales y a ser posible se utilicen otras técnicas simultáneamente como ELISA o ME (Chasey y cols. 1995).

De la técnica ELISA para la detección de antígenos se han puesto a punto varios tests, todos ellos basados en el método sandwich, que difieren básicamente en el sistema enzimático utilizado y en el tipo de agentes inmunológicos utilizados como reactivos. En todos los casos, un suero hiperinmune de conejo anti-VHD es directamente adsorbido a la fase sólida, mientras los trazadores elegidos varían (suero de hámster hiperinmune o IgG purificadas de conejo par evitar otras reacciones no específicas a VHD). La técnica de ELISA es una prueba con mayor sensibilidad y especificidad que la HA, ya que es capaz

de detectar el antígeno a pesar de la degradación proteolítica que lo hace indetectable a la HA, siendo capaz además, de diferenciar, mediante anticuerpos monoclonales, los agentes etiológicos de la VHD y la EBHS (Capucci y cols. 1991), así como de detectar las variantes no hemoaglutinantes.

La Microscopía Electrónica (ME) permite también el diagnóstico de la VHD mediante la visualización del agente etiológico, de morfología muy determinada, siendo encontrado normalmente en el citoplasma de los hepatocitos y en los neumocitos tipo I (Xu y cols. 1985).

Una variante de la técnica anterior es la Inmunolectromicroscopía (IME), descrita por Smid y cols. (1989). Este método emplea un suero de conejo hiperinmune, cuya reacción agrupa las partículas víricas y las hace más fácilmente visibles al microscopio electrónico. La IME es superior en sensibilidad y especificidad a la HA y muy similar a ELISA, siendo sus mayores inconvenientes la gran inversión de tiempo y el elevado coste de procesamiento de cada muestra (Capucci y cols. 1991).

Otras técnicas ensayadas para la detección del antígeno son el test de aglutinación en látex y la inmunolectromicroscopía en fase sólida (Marcato y cols. 1989), el test de coaglutinación de la proteína estafilocócica A (Peshev y cols. 1996), o la inmunoperoxidasa y técnicas de PCR (Gould y cols. 1997) utilizadas únicamente a nivel experimental.

Para la valoración del nivel de anticuerpos anti-VHD, la prueba de la Inhibición de la Hemoaglutinación (IHA) fue el primer test realizado (Pu y cols. 1985). Esta prueba, a pesar de la gran inversión de tiempo necesaria, lo que limita el número de muestras que pueden ser analizadas, sigue siendo la preferida por numerosos laboratorios por su relativa sencillez y asequibilidad de los reactivos utilizados (Capucci y cols. 1991). Sin embargo, la negatividad serológica a este test no parece ser concluyente de la susceptibilidad de los conejos a la VHD (Pagés 1990), por lo que en la actualidad se tiende al diagnóstico con técnicas ELISA.

La técnica ELISA para la detección del anticuerpos anti-VHD cuenta con varios protocolos que pueden ser subdivididos en dos grupos: ELISA con reacción por competición y ELISA de reacción indirecta. En términos de capacidad para revelar la mínima cantidad de anticuerpos específicos ambos protocolos son similares, sin embargo con respecto a la especificidad, el método de reacción indirecta es más susceptible a errores, ya que no es capaz de distinguir la presencia de diferentes serotipos, por lo que la reacción por competición es más deseable cuando la especificidad es primordial (Capucci

y cols, 1991). Las grandes ventajas del ELISA respecto a la IHA son su estandarización, rapidez, especificidad y sensibilidad, lo que hace que sea el test de elección.

2.4.9-Inmunoprofilaxis vacunal

Las medidas profilácticas (cuarentenas, limitación del movimiento de animales, desinfección periódica, etc.) y de manejo sanitario no son garantía suficiente para impedir la entrada de la VHD y su control en una granja. Por otro lado, la sueroterapia específica, aunque rápida en su acción de neutralizar un brote (24 horas), la duración de su protección es muy breve (20 días) (Pages 1989). Por ello, y gracias a la rapidez de la vacunación para controlar la enfermedad en una explotación en cuestión de 3-4 días (Argüello 1991) y al hecho de conferir protección durante bastante tiempo, ha suscitado que éste haya sido el método de elección en numerosos países para la erradicación de la enfermedad en las explotaciones cunícolas, a pesar de las iniciales reticencias que algunos países como Francia tuvieron en su utilización por los posibles fallos de inactivación, y a la inoculación con este tipo de vacunas, de multitud de otros antígenos desconocidos (Morisse 1989).

Investigadores chinos fueron los primeros en publicar datos sobre la producción y propiedades de una vacuna inactivada con formol al 0,4% y obtenida a partir de órganos de conejos infectados (Liu y cols 1984; Gu y cols. 1986; Du y cols. 1986). Posteriormente, varios tipos de vacunas fueron desarrolladas independientemente en varios países (Xu y cols. 1988; Pages 1989; Rodak y cols. 1991), consistiendo básicamente en homogeneizados de tejidos procedentes de conejos infectados, inactivados usando formalina o betapropiolactona, y adyuvantadas, en la totalidad de las vacunas comerciales, con hidróxido de aluminio o aceite mineral debido al aumento en la duración de la inmunidad.

La velocidad de respuesta a la vacunación para alcanzar niveles protectivos suele oscilar entre los 4 y 5 días postvacunación, sin que influyan en ello el tipo de adyuvante utilizado ni las sustancias inactivantes (Pages 1989; Argüello 1991; Smid y cols. 1991). Estas últimas tampoco influyen sobre la duración de la inmunidad inducida por la vacuna (Pages 1989); sin embargo, la duración inmunitaria es superior en las vacunas adyuvantadas con aceite mineral (Pages 1990; Huang 1991), estimada en al menos 12 meses (Pages 1990), que en las vacunas adyuvantadas con hidróxido de aluminio, en las cuales el nivel máximo de anticuerpos se suele mantener durante los primeros tres meses para, paulatinamente, alcanzar el umbral mínimo de protección entre los 7 y 8 meses, manteniéndose constante este nivel al menos hasta el mes decimosexto (Argüello 1991; Simon y cols. 1993).

Con cualquiera de las vacunas mencionadas, los animales superan sin problemas y sin mostrar signos clínicos el desafío con virus VHD a partir de los 4 y 5 días postvacunación y hasta el 9º y 15º mes postvacunación (Pages 1989; Argüello 1991),

aunque Simon y cols. (1993) han descrito el desarrollo de un cuadro clínico crónico y posterior muerte en dos conejos inoculados con virus VHD 7 meses después de la vacunación.

Este desafío postvacunal, bien por vía intramuscular (Pages 1989) o aerosol (Simón y cols. 1993) al igual que la revacunación, provoca un efecto de recuerdo con una rápida e intensa elevación de la tasa humoral de anticuerpos durante los 2-3 días postinoculación, para después, en un lapso de 3-4 semanas descender hasta los niveles normales inducidos por la primovacunación. Este efecto de recuerdo no se suele dar cuando los niveles de anticuerpos circulantes son muy elevados (a las pocas semanas de la vacunación), ya que al parecer la función adyuvante de inmunidad de los propios anticuerpos, consistente en la formación de agregados, no es factible cuando hay un exceso de anticuerpos, impidiendo realizar una más adecuada presentación del antígeno a los macrófagos, y mejorar el manejo del mismo en su conjunto, incrementando la respuesta inmunitaria (Argüello 1991). Con todo, esta reacción serológica de recuerdo, varios meses después de la revacunación (entre 7 y 8) no parece corresponder a una respuesta secundaria típica, dado el nivel de anticuerpos alcanzado, la precocidad de su aparición y la persistencia en el tiempo, sugiriendo la actuación de las células memoria (Argüello 1991).

La rapidez de las vacunas en otorgar inmunidad a los conejos hizo que en China la primera medida recomendada en una granja afectada por VHD fuese la vacunación de todos los animales vivos, incluidos los que presentaban signos de enfermedad, puesto que en ocasiones se ha observado la recuperación de los mismos. Al parecer, Huang (1991) observó que una elevada proporción de conejos infectados experimentalmente con VHD pudieron resistir la enfermedad si al cabo de las 18-24 horas postinfección les eran administradas dosis vacunales 3 y 4 veces superiores a las normales, si bien el tiempo de recuperación en estos casos fue más largo. Mientras, Argüello (1991) observó que animales infectados experimentalmente a los 3-4 días postvacunación mueren por VHD, si bien el curso de la enfermedad se prolonga en el tiempo durante seis-siete días postinoculación, especialmente en aquellos animales que presentaron un título de anticuerpos más elevado.

Esta elevada eficacia vacunal, inusual en este tipo de vacunas muertas, es asociada no solo con la respuesta inmunológica específica, sino con la capacidad de estimular la síntesis de interferón, ya que en animales vacunados se ha observado una elevada tasa del mismo, y esta sustancia administrada seis días antes de la inoculación del virus es capaz de evitar la muerte de la totalidad de los animales (Huang 1991). También se ha considerado la posibilidad de que el verdadero efecto de estas vacunas sea el estímulo de una respuesta inmunitaria, más que contra el propio virus, contra la superficie modificada de las células

que contienen el virus. Por este motivo, la respuesta frente a estos determinantes antigénicos, de fácil acceso al sistema inmunitario por encontrarse en la superficie celular, sería más precoz que la que pudiera producirse frente a un virus intracelular. En este caso la protección vacunal integraría, entre otros, los mecanismos citotóxicos que, destruyendo las células infectadas, conducirían a una replicación vírica abortiva (Argüello 1991).

No se han observado interferencias en la vacunación simultánea de conejos frente a VHD y otras enfermedades. De hecho, en China se han comercializado vacunas polivalentes como VHD/Pasterellosis, VHD/Clostridiosis y VHD/Bordetellosis, e incluso vacunas trivalentes como VHD/Pasterellosis/Clostridiosis, sin que ello influya en el poder inmunógeno de la vacuna de VHD (Huang 1991). De cara a la vacunación simultánea frente a VHD y mixomatosis en conejos silvestres, Pages (1990) tampoco observa interferencias entre la reacción frente a la vacuna de VHD y el virus vacunal de la mixomatosis.

Debido al tremendo impacto que la incidencia de esta enfermedad tiene entre las poblaciones de conejo silvestre, y debido a la inherente dificultad que estas presentan en su manejo, en la actualidad se está trabajando en una segunda generación de vacunas para cuya fabricación no es necesaria la infección de animales en laboratorio y cuya forma de administración no implicaría la captura de la totalidad de los animales a inmunizar. Así, se ha comprobado la capacidad inmunizante por vía oral, intramuscular o subcutánea de la proteína estructural VP60 del virus VHD expresada y clonada en sistemas de baculovirus (Laurent y cols. 1994; Plana-Duran y cols. 1996). De la misma manera, se han ensayado en laboratorio con notable éxito vacunas recombinantes con el virus Vaccinia y la proteína VP60, capaces de conferir inmunidad frente a VHD tanto por vía intradérmica como oral (Bertagnoli y cols. 1996b; Chantal y cols. 1997), si bien parecen ser las vacunas recombinantes de virus de la mixomatosis y proteína VP60 las que suscitan mayor interés, al producir una eficaz inmunización frente a mixomatosis y VHD simultáneamente cuando son inoculadas por vía intradérmica (Bertagnoli y cols. 1996a; Torres com. per.), ya que implican la posibilidad de vacunación frente a dos de las principales enfermedades que afectan al conejo silvestre, emulando el modelo epidemiológico de la propia mixomatosis en el que intervienen artrópodos vectores como pulgas y mosquitos.

MATERIAL Y METODOS

3-MATERIAL Y METODOS

3.1-Area de estudio

El presente trabajo se llevó a cabo en una población natural de conejos silvestres localizada en un monte de propiedad particular denominado Finca Arpal.

La finca Arpal (figura 1) se encuentra en el término municipal de Zaragoza, a unos 15 km al sureste de la ciudad de Zaragoza, y muy próxima a la localidad de Burgo de Ebro. Cuenta con una superficie total de 944 Ha, de las cuales 328 Ha están dedicadas al cultivo. La finca linda en todo su perímetro con otros montes de similares características geomorfológicas y de uso, salvo en su límite noreste que es la frontera natural entre el hábitat característico del monte de secano dominante en la zona, y la vega del río Ebro, con predominio de los cultivos de regadío.

El paisaje de la finca está constituido por la sucesión de pequeñas colinas de escasa altura o cabezos alternados con pequeñas vales que descienden desde las tierras más llanas y altas del sur hasta la huerta.

Se trata de terrenos de secano representativos del ecosistema mediterráneo del centro del Valle del Ebro. En el límite de la vega del río Ebro con la finca y entre 750 y 1.000m hacia el interior de ésta, el suelo es de terraza, de origen sedimentario fluvial, constituido principalmente por gravas y arena; el resto de la finca está constituido por suelo de tipo xerodenzina sobre margas y yesos (Guerra Delgado y cols. 1970).

La finca se encuentra situada a una altura media de 250-300 m.s.m., participando de un clima mediterráneo estepario caracterizado por la sequedad y las temperaturas extremas, acentuadas en invierno por fenómenos de inversión térmica. Se incluye en el piso de vegetación de la sabina albar (*Juniperus thurifera*) cuya comunidad climácica terminal, el *Rhamneto-Cocciferetum thuriferetosum*, un matorral aclarado de *Rhamnus lycioides* y *Juniperus thurifera* aparece raramente, pues ha sido muy degradado. En general, la cobertura vegetal media tan apenas supera el 25% mientras que la altura media de la vegetación arbustiva no supera los 50cm, estando relegada la vegetación natural a la superficie de los cabezos.

La finca Arpal está sometida tanto a explotación agrícola como cinegética. El uso agrícola del suelo es exclusivamente el cultivo de cereales de secano (trigo duro) en el fondo de las vales y en algunas áreas llanas más o menos extensas, siguiendo un ciclo

anual de barbecho. La distribución de los campos que siguen el ciclo de barbecho está formada por tres áreas, de las cuales, las dos de mayor extensión limitan en el eje longitudinal de la finca, mientras la tercera se encuentra en el extremo suroeste de la misma.

Los daños provocados por el conejo en los cultivos de cereal son importantes pero no es considerado como plaga y no es perseguido por este motivo. La finca además cuenta con una amplia red de bebederos distribuidos por toda su superficie, dirigidos principalmente a las aves de caza, aunque los conejos hacen un frecuente uso de los mismos.

El aprovechamiento cinegético se centra principalmente en la realización de cacerías de perdiz y faisán criados en cautividad, mientras que el conejo es cazado en mano con la ayuda de perros durante la época legalmente establecida para ello (desde mediados de octubre hasta mediados de enero).

Además de este aprovechamiento legal de la especie, la población de conejos soporta una presión de caza furtiva que supone la extracción de un número superior de animales al propio aprovechamiento legal. Esta caza furtiva tiene lugar prácticamente durante todo el año, si bien es especialmente intensa durante el verano, prolongándose de forma intermitente (preferentemente durante los fines de semana) hasta el comienzo de la temporada de caza (mes de octubre). Esta caza furtiva se caracteriza por la utilización de métodos de caza más efectivos, como las baterías de cepos y sobre todo, el uso de hurones. Este último método consiste en la introducción de dos o más hurones en la madriguera, mientras que en el exterior se apuestan varios tiradores armados con escopetas para disparar a los conejos que salen huyendo del cado; cada madriguera es cazada de esta manera repetidas veces a lo largo de un año.

El conejo está distribuido por toda la superficie de la finca, construyendo sus madrigueras preferentemente en la base de las laderas de los cabezos, cerca de los campos de cultivo, y sobre todo en los ribazos, cuya abundancia es importante. La densidad de conejos de un año a otro sufre fluctuaciones dentro de la propia finca, siguiendo los ciclos de barbecho de los campos, presentando una densidad superior y más estable en aquellas zonas limítrofes entre las áreas alternas de barbecho, preferentemente en la mitad norte del eje longitudinal de la finca. En esta zona es donde se ha localizado el área de estudio, cuyos límites se han delimitado en la figura 1 con una línea más gruesa. Esta localización fue la más aconsejable para minimizar las variaciones en la dinámica poblacional causadas por la abundancia de alimento en función del ciclo agrícola.

Las especies depredadoras más frecuentemente observadas durante la realización de los estudios fueron el zorro (*Vulpes vulpes*), perros asilvestrados (*Canis familiaris*), gatos asilvestrados (*Felis catus*) águila real (*Aquila chrysaetos*) y ratonero (*Buteo buteo*), si bien también se observaron búho real (*Bubo bubo*), gato montés (*Felis silvestris*) y tejón (*Meles meles*), además de otras especies de aves que potencialmente pueden depredar a conejos juveniles, como son milano real y negro, aguilucho cenizo, y córvidos en general, especialmente urraca (*Pica pica*).

La VHD fue detectada por primera vez afectando a la población de conejos en 1990, dos años antes de iniciarse este estudio.

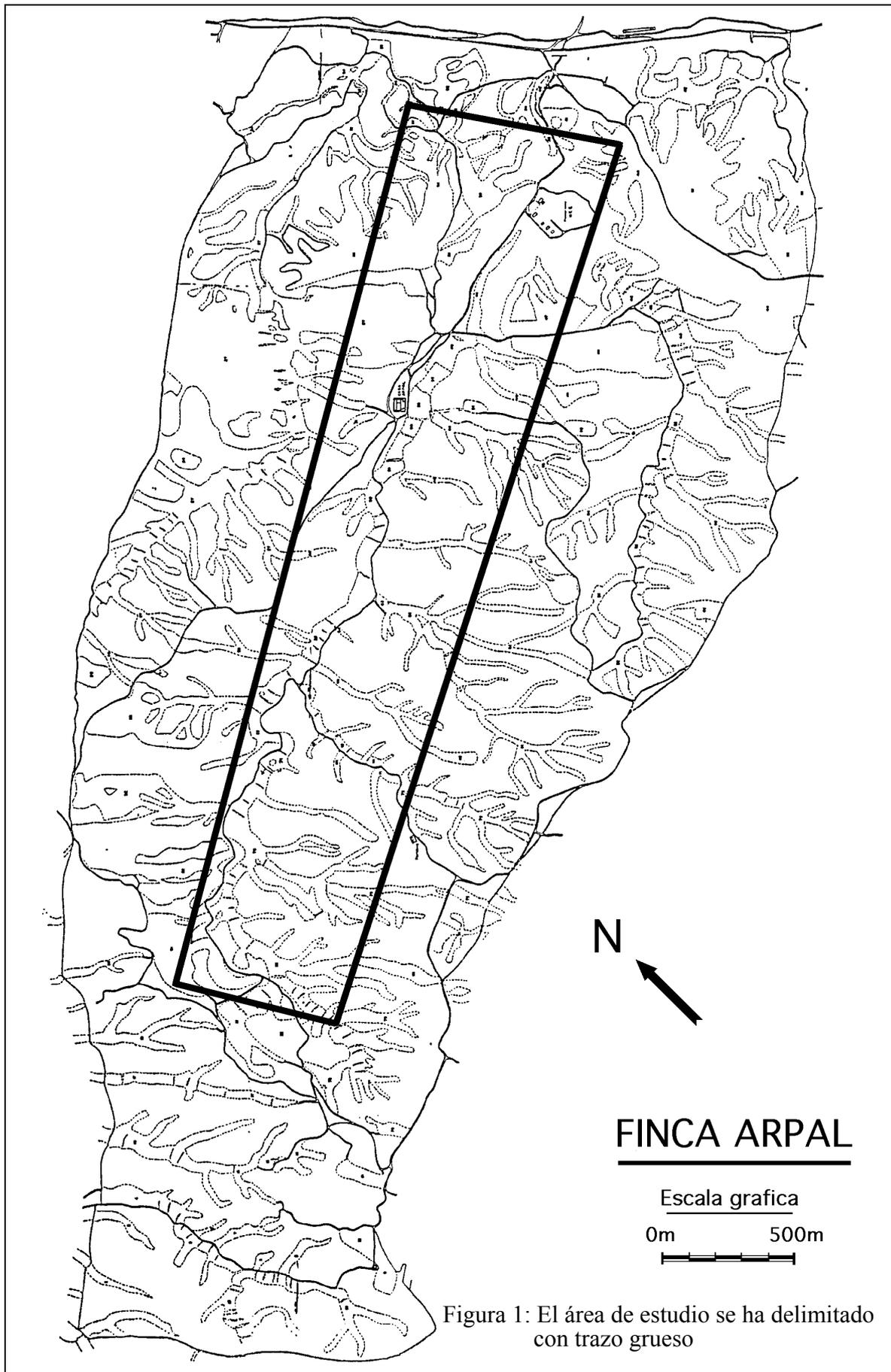


Figura 1: El área de estudio se ha delimitado con trazo grueso

3.1.1- Condiciones climáticas del área de estudio

Hemos utilizado los datos recogidos por el Instituto Meteorológico Nacional en el aeropuerto de Zaragoza como la mejor aproximación para la valoración de las condiciones climatológicas acaecidas durante el desarrollo de los trabajos, ya que fue la estación meteorológica más próxima al área de estudio.

3.1.1.1-Temperatura

La figura 2 muestra la variación de la temperatura media mensual y de las temperaturas medias máximas y mínimas registradas. Se detecta una elevación de los valores termométricos durante el año 1994 que se mantuvo durante todo 1995 aproximadamente. Esta tendencia se evidencia mejor en la figura 3 en la que se ha representado simultáneamente la media acumulada calculada cada 4 y 12 meses para la temperatura media mensual.

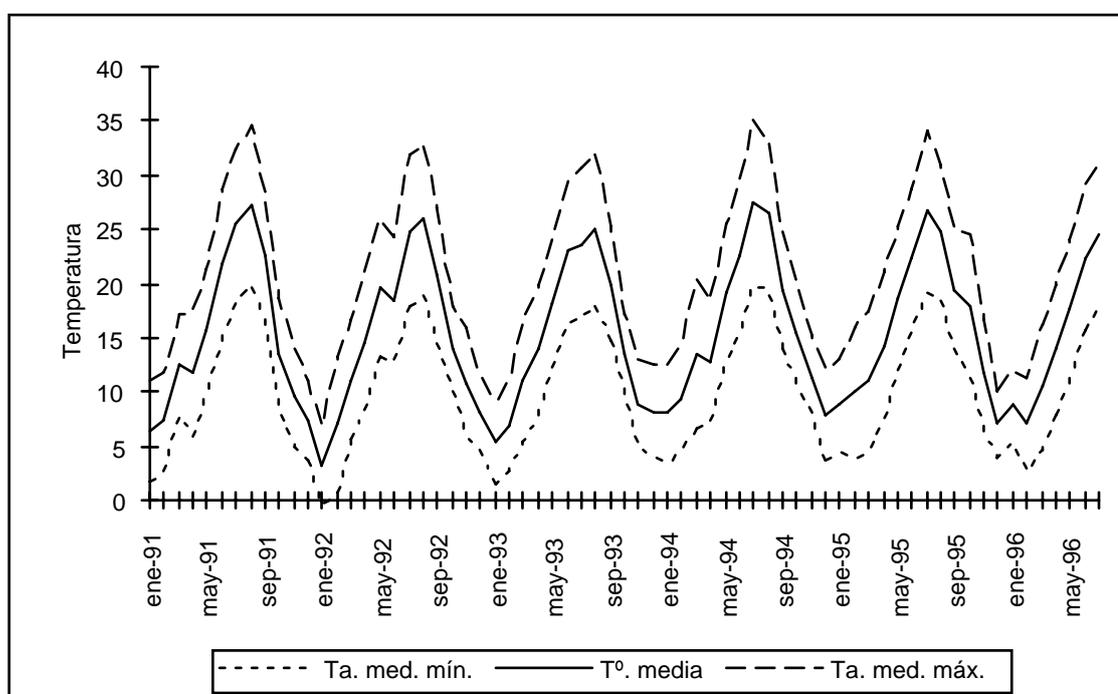


Figura 2: Temperaturas media, media mínima y media máxima mensuales durante el período de estudio.

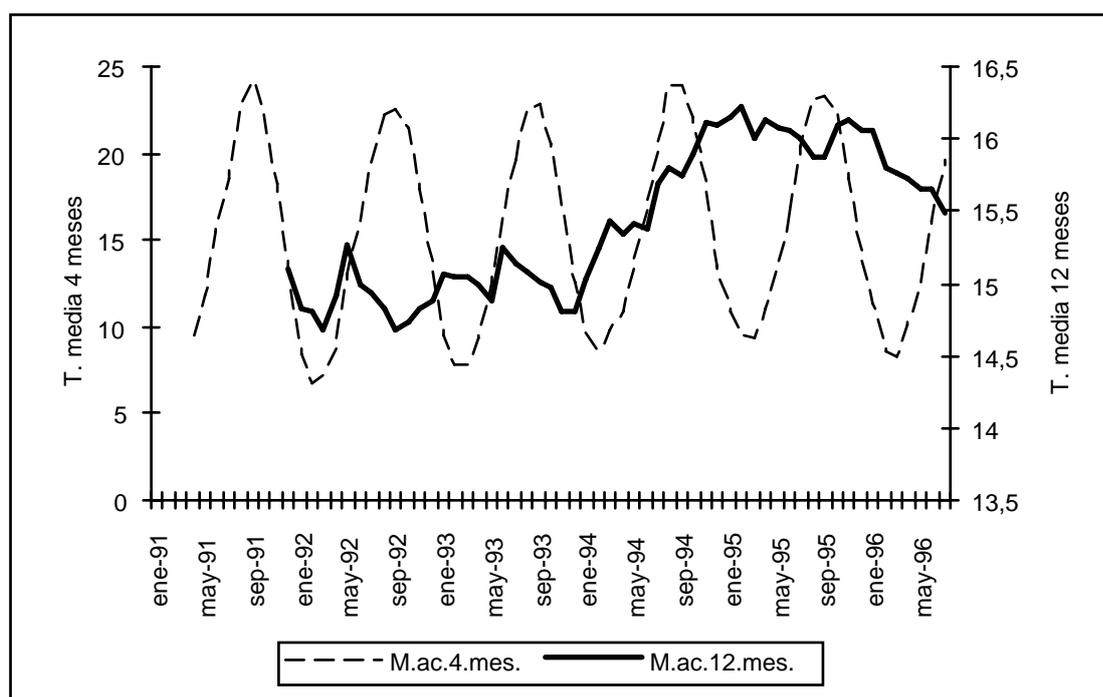


Figura 3: Media acumulada cada 4 y 12 meses de las temperaturas medias mensuales durante el período de estudio.

3.1.1.2-Pluviometría y evaporación

De forma simultánea a la elevación de las temperaturas, las precipitaciones sufrieron una disminución progresiva a lo largo del período de estudio. Esta escasez de precipitaciones fue acompañada de un incremento de la evaporación, lo que originó un período de sequía que prácticamente abarcó la mayoría del estudio, a excepción de principios de 1996 (figura 4). Este período de sequía tuvo su máxima expresión en 1995, especialmente durante los meses de verano y otoño, tal y como se refleja en los valores calculados para la media acumulada cada 12 meses de las precipitaciones y de la evaporación (figuras 5 y 6). Esta sequía produjo el agostamiento de prácticamente toda la vegetación arbustiva y herbácea de la zona, la cual no recuperó su porte hasta al menos un año y medio después, gracias al incremento de las precipitaciones durante 1996 y 1997.

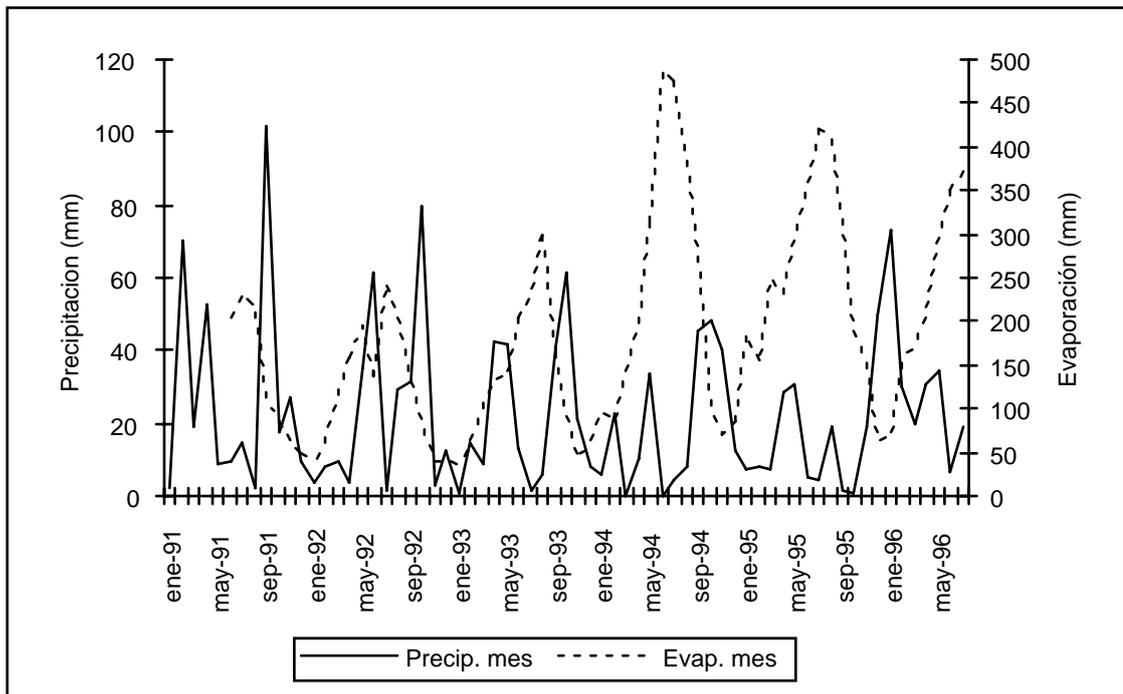


Figura 4: Precipitación y evaporación mensual durante el período de estudio.

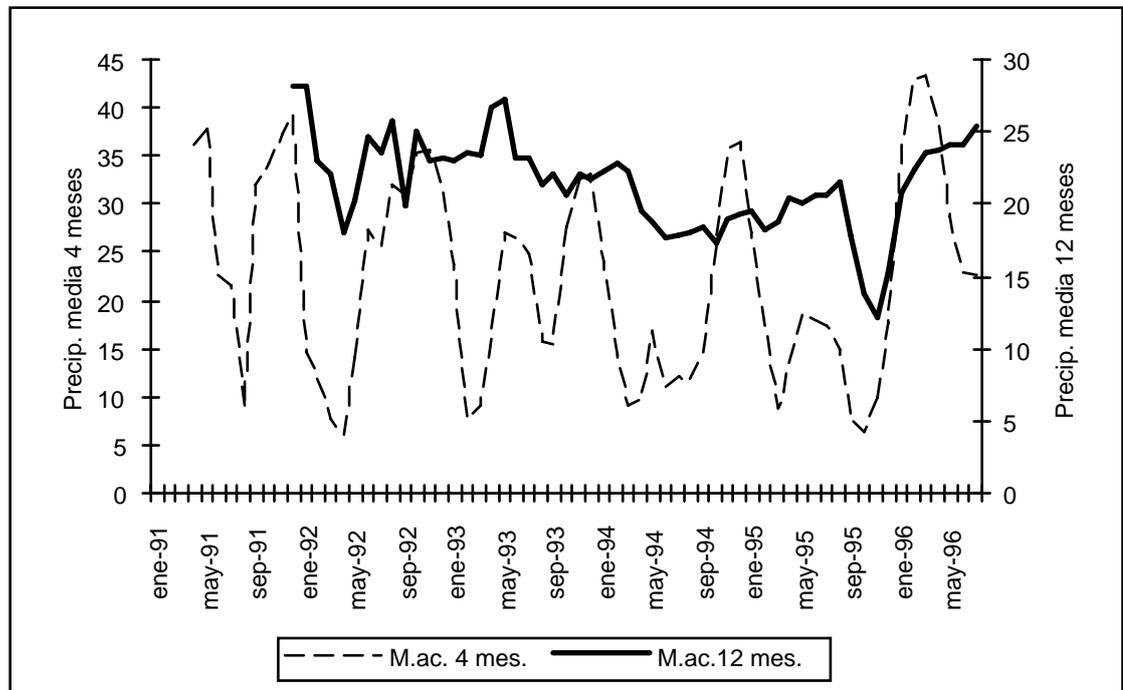


Figura 5: Media acumulada cada 4 y 12 meses de los valores de precipitación mensual durante el período de estudio.

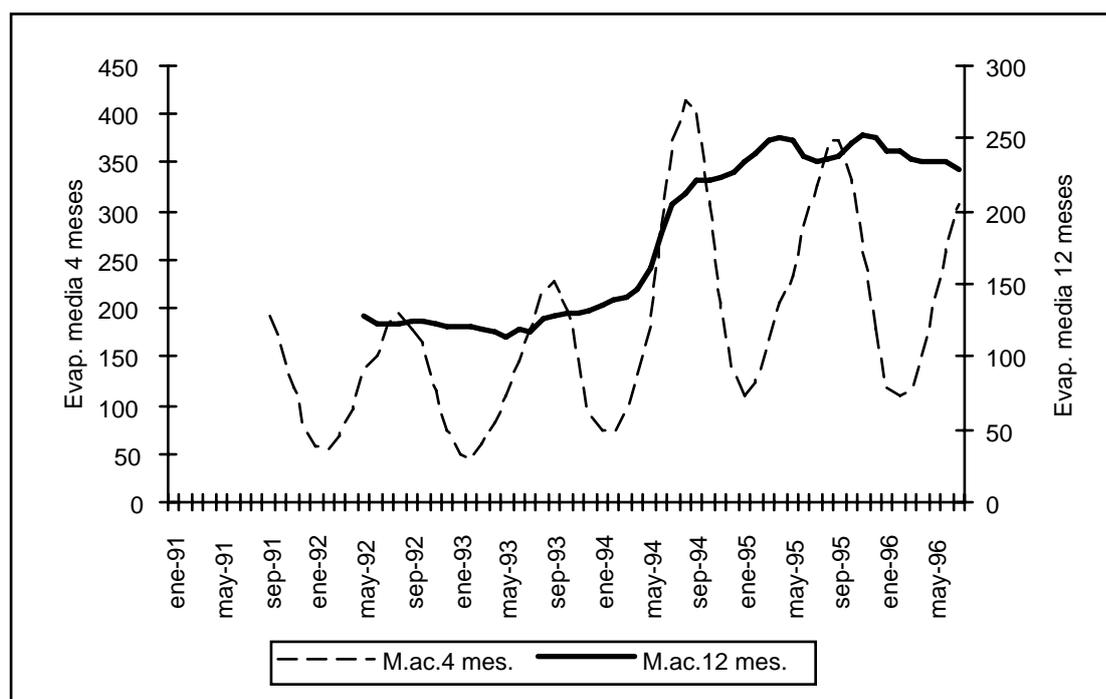


Figura 6: Media acumulada cada 4 y cada 12 meses de los valores de evaporación mensual durante el período de estudio.

3.2-Seguimiento de la abundancia poblacional del conejo

El índice de abundancia utilizado para el seguimiento de la población estudiada fue la variación en la tasa de deposición de excrementos a lo largo del año. Este método, elaborado por Taylor y Williams (1956), se basa en la relación directa que existe entre la abundancia de conejos y el número de excrementos que son depositados por unidad de superficie en un tiempo determinado (tasa de deposición de excrementos).

La elección de este método fue debida a su fácil y económica aplicación y a la posibilidad de utilización en el seguimiento de poblaciones incluso a muy bajas densidades, hecho que no es posible con otros métodos más convencionales como la realización de transectos de recuento diurnos o nocturnos, los cuales necesitan de un gran esfuerzo de personal y económico si la densidad de la población es muy baja.

El seguimiento de la población de conejos de Finca ARPAL comenzó en noviembre de 1991, prolongándose hasta septiembre de 1996. El diseño del muestreo consistió en el emplazamiento al azar de varios grupos de 5 ó 10 estaciones repartidas en el área de estudio. Cada estación consistió en una varilla metálica de 1m. de altura clavada en el suelo y con un número de referencia pintado en su extremo superior. La superficie muestreada de cada estación se delimitó en cada operación con la ayuda de un aro metálico

centrado en la varilla. En total se instalaron un total de 50 estaciones, con una superficie aproximada de muestreo de 0,32 m² cada una.

Cada muestreo, realizado a intervalos mensuales, consistió en el recuento y extracción de todos los excrementos encontrados en cada una de las estaciones. Los datos así obtenidos fueron estandarizados dividiendo el número total de excrementos contados en cada muestreo mensual por el total de estaciones, con el fin de calcular la deposición media de excrementos por estación; a su vez, este valor se dividió por el número total de días transcurridos desde el último contaje, obteniéndose de esta manera la tasa diaria de deposición de excrementos en 0,32 m².

En todos los muestreos efectuados se puso especial cuidado en detectar la presencia de excrementos frescos de juveniles, con el fin de determinar la actividad reproductora de la población.

3.3-Métodos de captura

Para la realización del presente estudio fue necesaria la captura en vivo de ejemplares de conejo silvestre. Esta se llevó a cabo en función de las necesidades del trabajo y de la disponibilidad de medios desde agosto de 1991 hasta julio de 1996.

Desde el comienzo y hasta principios de 1995 se emplearon dos métodos de captura simultáneamente. Como método principal se recurrió al huroneo de las madrigueras (Villafuerte 1994), previa colocación de una red en cada una de las salidas de la misma con el fin de atrapar a los conejos que saliesen huyendo. Para evitar en la medida de lo posible que los hurones causasen heridas o la muerte de los conejos en el interior de la madriguera, antes de cada jornada de captura se les recortó las uñas y se les colocó un bozal para impedir que mordiesen. Con este método fue posible la captura de conejos de todas las edades, a excepción de juveniles con 2-3 meses de edad que presentaron una mayor reticencia a abandonar la madriguera y una mayor dificultad para quedar atrapados en las redes.

El segundo método consistió en la instalación de cajas trampa en las cercanías de las madrigueras (Villafuerte 1994). Estas cajas disponen de un sistema de cierre que se acciona cuando el conejo entra en la caja y pisa un pedal oscilante; para lograr que los conejos entrasen en las cajas se recurrió a la utilización de cebo, principalmente lechuga. Las cajas, en número de 20, se instalaron durante varios días consecutivos, siendo necesaria su revisión antes del amanecer y al atardecer para evitar en lo posible las bajas

producidas por el estrés o las condiciones climáticas adversas (viento, frío, insolación, etc). Este método de captura fue muy selectivo, ya que nunca se capturó un ejemplar adulto, aumentando la capturabilidad conforme disminuía la edad de los conejos. Por ello únicamente se utilizó durante la época de reproducción de la especie, y como complemento al huroneo para obtener ejemplares jóvenes.

Debido a la baja eficacia de los métodos anteriores y a la gran dispersión espacial de las capturas propiciada por el huroneo, a partir del mes de mayo de 1995 comenzamos a utilizar únicamente un nuevo método desarrollado para este estudio, consistente en la instalación de cercas de madriguera. Una cerca de madriguera consistió básicamente en la instalación de una malla metálica de 80cm de alto rodeando en su totalidad la madriguera, y sujeta mediante estacas metálicas clavadas al suelo. La base de la malla cuenta con una serie de orificios de 20cm de diámetro ubicados a nivel del suelo, a cada uno de los cuales, y por el exterior de la malla, se le acopla una de las cajas trampas descritas anteriormente. La captura de los animales tiene lugar cuando pretenden salir de la cerca por estos orificios, y quedan atrapados en la caja trampa. Este sistema también hace necesaria su revisión dos veces al día, si bien presentó la enorme ventaja de capturar la práctica totalidad de los conejos que habitaban una misma madriguera, independientemente de su edad, lo que aumentó considerablemente tanto el número de capturas como su concentración en el espacio.

3.4-Parámetros corporales e índices biológicos

Cada conejo capturado fue sexado mediante la observación de los órganos genitales y posteriormente pesado con ayuda de un dinamómetro.

Todos los ejemplares capturados fueron marcados con un crotal metálico numerado (PRESADOM núm. 3, Francia), con el fin de poder identificar a los conejos recapturados.

En los machos se registró la presencia exteriorizada de los testículos en la bolsa escrotal, mientras que en las hembras se estimó la presencia de mamas funcionales y la existencia de fetos mediante palpación (gestación).

También se estimó la edad del individuo mediante la palpación del cartílago o fisura de osificación en las extremidades anteriores (Watson y Tyndale 1953), clasificando a los animales en dos categorías: "adultos", sin cartílago ni fisura de osificación, y "jóvenes", con cartílago o fisura de osificación evidentes, los cuales fueron conejos nacidos en el mismo año de su captura. Esta diferenciación pudo ser realizada en la

mayoría de los casos hasta el mes de noviembre, por lo que todos los animales capturados a partir del mes de diciembre, inclusive, fueron considerados como adultos, en contraposición a la nueva cohorte de jóvenes de reciente aparición.

El cálculo de la curva de crecimiento corporal de los conejos jóvenes requiere un elevado número de capturas y recapturas, además del seguimiento del desarrollo corporal de individuos desde el momento mismo de su nacimiento. Ello no fue posible en el presente trabajo, por lo que se procedió a calcular la curva de crecimiento para la población estudiada a partir de los parámetros estimados por Soriguer (1981) para una población andaluza.

Este autor estimó que la función de Gompertz es la curva que mejor se ajusta a la evolución del peso corporal en relación a la edad de los conejos, siendo esta función de tipo:

$$Y = A \cdot B^{(C^X)} ; \text{ en donde}$$

Y=peso (grs)

X=edad (meses)

A=asíntota o peso máximo que puede alcanzar un conejo.

C y B= coeficientes que definen el crecimiento y que son constantes características de la curva.

Soriguer estimó para su población los siguientes valores:

A=1125

B=0,03

C=0,6

Para el cálculo de la curva de crecimiento de nuestra población utilizamos idénticos valores para los factores B y C, que definen el tipo y la velocidad del crecimiento, sustituyendo únicamente el valor de la asíntota por el peso medio observado en la totalidad de la muestra de animales adultos no gestantes (A=1307). De esta manera, en función del peso corporal pudimos estimar, en intervalos quincenales, la edad de los conejos nacidos en el año. En el caso de aquellos animales que todavía evidenciaron cartílago o fisura de osificación y cuyo peso fue superior a la asíntota de la curva consideramos que estaban en el octavo mes de vida.

Por último, y siempre que fue posible, de cada conejo capturado se procedió a la extracción de 2ml de sangre mediante incisión en la vena marginal del pabellón auricular. Para ello el animal fue inmovilizado en un potro de sujección y colocado bajo una fuente

de rayos infrarrojos para provocar la ingurgitación de los vasos sanguíneos. La sangre obtenida coaguló a temperatura ambiente y posteriormente fue centrifugada durante 15 minutos a 3500rpm. El suero obtenido fue mantenido en congelación a -20°C hasta su remisión al laboratorio.

De la toma de muestras de sangre excluimos a la práctica totalidad de los ejemplares con un peso inferior a los 300grs, por el temor a comprometer su viabilidad en el campo una vez fueran liberados tras el sangrado, especialmente aquellos a los que se les instaló un radioemisor para su seguimiento, ya que podría haber interferido considerablemente en la estimación de la supervivencia.

3.5-Radiomarcaje

Para el estudio de la supervivencia y las causas de mortalidad de la población de conejos recurrimos a técnicas radiotelemétricas, muy precisas para el estudio de la supervivencia animal (Heisey y Fuller 1985), puesto que además de ser encontrados los animales muertos, determinándose su causa de muerte, se consigue disminuir el error que se comete en los estudios con metodologías clásicas de dinámica poblacional, no siendo necesarias sucesivas recapturas y por lo tanto minimizando el impacto de la inmigración-emigración en la estimación de la supervivencia. El período de estudio abarcó desde diciembre de 1992, momento en que se radiomarcó el primer conejo, hasta junio de 1996.

Los conejos radiomarcados también fueron diferenciados por su edad en adultos y jóvenes, considerando adultos a todos aquellos que no presentaron cartílago o fisura de osificación en el radio. En la clase de jóvenes se incluyeron todos aquellos animales que no habían completado su desarrollo corporal, y que por tanto presentaron cartílago o fisura de osificación. Aquellos animales que, siendo radiomarcados de jóvenes, lograron sobrevivir hasta enero del siguiente año, fueron también considerados adultos a partir de ese mismo mes.

De todos los animales radiomarcados cada vez, una parte de ellos fueron vacunados frente a VHD y mixomatosis, con el fin de estimar la eficacia de la vacunación frente a ambas enfermedades como herramienta de gestión de la especie. En todo momento, entre un tercio y la mitad de los conejos radiomarcados estuvieron vacunados, así como se procuró que ambos grupos experimentales estuviesen equilibrados respecto a la razón de sexos.

Para la inmunización se utilizaron productos comerciales. Como vacuna frente a la mixomatosis se utilizó vacuna viva homóloga (POX-LAP) de laboratorios Ovejero, administrada por vía subcutánea a las dosis recomendadas por el laboratorio (0,5ml/conejo). Para la inmunización frente a VHD se utilizó vacuna inactivada y con adyuvante oleoso, (CYLAP-VHD) de laboratorios Sobrino-Cyanamid, que fue administrada por vía subcutánea a razón de 1ml/conejo.

Durante todo el período de estudio se obtuvieron datos de un total de 107 conejos adultos radiomarcados, de los cuales 38 fueron vacunados en el momento de la captura frente a mixomatosis y VHD, y los restantes 69 constituyeron la muestra de animales no vacunados. El radiomarcaje de conejos jóvenes durante sus primeros meses de vida fue posible a partir de finales del mes de febrero de cada año, debido a que fue en esta fecha cuando comenzaron a emerger el suficiente número de juveniles como para asegurar la captura del número necesario de conejos. La disponibilidad de radioemisores adecuados para estos animales permitió el marcaje de animales jóvenes durante las temporadas de cría de 1993, 1994 y 1995. Durante todo el período de estudio se radiomarcaron un total de 146 conejos jóvenes, 66 de los cuales fueron vacunados frente a mixomatosis y VHD.

Para el radiomarcaje de conejos de diferente edad se utilizaron dos modelos de emisores, diferenciados principalmente en su potencia y en su peso, con el fin de que el mismo no fuese excesivo para el desarrollo de una actividad normal del animal. Para los animales adultos y jóvenes con un peso superior a los 600 gr se utilizaron collares emisores de 20 grs de peso. Estos emisores presentaron una duración media que osciló alrededor de los 13 meses, si bien existió una gran variación en la misma (desde 6 meses hasta 4 años). Los emisores para animales de menor peso, consistieron en emisores alimentados por una pila de botón, con un peso total de 3 grs. y una duración media de 2 meses. La fijación de estos emisores se realizó mediante resina epoxy a la mitad de un crotal plástico de cordero, que fue recortado para ajustarlo a las medidas del emisor, siendo fijado a la oreja de los animales; el conjunto presentó un peso máximo de 5grs. Ambos modelos de emisores estuvieron dotados de un sensor de actividad que delataba el movimiento del emisor, facilitando considerablemente el radioseguimiento; estos emisores fueron fabricados por BIOTRACK (Wareham U.K.).

3.5.1-Seguimiento de los animales radiomarcados

El seguimiento se realizó mediante la localización de todos y cada uno de los animales cada tres días, usando para ello una antena direccional (tipo H) y un receptor YAESU. Cada localización, consistió en comprobar si el animal permanecía vivo o había

muerto. Para facilitar la localización de un número relativamente elevado de conejos, ésta se inició varias horas antes del amanecer con el fin de localizar a los animales durante su período de actividad.

Cuando un conejo se encontró muerto se intentó determinar la causa de su muerte, incluyéndose en alguna de las siguientes categorías:

-Predación por zorro: Se atribuyó la muerte por predación por zorro cuando se encontró el estómago e intestino grueso del conejo junto al emisor, y en ocasiones la cabeza, o bien se encontró el conejo o parte de él enterrado.

-Predación por perro: Los perros, al igual que los zorros, suelen dejar las mismas vísceras sin comer, por lo que pueden ser fácilmente confundidos con los anteriores, sin embargo, dentro de una línea conservadora únicamente se clasificaron dentro de esta categoría en aquellas ocasiones en las que se detectó claramente las huellas y/o el olor de estos carnívoros.

-Predación por cánidos: En esta categoría se engloban las dos anteriores.

-Predación indeterminada: En esta categoría se clasifican todas aquellas muertes en las que no fue posible concretar el tipo de predador, encontrándose únicamente el emisor.

-Predación por ave rapaz: En esta ocasión se encontraron las señales típicas, como excrementos de aves de gran tamaño, numerosos mechones de pelo, huesos largos y piel con señales de picotazos, plumas, etc.

-Muerte por causas patológicas: Aquí se engloban todos aquellos animales encontrados muertos sin señales de ser predados o haber sufrido algún tipo de accidente, y aquellos que murieron dentro de las madrigueras.

-Muerte por caza: Son los animales que fueron muertos por la actividad cinegética y cobrados por el cazador.

-Muerte por inundación: Incluye aquellos animales que murieron como consecuencia de la inundación de las madrigueras.

3.5.2-Cálculo de las tasas de mortalidad

La estimación de las tasas de supervivencia y mortalidad las hemos realizado siguiendo el método presentado por Heisey y Fuller (1985), para cuyo cálculo se tiene en cuenta tanto el número de muertes como el tiempo en el que tienen lugar.

Para la aplicación de este método, el período de estudio se divide en intervalos en los cuales se asume que la supervivencia diaria y las tasas de mortalidad específicas

permanecen constantes. De la misma manera, se asume que la supervivencia y la mortalidad específica es la misma para todo el conjunto de animales con cuyos datos se estiman las tasas en cada intervalo.

Los cálculos para la estimación de las diferentes tasas asumen que, para cada clase de edad y sexo, cada día de estudio representa un ensayo independiente de los demás en el que los dos únicos resultados posibles son la supervivencia o la muerte del animal por alguna causa específica. Con estos datos, y de acuerdo con Trent y Rongstad (1974), se estima la tasa de supervivencia diaria s_i para cada intervalo i ($i=1, 2, 3\dots I$) mediante:

$$(1) \quad s_i = (x_i - y_i) / x_i$$

donde x_i es el número de radiodías (suma total del número de días en los que cada animal está vivo con un emisor) en el período considerado, e y_i es el número total de muertes en el intervalo i .

El valor así obtenido, denominado supervivencia diaria, es un equivalente a las tasas de riesgo, con interpretación tanto a nivel de individuo como de población, ya que la supervivencia diaria representa tanto la probabilidad que tiene un individuo al comienzo de ese día para sobrevivir hasta el inicio del siguiente, como la proporción del total de la población que logrará sobrevivir a ese día.

La tasa de supervivencia para todo el intervalo S_i de longitud L_i días se estima a partir de la tasa diaria de supervivencia mediante:

$$(2) \quad S_i = s_i^{L_i}$$

La tasa de supervivencia para todo el periodo de estudio S^* se estima a partir del producto de las tasas de supervivencia de todos los intervalos de que consta el período:

$$(3) \quad S^* = \prod S_i$$

De esta manera se minimiza la desviación que supondría estimar la tasa de supervivencia para todo el período si se estimase a partir del cálculo de una única tasa diaria obtenida al fusionar todos los datos del mismo, ya que en este caso la estimación estaría más influenciada por los datos de aquellos intervalos en los que el número de radiodías fuese mayor; aunque a cambio se corre el riesgo de potenciar la confusión introducida por los resultados obtenidos en intervalos con reducido tamaño muestral.

De la misma forma se puede proceder al cálculo de las tasas de mortalidad. La tasa de mortalidad diaria ocurrida en un intervalo i y producida por una causa específica j será:

$$(4) \quad m_{ij} = y_{ij}/x_i$$

en donde m_{ij} es la tasa diaria de mortalidad en el intervalo i debida a la causa j , y_{ij} es el número de muertes ocurridas en el intervalo i debidas a la causa j , y x_i es el número total de radiodías del intervalo i . La tasa de mortalidad diaria para una causa específica es independiente de las tasas de mortalidad producidas por otras causas.

La tasa de mortalidad ocurrida M_{ij} en el intervalo i debida a la causa j se calcula según:

$$(5) \quad M_{ij} = (m_{ij}/1-s_i)(1-s_i^{L_i})$$

en donde la primera cantidad de la segunda expresión ($m_{ij}/1-s_i$) es el riesgo relativo de muerte debido a la causa j en el intervalo i , mientras que la segunda cantidad ($1-s_i^{L_i}$) es la probabilidad total de muerte debido a todas las causas en el intervalo i . En este caso, la tasa de mortalidad de intervalo sí que se ve influenciada por la mortalidad producida por otras causas a través del segundo término de la expresión.

La tasa de mortalidad producida por la causa j para todo el período de estudio M_j^* es la suma de las probabilidades que un animal tiene de sucumbir a la causa j en todos y cada uno de los intervalos i :

$$(6) \quad M_j^* = \sum M_{ij} \prod S_k$$

en donde i va desde 1 hasta I , y k va desde 0 hasta $i-1$, siendo $S_0=1$.

Para el cálculo de las tasas de mortalidad se ha utilizado el programa Micromort creado por Heisey y Fuller (1985). Este programa utiliza las series de Taylor para estimar los límites de confianza y errores estándar a través de 500 simulaciones realizadas mediante el método de Monte Carlo (Heisey y Fuller 1985; Sokal y Rohlf 1986). Se consigue así un valor del parámetro de supervivencia que tiene una distribución normal, con lo que no es necesaria su normalización y se le puede estimar un valor de comparación z y la correspondiente desviación estándar.

Las tasas pueden compararse entre sí mediante el cálculo del estadístico z :

$$(7) \quad z = (S_1 - S_2) / (V_1 + V_2 + 2Cov_{1,2})^{1/2}$$

Siendo S_1 y V_1 , y S_2 y V_2 la tasa de supervivencia(S) y la varianza (V) de las categorías a comparar, y $Cov_{1,2}$ la covarianza.

3.5.3-Análisis de los resultados

Cuando un animal fue encontrado muerto se consideró que su muerte había tenido lugar hacia la mitad del período transcurrido desde la última localización, lo que no supone una variación grave en la determinación de la fecha de muerte (Heisey y Fuller 1985).

Los radiodías de aquellos animales en los que la señal del emisor se perdió debido al agotamiento de las baterías (mostraron signos anticipadamente) se han incluido en el análisis hasta el período inmediatamente anterior a su pérdida. En aquellos casos en los que la señal se perdió de forma súbita se han eliminado del mismo.

Para el análisis de los datos y el cálculo de las tasas de supervivencia y mortalidad de los conejos adultos hemos procedido al agrupamiento de los mismos en 6 períodos bimestrales: enero-febrero, marzo-abril, mayo-junio, julio-agosto, septiembre-octubre y noviembre-diciembre. Esto se ha hecho así porque, si bien el agrupamiento de los datos en períodos cuatrimestrales habría redundado en un aumento de la precisión de los resultados, también conllevaría una pérdida de exactitud en la descripción de la distribución temporal de la mortalidad por VHD, por lo que se ha preferido la fusión en períodos bimestrales.

Con los animales jóvenes, debido a la baja supervivencia y al corto período de funcionamiento de los emisores, los datos se han agrupado en cuatrimestres. Como de estos animales se pudo realizar una estima de su edad en el momento del marcaje, y por lo tanto se conoció la misma a lo largo de todo su seguimiento, fue posible calcular las tasas de supervivencia y mortalidad para las siguientes clases de edad: 2-4 meses, 5-7 meses, 8-10 meses e incluso 11-13 meses, con el fin de estimar la mortalidad durante el primer año de vida.

Para cada uno de los períodos se ha calculado la tasa de intervalo, a excepción de la mortalidad por predación, en la que debido al agrupamiento de los datos pertenecientes a conejos vacunados y no vacunados, se ha calculado la tasa diaria, cuyo valor no se ve influenciado por la presencia o ausencia de otros factores de mortalidad (como puede ser la ausencia de VHD en conejos vacunados), tal y como ya se ha comentado en relación a la ecuación (4). Para la representación gráfica de la variación de las tasas anuales de supervivencia y mortalidad se ha recurrido a las ecuaciones (3) y (6) para obtener unos resultados equivalentes a si se hubiera efectuado el cálculo de una media acumulada anual. Para ello, el valor anual calculado para cada uno de los intervalos corresponde al período anual que acaba en dicho intervalo.

Todos las estimaciones se han acompañado (entre paréntesis) de los correspondientes límites de su intervalo de confianza al 95%.

3.6-Técnicas laboratoriales

De los animales encontrados muertos, radiomarcados o no, se trató de diagnosticar la causa de muerte, siendo preferente el diagnóstico de la VHD. Para ello se practicó la necropsia de todos los ejemplares, si bien en ocasiones se encontró únicamente alguna parte del cadáver, sobre todo la cabeza y a veces parte del tercio anterior. En estos casos también se procedió a la necropsia de los restos, intentando localizar principalmente las lesiones características de VHD en aquellos órganos más visible y frecuentemente afectados, como fueron la tráquea, ganglios linfáticos, timo, mucosa faríngea, etc. Después de realizada la necropsia, en aquellos animales que fue posible se tomaron muestras de hígado que fueron remitidas a laboratorios Hipra S.A (Gerona) para el diagnóstico de VHD mediante técnicas de hemoaglutinación.

La valoración de anticuerpos séricos frente a VHD y mixomatosis en las 344 muestras tomadas de conejos capturados (156 adultos y 188 jóvenes) fue realizada también por este laboratorio mediante técnicas de ELISA indirecto. En ambas analíticas la valoración de la concentración de anticuerpos se ha expresado mediante un índice relativo de inmunidad (IR) que se calcula mediante la siguiente expresión:

$$IR=[(ODS-ODN)/(ODP-ODN)] \times 100$$

Siendo

ODS = Densidad óptica de la muestra

ODN = Densidad óptica del suero control negativo

ODP = Densidad óptica del suero control positivo

Los valores del IR oscilan entre 0 y 10, considerándose positivos todos los valores mayores o iguales a 2 (Pages y cols. 1991).

3.7-Modelización de la epidemiología del virus VHD

La modelización de la epidemiología del virus VHD en una población de conejo silvestre se ha llevado a cabo mediante el programa Stella (HPS), diseñado para el desarrollo de modelos matemáticos mediante diagramas de flujos. Los resultados han sido obtenidos mediante el algoritmo de integración de Euler y se han tratado mediante el programa Excel (Microsoft) para el cálculo de las medias acumuladas mensual, anual y

bianual, que han permitido la comparación de los parámetros para cada uno de los ensayos realizados.

3.8-Cálculos estadísticos

La correlación entre variables se ha estimado mediante el coeficiente de Spearman (Siegel 1991), especialmente adecuado para trabajar con muestras reducidas o con datos que han sido medidos a nivel de rango.

La comparación de frecuencias de caracteres cualitativos en tablas de contingencia se ha realizado mediante el test de X^2 , o el de la probabilidad exacta de Fisher cuando el tamaño muestral así lo ha exigido (Siegel 1991), mientras que para la variación de datos medidos a nivel de intervalo en relación a dos o más factores se ha utilizado el análisis de la varianza (Sokal y Rohlf 1986).

Para la variación del índice relativo de inmunidad frente a VHD y mixomatosis en función de diferentes factores, además del análisis de la varianza se ha utilizado el método de regresión logística cuando la variable respuesta ha sido de carácter cualitativo (prevalencia), mientras que en los casos en que se ha incluido el peso (variable continua) como factor de variación se ha utilizado el análisis de covarianza (Sokal y Rohlf 1986). Debido a la naturaleza de la variable "índice relativo de inmunidad", todos los análisis estadísticos se han llevado a cabo previa transformación de los datos a sus correspondientes rangos, siguiendo las recomendaciones de Conover e Iman (1981) para el uso de tests paramétricos con este tipo de datos. El nivel de significación expresado en todos los análisis es de una cola.

En la estimación de la variación a largo plazo de algunas variables se ha recurrido al cálculo de la media acumulada, con el fin de paliar el efecto de las variaciones a corto o medio plazo (Thrusfield 1990). De este modo, el valor de la media acumulada anual para un mes determinado es la media aritmética de los últimos 12 meses, siendo el mes en cuestión el último del período anual promediado.

RESULTADOS

4-RESULTADOS

El conocimiento de la biología del hospedador es básico a la hora de estudiar la epidemiología de un agente infeccioso. Por ello se ha caracterizado en primer lugar la población de conejos, determinando su ciclo reproductor a través de la variación del índice de abundancia y de los parámetros biológicos recogidos en los animales capturados; también se ha examinado la variación del peso corporal, como indicador de las condiciones del medio, y la evolución de la abundancia poblacional a lo largo del estudio.

Una vez caracterizada la población, hemos pasado al estudio mismo de las enfermedades, comenzando por describir la distribución temporal de VHD y mixomatosis y la variación de la inmunidad sérica frente a ambas. Posteriormente se ha estimado las tasas de mortalidad general, su evolución temporal y el efecto de la vacunación sobre las mismas, para describir después cada uno de los factores de mortalidad identificados, dedicando especial atención a la VHD.

Por último, se ha desarrollado un modelo matemático de la epidemiología de VHD, en base a cuyo análisis se ha tratado de explicar los resultados obtenidos en el trabajo de campo y se han elaborado hipótesis acerca de la epidemiología de esta enfermedad, así como de las posibilidades de aplicación de determinadas herramientas de gestión dirigidas a la recuperación de la especie.

4.1- Caracterización de la población de conejos

4.1.1- Reproducción

Si bien la fenología reproductiva de la especie no ha sido el objeto de este estudio, su importancia en la epidemiología de ambas enfermedades hace que sea necesaria una aproximación a la misma. Ello se ha realizado tanto en función de la variación del índice de abundancia como de los índices reproductivos obtenidos a partir de los conejos capturados.

4.1.1.1- Reproducción según índice de abundancia

Tal y como se observa en la figura 7, el aumento del índice de abundancia fue marcadamente estacional y en estrecha dependencia de las precipitaciones caídas meses atrás.

Realizando análisis consecutivos de correlación mediante el test del coeficiente de correlación de Spearman entre los diferentes pares de valores constituidos por la precipitación mensual y por el valor del índice mensual de abundancia, la máxima correlación ($n=55$; $Rho=0,4066$; $p<0,01$) se obtiene cuando se superponen los valores actuales poblacionales con las precipitaciones caídas 7 meses antes (figura 8). Prácticamente los picos máximos de abundancia ocurridos a principios de cada año estuvieron correlacionados con las precipitaciones acaecidas durante el mes de octubre del año anterior, si bien esta correlación parece ser debida más a la frecuencia que a la propia magnitud de las precipitaciones, las cuales sufrieron un declive durante el período de estudio, siguiendo una tendencia inversa al aumento de la abundancia poblacional.

Las precipitaciones no son el único factor determinante de la reproducción de la especie, y ello se confirma en la falta de correlación existente en algunos períodos concretos, como a finales de verano de 1991 o durante el pico de reproducción de 1996, cuando después de un marcado período de sequía, debido al retraso en la aparición de las primeras precipitaciones de otoño, el aumento de la población se adelantó en comparación a años anteriores en relación a éstas. Pese a ello, el valor máximo del índice de abundancia se alcanzó más tarde, alrededor del mes de junio, cuando en años anteriores el valor máximo del índice se localizó alrededor del mes de mayo.

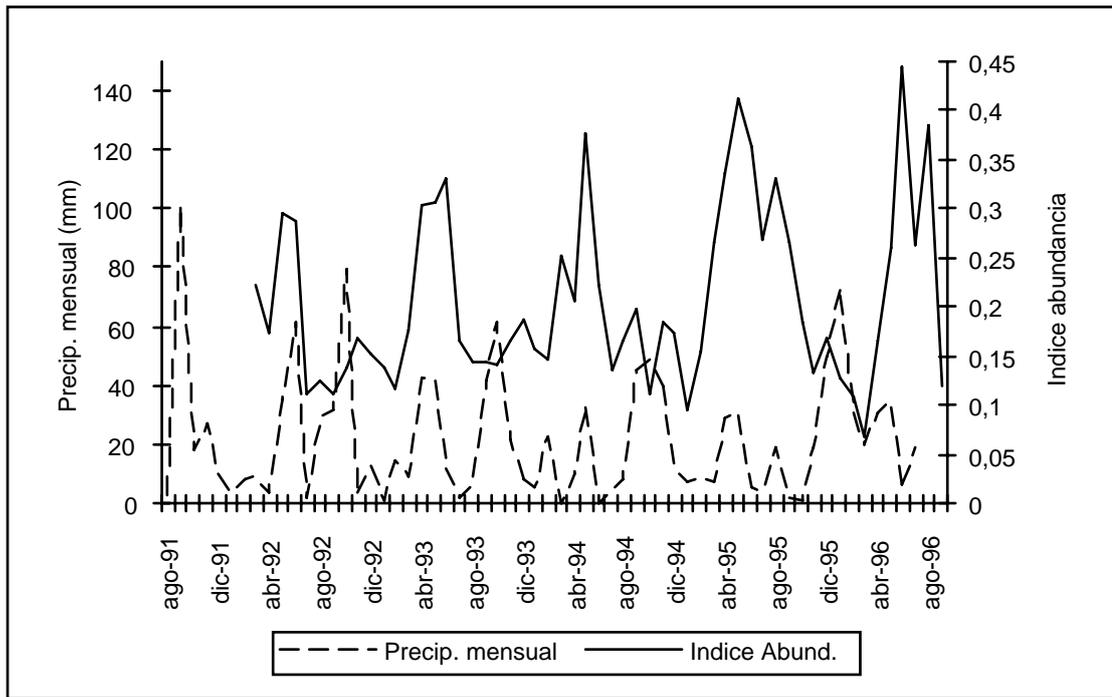


Figura 7: Precipitación mensual y abundancia poblacional en el área de estudio.

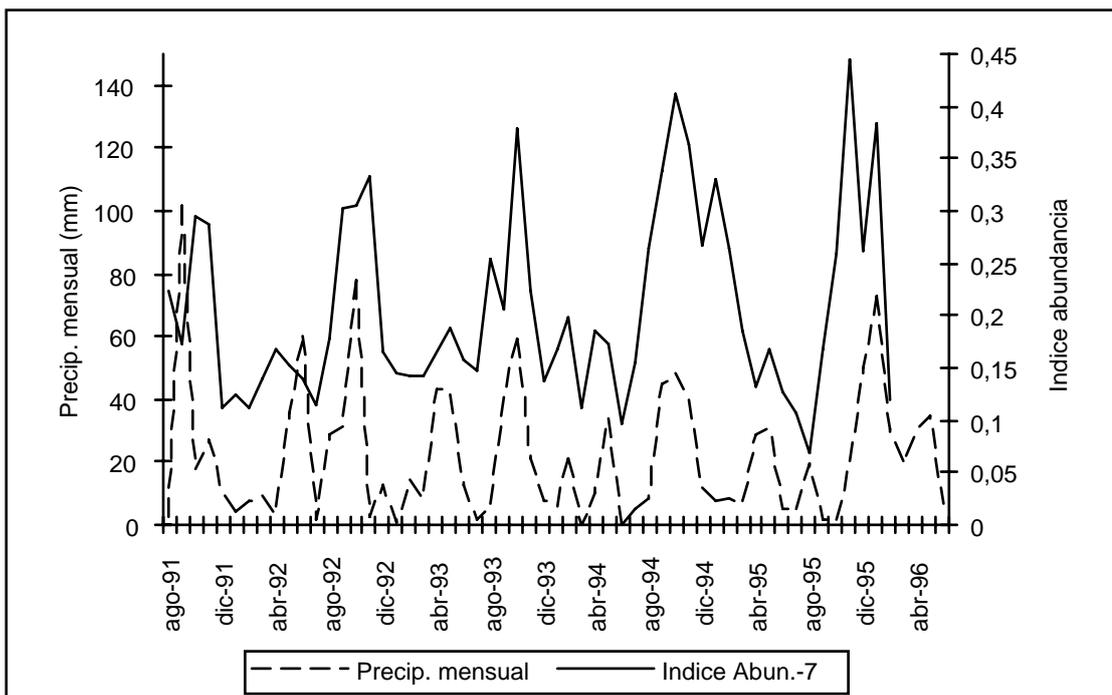


Figura 8: Representación gráfica de la correlación entre la abundancia poblacional y las precipitaciones caídas 7 meses antes.

Otro indicio importante relativo a la reproducción de la especie fue la detección de excrementos de animales de primera edad (alrededor de dos meses) durante los recuentos de excrementos (tabla I). El hallazgo de los mismos normalmente tuvo lugar varios meses antes de que se detectase incrementos significativos en el índice de abundancia, y se prolongó hasta poco después de haberse alcanzado el valor máximo anual del mismo,

exceptuando el período de cría de 1996 en el que el hallazgo de excrementos de gazapo fue simultáneo al incremento del índice.

Periodo 91-92	Periodo 92-93	Periodo 93-94	Periodo 94-95	Periodo 95-96
Nov-91	Nov-92	Dic-93	Nov-94	Abr-96
Dic-91	Dic-92	Ene-94	Ene-95	May-96
Ene-92	Ene-93	Feb-94	Feb-95	Jun-96
Feb-92	Feb-93	Mar-94	Mar-95	Jul-96
Mar-92	Mar-93	Abr-94	Abr-95	Ago-96
Abr-92	Abr-93	May-94	May-95	
May-92	Jul-93	Jun-94	Jun-95	

Tabla I: Muestreos mensuales en los que fueron detectados excrementos de conejos juveniles.

La intensidad en la aparición de excrementos de juveniles no fue homogénea a lo largo de los períodos de reproducción, por lo que a partir de 1993-94, se estimó la proporción de estaciones de muestreo en que fueron hallados excrementos de pequeño tamaño. En la figura 9 se observa como la proporción de estaciones con excrementos de gazapo se incrementó paulatinamente desde el comienzo de la época de reproducción a finales de otoño, para alcanzar su máximo hacia finales de invierno y principios de primavera, a excepción del período reproductor 1995-96, en que debido al retraso de las lluvias, la proporción de estaciones con excrementos de gazapo aumentó de forma súbita en el mes de abril hasta alcanzar niveles similares a los de las dos épocas anteriores, y se prolongó hasta bien entrado el verano debido a la abundancia de las precipitaciones en primavera.

Esta distribución temporal en la detección de excrementos de animales juveniles puede servir también como referencia para delimitar el período reproductor de la especie, teniendo en cuenta que refleja el incremento de nuevos animales en la población conforme van emergiendo de las madrigueras, entre tres y cuatro semanas después de haber nacido.

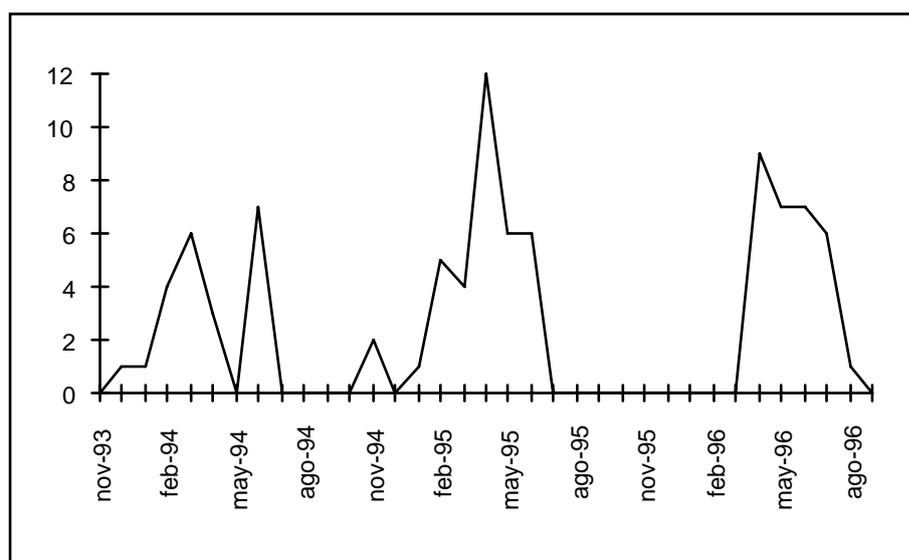


Figura 9: Número de estaciones (n=50) con excrementos de juveniles en cada uno de los muestreos mensuales.

4.1.1.2-Reproducción según índices reproductivos

En la tabla II se ha reflejado el porcentaje de machos capturados en cada período bimestral que presentaron los testículos exteriorizados. Los datos con los que se ha elaborado la tabla corresponden a todos aquellos ejemplares cuyo peso corporal fue igual o superior al del conejo joven con menos peso que presentó los testículos escrotales (880 gr).

Tal y como se puede observar, los porcentajes más elevados, que oscilan entre el 80% y el 90%, tuvieron lugar durante los intervalos de tiempo comprendidos entre noviembre-diciembre y enero-febrero. Posteriormente les siguió el período de marzo-abril con un 75%, para ir descendiendo hasta el mínimo anual durante los meses de verano, julio-agosto, en donde menos del 5% de los machos capturados presentaron los testículos en el escroto. En septiembre-octubre el porcentaje volvió a incrementarse como consecuencia del inicio del período reproductor ($X^2 = 72,39$; g.l.=5; $p < 0,001$).

Reduciendo el muestreo a intervalos mensuales, fueron los meses de diciembre, enero, febrero y marzo aquellos en los que más del 80% de los machos presentaron los testículos exteriorizados, superando el 90% en enero, febrero y marzo.

	Testic. escrotales	Testic. no escrotales	%
Ene-Feb	20	2	90,9
Mar-Abr	9	3	75
May-Jun	3	29	9,38
Jul-Ago	1	21	4,5

Sep-Oct	20	23	46,5
Nov-Dic	31	7	81,6

Tabla II: Número de machos capturados con peso superior a 880 gr que presentaron los testículos alojados en la bolsa escrotal.

Para el cálculo de la proporción de hembras gestantes capturadas en cada uno de los períodos bimestrales, se ha recurrido a los datos de aquellas hembras cuyo peso fue superior a 960 gr, que fue el peso de la hembra más pequeña (joven) con indicios de haber criado (mamas funcionales). De manera similar a los machos, los datos se han reflejado en la tabla III y como se observa, durante los meses de mayo a agosto no se capturó ninguna hembra gestante. Fue durante el período de septiembre-octubre cuando se capturaron las primeras hembras gestantes en un porcentaje muy bajo, para posteriormente incrementarse durante noviembre-diciembre y llegar a porcentajes más elevados (alrededor del 60%) durante los meses de enero-abril ($X^2 = 85,01$; g.l.=5; $p < 0,001$).

Ampliando el muestreo a meses, en diciembre y enero el porcentaje de hembras gestantes osciló entre el 40 y el 50%, y fue durante febrero, marzo y abril cuando este porcentaje se superó ampliamente, llegando incluso al 90% en el mes de febrero.

	Gestantes	No gestantes	%
Ene-Feb	16	11	59,3
Mar-Abr	9	5	64,3
May-Jun	0	44	0
Jul-Ago	0	45	0
Sep-Oct	4	57	6,6
Nov-Dic	16	22	42,1

Tabla III: Número de hembras gestantes capturadas con peso superior a 960 gr. en cada período bimestral.

La estimación del porcentaje de hembras en lactación (glándulas mamarias funcionales) se ha realizado en base al mismo intervalo de peso que para las hembras gestantes. El mayor porcentaje de hembras en lactación (tabla IV) correspondió una vez más al período marzo-abril, y el mínimo a mayo-octubre ($X^2 = 66,27$; g.l.=5; $p < 0,001$).

	Lactantes	No lactantes	%
Ene-Feb	7	20	25,9
Mar-Abr	10	4	71,4
May-Jun	3	41	6,8
Jul-Ago	1	44	2,2
Sep-Oct	1	60	1,6
Nov-Dic	4	34	10,5

Tabla IV: Número de hembras en lactación capturadas en cada período bimestral.

En la figura 10 se han representado los datos conjuntos del porcentaje de machos con los testículos escrotales, hembras gestantes y hembras en lactación frente al índice de abundancia medio (tasa de deposición de excrementos) estimado para cada uno de los períodos bimestrales a lo largo de todo el período de muestreo. Se observa cómo el porcentaje de hembras gestantes sigue un patrón de incremento similar al de los machos con testículos exteriorizados, si bien retrasado en el tiempo. Lo mismo ocurre con el porcentaje de hembras lactantes respecto al de hembras gestantes. Pese a todo es de resaltar las diferencias existentes entre el comienzo y el final del período reproductor. Aquel se caracteriza por un incremento más o menos paulatino de todos los índices hasta alcanzar el máximo anual, sin embargo el final de la reproducción tiene lugar con un descenso brusco y muy marcado de todos los índices reproductivos, coincidiendo con el máximo anual de población estimado mediante el índice de abundancia.

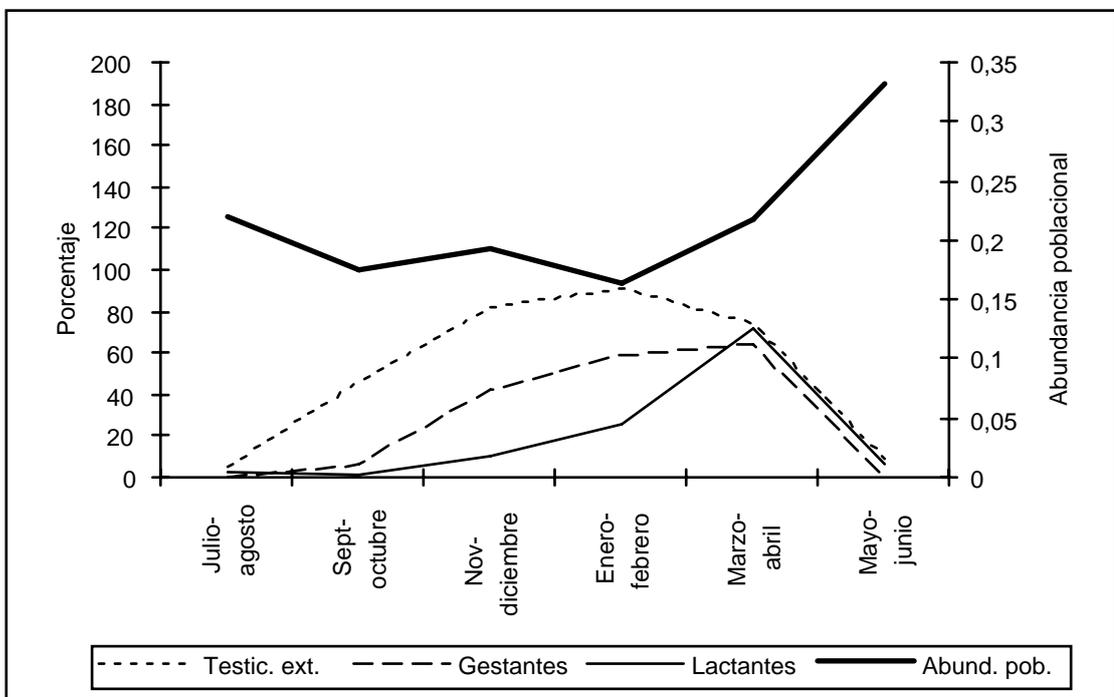


Figura 10: Representación conjunta y resumida por períodos bimestrales de los parámetros reproductivos frente a la abundancia poblacional.

4.1.2-Variación del peso corporal

La variación del peso corporal entre los conejos adultos es un buen índice para valorar su condición física, que a su vez depende estrechamente de las condiciones del medio.

En este caso se trata de evidenciar las diferencias en la variación anual del peso de los conejos, por lo que hemos utilizado únicamente los datos obtenidos de ejemplares adultos cuyo desarrollo corporal fue completo. Los datos de los 250 conejos se han agrupado en períodos cuatrimestrales, si bien no se ha dispuesto de muestra para el cuatrimestre enero-abril de 1995.

En la figura 11 se han representado los valores medios del peso corporal y sus intervalos de confianza al 95% para cada uno de los períodos cuatrimestrales. Se puede observar que existe un fuerte descenso en el peso medio de los conejos adultos a partir de finales de 1994 y especialmente a partir de 1995, en correspondencia con las difíciles condiciones del medio causadas por la sequía. Una vez que esta remitió, el peso corporal se incrementó hacia el final del período de estudio, en el cuatrimestre mayo-agosto de 1996.

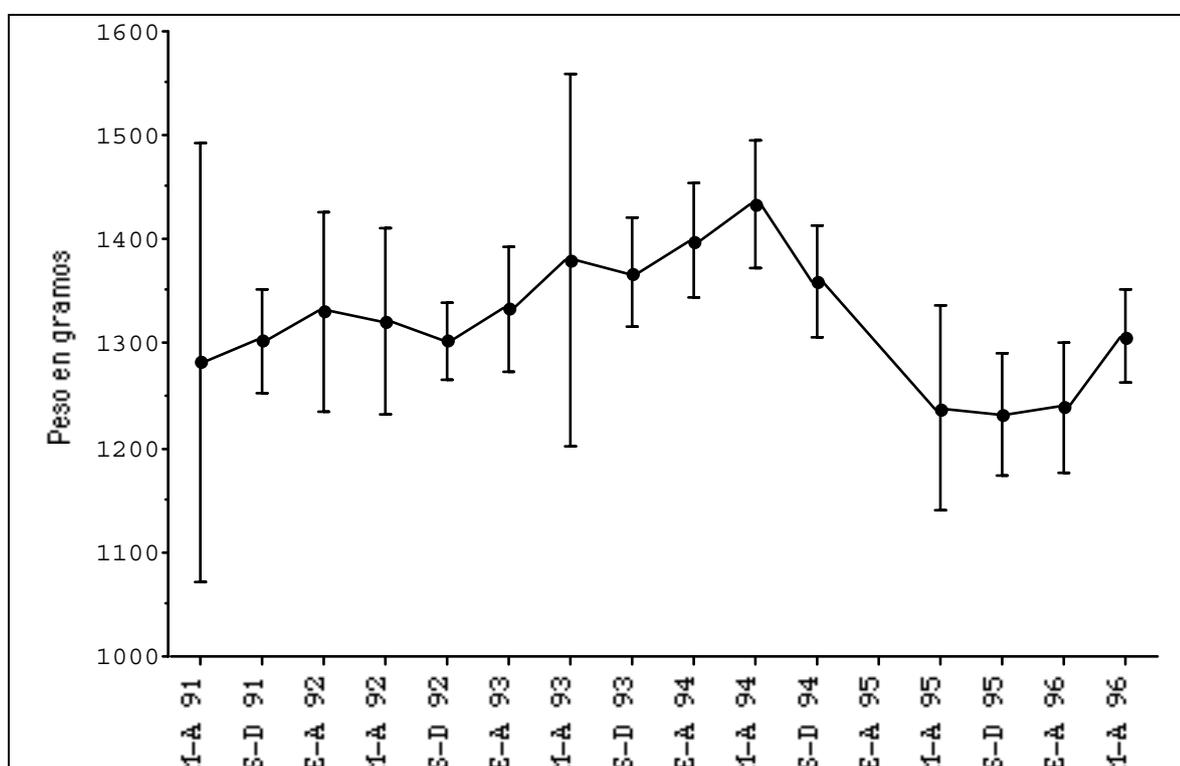


Figura 11: Variación del peso medio corporal de los conejos adultos, estimado para cada período cuatrimestral (intervalo de confianza al 95%).

4.1.3-Variación de la abundancia poblacional

El seguimiento de la variación de la abundancia relativa de la población de conejos estudiada se llevó a cabo mediante la estimación de la tasa de deposición de excrementos, realizándose una estima mensual los días 18 de cada mes. En la figura 12 se ha representado la tasa o número medio de excrementos depositados por día en $0,32\text{m}^2$, que es la superficie muestreada en cada estación de conteo. Cada estimación ha sido denominada con el nombre del mes en el que se llevó a cabo, abarcando el período comprendido entre marzo de 1992 y septiembre de 1996.

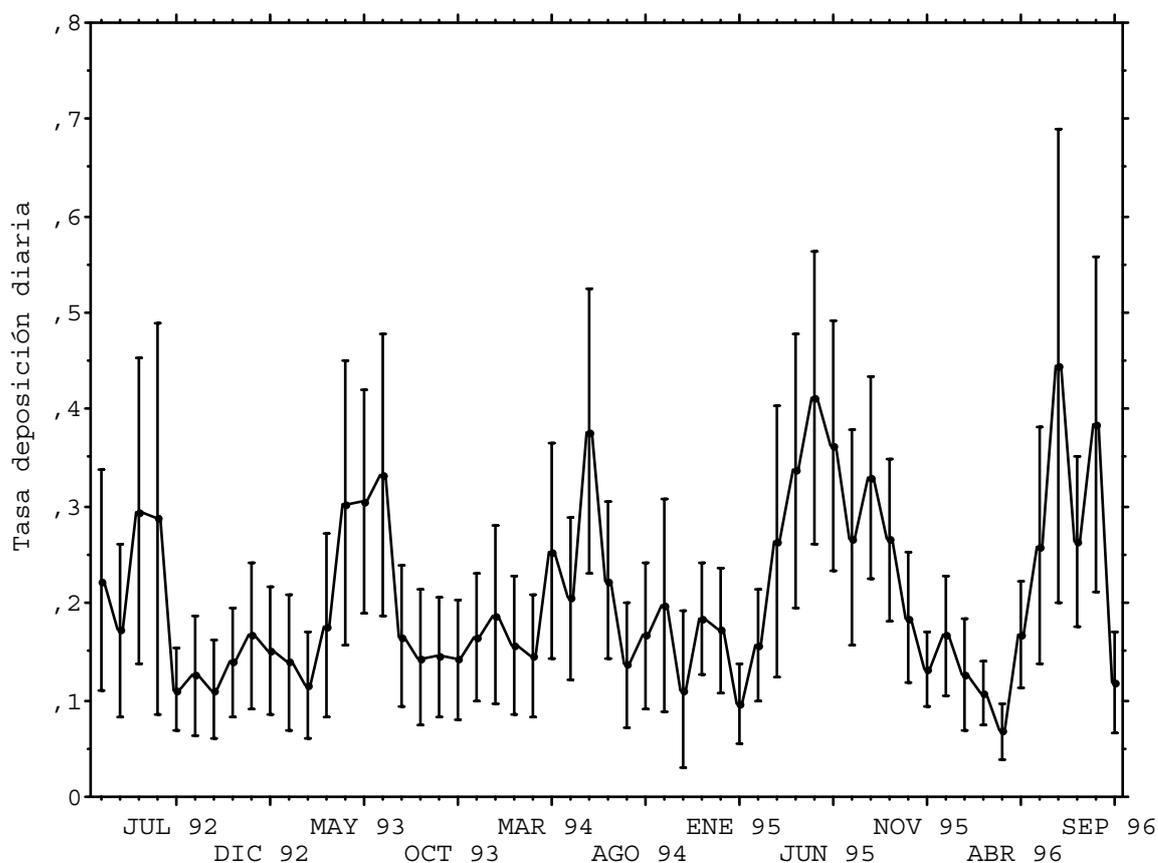


Figura 12: Media mensual de la tasa de deposición diaria de excrementos y sus intervalos de confianza al 95%.

Aparentemente se observa un incremento progresivo del índice de abundancia, especialmente a partir de enero de 1995 y que continuó en 1996 pese al notable descenso ocurrido en marzo de este mismo año. No obstante, el cálculo y representación de la media acumulada para periodos de cuatro y doce meses en la figura 13 muestran de forma más clara esta tendencia, especialmente para 1995.

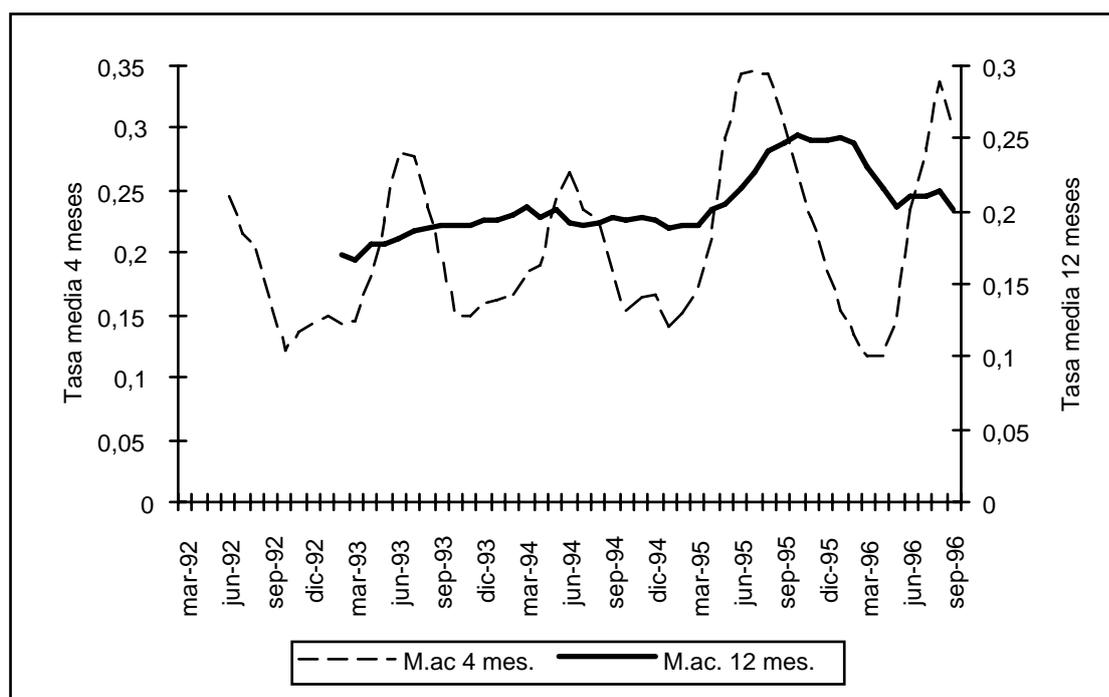


Figura 13: Media acumulada cada 4 y 12 meses del valor medio mensual de la tasa diaria de deposición de excrementos por unidad de superficie.

4.2-Distribución temporal de los casos de VHD y mixomatosis

Durante las numerosas y periódicas visitas al área de estudio se dedicó especial esfuerzo al avistamiento de conejos con evidentes lesiones de mixomatosis y al hallazgo de cadáveres, especialmente aquellos que presentasen signos externos compatibles con la muerte por VHD.

Ordenados cronológicamente en la tabla V, se han reflejado los datos de los cadáveres encontrados con lesiones susceptibles de haber sido producidas por el virus de la VHD. Los cadáveres han sido clasificados como pertenecientes a animales adultos o bien a animales jóvenes (con el desarrollo corporal incompleto), mientras que en la tercera columna se ha especificado el resultado del test de hemoaglutinación para la detección de partículas víricas en tejido hepático. Este test diagnóstico únicamente se utilizó en aquellos casos en los que el cadáver presentó un adecuado estado de conservación. Se puede observar que se obtuvieron resultados positivos a la hemoaglutinación únicamente durante 1993, 1994 y principios de 1995, mientras que todas las muestras analizadas a partir de ese momento y hasta final del estudio dieron resultados negativos. El animal de menor tamaño positivo a HA fue encontrado muerto en febrero de 1995, con 270 grs de peso.

Los meses en que fue relativamente más fácil encontrar cadáveres de conejos aparentemente muertos por VHD fueron los meses de invierno, principalmente de enero a marzo, y especialmente conejos adultos. A partir de ese momento la mayoría de los animales encontrados fueron conejos jóvenes nacidos en esa misma temporada de cría.

MES	Positivo necropsia	Diagnostico H.A.
1992		
Mayo	1 Ad.	
Diciembre	6 Ad.	
1993		
Enero	2 Ad.	2 Ad (+)
Marzo	13 Jov.	3 Jov (-)
Diciembre	2 Ad.	
1994		
Enero	3 Ad.	3 Ad. (+)
1995		
Febrero	8 Ad. ; 4 Jov.	3 Ad.(+) ; 1 Ad.(-) ; 4 Jov.(+) ; 3 Jov. (-)
Marzo	1 Ad. ; 6 Jov.	
Abril	1 Jov.	
Mayo	2 Ad. ; 11 Jov.	2 Jov. (-)
Junio	4 Jov.	2 Jov. (-)
Septiembre	1 Ad. ; 1 Jov.	1 Ad (-) ; 1 Jov. (-)
Octubre	1 Ad.	
Noviembre	1 Jov.	1 Jov. (-)
1996		
Enero	2 Ad.	
Febrero	1 Ad.	
Marzo	1 Ad.	1 Ad. (-)
Abril	1 Ad.	1 Ad. (-)
Mayo	2 Jov.	
Junio	1 Jov.	1 Jov. (-)
Julio	1 Jov.	1 Jov. (-)

Tabla V: Fecha de localización de cadáveres de conejos con lesiones de VHD clasificados según edad y resultado del diagnóstico mediante HA.

En relación a la mixomatosis, el avistamiento de conejos con síntomas de infección avanzada fue relativamente más fácil que el hallazgo de cadáveres. En la tabla VI se encuentran los meses en los que se avistaron o fueron capturados conejos con estas características desde el inicio de los trabajos hasta varios meses después de finalizado. En comparación, la observación de los primeros conejos mixomatosos durante los brotes anuales tuvo lugar en fechas más tardías que el hallazgo de los primeros conejos muertos por VHD.

1991	1992	1993	1994	1995	1996
Noviembre	Marzo Abril Mayo Junio Julio	Marzo Abril Mayo Junio Diciembre	Marzo Mayo Julio	Febrero Marzo Abril Mayo Junio	Junio Julio Agosto Septiembre Octubre

Tabla VI: Meses en los que se avistó conejos enfermos de mixomatosis.

En la figura 14 se observa que el avistamiento de animales mixomatosos coincidió con los picos de máxima abundancia poblacional, cuando la mayoría de la población estuvo compuesta por conejos jóvenes.

4.3-Índice relativo de inmunidad frente a mixomatosis

Hemos considerado que los principales factores que pueden influir en la variación del índice de inmunidad frente a mixomatosis han sido: la edad, el sexo, el año y el período cuatrimestral del mismo. Se ha diferenciado el análisis de los datos correspondientes a los conejos adultos (n=144) respecto a los de los jóvenes (n=188) ya que la verdadera edad de cada uno de los conejos adultos fue desconocida, mientras que para los conejos jóvenes se ha utilizado el peso corporal como estimador de la misma. Los factores año y cuatrimestre corresponden al momento en el que fueron capturados los conejos, dividiéndose el año en tres períodos: enero-abril, mayo-agosto y septiembre-diciembre.

Teniendo en cuenta que los valores 0 y 1 del IR pueden considerarse como seronegativos, dentro de cada una de las categorías de edad se ha analizado tanto la variación de la prevalencia de anticuerpos, mediante un análisis de regresión logística, como el valor medio del IR entre los conejos seropositivos, mediante un análisis de la varianza. En este último caso, para los datos de los conejos jóvenes se ha utilizado un análisis de la covarianza, debido a la inclusión de la variable "peso corporal" como estimador de la edad.

4.3.1-Adultos

El análisis de regresión logística no ha detectado diferencias significativas en la variación de la prevalencia de anticuerpos en función de los tres factores estudiados (tabla VII). Tampoco el análisis de la varianza ha encontrado diferencias significativas en la variación del IR entre los conejos seropositivos (lo que equivaldría a la tasa de anticuerpos) en función del año y del período cuatrimestral (tabla VIII); sin embargo ha detectado tal diferencia en función del factor sexo ($p < 0,05$). En este caso, las hembras presentaron unos valores de IR ligeramente superiores ($7,95 \pm 0,272$; $n=88$) al de los machos ($7,152 \pm 0,327$; $n=65$).

	g.l.	χ^2	P
Año	4	2,698	n.s.
Cuatrimestre	2	1,022	n.s.
Sexo	1	1,35	n.s.

Tabla VII: Análisis de la variación de la prevalencia de anticuerpos frente a mixomatosis en función del año, cuatrimestre y sexo.

	g.l.	F	P
Año	4	0,469	n.s.
Cuatrimestre	2	1,426	n.s.
Sexo	1	3,915	p<0,05

Tabla VIII: Análisis de la variación del IR frente a mixomatosis en los conejos seropositivos en función del año, cuatrimestre y sexo.

En la tabla IX se encuentra el número de conejos adultos muestreados en cada período cuatrimestral, junto al número de seropositivos (entre paréntesis), a la prevalencia de anticuerpos (%) y al valor medio del IR para los seropositivos. En general, el perfil serológico frente a mixomatosis entre los conejos adultos se caracterizó por una elevada prevalencia, con niveles próximos al 100% durante todo el estudio, y también una elevada tasa de anticuerpos, reflejada en el valor medio del IR para los conejos seropositivos.

	Ene-Abr	May-Ago	Sep-Dic	Totales
1992	n=3 (3) - 9±1	n=3 (2) - 8±2	n=11 (10) 90,91% 7,3±0,978	n=17 (15) 88,23% 7,733±0,714
1993	n=4 (4) - 8,25±1,031	n=2 (2) - 5±1	n=22 (22) 100% 8±0,51	n=28 (28) 100% 7,821±0,449
1994	n=21 (19) 90,48% 8,263±0,512	n=10 (10) 100% 8,9±0,605	n=15 (15) 100% 6,267±0,864	n=46 (45) 100% 7,778±0,412
1995	n=0 - -	n=16 (16) 100% 7,312±0,74	n=17 (17) 100% 7,765±0,559	n=33 (33) 100% 7,545±0,454
1996	n=12 (12) 100% 8±0,615	n=20 (20) 100% 6,75±0,632	n=0 - -	n=32 (32) 100% 7,219±0,464
Totales	n=40 (39) 97,5% 8,282±0,333	n=51 (50) 98,04% 7,34±0,388	n=65 (64) 98,46% 7,422±0,344	

Tabla IX: Prevalencia de anticuerpos frente a mixomatosis y valor medio del IR entre los conejos adultos seropositivos.

4.3.2-Jóvenes

Tanto la prevalencia como el valor medio del IR de los conejos seropositivos mostraron variaciones significativas en función del año y del período cuatrimestral (p<0,001). En la tabla XII, en la que se ha reflejado tanto la prevalencia como el valor

medio del IR para los años y los cuatrimestres, se observa que las diferencias entre años se deben básicamente a los reducidos valores estimados para 1996, año en que la epizootia de mixomatosis se retrasó considerablemente, de tal manera que el único período en el que se obtuvo muestra presentó una prevalencia y un valor medio del IR muy inferior a otros años para ese mismo período. Por otro lado, las diferencias intraanuales son debidas a los mínimos valores de ambos parámetros durante los cuatrimestres enero-abril.

En general, durante los años 1993, 94 y 95, el patrón serológico de los conejos jóvenes se caracterizó por un rápido incremento de ambos valores, hasta alcanzar niveles similares a los de los conejos adultos a mediados y finales de cada año, mientras que el retraso del período reproductor de 1996 tuvo como consecuencia el retraso de la epizootia de mixomatosis hasta más tarde de la finalización del período de estudio.

	g.l.	χ^2	P
Año	3	35,053	p<0,001
Cuatrimestre	2	14,589	p<0,001
Sexo	2	2,84	n.s.
Peso	1	0,262	n.s.

Tabla X: Análisis de la variación de la prevalencia de anticuerpos frente a mixomatosis en función del año, cuatrimestre, sexo, y edad (estimada mediante el peso corporal).

	g.l.	F	P
Año	3	7,917	p<0,001
Cuatrimestre	2	9,442	p<0,001
Sexo	2	0,105	n.s.
Peso	1	0,555	n.s.

Tabla XI: Análisis de la variación del IR frente a mixomatosis en conejos seropositivos en función del año, cuatrimestre, sexo, y edad (estimada mediante el peso corporal).

	Ene-Abr	May-Ago	Sep-Dic	Totales
1993	n=8 (1) 12,5% 6	n=0 - -	n=17 (15) 88,24% 9,067±0,589	n=25 (16) 64% 8,875±0,584
1994	n=3 (1) - 2	n=10 (7) 70% 10±0	n=9 (8) 88,89% 7,5±0,598	n=22 (16) 72,73% 8,25±0,595
1995	n=14 (10) 71,43% 7,1±0,752	n=51 (51) 100% 8,804±0,28	n=33 (33) 100% 7,485±0,489	n=98 (94) 95,92% 8,16±0,25

1996	n=0 - -	n=43 (4) 9,3% 2,5±0,5	n=0 - -	n=43 (4) 9,3% 2,5±0,5
Totales	n=25 (12) 48% 6,583±0,753	n=104 (62) 59,62% 8,532±0,312	n=59 (56) 94,92% 7,911±0,348	

Tabla XII: Prevalencia de anticuerpos frente a mixomatosis y valor medio del IR en conejos jóvenes seropositivos, en función del año y del período cuatrimestral.

Respecto a la edad, en la tabla XIII el total de conejos jóvenes se han clasificado en dos grupos en función de su peso corporal. La clase de animales más jóvenes ha estado constituida por aquellos con un peso igual o inferior a 820 grs. (en la muestra entre 400-820gr), y la segunda clase por animales con un peso corporal igual o superior a 830 gr (en la muestra entre 830-1360 gr). Estimando la equivalencia en meses de edad a partir de la fórmula de crecimiento estimada en el apartado Material y Métodos, las clases comprenderían a los animales que estuviesen en su cuarto mes de vida o inferior, y a los animales que estuviesen entre el quinto y el octavo mes de vida. La prevalencia de anticuerpos fue superior en el grupo de más edad para los años 1993, 95 y 96, si bien en este último año, en el que todos los conejos jóvenes fueron capturados durante el cuatrimestre mayo-agosto, las diferencias resultaron mínimas.

	2-4 meses	5-8 meses	Totales
1993	n=5 (1) 20% 6	n=20 (15) 75% 9,067±0,589	n=25 (16) 64% 8,875±0,584
1994	n=4 (3) - 7,333±2,667	n=18 (13) 72,22% 8,461±0,501	n=22 (16) 72,73% 8,25±0,595
1995	n=28 (24) 85,71% 7,958±0,509	n=70 (70) 100% 8,229±0,29	n=98 (94) 95,92% 8,16±0,251
1996	n=19 (1) 5,26% 4	n=24 (3) 12,5% 2±0	n=43 (4) 9,3% 2,5±0,5
Totales	n=56 (29) 51,79% 7,69±0,501	n=132 (101) 76,51% 8,198±0,253	

Tabla XIII: Prevalencia de anticuerpos frente a mixomatosis y valor medio del IR de los conejos jóvenes seropositivos, en función del año y de la edad.

4.3.3-Comparación Adultos /Jóvenes

Aparentemente, y como sucede en la mayoría de las enfermedades infecciosas, la edad de los animales es un factor de variación importante en la prevalencia de anticuerpos frente a mixomatosis. No obstante, el conejo es un animal que tiene un rápido desarrollo corporal desde el nacimiento hasta que alcanza la edad adulta, y resulta interesante saber si ello va acompañado también de la consecución de un estatus inmunitario frente a esta enfermedad similar en los animales adultos de todas las edades. Para ello se ha realizado un análisis comparativo de la prevalencia y del índice relativo de inmunidad entre los animales seropositivos capturados en el cuatrimestre septiembre-diciembre de cada año, diferenciando entre conejos adultos (desarrollo corporal completo) y conejos nacidos en el

año (jóvenes). Con el fin de aproximar el análisis a los datos de los conejos jóvenes de mayor edad, se ha eliminado de este grupo los nacidos en el cuatrimestre mayo-agosto.

Los resultados de los análisis (Tablas XIV y XV) muestran que ni la prevalencia de anticuerpos ni el valor medio del IR entre los animales seropositivos difieren significativamente entre ambas clases de edad, mostrando elevados valores para los dos parámetros, con una prevalencia que roza e incluso llega a alcanzar el 100% de los animales, y unos valores medios del IR superiores a 6 en todos los casos.

	Jóvenes	Adultos	P
1993	16 (14) 87,5%	22 (22) 100%	$X^2=2,903$ n.s.
1994	8 (8) 100%	15 (15) 100%	-
1995	29 (29) 100%	17 (17) 100%	-

Tabla XIV: Tabla de contingencia de la prevalencia de anticuerpos frente a mixomatosis en función del año y de la edad de los conejos.

	Joven	Adulto	Total
1993	n=14 9±0,629	n=22 8±0,51	n=36 8,389±0,389
1994	n=8 7,5±0,598	n=15 6,266±0,864	n=23 6,696±0,604
1995	n=29 7,414±0,529	n=17 7,765±0,559	n=46 7,543±0,389
Total	n=51 7,863±0,367	n=54 7,444±0,37	n=105 7,648±0,26

Tabla XV: Tamaño muestral y valores medios del IR de los animales seropositivos.

	g.l.	F	P
Año	2	2,619	n.s.
Edad	1	1,282	n.s.

Tabla XVI: Análisis de varianza realizado con los IR frente a mixomatosis de los conejos seropositivos.

4.4-Índice relativo de inmunidad frente a VHD

El análisis de la variación del IR frente a VHD se ha realizado de idéntica forma al de mixomatosis, analizando por separado los datos de los conejos adultos y jóvenes, e incluyendo en estos últimos la variable "peso corporal" como estimador de la edad.

Dentro de cada categoría de animales se ha examinado tanto la variación de la prevalencia de anticuerpos como del valor medio del IR entre los conejos seropositivos.

4.4.1-Adultos

Tanto el análisis de regresión logística como el de varianza (tabla XVII y XVIII) han encontrado diferencias significativas en función del año para la variación de la prevalencia y del valor medio del IR de los conejos seropositivos.

En la tabla XIX, en la que se ha reflejado el número de conejos adultos muestreados en cada período cuatrimestral, el número de seropositivos (entre paréntesis), la prevalencia de anticuerpos y al valor medio del IR para los seropositivos, se puede observar que esta variación en función del año fue debida al incremento de ambos parámetros a lo largo del estudio, especialmente durante los años 1995 y 1996, durante los cuales la prevalencia media de todos los conejos adultos capturados fue superior al 80% y al 90% respectivamente, en contraposición a las prevalencias estimadas para 1992 y 1993 que oscilaron alrededor del 40%-50%.

	g.l.	X ²	P
Año	4	15,77	p<0,01
Cuatrimestre	2	2,901	n.s.
Sexo	1	0,731	n.s.

Tabla XVII: Análisis de la variación de la prevalencia de anticuerpos frente a VHD en función del año, cuatrimestre y sexo.

	g.l.	F	P
Año	4	6,457	p<0,001
Cuatrimestre	2	1,095	n.s.
Sexo	1	0,08	n.s.

Tabla XVIII: Análisis de la variación del IR frente a VHD en los conejos seropositivos en función del año, cuatrimestre y sexo.

	Ene-Abr	May-Ago	Sep-Dic	Totales
1992	n=3 (2) - 7±3	n=3 (2) - 2±0	n=11 (5) 45,45% 3,4±0,927	n=17 (9) 52,94% 3,889±0,935
1993	n=4 (3) - 8,333±1,667	n=2 (2) - 5,5±3,5	n=22 (8) 36,36% 3,875±1,025	n=28 (13) 46,43% 5,154±0,96
1994	n=21 (15) 71,43% 4,333±0,688	n=10 (4) 40% 2,75±0,75	n=15 (10) 66,67% 5±0,977	n=46 (29) 63,04% 4,345±0,504
1995	n=0 - -	n=16 (14) 87,5% 7,286±0,737	n=17 (14) 82,35% 6,071±0,759	n=33 (28) 84,85% 6,679±0,532
1996	n=12 (12) 100% 7,75±0,552	n=20 (19) 95% 7,737±0,625	n=0 - -	n=32 (31) 96,87% 7,742±0,432
Totales	n=40 (32) 80% 6,156±0,522	n=51 (41) 80,39% 6,707±0,493	n=65 (37) 56,92% 4,946±0,479	

Tabla XIX: Prevalencia de anticuerpos y valor medio del IR frente a VHD de los conejos adultos seropositivos en cada uno de los períodos cuatrimestrales.

4.4.2-Jóvenes

El análisis de regresión logística detecta diferencias significativas para la variación de la prevalencia de anticuerpos en función del año, del cuatrimestre y del peso (edad) de los conejos jóvenes, mientras que el análisis de la varianza únicamente encuentra diferencias significativas para la variación del IR de los conejos seropositivos en función del período cuatrimestral (tabla XX y XXI).

	g.l.	X ²	P
Año	3	11,445	p<0,01
Cuatrimestre	2	8,135	p<0,05
Sexo	2	0,031	n.s.
Peso	1	9,489	p<0,01

Tabla XX: Análisis de la variación de la prevalencia de anticuerpos frente a VHD en función del año, cuatrimestre, sexo, y edad (estimada mediante el peso corporal).

	g.l.	F	P
Año	3	1,754	n.s.
Cuatrimestre	2	8,054	p<0,001
Sexo	2	2,414	n.s.
Peso	1	0,878	n.s.

Tabla XXI: Análisis de la variación del IR frente a VHD en los conejos seropositivos en función del año, cuatrimestre, sexo, y edad (estimada mediante el peso corporal).

En función del año (tabla XXII) la variación más importante fueron los reducidos valores de prevalencia estimados para 1994, especialmente si los comparamos con los de 1995 y 1996, mientras que en función del período cuatrimestral parece ser la disminución de ambos parámetros hacia septiembre-diciembre la principal característica del patrón de variación.

	Ene-Abr	May-Ago	Sep-Dic	Totales
1993	n=8 (3) 37,5% 9±1	n=0 - -	n=17 (8) 47,06% 3,125±0,398	n=25 (11) 44% 4,727±0,905
1994	n=3 (0) - 0	n=10 (2) 20% 3±0	n=9 (1) 11,11% 3	n=22 (3) 13,64% 3±0
1995	n=14 (9) 64,29% 5,889±0,9782	n=51 (32) 62,75% 6,469±0,477	n=33 (14) 42,42% 4,071±0,559	n=98 (55) 56,12% 5,764±0,371
1996	n=0 - -	n=43 (24) 55,81% 7,25±0,6	n=0 - -	n=43 (24) 55,81% 7,25±0,6

Totales	n=26 (12) 46,15% 6,667±0,856	n=104 (58) 55,77% 6,672±0,373	n=59 (23) 38,98% 3,696±0,374
---------	------------------------------------	-------------------------------------	------------------------------------

Tabla XXII: Prevalencia de anticuerpos y valor medio del IR en los conejos jóvenes seropositivos frente a VHD, en función del año y del cuatrimestre.

Según la edad, la prevalencia de anticuerpos ha aumentado en relación directa a aquella. Para su caracterización en la tabla XXIII, los datos se han presentado de la misma manera que en el apartado de mixomatosis, dividiendo la muestra de animales en dos grupos en función de su peso. Un primer grupo con un peso inferior o igual a los 820 grs., que incluiría a los conejos que estuviesen como máximo en su cuarto mes de vida, y un segundo grupo con más de 820 grs. de peso, que comprendería animales entre el quinto y octavo mes de edad. En general, la prevalencia de anticuerpos frente a VHD fue superior en el grupo de más edad, con una diferencia más acentuada en el año 1996, cuando todos los animales jóvenes fueron capturados en el cuatrimestre mayo-agosto.

	2-4 meses	5-8 meses	Totales
1993	n=5 (2) 40% 8,5±1,5	n=20 (9) 45% 3,889±0,841	n=25 (11) 44% 4,727±0,905
1994	n=4 (0) - 0	n=18 (3) 16,67% 3±0	n=22 (3) 13,64% 3±0
1995	n=28 (15) 53,57% 5,8±0,732	n=70 (40) 57,14% 5,75±0,435	n=98 (55) 56,12% 5,764±0,371
1996	n=19 (7) 36,84% 6,286±1,358	n=24 (17) 70,83% 7,647±0,641	n=43 (24) 55,81% 7,25±0,6
Totales	n=56 (24) 42,86% 6,167±0,613	n=132 (69) 52,27% 4,94±0,109	

Tabla XXIII: Prevalencia de anticuerpos y valor medio del IR frente a VHD en conejos jóvenes, en función del año y de la edad.

4.4.3-Comparación Adultos /Jóvenes

Como en el apartado de mixomatosis, se ha procedido a estimar las posibles diferencias en la prevalencia y el IR de los conejos seropositivos entre ambas clases de edad. Para ello se han utilizado únicamente los datos de los conejos capturados en el cuatrimestre septiembre-diciembre de cada año, excluyendo a aquellos conejos jóvenes que hubieran nacido entre mayo-agosto con el fin de utilizar únicamente los datos de los conejos jóvenes con más edad.

Mientras que para el IR no se detectan diferencias significativas entre ambas clases de edad (tabla XXV), en relación a la prevalencia de anticuerpos (tabla XXIV), ésta fue ligeramente superior en los animales jóvenes en 1993, aunque tal diferencia no es significativa. Por el contrario, para 1994 y 1995 la prevalencia de los animales adultos fue

notablemente más elevada que la de los jóvenes, siendo la diferencia en ambos años estadísticamente significativa.

Estas marcadas diferencias en la prevalencia de anticuerpos frente a VHD entre ambas clases de edad, supone que los animales nacidos durante un determinado período reproductor, no alcanzaron el mismo nivel inmunitario que los adultos, por lo que la población reproductora del siguiente año estuvo constituida por una parte de adultos más viejos con un nivel de inmunidad más elevado que el resto de conejos de un año de edad o menos. Estas diferencias probablemente fueron mayores en la realidad, puesto que si bien todos los animales nacidos en el año pudieron ser clasificados fácilmente como tales, en la categoría de animales adultos existieron conejos pertenecientes a las primeras cohortes de nacimiento y que en este período del año (septiembre-octubre) fueron imposibles de detectar con los métodos utilizados en el presente trabajo.

	Jóvenes	Adultos	P
1993	n=16 (7) 43,75%	n=22 (8) 36,36%	$X^2=0,211$ n.s.
1994	n=8 (1) 12,5%	n=15 (10) 66,67%	Test Fisher $p<0,05$
1995	n=29 (12) 41,38%	n=17 (14) 82,35%	$X^2=7,322$ $p<0,01$

Tabla XXIV: Tabla de contingencia de la prevalencia de anticuerpos frente a VHD en función del año y de la edad de los conejos.

	Joven	Adulto	Total
1993	n=7 $3,143\pm0,459$	n=8 $3,875\pm1,025$	n=15 $3,533\pm0,576$
1994	n=1 3	n=10 $5\pm0,977$	n=11 $4,818\pm0,903$
1995	n=12 $4,333\pm0,619$	n=14 $6,071\pm0,759$	n=26 $5,269\pm0,519$
Total	n=20 $3,85\pm0,418$	n=32 $5,187\pm0,526$	n=52 $4,673\pm0,37$

Tabla XXV: Tamaño muestral y valores medios del IR de los animales seropositivos.

	g.l.	F	P
Año	1	4,497	$p<0,05$
Edad	1	2,392	n.s.

Tabla XXVI: Parámetros del análisis de varianza realizado con los IR frente a VHD de los conejos seropositivos.

4.5-Mortalidad y sus causas

Los resultados de supervivencia y mortalidad se han analizado por separado para cada una de las dos clases de edad (adultos y jóvenes), debido a las diferencias existentes entre ambas. Para el cálculo de las tasas de mortalidad por caza, inundación o predación se han agrupado los datos de los conejos vacunados y no vacunados, con el fin de aumentar la precisión de los resultados, mientras que para la estimación de la mortalidad por patologías únicamente se han utilizado los datos de los conejos no vacunados. En este caso, además, se han calculado las tasas de mortalidad en función de la presencia-ausencia de anticuerpos frente a VHD.

En el caso de la mixomatosis no se han considerado las diferencias de supervivencia entre conejos seropositivos o seronegativos, ya que de los 107 conejos adultos radiomarcados, 103 presentaron anticuerpos frente a mixomatosis en el momento del marcaje, y únicamente 4 ejemplares capturados cuando eran jóvenes, fueron seronegativos, si bien a partir de enero del año siguiente a su nacimiento, cuando estos cuatro animales fueron considerados como adultos, su estado inmunitario frente a esta enfermedad era desconocido. Por otro lado, el estatus inmunitario frente a mixomatosis entre los jóvenes de menor edad fue también desconocido, así que sus datos no se han analizado en relación a este factor.

El total de la muestra de conejos adultos radiomarcados incluidos en el análisis estuvo compuesta por 38 animales vacunados frente a mixomatosis y VHD en el momento de la captura, y 69 sin vacunar. Como además se ha tenido en cuenta la presencia o ausencia de anticuerpos frente a VHD, la muestra se ha dividido en 3 subgrupos:

- 34 conejos no vacunados y sin anticuerpos (negativos)
- 35 conejos no vacunados y con anticuerpos (positivos)
- 38 conejos vacunados

El primer animal adulto se radiomarcó en diciembre de 1992, sin embargo, como consecuencia del reducido número de radioemisores disponibles durante el primer año de estudio, la variabilidad de los resultados fue elevada, por lo que los datos obtenidos desde diciembre de 1992 hasta octubre de 1993 no han sido incluidos, salvo en algún caso particular referente a la epidemiología de la VHD en que se han considerado de especial interés.

	No Vac. Negativos	No Vac. positivos	Vacunados
EF93	112 1Pt	166 -	85 1P(z);1Pt
MA93	92 -	210 1P(z)	90 -
MJ93	61 -	126 1P(z)	59 1P(z); 1P(r)
JA93	27 1P(r)	89 1P(z)	-
SO93	105 1P(i)	167 -	141 1P(z)
ND93	411 1P(z);1P(r)	260 -	257 -
EF94	550 1P(z);4Pt;1Pt(m)	423 -	606 1Cz
MA94	401 -	379 1P(i)	564 1P(z)
MJ94	427 -	360 -	482 1Pt(m)
JA94	422 1Cz	310 -	434 -
SO94	393 -	253 1P(z);1P(i)	427 -
ND94	413 1P(r)	273 1P(i)	485 1P(z);1Cz
EF95	644 2Pt;2Pt(m)	413 -	695 1Cz
MA95	427 -	421 1P(z)	621 -
MJ95	427 -	309 1Pt	610 -
JA95	434 -	265 -	579 2Cz
SO95	431 1P(z)	370 1P(i);1Pt(m)	552 1P(z)
ND95	364 1P(z);1P(r)	371 1Cz	524 1P(z);2P(i)
EF96	481 1P(z)	722 2P(z)	867 -
MA96	488 -	804 1Pt(m)	899 1P(i)
MJ96	433 1In	614 1P(z);1Pt	744 2In

Tabla XXVII: Número de radiodías y de conejos adultos radiomarcados muertos por cada una de las diferentes causas de mortalidad en cada uno de los períodos bimestrales. P(z,r,i), predación por zorro, rapaz o indeterminado; Pt(m), muerto por causas patológicas "m" indica dentro de la madriguera,; Cz, cazado; In, conejos muertos por inundación producida por lluvias torrenciales.

Los datos a partir de los cuales se han elaborado los resultados se encuentran reflejados en la tabla XXVII y XXVIII. La tabla XXVII incluye los datos obtenidos de los conejos adultos, así como el número de radiodías de cada uno de los intervalos bimestrales en que se ha dividido el período de estudio (línea superior), y los individuos muertos por

cada una de las causas de mortalidad identificadas: Caza (Cz), Patología (Pt), Inundación (In) y Predación (P). En el caso de la predación, el tipo de predador implicado es identificado con una letra: "z" zorro, "r" rapaz, e "i" indeterminado cuando no fue posible la identificación. En el caso de la muerte por causas patológicas, se incluyen tanto aquellos que fueron encontrados muertos por VHD fuera de la madriguera como aquellos que murieron dentro de la misma. En este último caso se les ha identificado con la letra "m", si bien en algunos casos fue posible la recuperación del cadáver y la identificación por necropsia de lesiones características de VHD.

El marcaje y radioseguimiento de conejos jóvenes se llevó a cabo durante 1993, 94 y 95, estando constituida la muestra por 66 conejos vacunados y 80 no vacunados. De manera similar a los adultos, los datos obtenidos se han reflejado en la tabla XXVIII, aunque agrupados en períodos cuatrimestrales. En este grupo de edad hubo un caso de predación por perro que ha sido referenciado con ese nombre en la tabla.

	No vac. con 1º sem.	No vac. sin 1º sem.	Vac. con 1º sem.	Vac. sin 1º sem.
EA93	245 4P(r);2P(z);2P(i) 1Pt	166 1P(r);2P(z);1P(i)	424 2Pt	351 -
MA93	156 1P(r);2P(i)	146 1P(r);2P(i)	717 1P(r)	717 1P(r)
SD93	716 1P(r);1P(z);1P(i)	657 1P(r);1P(i)	706 1P(r);3P(z)	657 3P(z)
EA94	105 -	70 -	139 -	103 -
MA94	237 2P(z) 1Pt(m)	217 2P(z) 1Pt(m)	402 1P(z) 1Pt(m)	392 1P(z)
SD94	231 1P(i)	190 -	280 1Cz	259 1Cz
EA95	384 1P(i) 1Pt;5Pt(m)	308 1P(i) 1Pt;2Pt(m)	397 1Pt;1Pt(m)	343 -
MA95	1186 2P(r);2P(z);4P(i) 1Cz	1086 1P(r);1P(z);2P(i) 1Cz	1002 3P(r);6P(z) 1P(perro);7P(i) 1Pt(m)	882 1P(r);2P(z) 1P(perro);6P(i)
SD95	1275 1P(r);3P(i) 2Pt;1Pt(m);2Cz	1189 2P(i) 1Pt;1Pt(m);2Cz	1163 1P(z);4P(i) 1Pt(m)	1104 1P(z);1P(i)

Tabla XXVIII: Número de radiodías y de conejos jóvenes radiomarcados muertos por cada una de las diferentes causas de mortalidad en cada uno de los períodos cuatrimestrales. P(z,r,i), predación por zorro, rapaz o indeterminado; Pt(m), muerto por causas patológicas "m" indica dentro de la madriguera.; Cz, cazado; In, conejos muertos por inundación producida por lluvias torrenciales.

En los conejos adultos no se observaron diferencias de supervivencia o mortalidad entre la primera y la segunda semana posterior al marcaje (tiempo mínimo necesario para

que la inmunización vacunal sea efectiva según Arguello (1991). Sin embargo entre los conejos jóvenes se detectó un descenso notable de la mortalidad desde la primera a la segunda semana, por lo que las tasas de mortalidad para este grupo se han calculado incluyendo y excluyendo estos primeros 7 días, tanto para los vacunados como para los no vacunados.

En lo siguientes apartados se han estimado, en primer lugar, las tasas totales de mortalidad y el efecto de la vacunación contra VHD y mixomatosis sobre las mismas, para posteriormente caracterizar cada uno de los factores de mortalidad identificados y estimar las tasas específicas de mortalidad para cada uno de los grupos de conejos.

4.5.1-Mortalidad y efecto de la vacunación

4.5.1.1-Adultos

La mortalidad anual de los conejos adultos no vacunados presentó unos valores muy estables a lo largo de todo el estudio, con un valor máximo del 59,31% (31,66-75,77%) para el período comprendido entre nov93-oct94 y con un valor mínimo del 52,71% (24,07-70,55%) desde sep94-ago95, estimándose una tasa media de mortalidad anual para todo el período de estudio del 57,44% (42,1-68,72%).

Entre los conejos adultos vacunados la variabilidad fue mayor, tal vez como consecuencia del menor tamaño muestral, oscilando entre el 28,28% (0-50,87%) para el período comprendido entre nov93-oct94 y el 59,4% (26,23-77,66%) durante jul95-jun96. En cualquier caso la tasa media anual de mortalidad para este grupo fue del 47,22% (26,07-62,32%), lo que significa que la vacunación frente a mixomatosis y en concreto frente a VHD (puesto que todos los conejos adultos presentaron anticuerpos frente a mixomatosis) redujo en un 10,22% la mortalidad anual de los adultos, aunque esta diferencia no es estadísticamente significativa ($z=0,9072$; $p>0,05$). Teniendo en cuenta que el tiempo de vida medio se calcula a partir del valor inverso de la tasa de mortalidad, para los conejos adultos no vacunados se ha estimado una vida media, a partir de que el conejo llega a ser adulto, de 1,7 años y de 2,1 para los vacunados.

La influencia de factores artificiales de mortalidad como la caza fueron muy importantes en la supervivencia de los conejos vacunados, especialmente en la segunda mitad del estudio, por lo que también se ha estimado la mortalidad media incluyendo únicamente las muertes por predación, patologías e inundación. En este caso la mortalidad media anual estimada para los conejos no vacunados fue del 54,24% (38,82-65,77%) y del

33,88% (13,85-49,26%) para los vacunados, lo que supone que la vacunación incrementó un 20,36% la supervivencia de los conejos, siendo esta diferencia significativa ($z=1,816$; $p<0,05$). Según esta estimación, un conejo que llegase a adulto tendría una tiempo medio de vida de 1,8 años, mientras que si fuese vacunado frente a VHD el tiempo medio de vida se incrementaría hasta los 2,9 años.

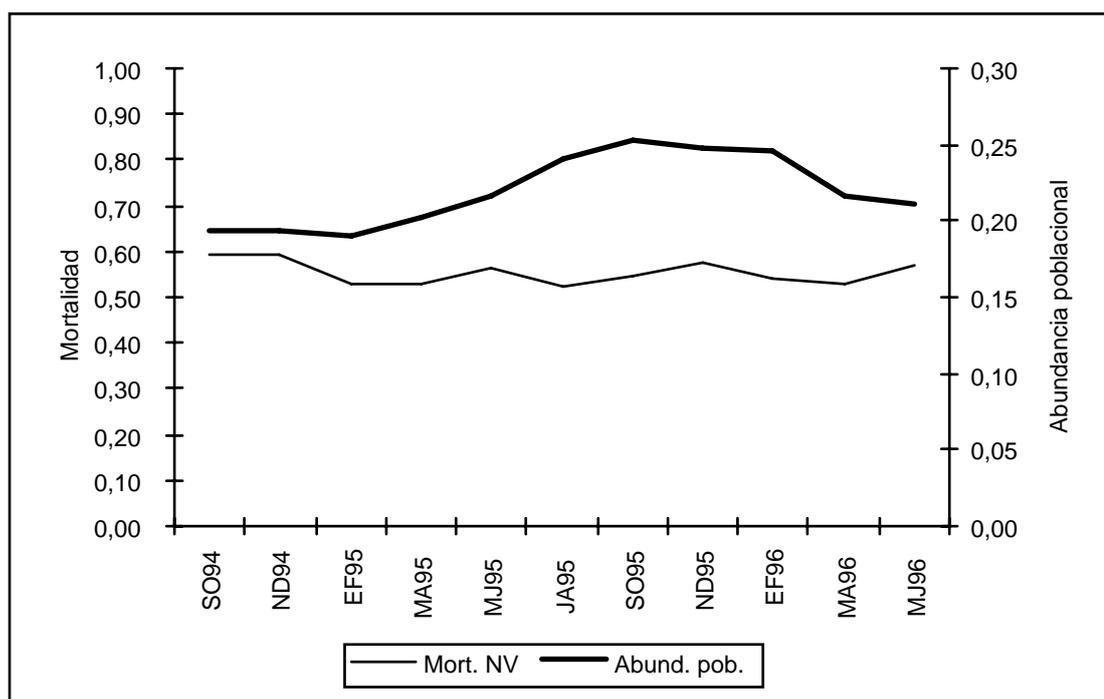


Figura 15: Tasa media acumulada anual de mortalidad en los conejos adultos no vacunados y media acumulada anual de abundancia poblacional.

Cuando se analizan los resultados en función de la presencia de anticuerpos frente a VHD, los conejos seronegativos presentaron una tasa media anual de mortalidad del 56,83% (36,12-70,82%), con un valor mínimo del 40,73% (5,53-62,81%) en sept94-ago95 y un máximo del 66,44% (30,91-83,7%) en nov93-oct94, mientras que la tasa estimada para los seropositivos fue ligeramente superior, con un 57,72% (31,19-74,02%), siendo el mínimo valor del 47,55% (0-75,01%) en nov93-oct94 y el máximo en jul94-ago95 con un 64,89% (10,95-86,16%) no siendo significativa esta diferencia ($z=0,003$; $p>0,05$). Al eliminar la interferencia de la mortalidad por caza, la mortalidad media anual de los conejos adultos no vacunados seronegativos desciende hasta el 53,58% (33,12-67,78%),

que sigue siendo ligeramente inferior al 54,76% (27,72-71,69%) de los seropositivos ($z=0,08$; $p>0,05$).

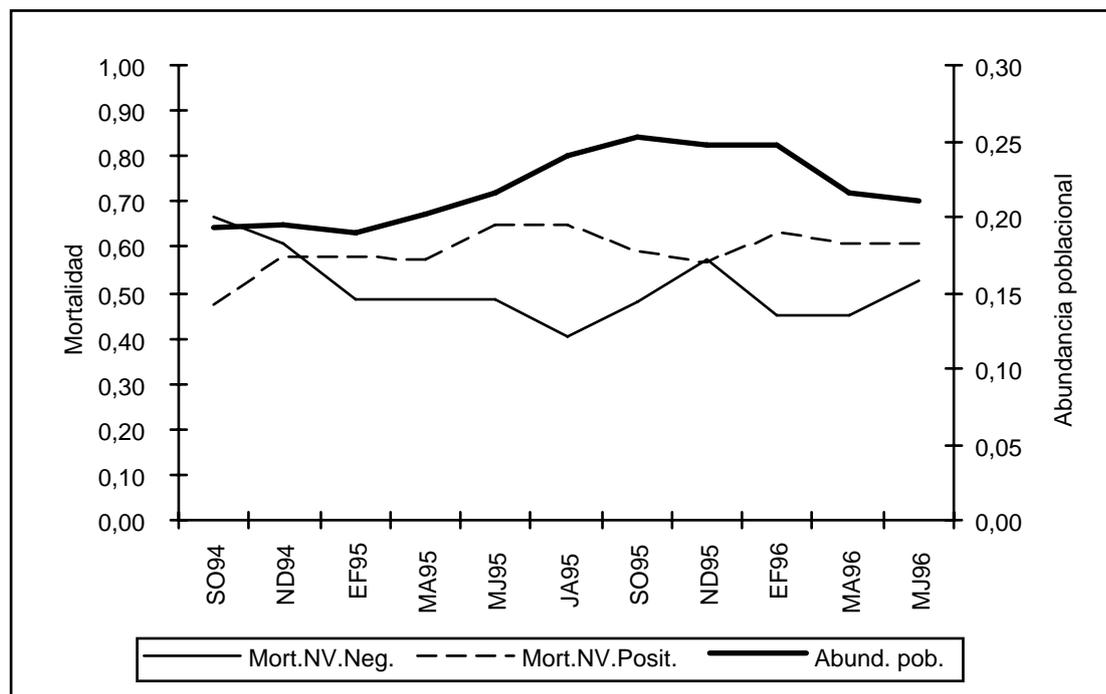


Figura 16: Tasa media acumulada anual de mortalidad en función de la presencia de anticuerpos frente a VHD y media acumulada anual del índice de abundancia poblacional (NV.Neg: conejos no vacunados seronegativos; NV. Posit.: conejos no vacunados seropositivos).

4.5.1.2-Jóvenes

Los conejos jóvenes mostraron una fuerte variación en las tasas de mortalidad durante la primera y segunda semanas posteriores al marcaje, algo que no se observó entre los conejos adultos. Para tratar de determinar lo que supuso este breve período, posterior a una situación de estrés como fue la captura y manejo, y en el que las vacunas debían producir el efecto de inmunización, se han calculado para la primera y segunda semana las tasas diarias de mortalidad por predación y patología, elaborando conjuntamente los datos obtenidos durante los tres años de estudio y diferenciando tres subcategorías de edad: 2-4 meses, 5-7 meses y 8-10 meses.

La variación de estas tasas de mortalidad, reflejadas en la figura 17, evidencian tres hechos de interés: la elevada mortalidad durante la primera semana posterior al marcaje, la importancia de la muerte por patologías en la clase de edad más joven y el aumento de la supervivencia entre los conejos vacunados a partir de la segunda semana.

La primera semana posterior al marcaje presentó una mortalidad muy superior a la de la segunda semana, tanto en conejos vacunados como no vacunados. Esta diferencia fue menor en la clase de mayor edad (8-10 meses), siguiendo la tendencia de la clase de edad de los conejos adultos, en la cual no se ha detectado este fenómeno. Las notables diferencias entre la primera y segunda semana sugieren un incremento de la mortalidad como consecuencia del estrés de la captura y marcaje.

La mortalidad por patologías tuvo mayor importancia en la clase de edad más joven (2-4 meses), siendo menor en las demás clases de edad. Es destacable la mayor mortalidad por patologías de los conejos vacunados frente a los no vacunados durante la primera semana en las dos clases de edad más jóvenes, lo que sugiere un efecto negativo de la vacunación durante los primeros días, probablemente al favorecer el desarrollo de patologías en fase de incubación. Sin embargo, la marcada reducción de la mortalidad experimentada por los conejos vacunados desde la primera a la segunda semana es un indicador de la eficacia de ambas vacunas una vez superados los primeros días críticos, ya que de hecho, todas las muertes por patología detectadas entre este grupo de conejos tuvieron lugar durante la primera semana posterior al marcaje.

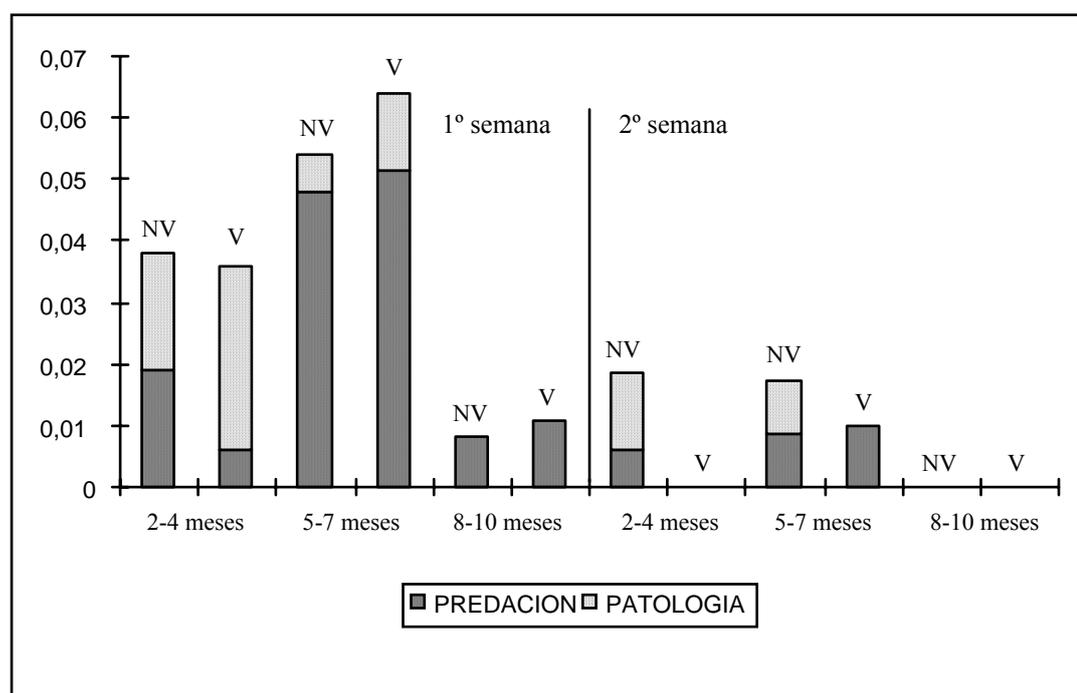


Figura 17: Tasas diarias de mortalidad por predación y patologías durante la primera y segunda semana posteriores al marcaje, en función de la edad y la vacunación (NV=no vacunados; V=vacunados).

Al calcular las tasas de mortalidad para cada uno de los años en función del período cuatrimestral o clase de edad, se observa más claramente la notable reducción de la mortalidad que supone excluir los datos de la primera semana (figuras 18 y 19). La

mortalidad por cuatrimestres no mostró ningún patrón de variación regular, ya que en 1993 y 1995 el valor más elevado se registró en enero-abril, y durante mayo-agosto en 1994. En función de la edad, en general se observa un patrón caracterizado por la disminución de la mortalidad conforme aquella aumenta, especialmente claro en 1993. Sin embargo el aumento de la mortalidad experimentado por la clase de mayor edad en 1994, y la reducida mortalidad estimada para las clases más jóvenes de 1994 y 1995 alteran parcialmente este patrón de variación.

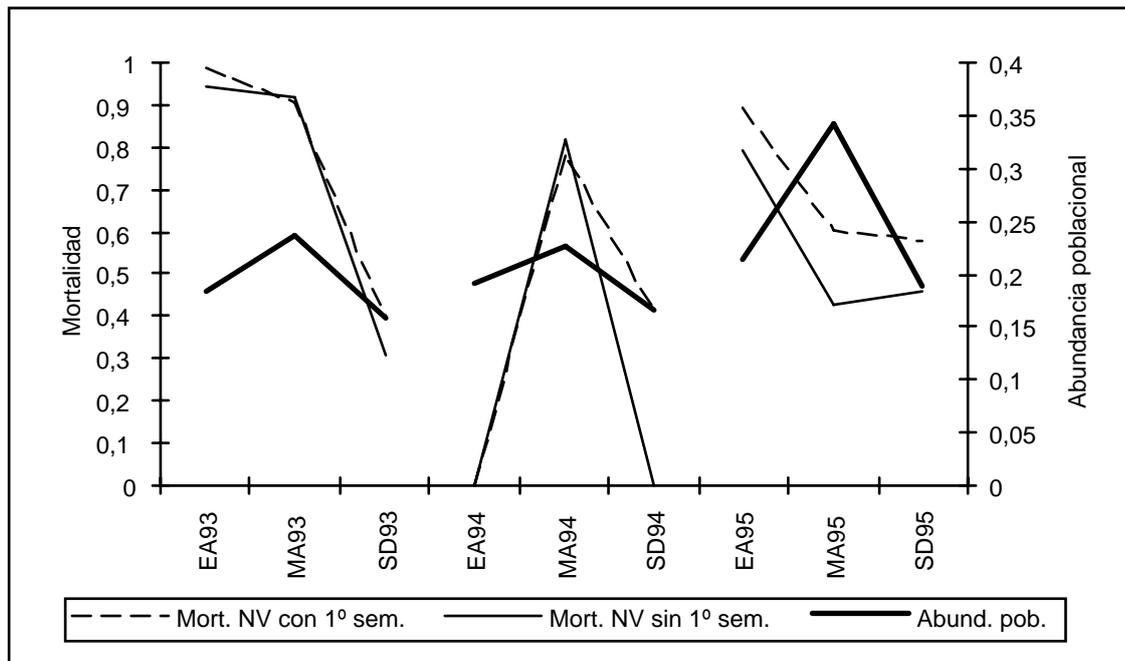


Figura 18: Tasas de intervalo cuatrimestrales de mortalidad en conejos jóvenes no vacunados.

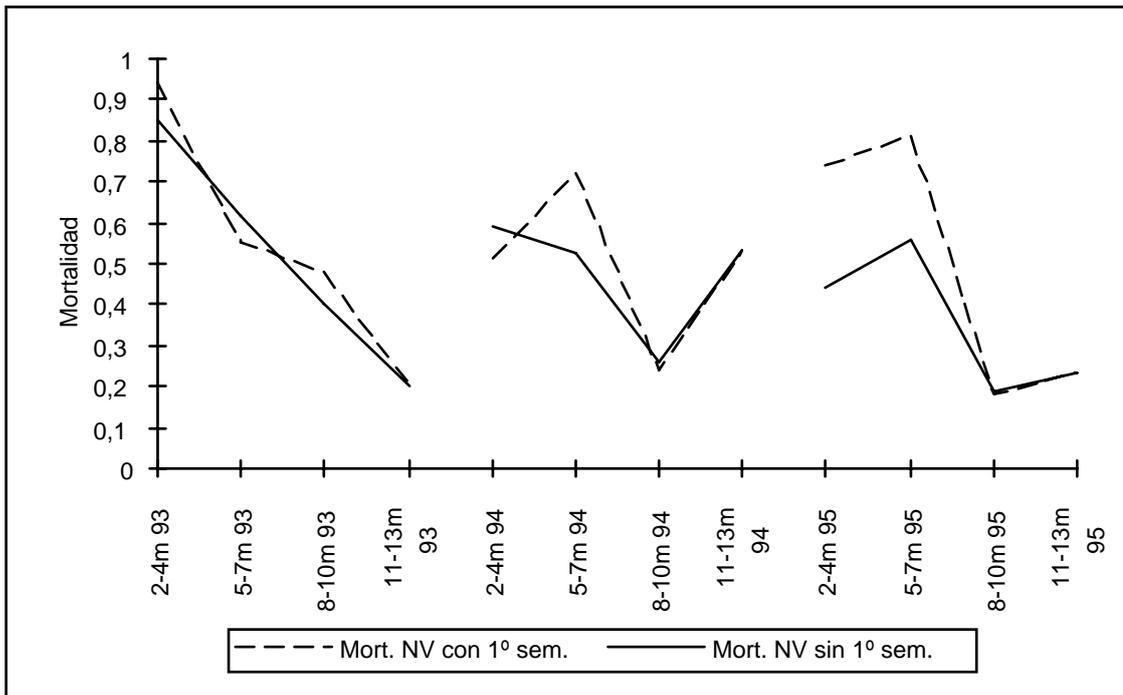


Figura 19: Tasas de intervalo de mortalidad en conejos jóvenes no vacunados en función de la edad.

Cuando la estimación de la mortalidad se realiza por años (probabilidad que tiene un conejo de morir desde el momento que emerge de la madriguera hasta que cumple los 13 meses) la tasa más elevada correspondió a 1993, con un 99,94% (96,53-99,99%), y la más baja a 1994 con un 87,71% (4,1-98,42%) lo que indica que en la población estudiada, un conejo en el momento de emerger de la madriguera tuvo una reducida probabilidad de alcanzar su primer año de vida (figura 20 y tabla XXIX).

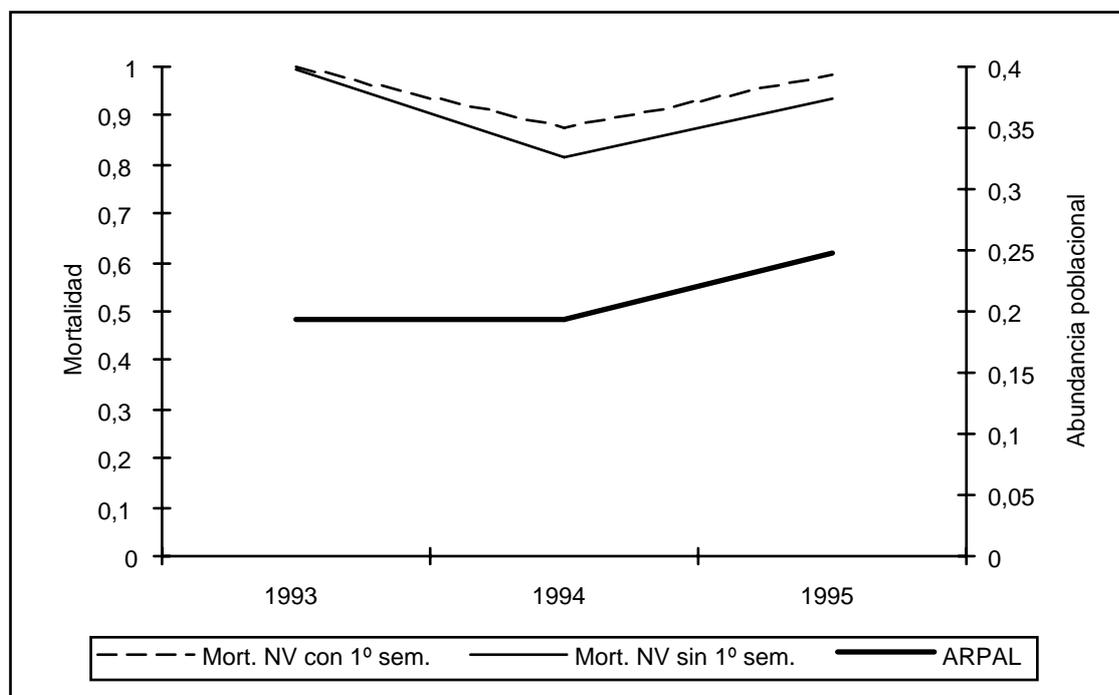


Figura 20: Tasas de intervalo de mortalidad anual de los conejos jóvenes no vacunados desde los 2 hasta los 13 meses de edad.

	Con 1º sem.	Sin 1º sem.
1993	99,94% (96,53-99,99)	99,71% (82,59-99,99)
1994	87,71% (4,1-98,42)	81,95% (0-97,4)
1995	98,18% (88,62-99,71%)	93,63% (65,49-98,82)

Tabla XXIX: Tasas de intervalo (en %) de la mortalidad en conejos jóvenes no vacunados desde los 2 hasta los 13 meses de vida para cada uno de los años. Entre paréntesis intervalos de confianza al 95%.

Respecto a la vacunación, la mortalidad media anual estimada para los conejos no vacunados fue del 98,93% (95,3-99,75%), y del 90,47% (78,64-95,75%) para los vacunados. La vacunación redujo pues un 8,46% la mortalidad de los jóvenes durante su primer año de vida ($z=2,11$; $p<0,05$). Si se elimina la mortalidad por caza, que afectó ligeramente a esta edad, la mortalidad de los no vacunados disminuye al 98,7% (94,41-

99,7%) mientras que la de los vacunados lo hace hasta el 89,91% (77,56-95,47%). En este caso la vacunación redujo un 8,79% la mortalidad ($z=2,08$; $p<0,05$).

Si estos cálculos se repiten sin tener en cuenta los datos obtenidos durante la primera semana posterior al marcaje, los conejos no vacunados presentaron una mortalidad anual del 95,9% (83,54-98,98%) frente al 66,93% (44,86-80,16%) de los vacunados, mientras que si se elimina la caza, estos valores descienden hasta el 94,97% (80,18-98,72%) y el 64,86% (42,23-78,63%) para los no vacunados y vacunados respectivamente. En este caso la vacunación redujo un 28,97% la mortalidad de los conejos jóvenes ($z=3,18$; $p<0,001$), o un 30,11% ($z=3,14$; $p<0,001$) si no se tiene en cuenta la mortalidad causada por caza.

4.5.2-Mortalidad por inundación

La muerte por inundación fue detectada una sola vez en todo el período de estudio. El 6 de mayo de 1996 tuvo lugar una tormenta que descargó una gran cantidad de lluvia en un período de tiempo relativamente corto. Como consecuencia de ello, la cantidad de agua recogida en pocos minutos por gran parte de la finca fue canalizada por la val central, que constituye el desagüe natural del monte, siendo ocupada en su totalidad por una corriente de agua que llegó a alcanzar los 40cm de altura. Ello provocó que la totalidad de las madrigueras que se encontraban en los ribazos transversales a la val fuesen inundadas, y algunas de ellas destruidas parcialmente por la fuerte corriente de agua que penetró en su interior.

En el momento de tener lugar la tormenta, de los 35 animales adultos que se mantenían radiomarcados, 16 de ellos tenían sus madrigueras en los ribazos de esta val. En la siguiente localización que tuvo lugar tres días después de la tormenta, y en seguimientos posteriores, se confirmó que dos animales, una hembra no vacunada y un macho vacunado, se encontraban inactivos en el interior de sus madrigueras, las cuales habían sido destrozadas parcialmente por el agua, por lo que se supuso que habían muerto ahogados. En la misma localización se registró la muerte de una hembra vacunada, de la cual únicamente se encontró el collar en las inmediaciones de una zorrera próxima a su madriguera. Esta coneja vivía en la misma madriguera que el macho vacunado que había muerto ahogado en su interior. Debido a que esta madriguera fue afectada especialmente por la corriente de agua al actuar como sumidero, se supuso que la muerte de esta coneja fue también producida por la inundación de la madriguera, y que el zorro actuó simplemente como carroñero.

No se detectó ninguna muerte entre aquellos animales radiomarcados cuyas madrigueras se encontraban en lugares elevados respecto al fondo de la val.

La mortalidad entre los animales jóvenes no pudo ser estimada debido a que en 1996 no se marcó ninguno, no obstante en los días posteriores a la tormenta fue frecuente encontrar cadáveres de juveniles semienterrados en el lodo y en la parte final de la val, en donde el agua perdió velocidad y sedimentó gran parte de los materiales arrastrados.

Si se tienen únicamente en cuenta los datos de los 16 conejos radiomarcados que vivían en las madrigueras de los ribazos, la mortalidad causada por la tormenta fue del 18,75%, y para el total de la muestra del 8,57%. Pese a la violencia del agua, una gran parte de los conejos adultos sobrevivió, posiblemente debido a la existencia de cámaras de aire que impidieron la entrada del agua en los túneles ciegos de las madrigueras.

La media anual de mortalidad por esta causa estimada para el total del estudio fue del 1,37% (0-4,03%) en los conejos adultos no vacunados y del 4,44% (0-10,49%) entre los vacunados ($z=0,911$; $p>0,05$).

4.5.3-Mortalidad por caza

La caza fue una causa de muerte importante, pero sobretodo constituyó una gran interferencia para el estudio e interpretación de los datos de radioseguimiento. Como ya se ha dicho en anteriores ocasiones, el ejercicio de la caza en la zona de estudio se practicó indiscriminadamente tanto durante el período hábil como en la veda, con notables diferencias entre años, y utilizando métodos muy eficaces como el uso combinado de escopeta y hurón. Esta práctica ocasionó la captura de grupos familiares completos, bien de una sola vez, bien con la caza reiterada de una misma madriguera en cortos intervalos de tiempo.

La distorsión producida por la caza en los resultados se debe a dos factores: por un lado la sospecha de que alguno de los conejos que fueron clasificados como predados, en realidad podrían haber sido heridos durante la acción de la caza y posteriormente morir o ser capturados por algún predador aprovechando su debilidad. Por otro, su desigual impacto entre diferentes grupos de conejos, lo que ha dificultado la comparación de sus resultados.

Para valorar la evolución general de la mortalidad por caza a lo largo del período de estudio se han agrupado los radiodías de todos los conejos adultos y de los conejos

jóvenes que prácticamente habían completado su desarrollo corporal, estimándose para cada período bimestral la tasa diaria de muerte por esta causa. Esta fusión de los datos implica la suposición de que todos los animales, independientemente de su edad, sexo, estatus inmunitario y vacunación, tuvieron la misma probabilidad de ser cazados.

La representación gráfica de las tasas diarias bimestrales (figura 21) muestra claramente el aumento del esfuerzo de caza durante el año 1995 en relación a 1994. También es evidente como la caza, además de practicarse durante el período hábil, fue más intensa durante los meses de verano, especialmente alrededor del mes de agosto, especialmente en 1995. En contraposición, y probablemente debido a la acentuada sequía de ese año y a la reducción del número de animales como consecuencia del retraso en la reproducción, el esfuerzo de caza durante el período hábil de 1995-96 fue tan reducido que no se detectó ninguna muerte por caza entre los conejos radiomarcados.



Figura 21: Tasas diarias de mortalidad por caza e índice de abundancia poblacional para cada uno de los períodos bimestrales del estudio.

Calculando la media acumulada anual de las tasas de mortalidad diaria (figura 22), se observa una relativa estabilidad en los valores anuales de la mortalidad por caza, a excepción del incremento coincidente con el aumento de la abundancia poblacional, indicativo de la importancia de este factor de mortalidad capaz de aumentar su impacto

aun a pesar de incrementarse el número de conejos en la población, todo ello en una finca en la que el número de cazadores es relativamente reducido.



Figura 22: Media acumulada anual de la tasa diaria de mortalidad por caza y del índice de abundancia poblacional.

4.5.3.1-Adultos

La tasa media anual de muerte por caza entre los conejos adultos no vacunados fue del 4,97% (0-11,68%), mientras que para los vacunados este factor representó una mortalidad media del 15,77% (2,55-29%), no siendo significativa esta diferencia ($z=1,428$; $p>0,05$). Prácticamente la totalidad de la caza incidió sobre los conejos vacunados, con tasas de hasta el 19,31% (0-40,06%) de mortalidad en julio-agosto de 1995, mientras que para los no vacunados únicamente se detectaron muertes por esta causa en los períodos de julio-agosto de 1994 (8,13%; 0-22,19%) y noviembre-diciembre de 1995 (7,36%; 0-21,23%).

4.5.3.2-Jóvenes

En esta clase de edad la caza únicamente tuvo impacto sobre animales subadultos y de forma muy variable según los años.

Para los conejos no vacunados únicamente se estimó muerte por caza durante los cuatrimestres mayo-agosto de 1995 y septiembre-diciembre de ese mismo año, con unas tasas de intervalo del 6,76% (0-19,53%) y del 12,86% (0-29,44%) respectivamente; o del 8,66% (0-24,86%) y del 15,35% (0-34,86%) cuando no se ha tenido en cuenta la primera semana posterior al marcaje. Para los conejos vacunados la mortalidad por caza se detectó únicamente en septiembre-diciembre de 1994, con una tasa del 35,37% (0-72,53%) o del 37,62% (0-75,27%) si no se incluye la primera semana.

La tasa media anual fue del 0,5% (0-1,42%) en los no vacunados y del 0,75% (0-2,3%) en los vacunados ($z=0,277$; $p>0,05$). Si excluimos los datos de la primera semana los valores estimados se incrementan, con un 1,57% (0-4,3%) y un 2,41% (0-7,12%) en no vacunados y vacunados respectivamente ($z=0,304$; $p>0,05$).

4.5.4-Mortalidad por predación

La predación fue uno de los factores de mortalidad más importantes entre los conejos adultos y jóvenes, lo que ha supuesto una gran dificultad para la correcta interpretación de los resultados, ya que la mortalidad por predación pudo enmascarar en mayor o menor grado otros factores de mortalidad más difíciles de detectar, bien porque facilitaron la predación de los conejos, o bien porque los animales una vez muertos fueron consumidos como carroña.

4.5.4.1-Adultos

La tasa media anual de mortalidad por predación estimada para los conejos adultos no vacunados fue del 33,13% (19,96-46,3%), y del 24,78% (8,51-41,06%) para los vacunados, sin que esta diferencia sea estadísticamente significativa ($z=0,781$; $p>0,05$); mientras que en función de la presencia de anticuerpos frente a VHD los conejos seronegativos presentaron una mortalidad del 30,53% (12,66-48,4%) frente al 36,99% (16,85-57,12%) de los seropositivos ($z=0,47$; $p>0,05$).

Agrupando los datos de todos los conejos adultos se han calculado las tasas diarias (figura 23) mostrando claramente como los picos máximos de mortalidad estuvieron localizados durante los períodos del año con mínimos de abundancia poblacional, cuando la casi totalidad de la población estuvo compuesta por conejos adultos. Destaca el pico de noviembre-diciembre de 1995 por ser el de mayor magnitud, coincidente con los mínimos

valores del índice de abundancia durante el estudio, ya que el período reproductor de ese año comenzó tardíamente.

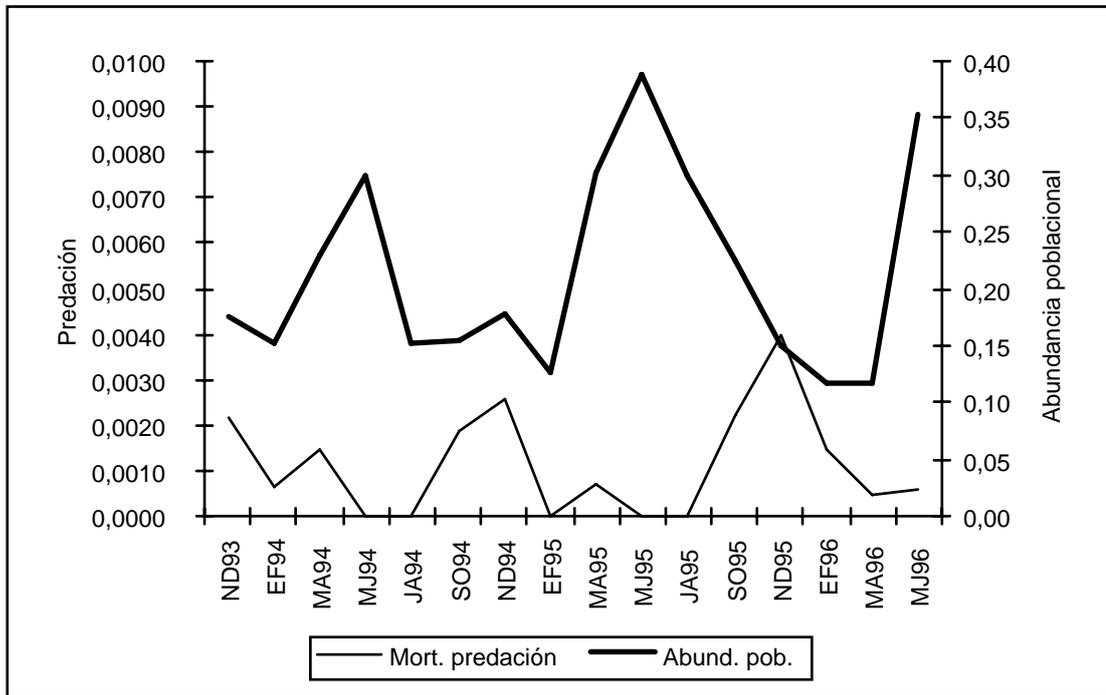


Figura 23: Mortalidad diaria media por predación de los conejos adultos e índice de abundancia poblacional para cada uno de los períodos bimestrales.

Al calcular la media acumulada anual de las tasas diarias (figura 24) se observa una aparente correlación negativa entre el índice de abundancia y la mortalidad por predación. La disminución de la mortalidad por esta causa se ve correspondida por un aumento del índice de abundancia poblacional, aunque ligeramente desplazado en el tiempo, mientras que un aumento de la predación es seguido por un descenso del índice. La mayor correlación negativa se obtiene cuando los valores de la mortalidad son desplazados dos intervalos con respecto al índice de abundancia ($n=10$; $Rho=-0,761$; $p<0,05$). Ello sugiere la posibilidad de que los cambios poblacionales, que fueron posteriores a los cambios en la mortalidad por predación, pudieron estar causados, o al menos relacionados con estos.

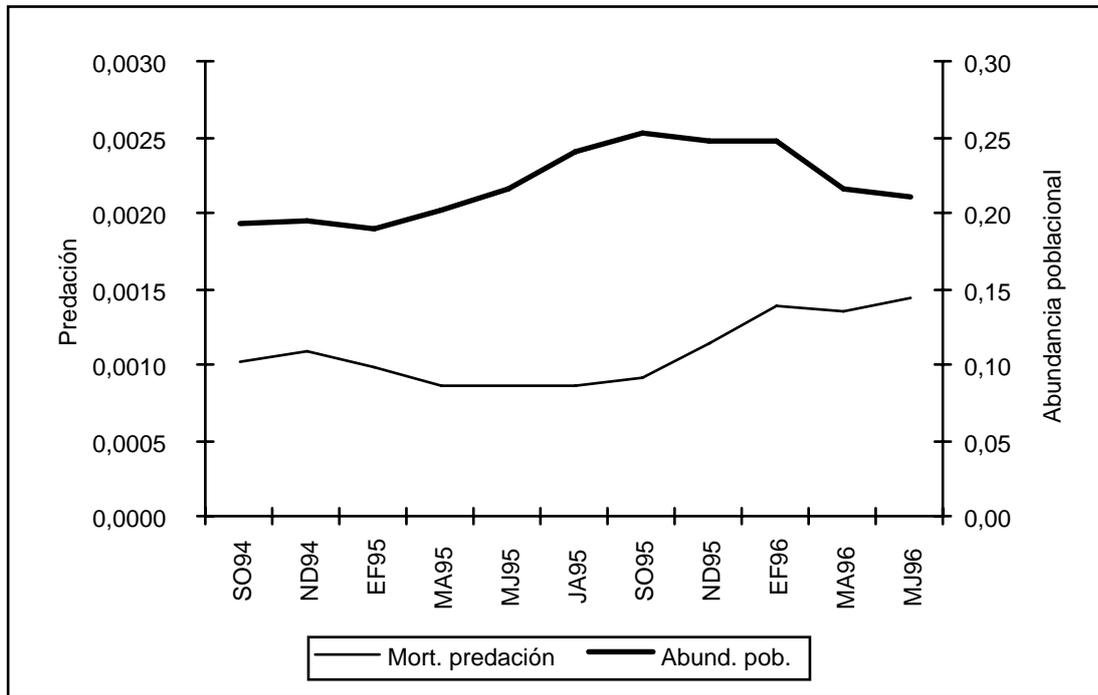


Figura 24: Mortalidad diaria media acumulada anual por predación de los conejos adultos e índice de abundancia.

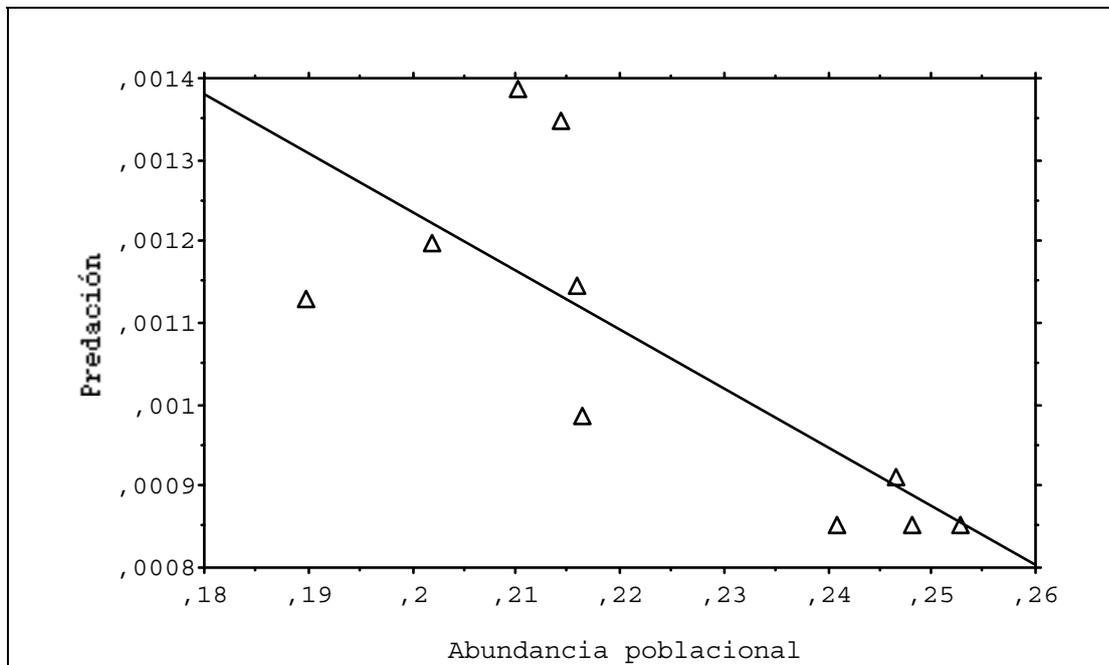


Figura 25: Correlación entre la media acumulada anual de la mortalidad por predación y el índice de abundancia desplazado dos intervalos.

4.5.4.2-Jóvenes

La predación representó una mortalidad media anual del 57,2% (34,55-79,84%) para los conejos jóvenes no vacunados y del 45,48% (21,75-69,22%) para los vacunados ($z=0,7$; $p>0,05$). Cuando se excluyen los datos correspondientes a la primera semana la tendencia se invierte, siendo ligeramente superior la mortalidad por predación en los vacunados, con un 64,52% (47,04-82%), mientras que en los no vacunados fue del 61,61% (33,5-89,72%), sin que esta diferencia sea significativa ($z=0,172$; $p>0,05$).

La variación de las tasas diarias de mortalidad por predación se han calculado conjuntamente para los conejos jóvenes vacunados y no vacunados según los períodos cuatrimestrales y los meses de edad (figuras 26 y 27). En función del cuatrimestre, mientras en 1993 la mayor mortalidad por esta causa se registró durante enero-abril, en 1994 y 1995 tuvo lugar durante los meses de mayo a agosto. Por otro lado, cuando se calculan las tasas en función de la edad, durante 1993 y 1994 se observa un patrón de disminución de las tasas de mortalidad conforme aumenta la edad de los conejos, mientras que 1995 se caracteriza por la elevada mortalidad en los animales de 5-7 meses de edad. No obstante, tanto si la mortalidad se estima en función del cuatrimestre o de la edad, cuando se calculan las tasas diarias medias anuales (figura 28 y tabla XXX) se observa que en 1994 la mortalidad por predación fue inferior a la de 1993 y 1995, al igual que se estimó para los conejos adultos.

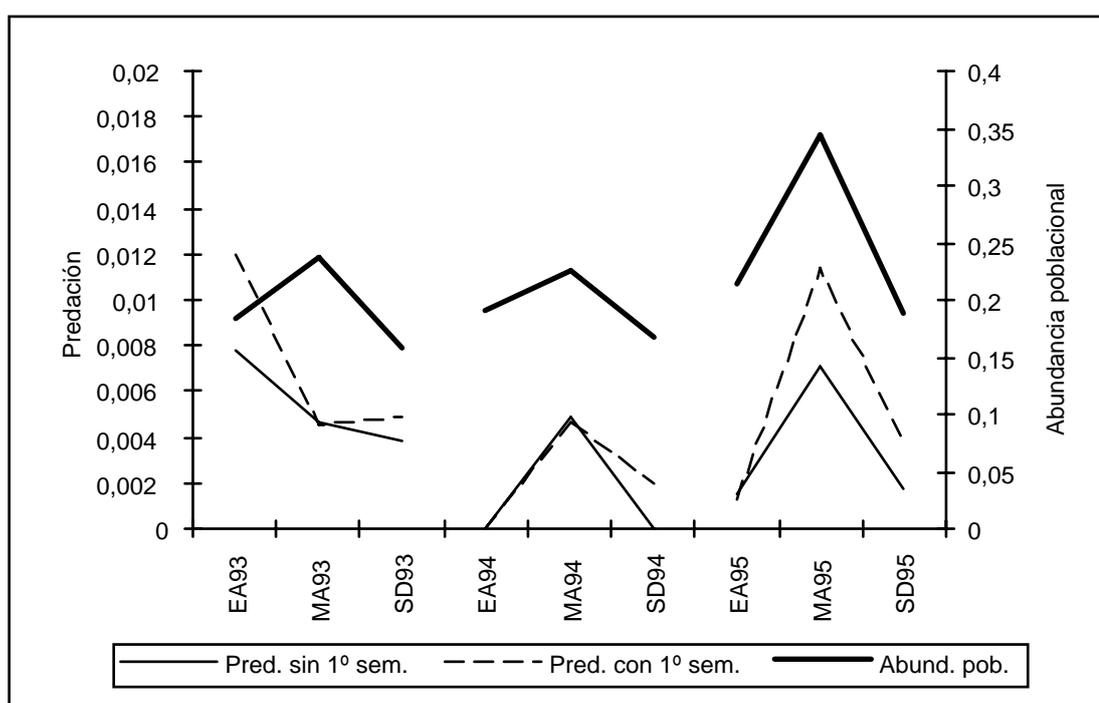


Figura 26: Mortalidad diaria media por predación en los conejos jóvenes e índice de abundancia poblacional para cada uno de los cuatrimestres.

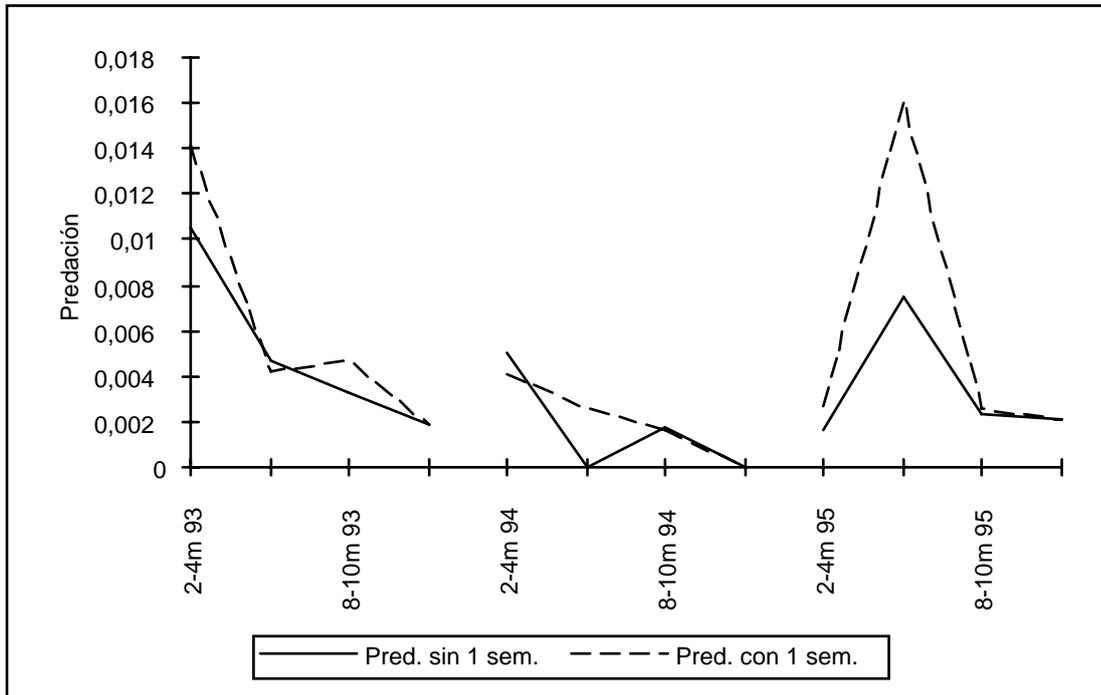


Figura 27: Mortalidad diaria media por predación en los conejos jóvenes en función de su edad.

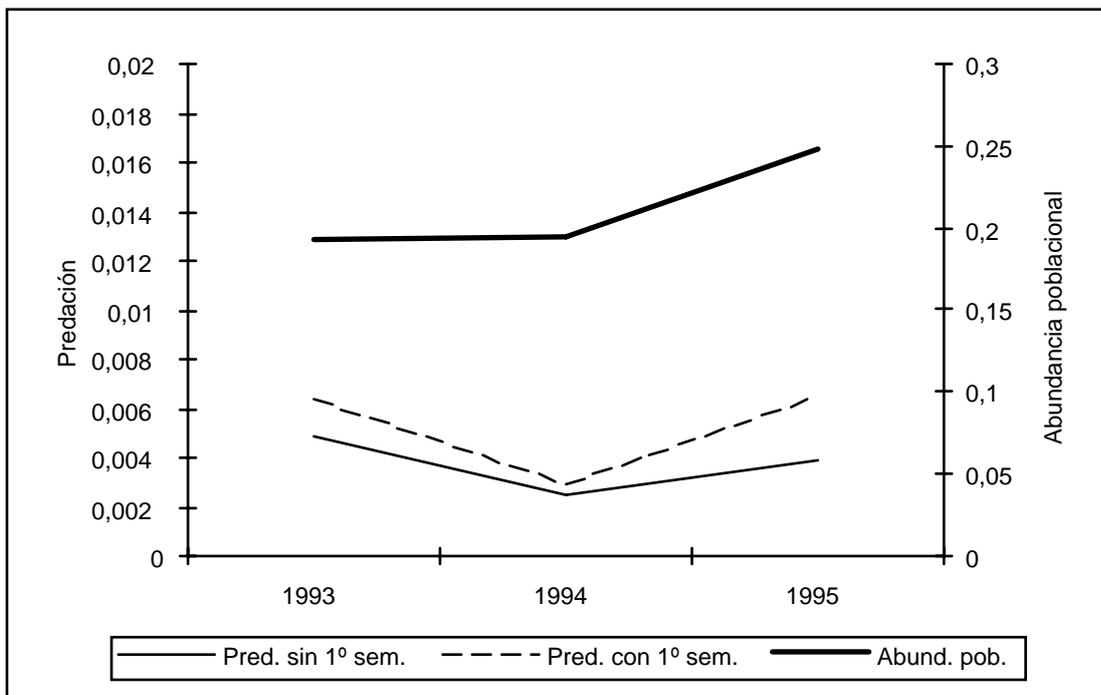


Figura 28: Mortalidad diaria media anual por predación para el total de conejos jóvenes.

	Con 1° semana	Sin 1° semana
1993	0,64% (0,35-0,93)	0,48% (0,22-0,74)
1994	0,29% (0-0,57)	0,24% (0-0,52)
1995	0,65% (0,43-0,86)	0,39% (0,21-0,56)

Tabla XXX: Mortalidad diaria media anual (en %) por predación para el total de conejos jóvenes e intervalos de confianza al 95%.

4.5.4.3-Especies predatoras

Por último, se ha caracterizado el espectro de predadores que intervinieron en la muerte de los conejos radiomarcados. De los 34 conejos adultos radiomarcados que fueron predados, únicamente en 5 ocasiones (14,7%) fue identificada la intervención de rapaces en la muerte de conejos adultos (posiblemente de águila real), tres de ellas durante los meses de noviembre-diciembre, cuando tiene lugar el mínimo poblacional. En 21 ocasiones (61,76%) se pudo identificar al zorro como la especie implicada, mientras que en 8 ocasiones (23,53%) no fue posible la identificación de ninguna especie de predador, ya que únicamente se encontró el radiocollar (en ocasiones deformado y/o con restos de sangre y pelo de conejo), si bien sería factible descartar la intervención de rapaces debido a los claros signos que estas dejan, tales como los característicos mechones de pelo arrancados con el pico, plumas, excrementos propios y otras marcas en el cadáver del conejo.

Entre los conejos jóvenes, y considerando los datos obtenidos durante la primera semana posterior al marcaje, de los 58 que fueron predados, un total de 18 lo fueron por zorro (31,03%), 14 por rapaz (24,14%), uno por perro asilvestrado (1,72%) y en 25 ocasiones (43,1%) no se pudo identificar al predador, si bien y al igual que ocurrió con los conejos adultos, es posible descartar la intervención de rapaces.

En este caso, la interferencia entre patologías y predación también se puso de manifiesto, ya que de dos conejos jóvenes no vacunados y aparentemente predados por zorro, se encontró la cabeza semienterrada con evidentes signos de mixomatosis, por lo

que cabría la posibilidad de que ambos hubiesen muerto por esta enfermedad, o cuando menos facilitó su predación.

4.5.5-Mortalidad por patologías

La muerte por causas patológicas constituyó el segundo factor de mortalidad en importancia. En general, entre los conejos más jóvenes la mortalidad por causas patológicas fue debida a un espectro de patologías más diverso, mientras que entre los conejos adultos y los conejos jóvenes de mayor edad, la práctica totalidad de las muertes fueron debidas a VHD.

Durante la realización del estudio, el hallazgo de cadáveres de conejos muertos por VHD fue uno de los signos más claros que evidenciaban la presencia de esta enfermedad, especialmente durante los brotes invernales de mayor mortalidad. Sin embargo, en determinadas ocasiones a lo largo del estudio una elevada proporción de ellos murieron en el interior de las madrigueras, como ocurrió en enero-febrero del 94 o principios de 1995. En total, de los 18 casos de muerte por patologías entre conejos jóvenes radiomarcados, en 11 ocasiones (61,11%) los animales murieron en el interior de la madriguera; mientras que esto ocurrió en 6 ocasiones (37,5%) de los 16 casos registrados entre los conejos adultos (g.l.=1; $X^2=1,889$; $p>0,05$). Agrupando los datos de ambas clases de edad, de los 34 casos de muerte por patologías, 17 tuvieron lugar en el interior de las madrigueras, lo que supone un 50% de los casos. Ello implica que la apreciación o la valoración de la mortalidad a partir del número de cadáveres encontrados puede ser muy relativa, ya que va a estar condicionada por la proporción de animales que mueren en la madriguera, pudiendo llegar a ser muy elevada.

4.5.5.1-Adultos

La mortalidad por patologías fue mayor en los conejos no vacunados durante todo el estudio que en los vacunados. El período anual con menor mortalidad fue mar94-feb95 (prácticamente el año 1994) con un 12,16% (0,37-23,95%), mientras que el período de máxima mortalidad correspondió al año 1995, desde enero a diciembre, y para el que se estimó una mortalidad por patologías del 30,64% (10,17-51,11%). La tasa media anual para todo el estudio fue del 17,98% (8,81-27,14%) en los no vacunados, y del 2,22% (0-6,53%) en los vacunados, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($z=3,05$; $p<0,01$).

Dentro del grupo de conejos vacunados únicamente se detectó la muerte de dos animales por esta causa. El primero fue un macho capturado y marcado el 4 de diciembre de 1992, que presentó un I.R. de 3 frente a VHD y de 10 frente a mixomatosis en el momento de la captura, y que fue encontrado muerto por VHD el 13 de enero de 1993. El

diagnóstico se realizó por necropsia y pudo ser confirmado laboratorialmente mediante HA. Este animal constituye un caso de especial interés, puesto que siendo un animal vacunado y con anticuerpos naturales frente a VHD se diagnosticó esta enfermedad como causa de su muerte. El segundo animal fue una hembra capturada y vacunada el 20 de octubre de 1993, la cual presentó en el momento de esta captura un I.R. frente a VHD de 2, y de 10 frente a mixomatosis. Más tarde fue recapturada el 3 de noviembre de ese mismo año (14 días después) y el I.R. había ascendido a 8 frente a VHD y a 10 frente a mixomatosis. Esta coneja murió alrededor del 24 de junio de 1994 en el interior de su madriguera, sin que se pudiera conocer la causa de su muerte, por lo que se incluyó en causas patológicas.

En el caso de los conejos no vacunados se observó un patrón de variación caracterizado por la existencia de picos de mortalidad que tuvieron lugar entre los meses de enero-febrero de cada año. El primer pico, que no se ha incluido en la figura 29, corresponde al mes de enero de 1993, cuando el día 9 de ese mes fue encontrada muerta por VHD una coneja capturada el 4 de diciembre de 1992 y cuyo I.R. frente a VHD y mixomatosis fue de 0 y 4 respectivamente. La tasa estimada de mortalidad por causas patológicas para los meses de enero-febrero de 1993 fue del 19,15% (0-46,7%). Hay que recordar que esta muerte coincidió en el tiempo con la muerte por VHD del conejo vacunado ya expuesta en el párrafo anterior, lo que confirma la existencia de ese pico de mortalidad en este período.

En 1994 el pico de mortalidad también tuvo lugar en los meses de enero-febrero, con la muerte de 5 conejos radiomarcados. El primero de ellos fue una hembra que murió el 6 de enero y que se encontraba en avanzado estado de gestación. Posteriormente fue encontrado muerto el 10 de ese mismo mes un macho, diagnosticándose en ambos VHD como la causa de su muerte mediante necropsia y laboratorialmente. Los otros tres animales (tres machos) fueron encontrados muertos el 5 de febrero, casi un mes después, que los primeros. En dos de ellos se encontraron lesiones características de VHD a la necropsia, mientras que el otro murió en el interior de la madriguera siendo imposible la recuperación del cadáver. La mortalidad por causas patológicas estimada para los meses de enero-febrero de 1994 fue del 25,48% (6,28-44,68%).

Durante el pico de mortalidad de 1995 murieron un total de 4 conejos radiomarcados, todos ellos en el mes de febrero. El primero fue una hembra que murió el día 18, presentando a la necropsia un avanzado estado de gestación y lesiones características de VHD. Los otros tres conejos (dos machos y una hembra) murieron hacia el día 25 de febrero. La hembra y un macho murieron en el interior de la madriguera, no siendo posible la recuperación de sus cadáveres, aunque el cadáver momificado de este

macho fue sacado al exterior por los propios conejos de la madriguera 8 meses después. El otro macho fue encontrado muerto en una entrada de su madriguera, junto a una hembra no marcada. Ambos estaban consumidos parcialmente por aves carroñeras, aunque en la necropsia de ambos fue posible la observación de lesiones características de VHD. La mortalidad estimada para este pico fue del 20,04% (0,45-35,78%).

En contraposición a la regularidad de los tres picos anteriores, en enero-febrero de 1996 no se detectó mortalidad por causas patológicas. En este año, el primer conejo muerto por esta causa fue encontrado el 14 de abril. Este animal, un macho, aunque murió en el interior de la madriguera, fue posible la recuperación de su cadáver y la realización de la necropsia en la que se observaron claras lesiones de VHD, aunque el diagnóstico laboratorial mediante HA fue negativo. Posteriormente, el 2 de mayo se encontró una hembra cuyo cadáver estaba parcialmente consumido por aves carroñeras, si bien en los restos fue posible percibir lesiones características de VHD. En este caso, si fusionamos los datos de abril y mayo, meses en los que se detectó la muerte de ambos conejos radiomarcados, la mortalidad estimada fue del 9,56% (0-22,15%), sensiblemente inferior a las de años anteriores aunque ninguna de las diferencias es significativa ($p > 0,05$).

La periodicidad de estos picos principales de mortalidad en animales adultos vino a coincidir todos los años con el comienzo de la emergencia de las madrigueras de una proporción importante de conejos juveniles, tal y como se puede comprobar en la figura 29 correspondiente a la variación del índice mensual de abundancia poblacional y con la figura 9 en la que se representa el número de estaciones de conteo de excrementos en las que se detectó excrementos de animales juveniles. Esta correlación entre los picos de mortalidad y la emergencia de animales juveniles se ve también apoyada por la coincidencia existente entre el retraso de la reproducción de principios de 1996 y el pico de mortalidad por causas patológicas de ese año. Observando la figura 9 se puede ver que para los años 1994 y 1995, los meses de enero y febrero (especialmente este último) suponen la aparición de un número importante de conejos juveniles, coincidiendo con los picos de mortalidad para esos años, sin embargo, debido a la sequía de finales de 1995, en 1996 la emergencia de un número importante de conejos juveniles no tuvo lugar hasta el mes de abril, mes en el que se detectó también el inicio del pico de mortalidad por causas patológicas.

Durante 1995 también se detectó la muerte de dos conejos fuera del pico principal. El primero fue un macho encontrado muerto el 4 de mayo; el cadáver se encontró completo, si bien el inicio del proceso de putrefacción debido a las altas temperaturas y la presencia de larvas necrófagas desaconsejaron el diagnóstico laboratorial, a la necropsia se observaron evidentes lesiones compatibles con VHD. El otro conejo fue una hembra que

murió en el interior de la madriguera hacia el 12 de octubre, sin que pudiera recuperarse su cadáver.

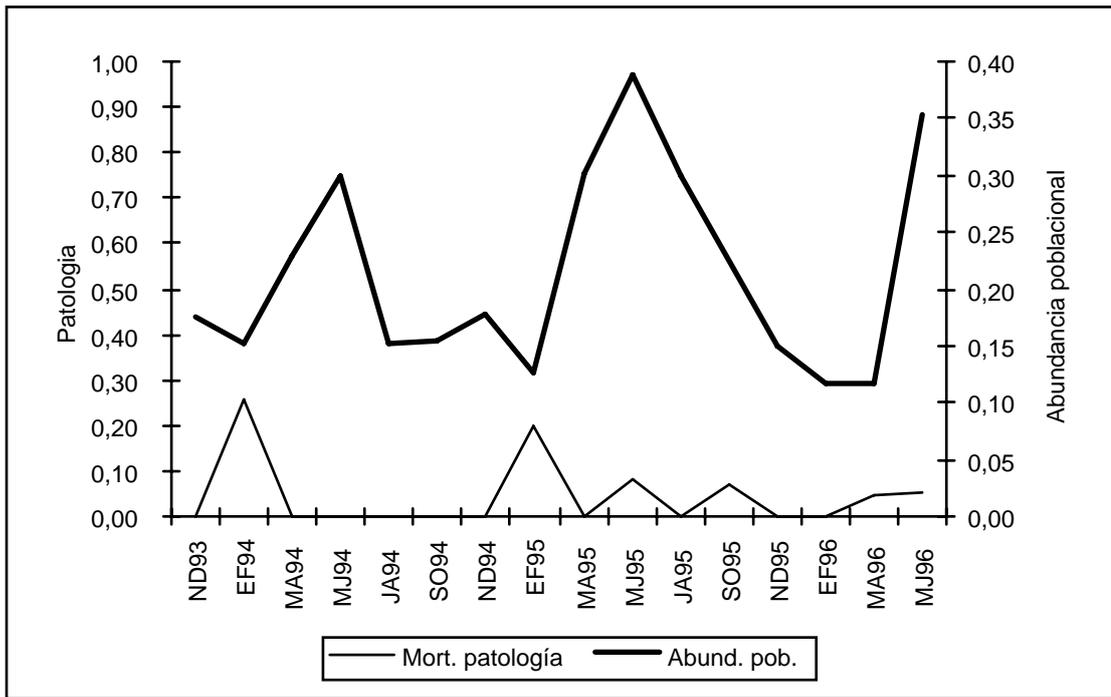


Figura 29: Tasas de intervalo bimestrales de mortalidad por causas patológicas en conejos adultos no vacunados y variación bimestral del índice de abundancia poblacional.

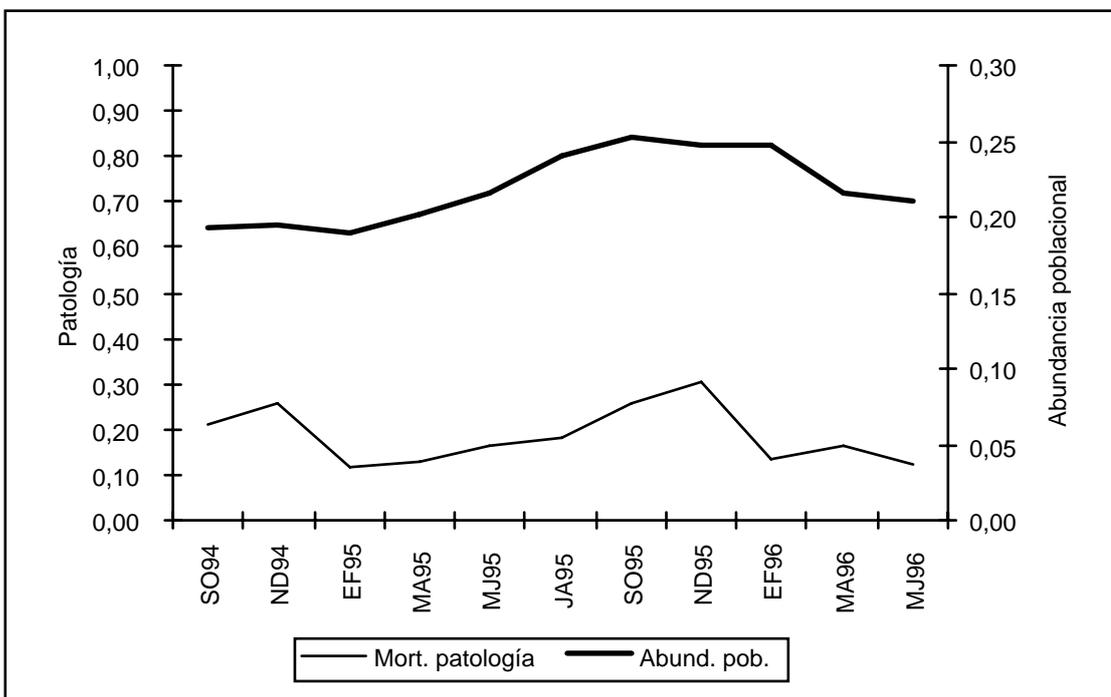


Figura 30: Tasa de intervalo media acumulada anual de mortalidad por patología en conejos adultos no vacunados y del índice de abundancia poblacional.

Si nos atenemos a la edad, en los casos en que fue conocida, y al estado inmunitario frente a VHD, entre los conejos no vacunados muertos por causas patológicas, de los 5 que murieron en enero-febrero de 1994, cuatro de ellos (incluido el que murió en

el interior de la madriguera) no presentaron anticuerpos frente a VHD en el momento de la captura, que tuvo lugar entre 2 y 3 meses antes de su muerte. Estos cuatro conejos fueron incluidos desde su captura en la categoría de adultos, dado que habían completado su desarrollo corporal, sin embargo, como su captura tuvo lugar en el mes de noviembre de 1993, no es posible descartar la posibilidad de que alguno o todos ellos fuesen animales nacidos ese mismo año. El otro conejo tampoco presentó anticuerpos frente a VHD en el momento de su captura, en septiembre de 1993, pero a diferencia de los anteriores, éste no había completado todavía su desarrollo corporal, por lo que se trataba de un conejo nacido en 1993.

En enero-febrero de 1995, de los cuatro conejos muertos por causas patológicas, tres de ellos fueron animales que no presentaron anticuerpos frente a VHD en el momento de su captura, la cual tuvo lugar entre los meses de noviembre y diciembre de 1994, cuando todavía no habían completado su desarrollo corporal, por lo que los tres habían nacido en 1994. El cuarto animal fue capturado en diciembre de 1993 con el desarrollo corporal completo y no presentando en aquel momento anticuerpos frente a esta enfermedad, por lo que en el momento de su muerte contaba con dos años de edad aproximadamente.

Siguiendo el orden cronológico, el siguiente conejo que murió en mayo de 1995 presentó un I.R. positivo de valor 3 frente a VHD en el momento de su captura, en noviembre de 1994, cuando todavía no había completado su desarrollo corporal, de lo que se deduce que nació en ese mismo año. Por otro lado, la coneja que murió dentro de su madriguera en octubre de 1995 contaba con al menos dos años de edad, ya que fue capturada en diciembre de 1994 con el desarrollo corporal completo, y un I.R. frente a VHD con el valor máximo de 10.

De nuevo, los dos conejos que murieron durante abril-mayo de 1996 fueron conejos nacidos en 1995, puesto que ambos fueron capturados entre septiembre y noviembre de este año con el desarrollo corporal incompleto, presentando un I.R. en el momento de la captura de 2 y 4 respectivamente.

Resumiendo, de los conejos radiomarcados muertos por causas patológicas, los picos de enero-febrero de 1994 y 1995 afectaron únicamente a conejos radiomarcados que fueron seronegativos en el momento de la captura (figura 31), mientras que a partir de ese momento, todos los conejos muertos fueron seropositivos, aunque a valores del I.R. relativamente bajos, a excepción de la hembra que murió dentro de la madriguera en octubre de 1995, la cual presentó un valor de 10 aunque casi 10 meses antes de morir. Estimando la mortalidad media anual en función de la presencia de anticuerpos frente a VHD, los conejos seronegativos presentaron una tasa del 20,37% (8,11-32,64%), superior

al 14,41% (0,75-28,07%) de los seropositivos, aunque esta diferencia no es significativa ($z=0,64$; $p>0,05$).

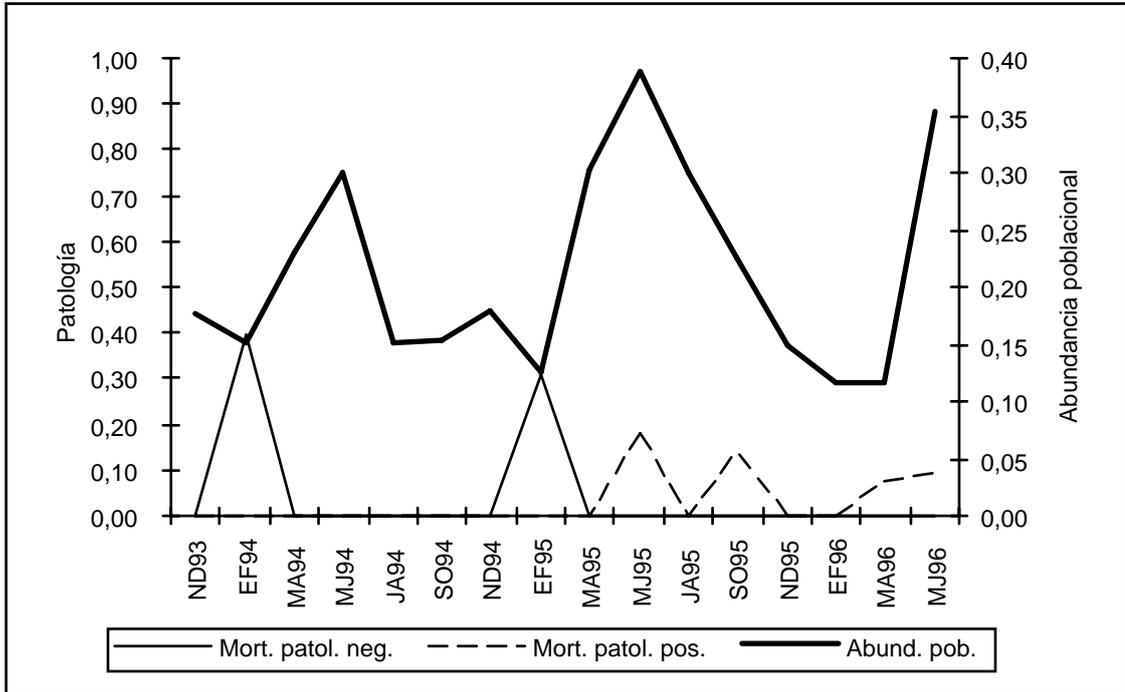


Figura 31: Tasas de intervalo bimestrales de mortalidad por causas patológicas en conejos adultos no vacunados en función del estatus inmunológico frente a VHD (neg.: seronegativos; Pos.: seropositivos) y variación del índice de abundancia poblacional.

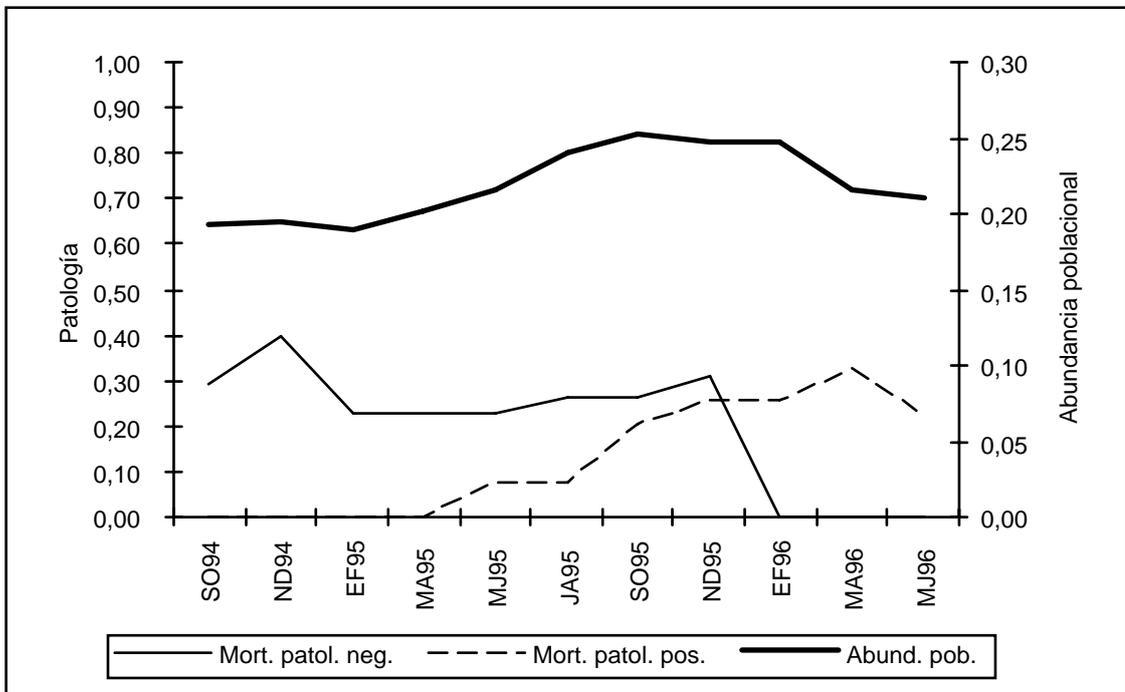


Figura 32: Tasa de intervalo media acumulada anual de mortalidad por patología en conejos adultos en función del estatus inmunológico y variación del índice de abundancia poblacional.

Las observaciones realizadas sugieren que la mayor parte de los conejos adultos que murieron durante los picos relacionados con la emergencia de juveniles fueron animales nacidos el año anterior, con alrededor de un año de edad. Si consideramos los datos de los años 1995 y 1996, cuando fue posible diferenciar con total seguridad la edad de los conejos radiomarcados, de 25 conejos con más de 1,5 años de edad, únicamente uno murió por VHD, mientras que de 16 conejos con alrededor de 1 año de edad (nacidos el año anterior) 5 murieron por causas patológicas. La comparación de estos datos mediante el test de probabilidad exacta de Fisher es significativa ($p < 0,05$) por lo que es factible considerar que la mortalidad por VHD que sufrieron los adultos, coincidente con la emergencia de los juveniles, fue superior entre los conejos nacidos el año anterior que en conejos más viejos. En este caso, si los conejos con más de 1,5 años de edad presentaron un riesgo de muerte por causas patológicas de $1/25 = 0,04$, y los conejos con alrededor de un año de edad de $5/16 = 0,3125$, ello quiere decir que estos últimos presentaron un riesgo un $(0,3125 - 0,04) \times 100 = 27,25\%$ superior al de los conejos más viejos de morir por VHD.

4.5.5.2-Jóvenes

En comparación a los conejos adultos, la mortalidad por causas patológicas en los conejos jóvenes aparentemente cubrió un espectro más amplio de enfermedades, especialmente en los conejos de menor edad que son susceptibles a un número mayor de patógenos (como el virus de la mixomatosis). Posteriormente, con el incremento de la edad la mortalidad por patologías se fue centrando específicamente en el virus VHD.

La mortalidad media anual estimada para todo el estudio fue del 41,23% (18,4-64,05%) en los no vacunados, y del 44,24% (16,29-72,18%) en los vacunados ($z=0,163$; $p > 0,05$). Sin embargo, cuando se excluyen los datos de la primera semana posterior al marcaje las diferencias aumentan, ya que mientras en este último grupo no se registraron muertes por esta causa en los no vacunados se estimó una mortalidad del 32,73% (4,17-61,28%).

La casuística para los conejos vacunados fue la siguiente: en marzo de 1993 murieron dos animales con peso comprendido entre 440 y 470grs (edad estimada entre los 2 y 3 meses de vida). Uno de ellos fue encontrado 5 días después de su captura y marcaje, semidevorado por córvidos, por lo que no pudo realizarse una necropsia completa, no obstante el hallazgo más evidente fueron signos de abundante diarrea que impregnaban el periné y las extremidades posteriores. El segundo animal encontrado muerto presentó un cuadro lesional característico de mixomatosis, con salida de exudados por las fosas nasales

y un marcado edema que afectaba a la cabeza y especialmente a los párpados. Este animal no mostró ninguno de estos síntomas 5 días antes, cuando fue capturado, marcado y vacunado. En ambos animales el test de HA realizado con muestras de hígado para el diagnóstico de VHD resultó negativo.

El siguiente conejo vacunado y que murió por causas patológicas fue en mayo de 1994. Este animal de 440 grs de peso murió dentro de la madriguera a los 4 días del marcaje y vacunación, recuperándose su cadáver varios días después en avanzado estado de putrefacción, aunque pudo descartarse la posibilidad de que el conejo hubiese sido predado dentro de la madriguera.

En febrero de 1995 murió un conejo de 280 grs de peso (alrededor de 1,5 meses de edad) capturado y vacunado 4 días atrás. En esta ocasión también los córvidos habían extraído parte de las vísceras. A la necropsia no se observó ninguna lesión evidente, y el test de HA realizado con muestras de hígado resultó negativo.

En abril de ese mismo año murió dentro de la madriguera una coneja de 700 grs (alrededor de los 3,5 meses de edad) 6 días después de su captura, marcaje y vacunación. En este animal se practicó la extracción de suero sanguíneo en el momento de su captura, presentado un IR de 7 y 0 frente a VHD y mixomatosis respectivamente. En esta ocasión no fue posible la recuperación de su cadáver, no obstante, su muerte fue simultánea a la de un hermano de camada no vacunado que, aparentemente fue predado.

En mayo de 1995 murió en el interior de la madriguera y 6 días después de su marcaje, un conejo de 910 grs de peso (alrededor de los 4,5 meses de edad). Este animal presentó un IR de 6 y 8 frente a VHD y mixomatosis respectivamente, sin embargo cuando se recuperó su cadáver, aunque el avanzado estado de putrefacción debido a las altas temperaturas imposibilitó el diagnóstico laboratorial, a la necropsia se pudo observar congestión traqueal y salida de líquido seroso y sanguinolento por los orificios nasales.

Por último, y ya en septiembre de 1995, murió dentro de la madriguera un macho de 1110 grs que en el momento de la captura presentó un IR de 1 y 10 frente a VHD y mixomatosis respectivamente. Aunque no se recuperó su cadáver, su muerte coincidió con la de otros individuos de la misma madriguera, tal y como ya comentaremos más adelante para los conejos no vacunados, existiendo suficientes evidencias como para pensar que el virus de la VHD fue la causa de su muerte.

La casuística de los conejos jóvenes no vacunados fue también muy similar: en marzo de 1993, y dentro de la primera semana posterior al marcaje, murió una coneja de 340 grs. perteneciente a la misma camada de la coneja vacunada que por las mismas fechas

fue encontrada muerta con signos de diarrea. En esta ocasión el cadáver fue encontrado intacto a la entrada de la madriguera, y a la necropsia el signo más evidente fue también la existencia de una enteritis acompañada de profusas diarreas. En laboratorio se pudo evidenciar la incidencia de coccidiosis intestinal, mientras que el test de HA realizado con muestras de hígado resultó negativo.

En mayo de 1994 únicamente se registró la muerte en el interior de la madriguera de una coneja 34 días después de su captura. En aquel momento su peso fue de 830 grs (alrededor de 4 meses de edad) y el IR fue negativo frente a ambas enfermedades. En este caso no pudo recuperarse el cadáver.

Durante enero-abril de 1995 murieron 6 conejos por causas patológicas. En febrero de ese año murió en la madriguera 5 días después de su captura y marcaje una coneja de 740 grs de peso (3,5 meses de edad) y con un IR negativo frente a ambas enfermedades, no siendo posible recuperar su cadáver. En marzo, murieron los otros 5 conejos. Dos de ellos, con pesos comprendidos entre los 290 y los 380 grs (1,5-2 meses) murieron dentro de la madriguera en la semana posterior al marcaje. Otros dos, con peso comprendido entre los 340 y los 450 grs (2-2,5 meses) murieron también dentro de la madriguera pasada la primera semana posterior a su captura, sin que tampoco se pudieran recuperar sus cadáveres, mientras que el último conejo de 340 grs, que también murió después de la primera semana, fue encontrado semidevorado por córvidos, sin vísceras, aunque en esta ocasión se pudo observar una congestión generalizada de los restos de la canal.

En septiembre de 1995 tuvo lugar la muerte, dentro de la primera semana posterior al marcaje, de dos conejos pertenecientes a la misma madriguera y con pesos comprendidos entre los 940-1040 grs (4,5 y 5,5 meses de edad aproximadamente). Estos conejos fueron capturados y marcados junto a otros cinco de similar peso y de la misma madriguera, siendo todos ellos conejos jóvenes cuyo IR fue negativo para VHD y con valores entre 6 y 10 para mixomatosis en todos ellos, además de una hembra adulta con IR de 4 y 10 frente a VHD y mixomatosis y un macho adulto con IR 10 para VHD y 7 para mixomatosis que en el momento del marcaje fue vacunado contra ambas enfermedades. De los siete animales jóvenes, cuatro fueron vacunados contra VHD y mixomatosis.

Dos días después del marcaje de estos nueve conejos y durante una de las sesiones rutinarias de radioseguimiento se localizaron los restos dejados por una rapaz de uno de los conejos no vacunados, mientras en una de las entradas a la madriguera se encontró el cadáver de otro no vacunado, siendo ambos conejos jóvenes. A la necropsia de éste se encontraron lesiones muy evidentes y características de VHD (pese a que en la posterior

remisión al laboratorio de las muestras de hígado el test de HA resultó negativo). Debido al interés del suceso se procedió al seguimiento diario de esa madriguera, de tal manera que al día tercero después del marcaje se encontraron los restos de la hembra adulta que aparentemente fue predada por una especie de predador indeterminada. Posteriormente, en el cuarto día se hallaron los restos de dos de los conejos jóvenes vacunados que también fueron considerados como predados por especie indeterminada. Al día sexto tuvo lugar la muerte en el interior de la madriguera de otro conejo joven vacunado, sin que se recuperase su cadáver, mientras que ya en el día nueve posterior al marcaje fue encontrado enterrado por un zorro parte del tercio anterior de uno de los conejos jóvenes no vacunados. En esta ocasión únicamente se pudo observar la tráquea congestiva y los ganglios de la región perifaríngea hemorrágicos, así como la salida de líquido serohemorrágico por orificios nasales, clasificándose este animal como muerto por causas patológicas ante la sospecha de VHD.

De este modo, de nueve animales radiomarcados en una misma madriguera, dos adultos seropositivos y siete jóvenes seronegativos frente a VHD, en un lapso de siete días únicamente sobrevivieron el adulto con mayor IR frente a VHD y que además fue vacunado, y una coneja joven que fue también vacunada en el momento del marcaje. El resto, aparentemente sucumbieron frente a la VHD o fueron predados como consecuencia de ésta, lo que pone de manifiesto la interferencia de ambas causas de mortalidad a la hora de interpretar los resultados.

Por último, en octubre de 1995 tuvo lugar la muerte de una coneja en el interior de su madriguera sin que se pudiese recuperar su cadáver. Este animal fue capturado cuatro meses antes, con un peso de 1090 grs (aproximadamente unos 6 meses de edad) y con un IR de 4 y 10 frente a VHD y mixomatosis respectivamente.

Al estimar las tasas de mortalidad por patología en función del cuatrimestre o de la edad, destaca la aparente complementariedad de la estimación de las tasas de mortalidad por patologías y por predación (figuras 33 y 34), puesto que a un período de elevada mortalidad por patologías le corresponde una baja mortalidad por predación y viceversa. Ello redundará de nuevo en la fuerte interferencia que existe entre ambos factores, dificultando la correcta valoración del impacto que tiene cada uno de ellos sobre la población de conejos.

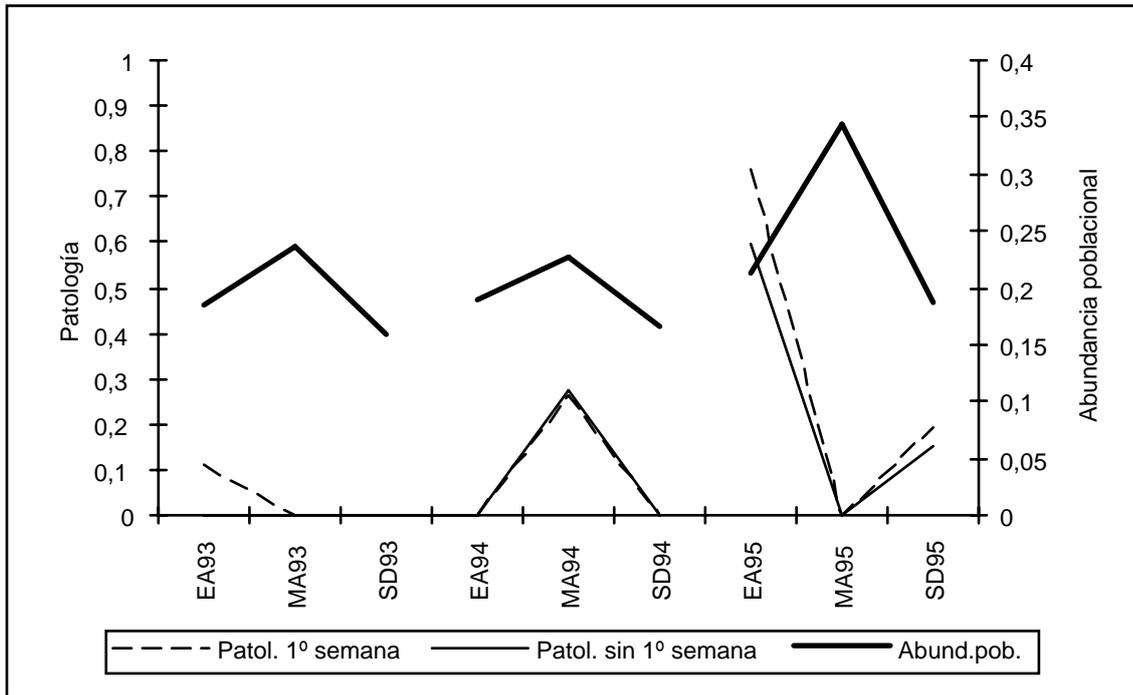


Figura 33: Tasas de intervalo cuatrimestrales de mortalidad por patologías en los conejos jóvenes no vacunados, e índice de abundancia poblacional.

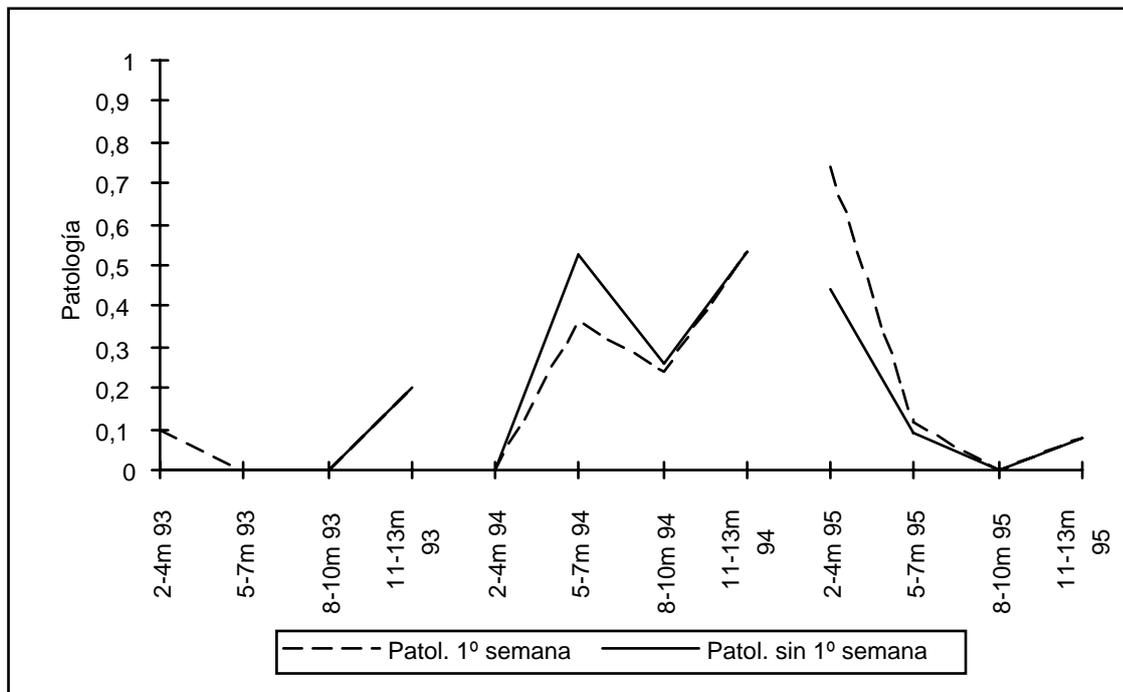


Figura 34: Tasas de intervalo de mortalidad por patologías en conejos jóvenes no vacunados en función de la edad.

La variación de la mortalidad por patologías a lo largo del estudio siguió una tendencia creciente (figura 35 y tabla XXXI), al estimarse, igual que en los conejos adultos, la mayor tasa de mortalidad durante el año 1995, llegando al 77,12% (50,09-100%), o al 61,19% (21,37-100%) si se excluyen los datos correspondientes a la primera semana posterior al marcaje.

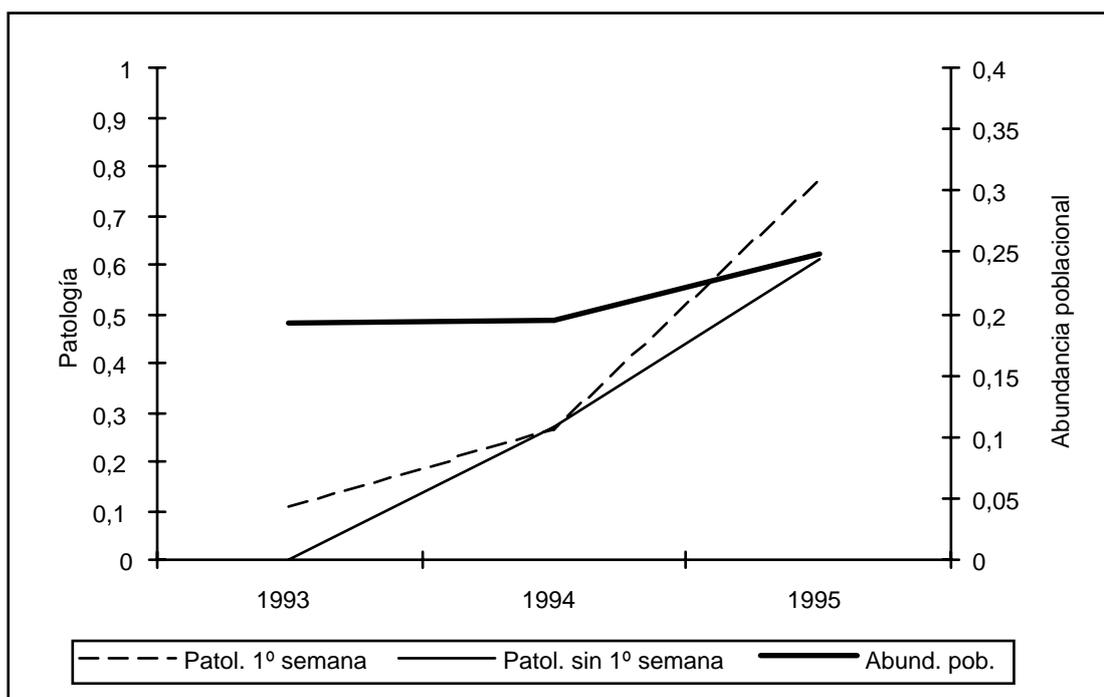


Figura 35: Tasas de intervalo de mortalidad por patologías para cada uno de los años en conejos jóvenes sin vacunar.

	Con 1º sem.	Sin 1º sem.
1993	10,99% (0-31,29)	0% -
1994	26,38% (0-70,35)	27,32% (0-72,56)
1995	77,12% (50,09-100)	61,19% (21,37-100)

Tabla XXXI: Tasa de mortalidad anual (en %) debida a patologías en los conejos jóvenes no vacunados. Entre paréntesis los intervalos de confianza al 95%.

4.5.5.3-Tasas de morbilidad y mortalidad de VHD

Asumiendo que todos los conejos adultos muertos por causas patológicas, lo fueron por VHD, en este apartado hemos realizado una estimación de las tasas de morbilidad y mortalidad de este virus a partir de la variación experimentada por la población de adultos en la seroprevalencia de anticuerpos antes y después de cada mortandad invernal. Para ello hemos usado las siguientes relaciones matemáticas:

$$\text{Morbilidad}=(Sc+Mt)/Sn$$

$$\text{Mortalidad}=Mt/(Sc+Mt)$$

$$Sc=Sp'(1-Mt)-Sp$$

En las que:

"Mt" es la proporción del total de la población que muere por causas patológicas y que ha sido estimada mediante radioseguimiento.

"Sn" es la proporción de conejos adultos seronegativos frente a VHD en el total de la población antes de que tenga lugar la mortalidad.

"Sp" y "Sp'" es la proporción de conejos adultos seropositivos frente a VHD en el total de la población antes y después de que tenga lugar la mortalidad.

"Sc" es la proporción de la población antes de la mortalidad que será infectada por el virus y no morirá, por lo que al seroconvertir formará parte de Sp'.

Para el pico de mortalidad de enero-febrero de 1994 se ha tomado como valor de Sp la prevalencia de anticuerpos de los 14 conejos adultos capturados en octubre-diciembre de 1993, que se estimó en un 21,43%. El valor de Mt ya se ha calculado en un 25,48% en anteriores apartados, mientras que para el valor de Sp' se ha considerado la seroprevalencia existente en mayo-junio que se calculó en un 37,5% (n=8), la prevalencia en meses anteriores no se ha tenido en cuenta por considerar que todavía estaba presente la epizootia de VHD. Con estos datos la morbilidad estimada fue de un 40,72% y la mortalidad de un 79,63%.

Siguiendo el mismo método, para 1995 se ha considerado la seroprevalencia de octubre-diciembre de 1994, que se estimó en un 66,67% (n=15) y la seroprevalencia de mayo-junio de 1995 estimada en un 88,89% (n=9). En este caso la morbilidad se estimó en un 73,61%, superior a la del año anterior, sin embargo la mortalidad, estimada en un 81,68%, fue muy similar a la calculada para 1994.

4.6-Modelización de Enfermedad Hemorrágica (VHD)

4.6.1-Introducción

La modelización es uno de los componentes de la investigación epidemiológica. El desarrollo de modelos en veterinaria permite incrementar el conocimiento sobre una enfermedad y valorar el costo económico de la misma y su control, ensayando diferentes herramientas de gestión antes de ponerlas a la práctica en el campo; esto permite un ahorro considerable de esfuerzo y recursos, a la vez que abre nuevas vías para la investigación de la enfermedad (Thrusfield y Gettinby 1984).

En el presente trabajo las observaciones realizadas en campo muestran notables variaciones en parámetros epidemiológicos tan importantes como la mortalidad en la población, la incidencia temporal, la prevalencia de anticuerpos o la influencia de la edad de los conejos. Mediante técnicas de simulación, en este capítulo se pretende reproducir la variación de estos parámetros epidemiológicos en un modelo matemático que recoge las principales características conocidas de la epidemiología de la enfermedad, con el fin de comprender su dinámica y la posibilidad de recuperar esta especie mediante diferentes medidas de gestión.

4.6.2-Descripción del modelo

Se ha desarrollado un modelo de simulación de tipo determinístico construido mediante diagramas de flujo. Para ello se ha utilizado el programa Stella (H.P.S.; USA), en el que se ha seleccionado el algoritmo de Euler como método de integración para el cálculo de los resultados. La unidad de tiempo sobre la que se han definido los valores de todos los parámetros introducidos en el modelo ha sido de una semana, si bien para evitar la aparición de falsos ciclos, el intervalo semanal se ha fraccionado en 4 subintervalos a la hora de realizar los cálculos. Los períodos mensuales han sido idealizados a 4 semanas, con el fin de simplificar el tratamiento de los datos, por lo que un año se ha compuesto de 48 semanas únicamente. Cuando los datos generados se han elaborado para períodos mensuales, anuales, o bianuales se ha recurrido al cálculo de la media acumulada cada 4, 48 ó 96 semanas respectivamente, estimándose así el valor medio semanal para cada mes, año o período de dos años del parámetro en cuestión. El cálculo de la media acumulada cada dos años ha sido necesario para poder estimar el valor medio en el equilibrio de aquellos parámetros que han presentado ciclos bianuales.

4.6.2.1-Ciclo biológico

La estructura básica del modelo (figura 36) describe el ciclo biológico de la especie. Este comienza con la emergencia de los animales juveniles de la madriguera hacia el primer mes de vida. Estas cuatro primeras semanas de vida en las que los gazapos permanecen reclusos en el interior de la gazapera se han obviado por considerarlas irrelevantes en la epidemiología de la enfermedad, dada la inmovilidad de estos animales y el hecho de que para su supervivencia dependen a su vez de la supervivencia de la madre.

En el modelo, el número de conejos de un mes de vida que logran emerger de la madriguera depende del número de hembras adultas que hay en la población (considerando que un 60% de los conejos adultos son hembras), de la proporción de hembras que parieron un mes atrás y del tamaño medio de camada. Para la proporción de hembras gestantes se ha utilizado la estimación realizada en el presente trabajo, por lo que el porcentaje de hembras que han criado a sus gazapos hasta el primer mes de vida es el reflejado en la tabla XXXII, lo que supone una media de 3,4 partos por hembra y año.

Mes	Hembras gestantes (%)
Octubre	10
Noviembre	10
Diciembre	40
Enero	40
Febrero	60
Marzo	60
Abril	60
Mayo	60

Tabla XXXII: Porcentaje mensual de hembras gestantes utilizado en el modelo (según datos del presente trabajo).

Por simplificación, el tamaño de camada es constante durante todo el período reproductor, no existiendo una relación de densodependencia con la densidad poblacional. El tamaño de camada utilizado en las diferentes simulaciones del modelo ha sido 2,5; 3,5 y 4,5 gazapos destetados por hembra y parto.

Una vez que los conejos emergen al exterior, el modelo diferencia seis clases de edad. Las cuatro primeras corresponden a las cuatro primeras semanas posteriores a la emergencia (segundo mes de vida), período en el que, como ya se ampliará más adelante, estos conejos presentan resistencia al desarrollo de la enfermedad clínica producida por la infección del virus VHD. La siguiente clase de edad engloba a todos los conejos jóvenes con una edad comprendida entre los 3 y los 7 meses de edad, después de la cual pasan a la categoría de adultos, única clase con capacidad para reproducirse.

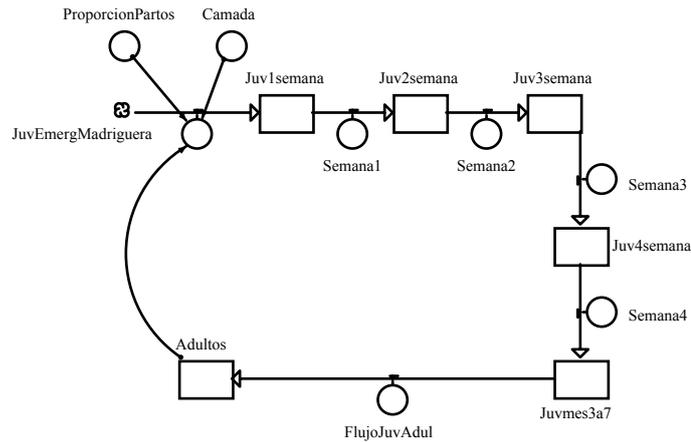


Figura 36: Diagrama de flujos que describe el ciclo biológico de la población de conejos simulada.

4.6.2.2-Mortalidad

La mortalidad que sufren los conejos en el modelo, y que no es debida al virus VHD, se corresponde principalmente con el de la mortalidad por predación, por lo que se la ha denominado por ese nombre.

En el modelo existen dos tasas de mortalidad por predación, una genérica para todos los animales con edades comprendidas entre los 2 y los 7 meses de edad, y otra para los conejos adultos.

Para la realización del análisis de sensibilidad con el que estudiar el comportamiento del modelo bajo diferentes tasas de mortalidad, éstas han comprendido un intervalo de 10 valores equidistantes en el que el valor superior ha sido cuatro veces el valor inferior. Para los conejos jóvenes las tasas de mortalidad semanal que han delimitado el intervalo han sido 0,0178 y 0,0713 (lo que en ausencia de otros factores de mortalidad equivale a una mortalidad total del 57,8-97,1% desde los 2 a los 7 meses de edad) y para los adultos las tasas límite han sido 0,0085 y 0,0342 (equivalentes a una mortalidad anual del 33,8 - 81,2%). Estos valores han sido sustituidos en los gráficos por números correlativos del uno al diez, en los que el uno representa la simulación con menor mortalidad y el diez la simulación con la tasa de mortalidad más elevada.

La tasa de mortalidad que afecta a los animales jóvenes se considera que depende exclusivamente de la edad, por lo que en el modelo no sufre variaciones con la época del año. Sin embargo, para los adultos ha variado a lo largo de éste debido a que la intensidad de predación que soportan depende de la cantidad de animales juveniles, al ser más

fácilmente capturados por los predadores (Villafuerte 1994). Para la estimación de la variación de la mortalidad de los adultos se ha realizado un análisis de regresión lineal, en el que la variable independiente ha sido la relación de adultos/jóvenes de los animales capturados en la finca ARPAL durante el estudio (excluyendo los jóvenes capturados con caja-trampa) y la variable dependiente un coeficiente de predación. Este ha sido calculado también para cada período bimestral, dividiendo la tasa media de mortalidad semanal estimada en campo para cada uno de los períodos por la tasa media estimada entre todos los períodos (en este caso no se ha tenido en cuenta los datos de sep-oct debido a la fuerte interferencia de la muerte por caza). La ecuación obtenida (1) se ha utilizado para calcular el coeficiente que, mediante su producto con la tasa de predación de los conejos adultos, ha modulado la magnitud de ésta en función de la abundancia relativa de conejos jóvenes en la población.

$$(1) \text{ Coeficiente} = 0,4044 \times \text{Núm. Adultos} / \text{Núm. Juveniles} + 0,3262$$

$$(n=5; R^2=0,7766; F=10,4303; p<0,05)$$

Como ya se ha comentado, el crecimiento de la población no está autolimitado por la reducción de la tasa reproductiva conforme aumenta la densidad poblacional, por lo que el único factor regulador del crecimiento poblacional ha sido la mortalidad. Para ello, se ha incluido en el modelo un coeficiente teórico relacionado con el número de conejos adultos, y que modula las tasas de predación de ambas clases de edad mediante su multiplicación con éstas. Este coeficiente tiene una relación lineal directamente proporcional con el número de adultos expresada en la ecuación (2).

$$(2) \text{ Coeficiente} = 0,0002 \times \text{Núm. Adultos} + 0,9956$$

Este coeficiente es una aproximación a lo que se denomina como competencia intraespecífica, y es un reflejo de la capacidad de carga del medio, ya que los conejos adultos que se encuentran asentados en un territorio compiten con otros conejos adultos y en especial con los jóvenes por mantenerse en él, lo que limita la supervivencia de aquellos. También refleja el comportamiento innato de dispersión de los conejos jóvenes (Kunkele y Von Holst 1996) que supone un aumento de la mortalidad por predación.

4.6.2.3-Epidemiología de VHD

El modelo desarrollado contempla las siguientes características conocidas de la epidemiología de la enfermedad:

a) - Elevada mortalidad; que en el modelo se ha considerado del 90% para todas las simulaciones y edades, con la excepción comentada más adelante en el punto c.

b) - Reducido tiempo de latencia; en este caso, se ha considerado un tiempo medio de 1,75 días posteriores a la infección (correspondiente a la cuarta parte de un intervalo semanal). Los conejos infectados se han convertido en infecciosos únicamente en los momentos antes de morir.

c) - Ausencia de mortalidad producida por la infección del virus durante el segundo mes de vida. Este hecho parece ser debido tanto a la propia edad de los conejos como a la presencia de anticuerpos de origen maternal (Cooke 1997; Lenghaus com. per.), como la inclusión simultánea de ambos mecanismos de resistencia frente a la enfermedad en un único modelo aumenta su complejidad y dificulta su interpretación, se han construido dos variantes del mismo c_1 y c_2 :

c_1 -En la más simple se ha considerado que durante su segundo mes de vida ningún conejo muere cuando es infectado por el virus, superando la infección y pasando a la clase de animales resistentes a la enfermedad. Esta variante la hemos denominado como "inmunidad innata".

c_2 -En la segunda variante los conejos nacidos de madre resistente a la infección, si son infectados por el virus VHD durante su segundo mes de vida, logran sobrevivir en el 100% de los casos, mientras que el resto de conejos de esa misma edad son susceptibles. En este caso la variante la hemos denominado como "inmunidad adquirida".

Para evitar la saturación del modelo con una elevada proporción de conejos infecciosos que implicaría una fuerza de infección excesiva, todos los conejos de dos meses de edad infectados no han sido infecciosos.

Al margen de estas particularidades epidemiológicas durante el segundo mes de vida, en el resto de las categorías de edad el modelo diferencia tres clases de individuos: conejos susceptibles de ser infectados (S), conejos infectados e infecciosos (I) y conejos resistentes (R) que han superado la infección. El período de inmunidad de estos animales se desconoce con exactitud en la realidad, por lo que en el modelo se han contemplado cuatro posibilidades: una duración media de 8 meses, como representación de una inmunidad inferior a un ciclo anual completo, una duración de 16 y 24 meses, como

representación de una inmunidad superior al año, y una inmunidad permanente que inmuniza al conejo durante toda su vida. Con el fin de simplificar, la pérdida de inmunidad en los tres primeros casos ha seguido una progresión lineal. También se ha incluido en el modelo el hecho de que un conejo resistente que entra en contacto con el virus experimente un efecto de revacunación. A nivel de población esto se ha traducido en una reducción proporcional a la fuerza de infección de la velocidad de pérdida de inmunidad, expresada ésta como la proporción de conejos resistentes que pasan a ser susceptibles por unidad de tiempo.

La fuerza de infección (Fz) del virus, que se define como la fracción del total de individuos que son contactados por unidad de tiempo por individuos infecciosos (Heesterbeek y Roberts 1995) se ha calculado mediante la ecuación (3):

$$(3) Fz=B.C(N).I/N$$

donde:

- "B" es la tasa de transmisión y expresa la proporción de contactos efectivos entre conejos infecciosos y susceptibles. En este caso, por simplificación se le ha asignado el valor 1, lo que significa que todos los contactos entre un conejo infeccioso y un conejo susceptible han producido la infección de este último.

- "C(N)" es la tasa de contacto entre conejos, que es función del número de conejos que hay en la población (N). En este caso se ha optado por la función lineal $C=2N/1000$, en donde "C" es el número de conejos contactados por un solo conejo durante una semana. Esta ecuación nace de la suposición de que toda la población de conejos del modelo está distribuida en un área de 1000 Ha. (similar a la finca de estudio), y que el área de campeo media de un conejo es de 2Ha. De esta manera, la ecuación supone que un conejo infeccioso es capaz de contactar con la totalidad de individuos que comparten su área de campeo, bien directamente, bien mediante deyecciones, secreciones, etc.

- "I" es el número de conejos infecciosos que hay en la población.

- "N" es el número total de conejos de la población ($N=S+I+R$).

Como también se desconoce las fuentes de virus que existen en el medio natural y su importancia relativa (conejos portadores, enfermos crónicos, restos orgánicos en madrigueras etc) en el modelo se ha incluido una función específica simulando la presencia constante de una fuente de virus en el campo.

En el diseño del modelo se ha establecido una jerarquización de los flujos de mortalidad, ya que al ser de naturaleza diferente la mortalidad por predación y por VHD, estas no se excluyen mutuamente. Esto significa que la mortalidad por predación ha actuado indistintamente tanto sobre los conejos susceptibles como sobre los conejos infectados, de tal manera que del contingente "A" de conejos infectados en el intervalo "a" que morirían por VHD en el intervalo "a+1", en realidad únicamente llegan a morir por enfermedad "(A-A.P)", siendo "P" la tasa de predación para esa clase de edad. Es decir, parte de los conejos infectados son predados antes de que puedan morir por la infección misma, y lo mismo ocurre con los conejos que superan la infección y se hacen resistentes. Una parte de ellos es predada antes de llegar a hacerse resistentes.

En todas los casos el período de simulación ha sido de 15 años, tiempo suficiente para que el modelo alcanzase los valores de equilibrio.

4.6.3-Evaluación de herramientas de gestión

Las herramientas de gestión constituyen un grupo de actuaciones, de muy diversa naturaleza, dirigidas especialmente a la recuperación de las poblaciones de conejos silvestres después de que sus efectivos poblacionales se viesan reducidos por el impacto de la VHD. Al margen de otras medidas de manejo del hábitat dirigidas a aumentar las tasas reproductivas, las más comunes y frecuentemente utilizadas son la inmunoprofilaxis y la reducción de la mortalidad causada por otros factores. La inmunización frente a VHD consiste básicamente en la captura del mayor número posible de animales y la inoculación individual de vacuna comercial, mientras que la reducción de otros factores de mortalidad, consiste básicamente en la disminución de la mortalidad por mixomatosis (mediante vacunaciones y lucha contra los vectores) y especialmente en el control de las poblaciones de especies predatoras.

Mediante la ampliación del modelo se ha incluido en el mismo la posibilidad de simular algunas de las herramientas de gestión con el fin de analizar sus efectos cualitativos, y determinar el momento óptimo de aplicación. Las herramientas analizadas han sido: la caza, que si bien no es una herramienta en sí misma, sí que lo es realizar el aprovechamiento cinegético de la población en el momento menos perjudicial para su dinámica; el control de la mortalidad por predadores; y la vacunación frente a VHD. La eficacia de las tres herramientas se ha analizado como el porcentaje de aumento o disminución de la abundancia poblacional respecto a la abundancia de la misma población no sometida a ningún tipo de actuación. En el caso de la caza y del control de predadores

se ha realizado idéntico análisis para una población similar exenta de VHD, con el fin de estimar la interferencia de esta enfermedad en la gestión de la especie.

Todas las simulaciones se han realizado bajo las diferentes tasas de predación y con períodos de inmunidad de 8 meses, 16 meses e inmunidad permanente, utilizándose únicamente el tamaño intermedio de camada (3,5 gazapos destetados por hembra y parto).

4.6.3.1-Caza

En el modelo, la mortalidad por caza ha sido de naturaleza aditiva en relación a la mortalidad por predación, puesto que ambas son excluyentes entre sí (un conejo que es cazado no tiene oportunidad de ser predado y viceversa). Todas las clases de edad han tenido idéntica probabilidad de ser cazadas, y como épocas de caza se ha planteado de octubre a enero, que es la época de caza tradicional de esta especie durante la primera mitad del período reproductor, y la época alternativa que va de junio a septiembre, en la que se suele practicar el descaste estival en ausencia de reproducción de la especie. Las tasas semanales de mortalidad por caza simuladas han sido dos: 0,026, que supone una mortalidad aproximada del 10% para todo el período de caza, y 0,05, que supone una mortalidad del 20%.

4.6.3.2-Control de la predación

El control de la predación ha sido incluido en el modelo mediante un coeficiente reductor de las tasas de predación para ambas clases de edad (jóvenes y adultos). Este coeficiente ha tomado los valores 0,9 y 0,8, lo que ha supuesto una reducción de las tasas normales de predación del 10% y el 20%.

Como los resultados del modelo ya se han analizado para diferentes tasas de predación, en este caso se pretende analizar la época del año más adecuada para reducir el impacto de predación y lograr un mayor incremento de la población de conejos; para ello el año se ha dividido en tres períodos cuatrimestrales: octubre-enero, cuando tiene lugar la primera mitad del período reproductivo de la población de conejos, febrero-mayo, que es la segunda mitad y se caracteriza por la abundancia de conejos juveniles, y junio-septiembre, momento en el que debido a la práctica ausencia de reproducción la población está constituida básicamente por adultos y subadultos.

4.6.3.3-Immunización frente a VHD

La vacunación frente a VHD se ha simulado mediante la introducción de una tasa de vacunación idéntica para todas las edades y clases epidemiológicas, y que ha sido de rango inferior a la mortalidad por predación y caza y también a las tasas que han determinado que un conejo infectado pase a ser infeccioso o resistente. Esto se ha hecho así porque cuando se realizan campañas de vacunación se desconoce el estatus inmunitario de los conejos capturados, vacunándose todos independientemente de aquel. Por tanto, en el modelo la vacunación de un conejo infectado no interfiere en la posterior evolución de este hacia conejo infeccioso o resistente o en su probabilidad de ser cazado o predado. Sin embargo, sí que se ha incluido el factor de revacunación en conejos resistentes, lo que a nivel de población se ha traducido en una reducción de la tasa de pérdida de inmunidad (proporción de conejos resistentes que pasan a ser susceptibles por unidad de tiempo) proporcional a la tasa de vacunación. La vacunación de conejos de dos meses de edad con anticuerpos de origen maternal ha supuesto su paso a la categoría de resistentes.

En este caso, el año también ha sido dividido en tres períodos cuatrimestrales idénticos a los del control de la predación, simulándose dos tasas de vacunación: 0,042, que supone la vacunación de aproximadamente el 50% de la población a lo largo de todo el cuatrimestre, y 1, que considera el hipotético caso de poder vacunar al 100% de la población.

4.6.4-Análisis del modelo

4.6.4.1-Abundancia poblacional

Para todas las simulaciones existe una relación inversa entre las tasas de mortalidad por predación y la abundancia poblacional, cuya pendiente de crecimiento se va incrementado conforme aquellas disminuyen. La característica más importante de esta relación es la existencia de un punto determinado a partir del cual el crecimiento de la pendiente experimenta un marcado aumento, lo que origina elevados valores de la abundancia poblacional en las tasas de predación más reducidas en comparación a las más elevadas.

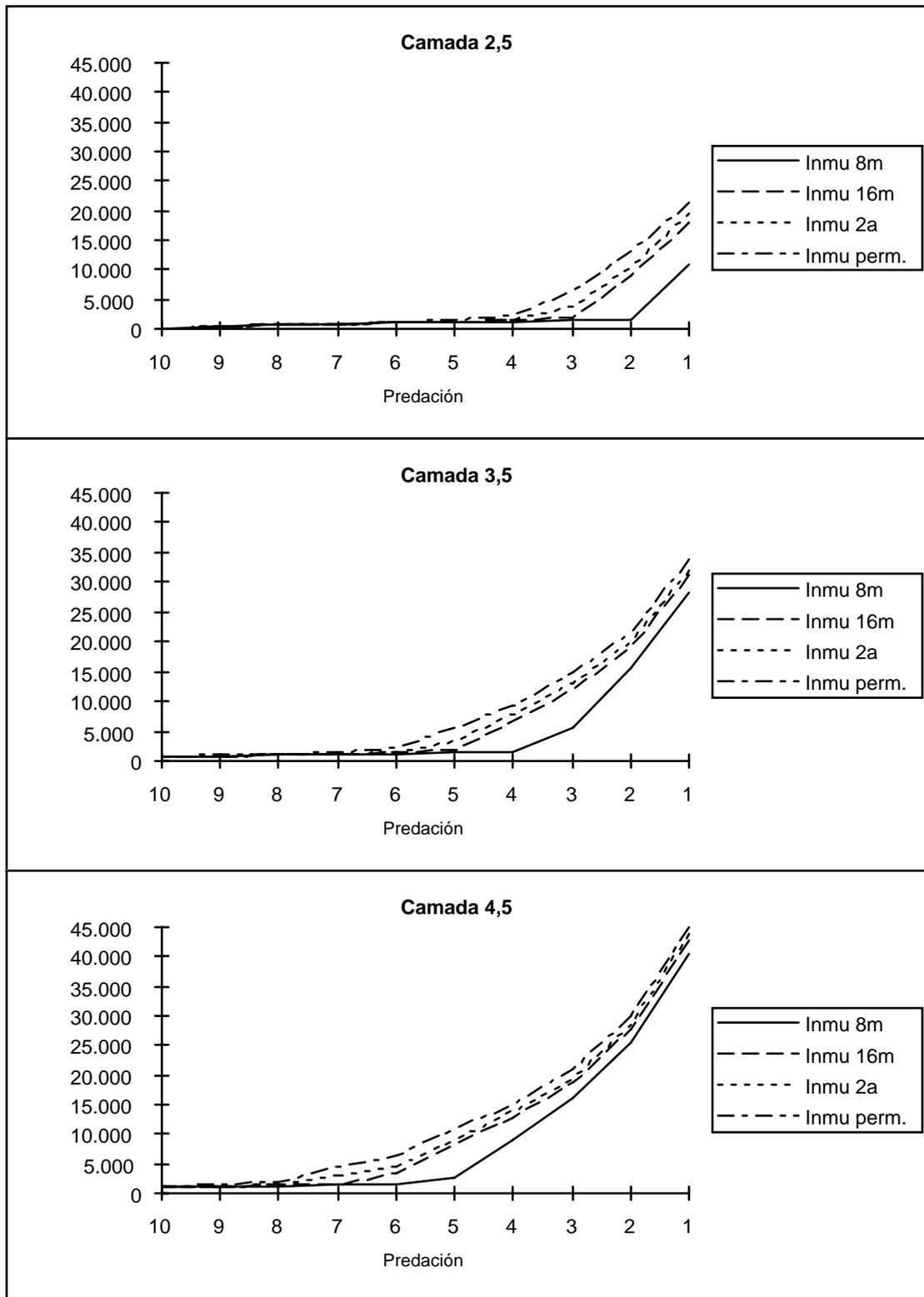


Figura 37: Media acumulada bianual, en función del tamaño de camada, período de inmunidad y mortalidad por predación, del total de conejos existentes en la población simulada con inmunidad innata.

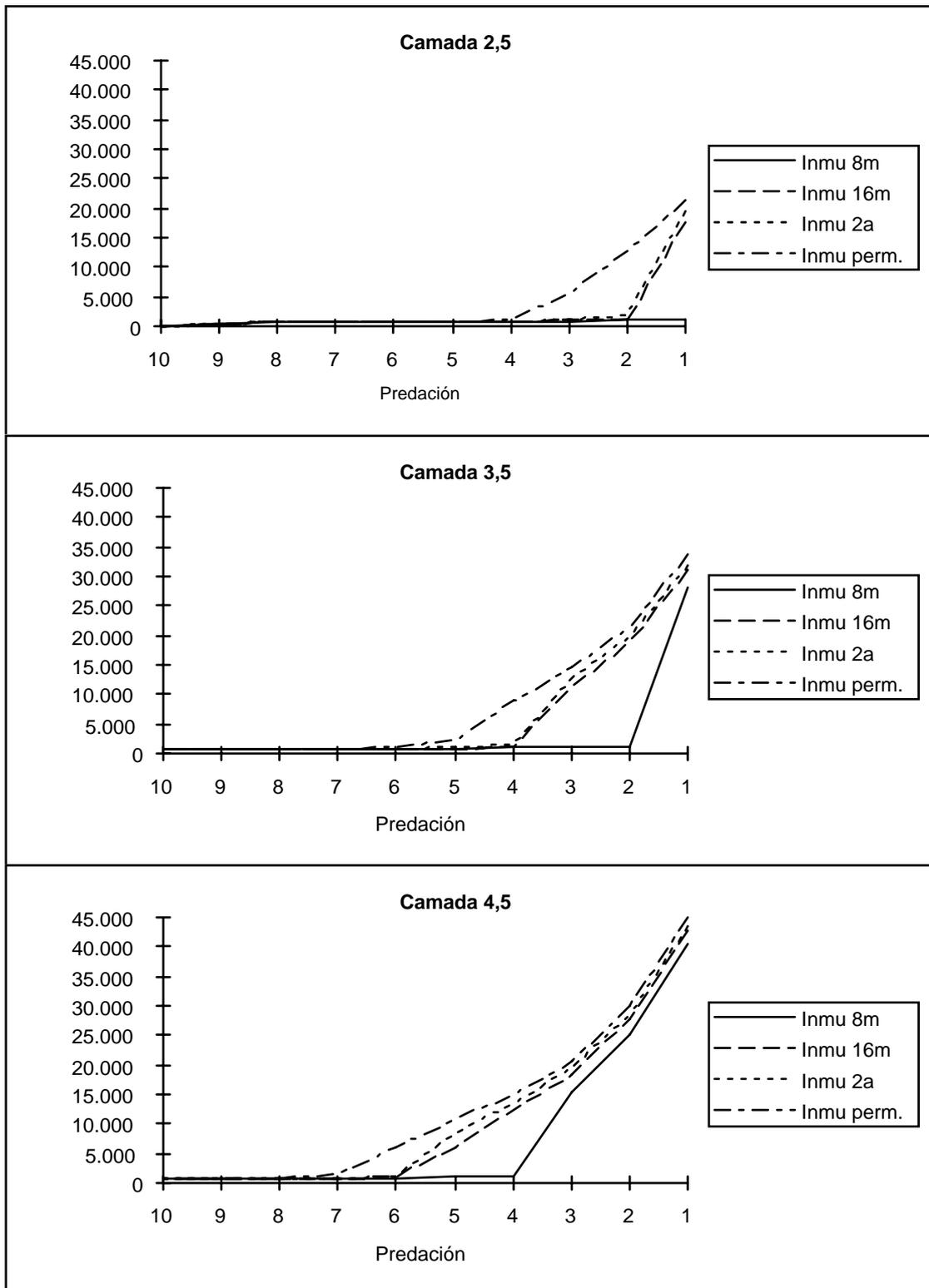


Figura 38: Media acumulada bianual, en función del tamaño de camada, período de inmunidad y mortalidad por predación, del total de conejos existentes en la población simulada con inmunidad adquirida.

La principal diferencia en los resultados de ambas variantes estriba en que este momento a partir del cual el crecimiento de la pendiente de la abundancia poblacional se incrementa, tiene lugar a tasas de mortalidad por predación más bajas cuando la inmunidad es adquirida que cuando es innata. No obstante, este retraso se ve compensado parcialmente porque la magnitud del incremento de la pendiente es cada vez más elevado conforme tiene su aparición a tasas de predación más reducidas, por lo que ambas variantes del modelo alcanzan valores poblacionales similares con la tasa de predación más reducida.

La variación del tamaño de camada o del período de inmunidad sigue un comportamiento cualitativo del modelo similar a lo comentado para ambas variantes del modelo. La disminución del tamaño de camada o del período de inmunidad implica que, el punto a partir del cual el crecimiento de la pendiente aumenta, sucede a tasas de predación más bajas, si bien también es compensado porque la magnitud del incremento es cada vez mayor conforme la mortalidad por predación es más baja (figuras 37 y 38). En general, bajo una misma mortalidad por predación, el incremento de uno o ambos parámetros conlleva el aumento de los valores de abundancia poblacional.

4.6.4.2-Mortalidad por VHD

La variación de la mortalidad por VHD para el total de la población ha seguido un patrón similar en todas las simulaciones (figuras 39 y 40). Este patrón se caracteriza por el incremento de la mortalidad por esta enfermedad conforme se reduce la predación, hasta alcanzar un valor máximo a partir del cual la mortalidad por VHD presenta una pendiente de crecimiento negativa. El valor de predación para el que esta pendiente cambia de signo es el mismo para el cual tiene lugar el mayor aumento del crecimiento de la pendiente en la abundancia poblacional, y que ya se ha comentado en el anterior apartado (figuras 37 y 38).

Según las dos variantes del modelo analizadas, cuando se considera que la resistencia a la enfermedad de los conejos más jóvenes es adquirida, la pendiente de la mortalidad por VHD se hace negativa a tasas de predación más reducidas, siendo de mayor magnitud, por lo que la mortalidad por VHD para las tasas de predación más pequeñas es muy similar entre ambas variantes.

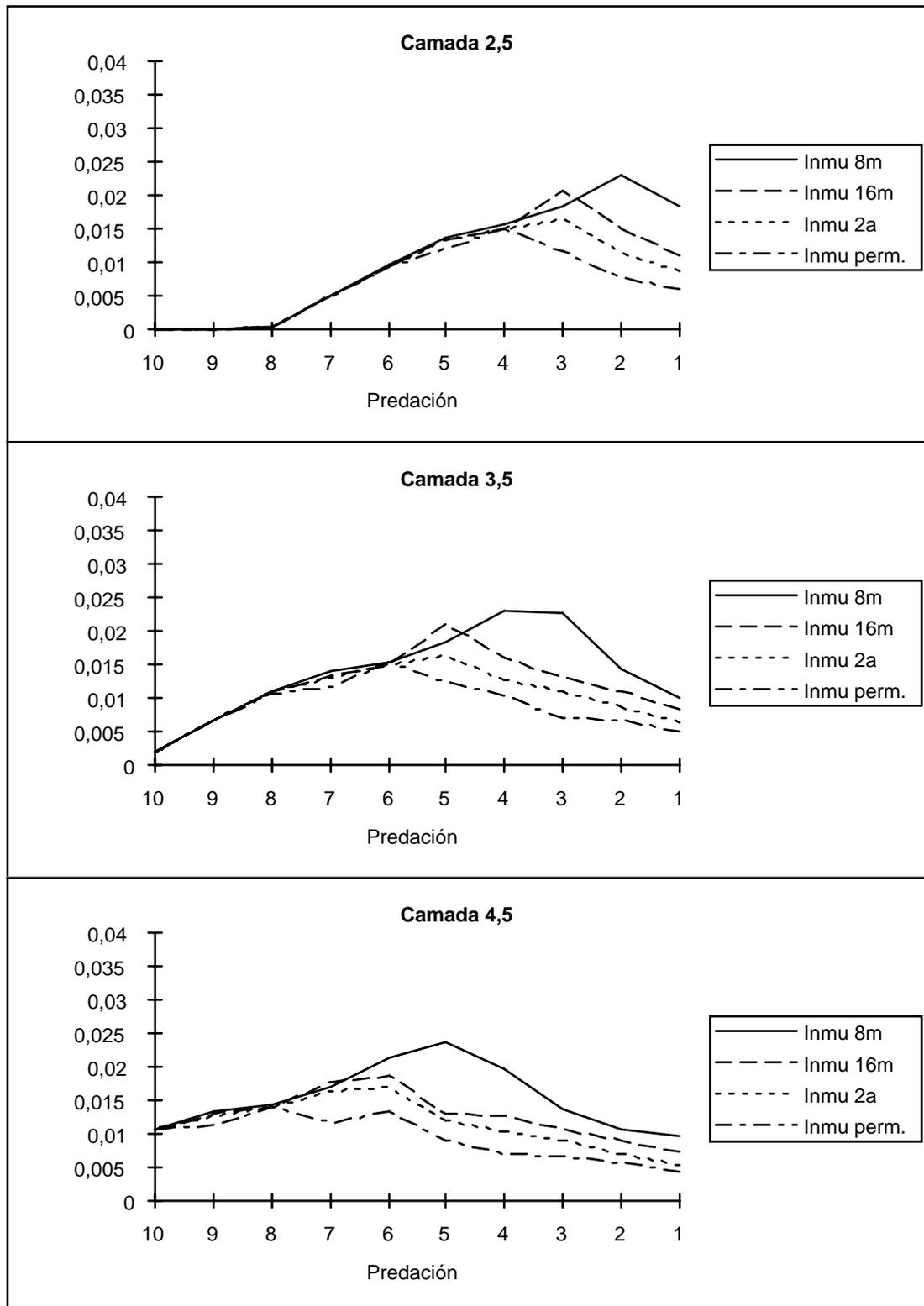


Figura 39: Media acumulada bianual, en función del tamaño de camada, período de inmunidad y mortalidad por predación, de la mortalidad por VHD en la población simulada con inmunidad innata.

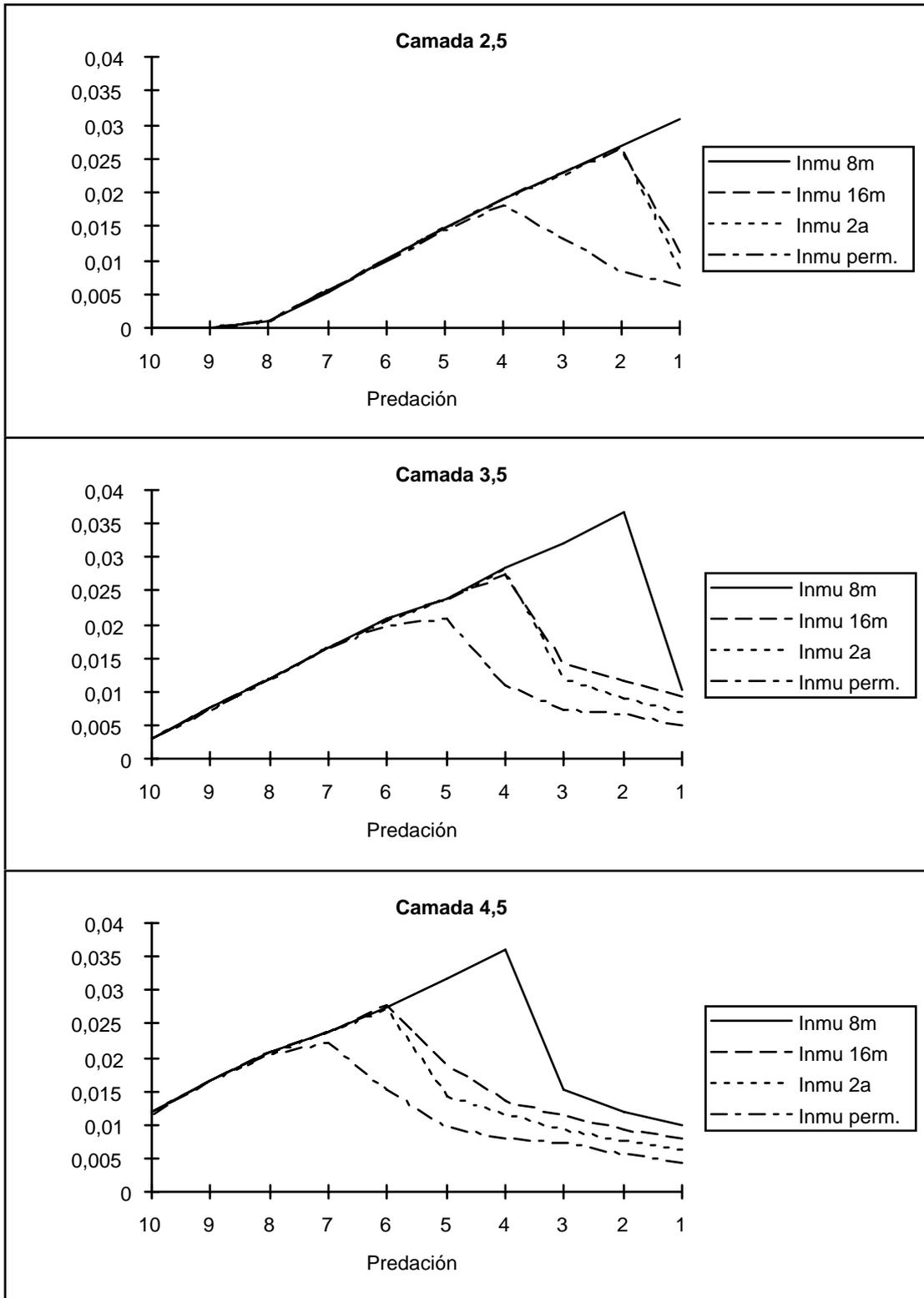


Figura 40: Media acumulada bianual, en función del tamaño de camada, período de inmunidad y mortalidad por predación, de la mortalidad por VHD en la población simulada con inmunidad adquirida.

El aumento del tamaño de camada produce un desplazamiento hacia tasas de predación más elevadas del punto a partir del cual la pendiente de la mortalidad por VHD se hace negativa, mientras que el aumento del período de inmunidad tiene el mismo efecto, si bien reduce también la mortalidad por VHD, ya que una mayor duración de la inmunidad aumenta la supervivencia de los conejos y reduce la proporción de susceptibles.

Estos resultados del modelo pueden interpretarse en base a la relación existente entre la fuerza de infección (probabilidad que tiene un conejo susceptible de contactar con un conejo infeccioso) y la edad media a la que los conejos son infectados, ya que una elevada fuerza de infección implica una edad media de infección reducida, y viceversa. Si las tasas de predación son elevadas, la densidad poblacional es mínima y también lo es la fuerza de infección; en este caso solamente una reducida proporción de la población es infectada y a una edad media elevada, por lo que la mortalidad entre los conejos infectados es alta. Conforme disminuyen las tasas de predación, la densidad poblacional aumenta; esto facilita la transmisión del virus (se incrementa la fuerza de infección) que infecta a una proporción cada vez mayor de la población, y aunque la edad media de infección es inferior, la mortalidad causada entre los conejos infectados sigue siendo alta. Sin embargo, si la densidad poblacional sigue incrementándose como resultado de menores tasas de predación, la edad media de infección se reduce todavía más, y una cada vez mayor proporción de conejos son infectados a edades inferiores a los dos meses. Como por debajo de esta edad, los conejos no mueren por VHD, la disminución de la edad media de infección supone la reducción de la tasa de mortalidad causada por esta enfermedad sobre el total de la población

4.6.4.3-Mortalidad Jóvenes/Adultos

El análisis del impacto de la mortalidad por VHD en función de la edad permite visualizar más claramente los cambios que acontecen en la epidemiología de la enfermedad conforme aumenta la densidad poblacional. En este caso la relación se ha calculado como el porcentaje en el que la media acumulada bianual de las tasas semanales de mortalidad por VHD de los conejos jóvenes es superior a la de los adultos (figuras 41 y 42).

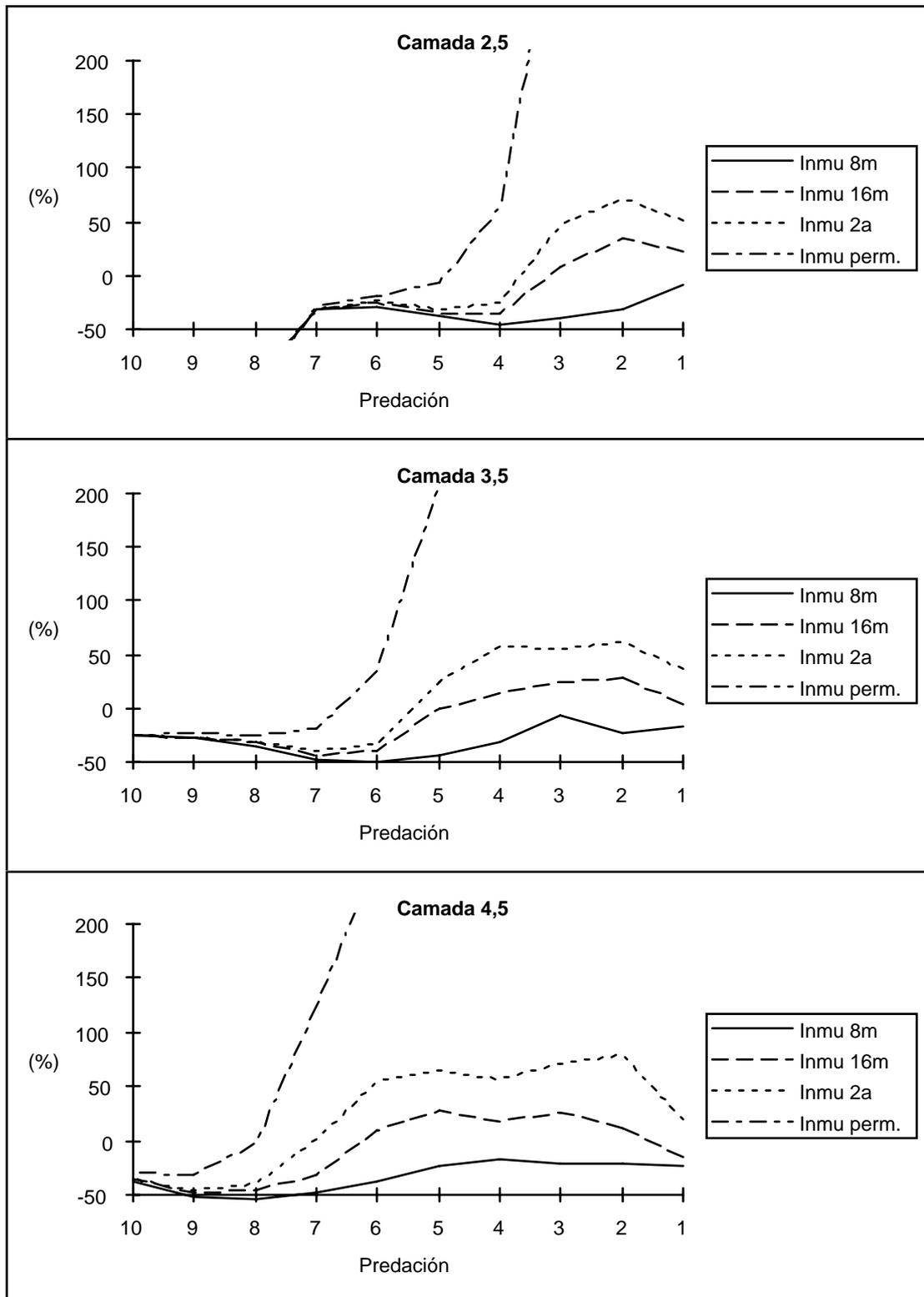


Figura 41: Comparación (expresada en %) de la mortalidad por VHD entre jóvenes y adultos cuando la resistencia a la enfermedad es innata. Los valores positivos indican que la mortalidad media por VHD es superior en los conejos jóvenes que entre los adultos y viceversa.

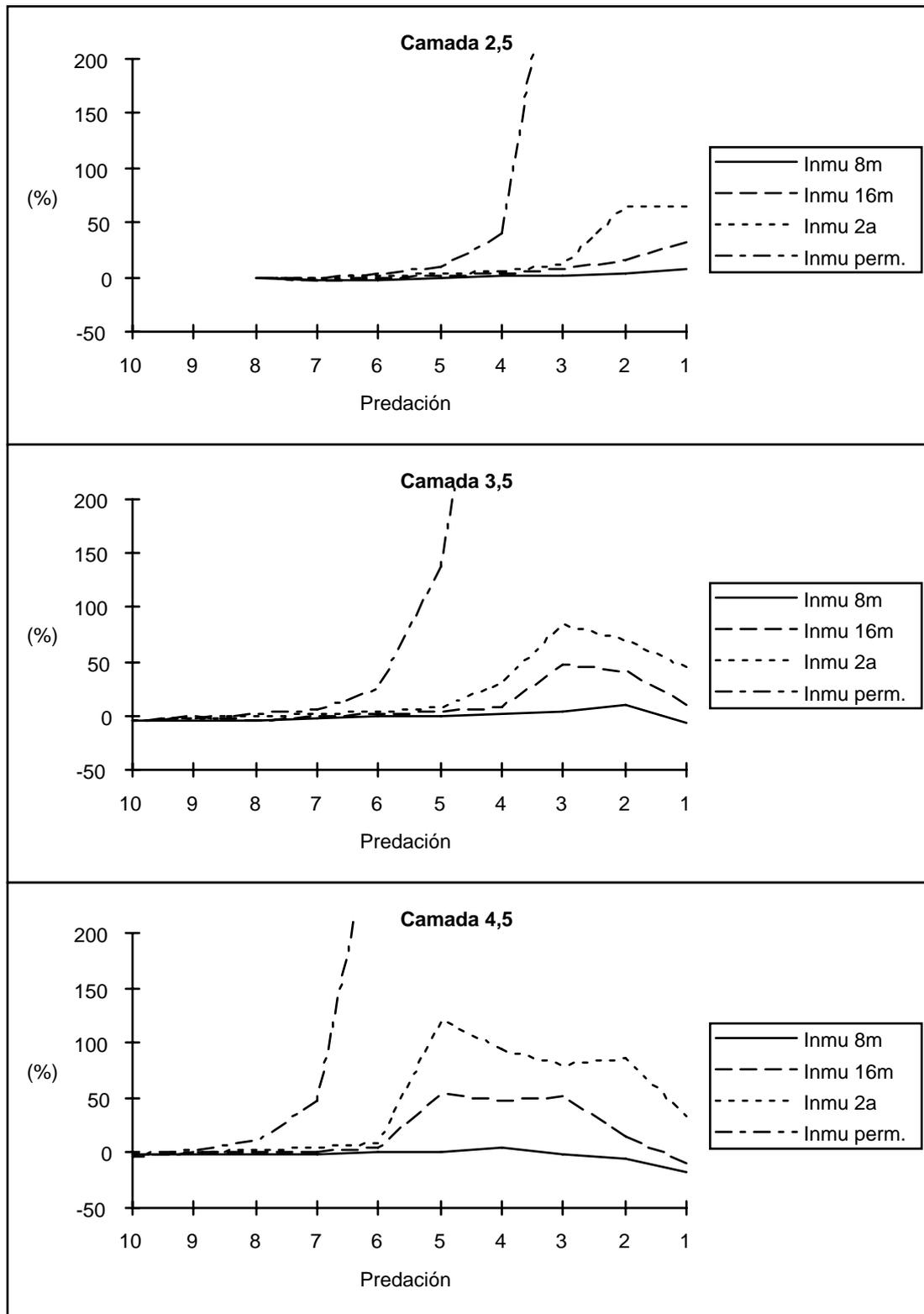


Figura 42: Comparación (expresada en %) de la mortalidad por VHD entre jóvenes y adultos cuando la resistencia a la enfermedad es adquirida. Los valores positivos indican que la mortalidad media por VHD es superior en los conejos jóvenes que entre los adultos y viceversa.

En las figuras 41 y 42, y en función de los diferentes parámetros, se observa que en situaciones de baja densidad poblacional la mortalidad de los conejos adultos es muy similar o incluso superior a la de los conejos jóvenes, como resultado de la reducida fuerza de infección. En esta situación, la edad media de infección es muy elevada, por lo que no existen diferencias importantes en el nivel de resistencia a la enfermedad entre los conejos infectados de ambas clases de edad. Conforme la densidad poblacional aumenta, la mortalidad entre los conejos adultos es relativamente menor que la de los conejos jóvenes, como resultado del reclutamiento de conejos resistentes; una vez alcanzado y superado el punto de inflexión en el que la pendiente de mortalidad por VHD se hace negativa, la mortalidad de los conejos jóvenes también se reduce, al disminuir la edad media de infección, llegando en algunas ocasiones a invertirse la relación, siendo ligeramente superior la mortalidad entre los adultos como consecuencia de la pérdida de inmunidad de éstos y de la reducida mortalidad entre los jóvenes debido a que la práctica totalidad son infectados con menos de dos meses de edad.

Las diferencias entre ambas variantes del modelo residen básicamente en que las tasas de mortalidad entre ambas clases de edad difieren más cuando la resistencia de los conejos jóvenes es inherente a la edad. Las variaciones en la productividad de la población (tamaño de camada) o en la mortalidad natural producen cambios en la relación de mortalidad por VHD para ambas edades ligados a las variaciones de la densidad poblacional, mientras que el período de inmunidad supone además reducir o ampliar estas diferencias debido a la pérdida de inmunidad de los conejos adultos. De este modo, cuando se considera que la resistencia de los conejos jóvenes es inherente a su edad y el período de inmunidad es reducido, la mortalidad por VHD entre los conejos adultos es superior a la de los jóvenes para todas las combinaciones de productividad y mortalidad por predación.

4.6.4.4-Prevalencia de anticuerpos

La prevalencia de anticuerpos para el total de la población (figuras 43 y 44) está correlacionada en ambas variantes del modelo con la densidad poblacional, aumentando conforme las condiciones ecológicas son favorables para conseguir mayores densidades de población, y alcanzando de forma asintótica niveles próximos al 100% de prevalencia en algunos casos.

El efecto de la productividad, la mortalidad natural o la duración del período de inmunidad es similar que en los anteriores parámetros, destacando que incluso una inmunidad de corta duración, como es de 8 meses, es capaz de producir niveles de

prevalencia muy elevados en condiciones de alta productividad o baja mortalidad, aun a pesar de que el virus presenta una mortalidad del 90%.

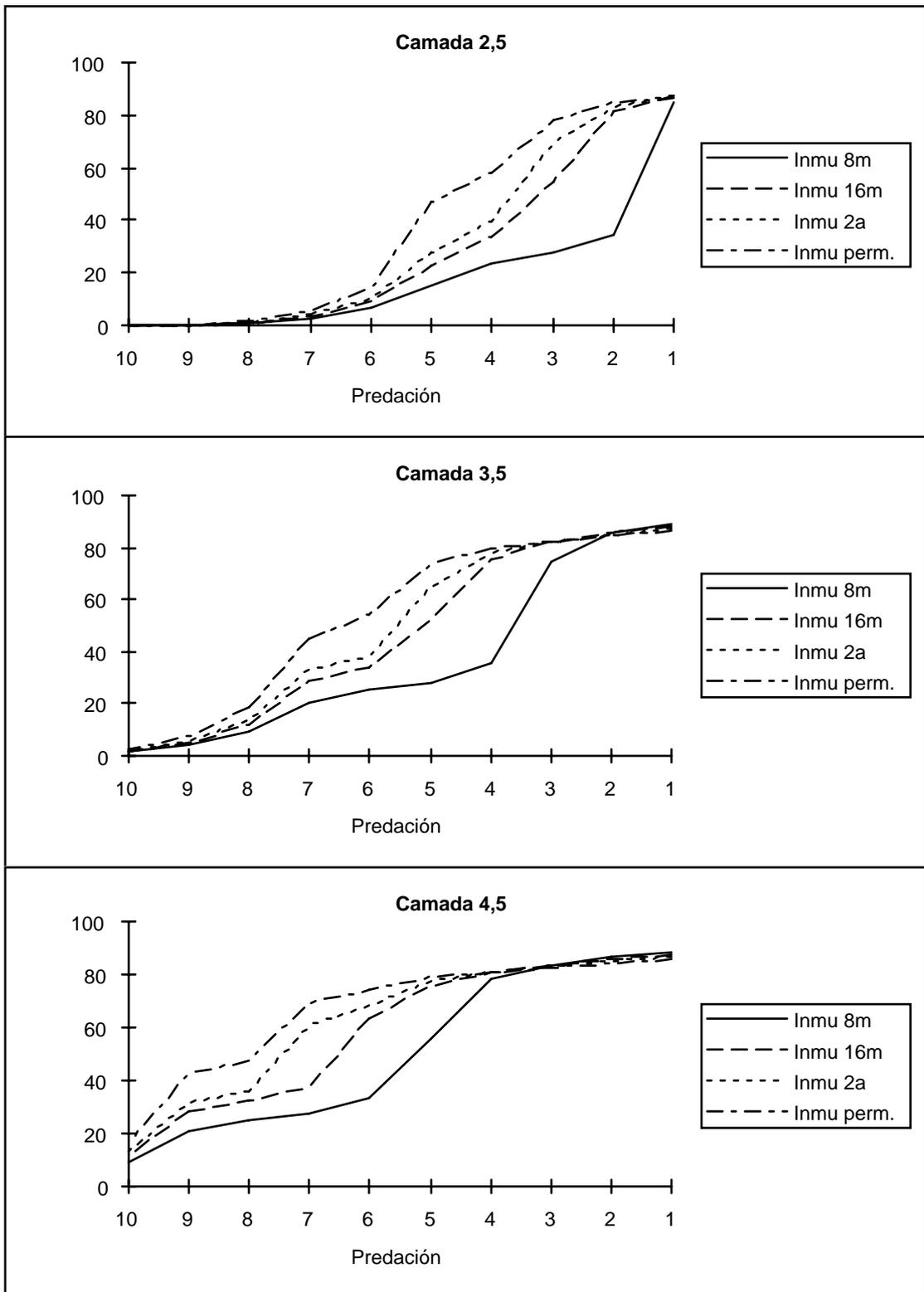


Figura 43: Prevalencia (%) de anticuerpos frente a VHD para el total de la población cuando la inmunidad de los conejos durante su segundo mes de vida es innata.

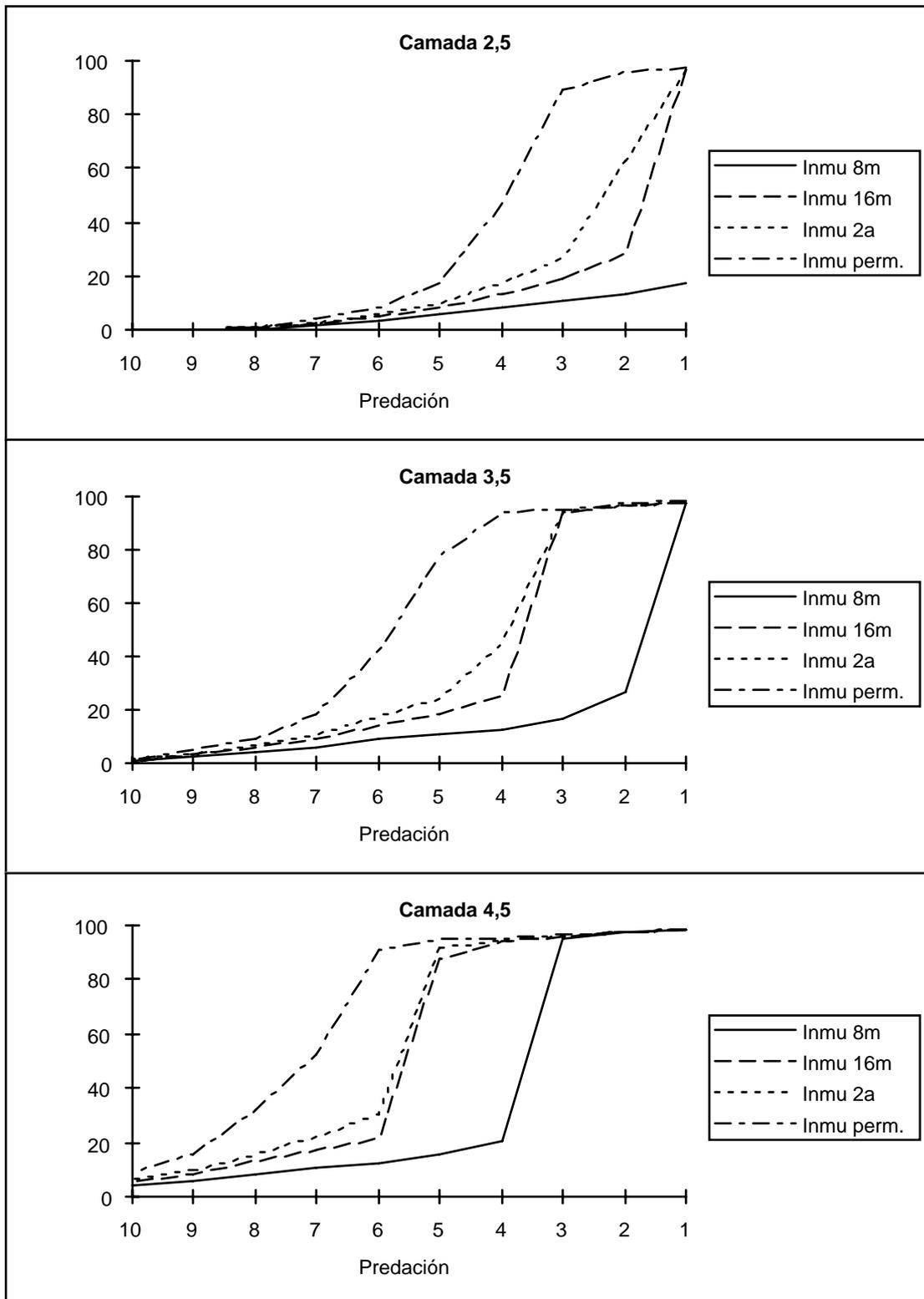


Figura 44: Prevalencia (%) de anticuerpos frente a VHD para el total de la población cuando la inmunidad de los conejos durante su segundo mes de vida es adquirida.

4.6.4.5-Prevalencia Adultos/Jóvenes

Los niveles de prevalencia son siempre superiores entre los conejos adultos que entre los jóvenes, si bien esta diferencia se reduce considerablemente en aquellas condiciones que favorecen densidades elevadas de población y en algunas situaciones de baja densidad y reducido período de inmunidad cuando la resistencia de los conejos es innata. En el primer caso, cuando existe una elevada densidad poblacional, la reducción de la edad media de infección aumenta la supervivencia de los conejos jóvenes y por tanto la prevalencia de anticuerpos en esta clase de edad, mientras que en el segundo caso, un reducido período de inmunidad disminuye la prevalencia de anticuerpos entre los conejos adultos, aumentando la mortalidad entre los que son infectados por el virus.

Las diferencias entre adultos y jóvenes son inferiores cuando la inmunidad es adquirida, ya que en este caso la inclusión de los conejos con dos meses de edad seropositivos (cuyo número es directamente proporcional a la prevalencia de anticuerpos en adultos) aumenta la prevalencia media para esta clase de edad.

De igual manera, variaciones en la productividad o en la mortalidad provocan cambios de la relación de prevalencia adultos/jóvenes ligados a la densidad poblacional, mientras que el período de inmunidad, además, influye directamente al reducir la prevalencia media de anticuerpos entre los conejos adultos.

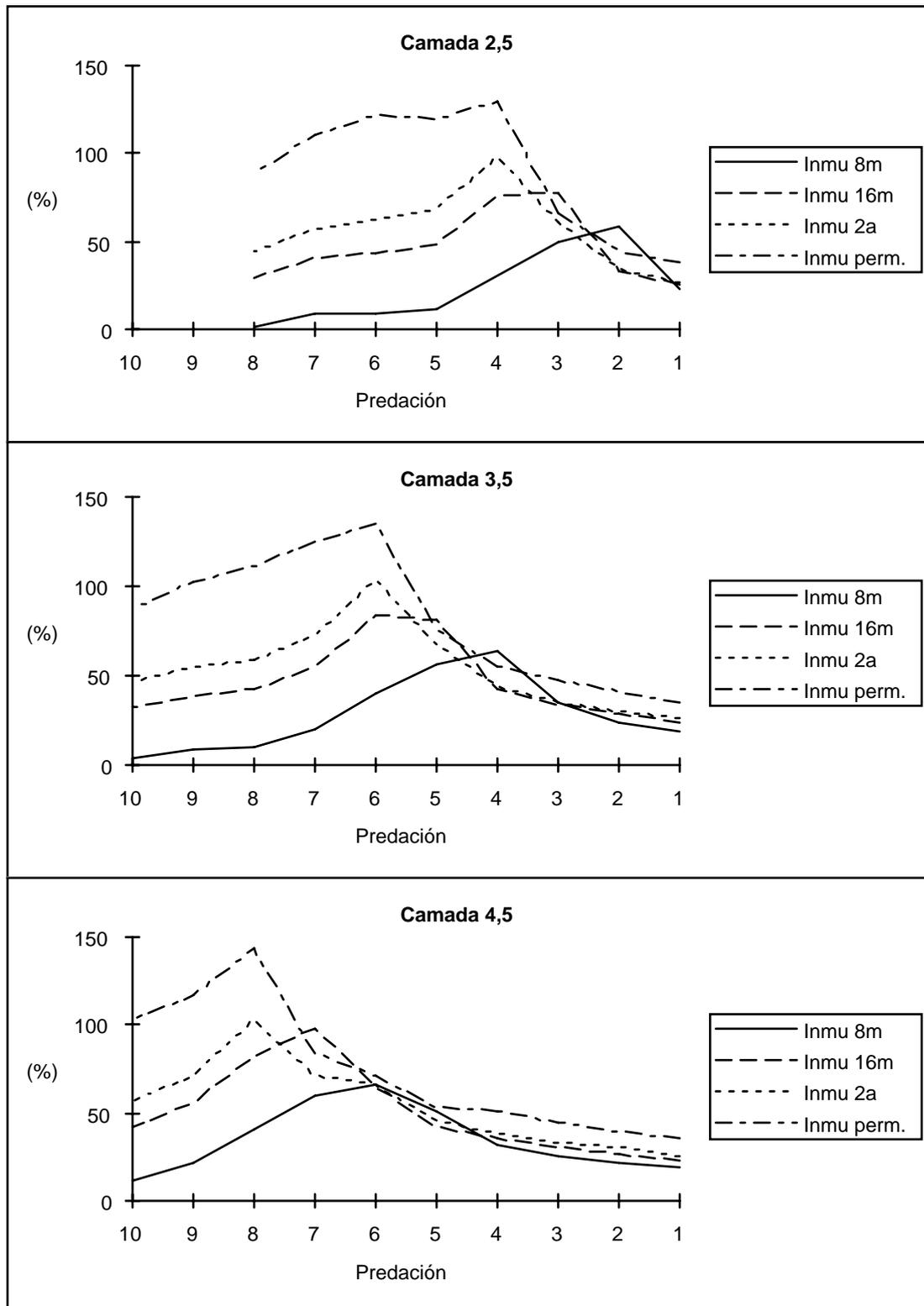


Figura 45: Comparación (expresada en %) de la prevalencia de anticuerpos frente a VHD entre jóvenes y adultos cuando la resistencia a la enfermedad es innata. Valores positivos indican que la prevalencia media es superior entre los conejos adultos.

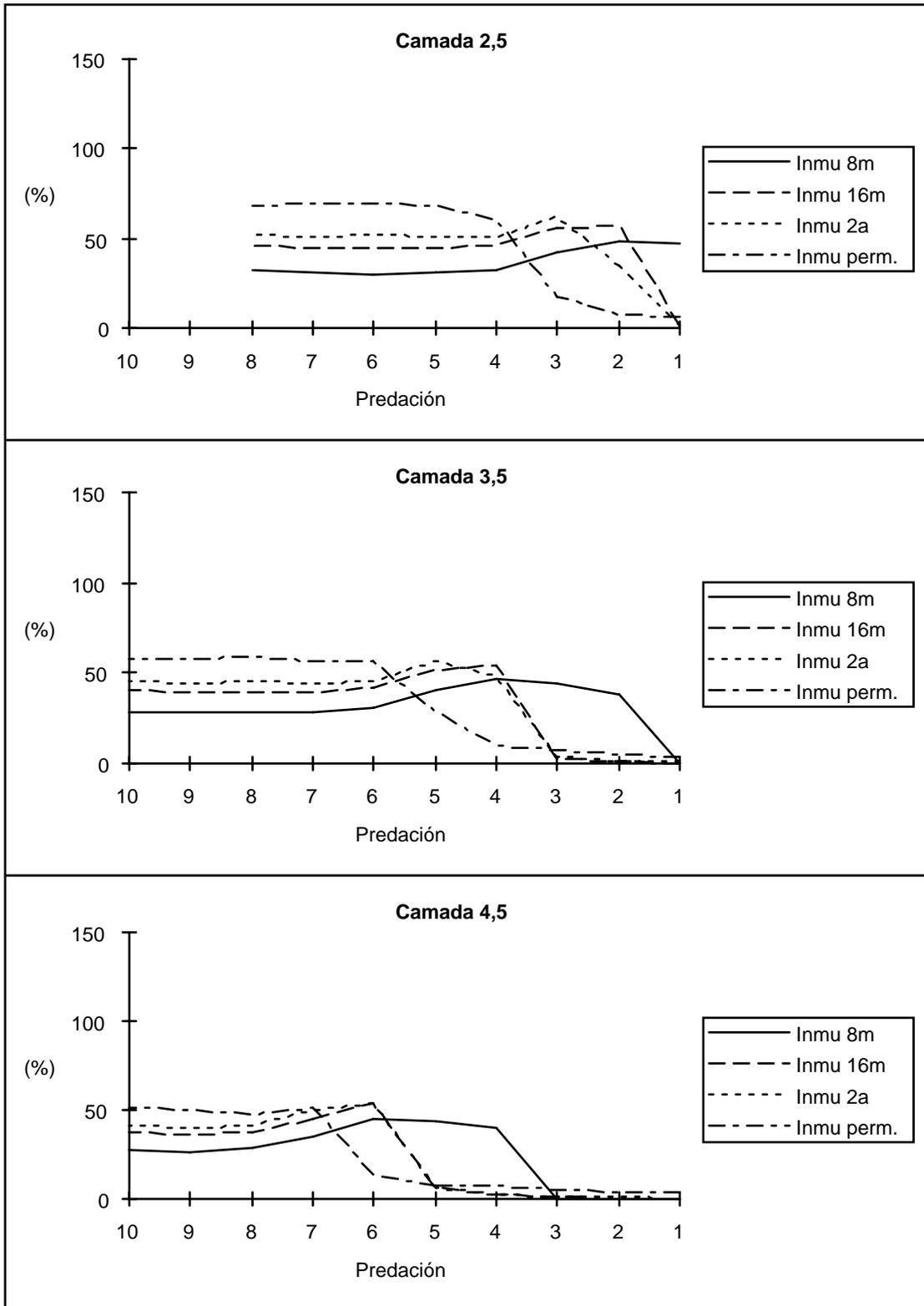


Figura 46: Comparación (expresada en %) de la prevalencia de anticuerpos frente a VHD entre jóvenes y adultos cuando la resistencia a la enfermedad es adquirida. Valores positivos indican que la prevalencia media es superior entre los conejos adultos.

4.6.4.6-Variaciones interanuales

El comportamiento del modelo ha exhibido variaciones interanuales cíclicas cuando la resistencia de los conejos con dos meses de edad ha sido adquirida.

Estos ciclos han sido de carácter bianual y se han originado cuando la combinación de los tres parámetros analizados (tamaño de camada, mortalidad y período de inmunidad) ha producido una densidad poblacional próxima al valor mínimo por debajo del cual la tasa de contacto entre conejos es inferior a uno. Estos ciclos bianuales se han caracterizado por mostrar mínimos poblacionales inferiores al umbral crítico por encima del cual la tasa de reproducción del virus es superior a 1, de tal manera que la presencia de la enfermedad únicamente ha sido posible durante los períodos de reproducción de los conejos. En esta situación la mortalidad causada entre los conejos jóvenes ha sido reducida por la relativamente elevada proporción con anticuerpos maternos, lo que ha facilitado el incremento de la población a niveles por encima de este umbral crítico y ha reducido la prevalencia de anticuerpos en la población. Como consecuencia de este aumento de la densidad poblacional y disminución de la prevalencia, la propagación del virus se ve facilitada, causando un incremento de la mortalidad y de la prevalencia y un nuevo descenso de la densidad poblacional por debajo del umbral crítico..

Este tipo de ciclos no se ha detectado cuando la inmunidad ha sido innata, ya que no existe el efecto, retardado en el tiempo, del aumento de la resistencia poblacional como consecuencia de los anticuerpos maternos. En este caso, los niveles de población se han mantenido estables, bien por encima o bien por debajo del umbral crítico determinado por la tasa de contacto entre conejos. En este caso, cuando el valor poblacional se ha estabilizado por debajo del umbral crítico de densidad, la enfermedad únicamente ha persistido durante los períodos de reproducción debido a la existencia de fuentes permanentes del virus, con un impacto constante de un año para otro.

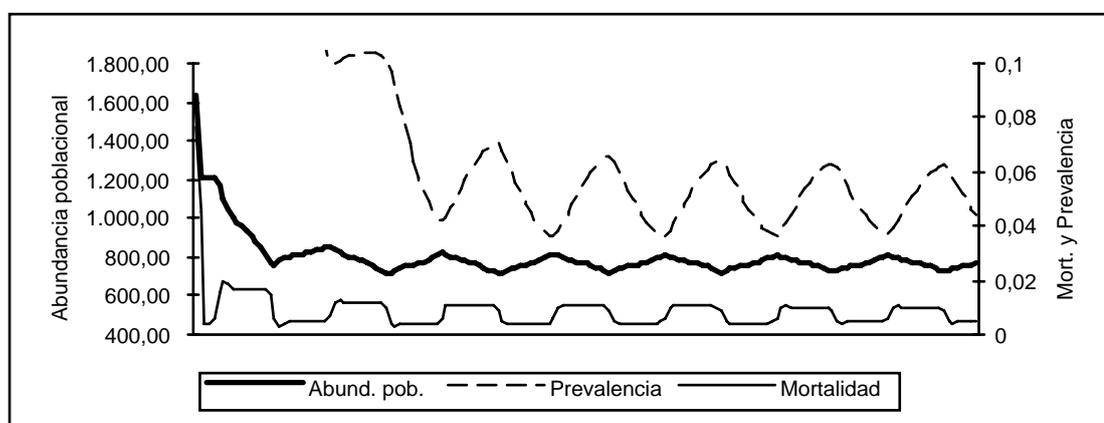


Figura 47: Ciclo bianual exhibido por el modelo cuando la inmunidad de los conejos durante el segundo mes de vida es adquirida. Mortalidad en tasas semanales y prevalencia en proporción de conejos seropositivos.

4.6.4.7-Variaciones intraanuales

4.6.4.7.1-Mortalidad por VHD

Las variaciones intraanuales de la mortalidad por VHD y de la prevalencia de anticuerpos para el total de la población son numerosas debido a las múltiples combinaciones entre los diferentes valores de los parámetros analizados. No obstante el patrón observado en todas ellas es único para ambas variantes del modelo, por lo que en las figuras 48 a 51 únicamente se ha representado las variaciones más extremas calculadas con el mínimo tamaño de camada (2,5) y el mínimo período de inmunidad (8 meses) y las calculadas con el máximo tamaño de camada (4,5) y el máximo período de inmunidad (permanente).

El patrón intraanual de mortalidad por VHD está básicamente regulado por la densidad poblacional, y está determinado por la influencia que sobre ésta tienen las variaciones de la productividad de la población, de la mortalidad por predación y del período de inmunidad.

Una densidad poblacional elevada implica que con la reproducción la población de conejos alcanza rápidamente el umbral crítico para que la tasa de reproducción del virus sea superior a uno, de tal manera que el pulso endémico de VHD comienza con la emergencia de la madriguera de las primeras cohortes de juveniles (meses de noviembre-diciembre en los casos más extremos). En este caso el patrón de mortalidad puede estar constituido por varios picos de baja intensidad que se corresponden con la infección de las sucesivas cohortes conforme emergen de la madriguera, o si el período de inmunidad es pequeño, la mortalidad puede mostrar un nivel más o menos estable como consecuencia de la progresiva infección de los conejos que van perdiendo su resistencia. En ambos casos, el hecho de que el brote de mortalidad por VHD se inicie al comienzo del período reproductor implica una edad media de infección baja, aumentando la supervivencia de los conejos y disminuyendo el impacto de la enfermedad sobre la población.

Por el contrario, una baja densidad poblacional supone que el umbral crítico se alcance más tardíamente, con el acúmulo de sucesivas cohortes de conejos jóvenes hacia el final del período de reproducción (junio-julio). Ello implica que el brote de enfermedad tiene lugar más tardíamente por lo que la edad media de infección se ve incrementada, y por tanto la mortalidad y el impacto de la enfermedad sobre la población. Si la densidad poblacional es extremadamente baja, las dificultades de transmisión del virus reducen la mortalidad, pudiendo llegar a originar ciclos bianuales que ya han sido comentados para la segunda variante del modelo, y que se pueden observar en las figuras 49 y 51 para las tasas de predación núm. 6 y 10 respectivamente.

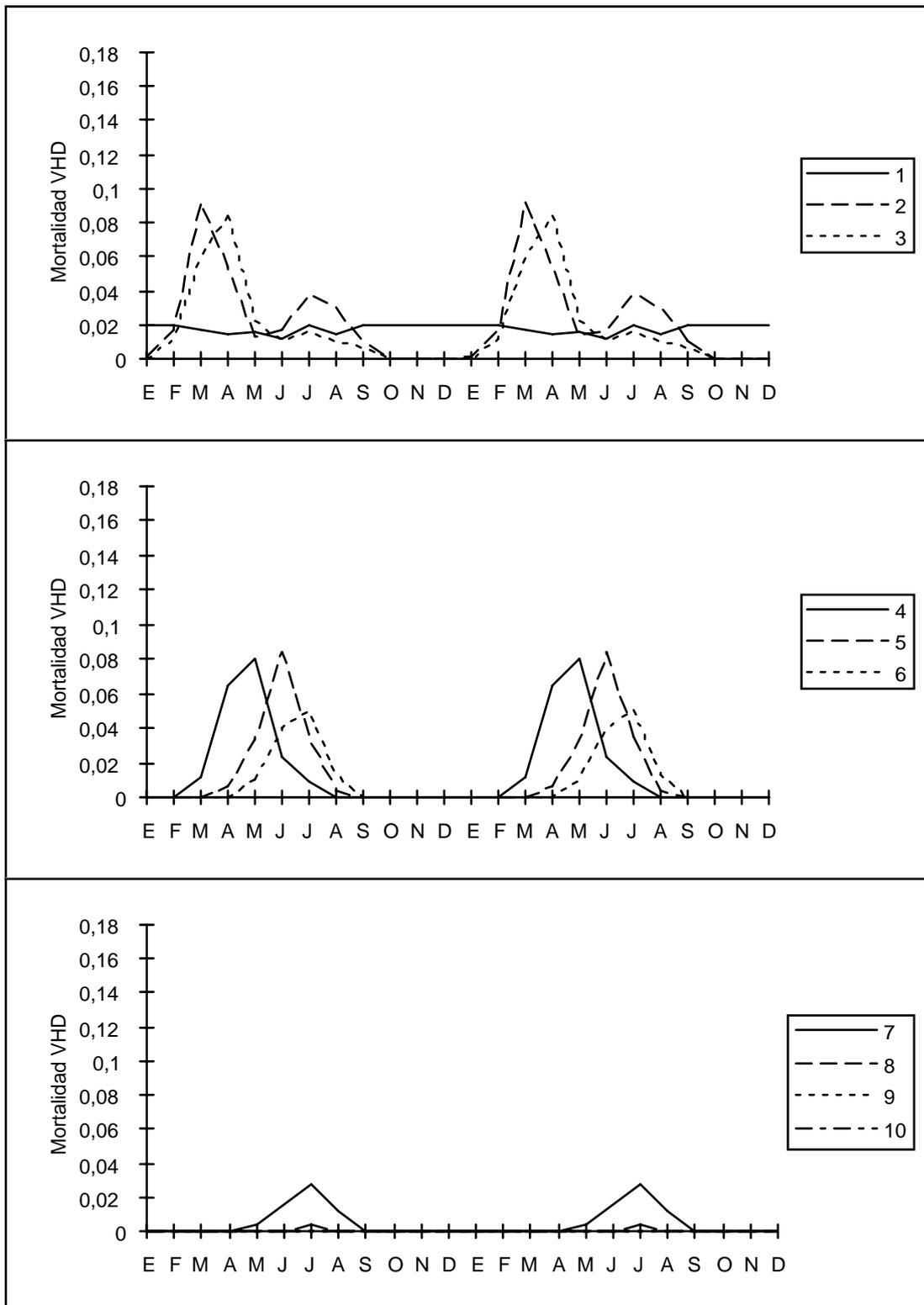


Figura 48: Media acumulada mensual de la mortalidad semanal por VHD para la variante del modelo en la que la inmunidad es innata. Parámetros: tamaño de camada= 2,5; período de inmunidad=8 meses.

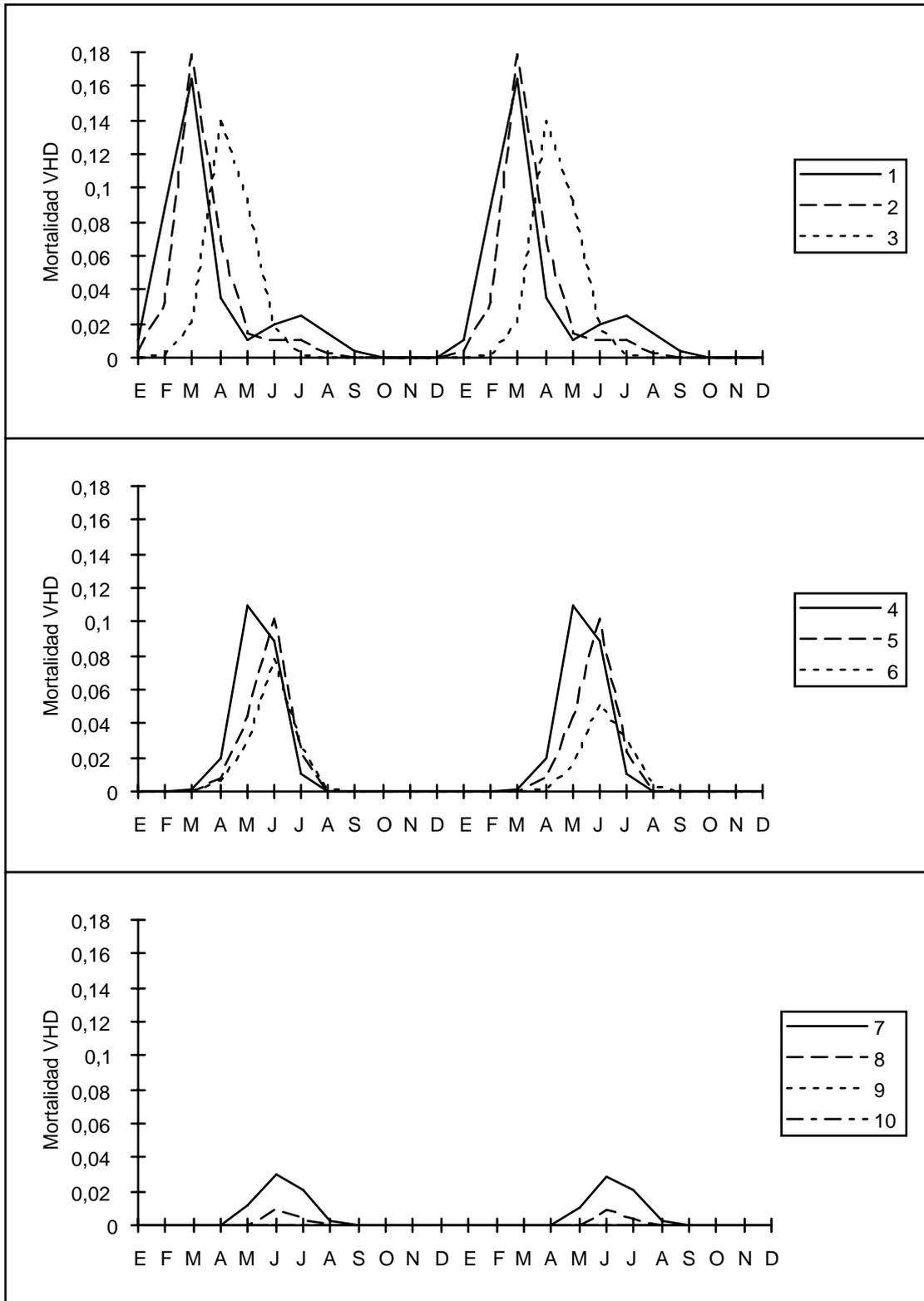


Figura 49: Media acumulada mensual de la mortalidad semanal por VHD para la variante del modelo en la que la inmunidad es adquirida. Parámetros: tamaño de camada= 2,5; período de inmunidad=8 meses.

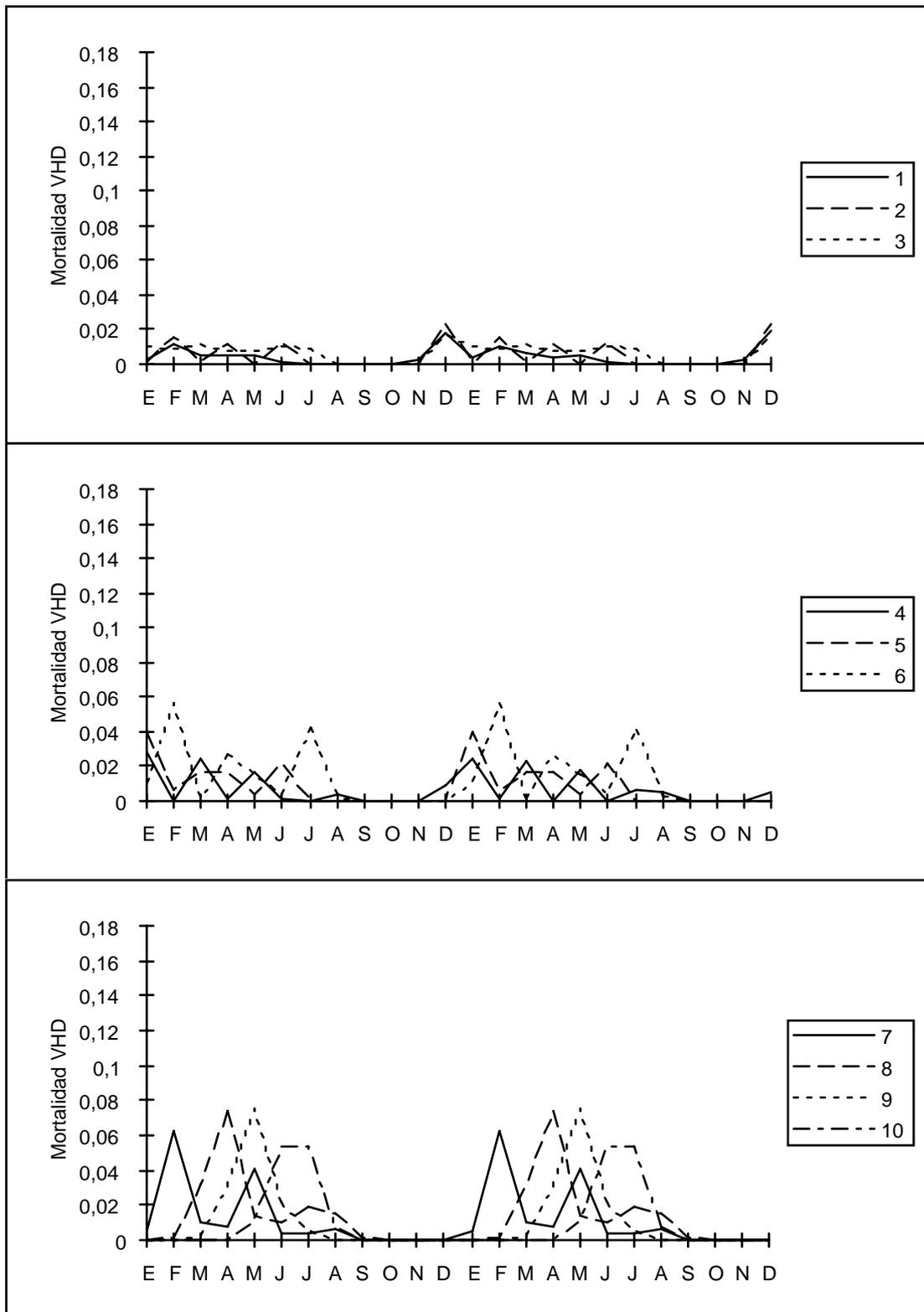


Figura 50: Media acumulada mensual de la mortalidad semanal por VHD para la variante del modelo en la que la inmunidad es innata. Parámetros: tamaño de camada= 4,5; período de inmunidad permanente.

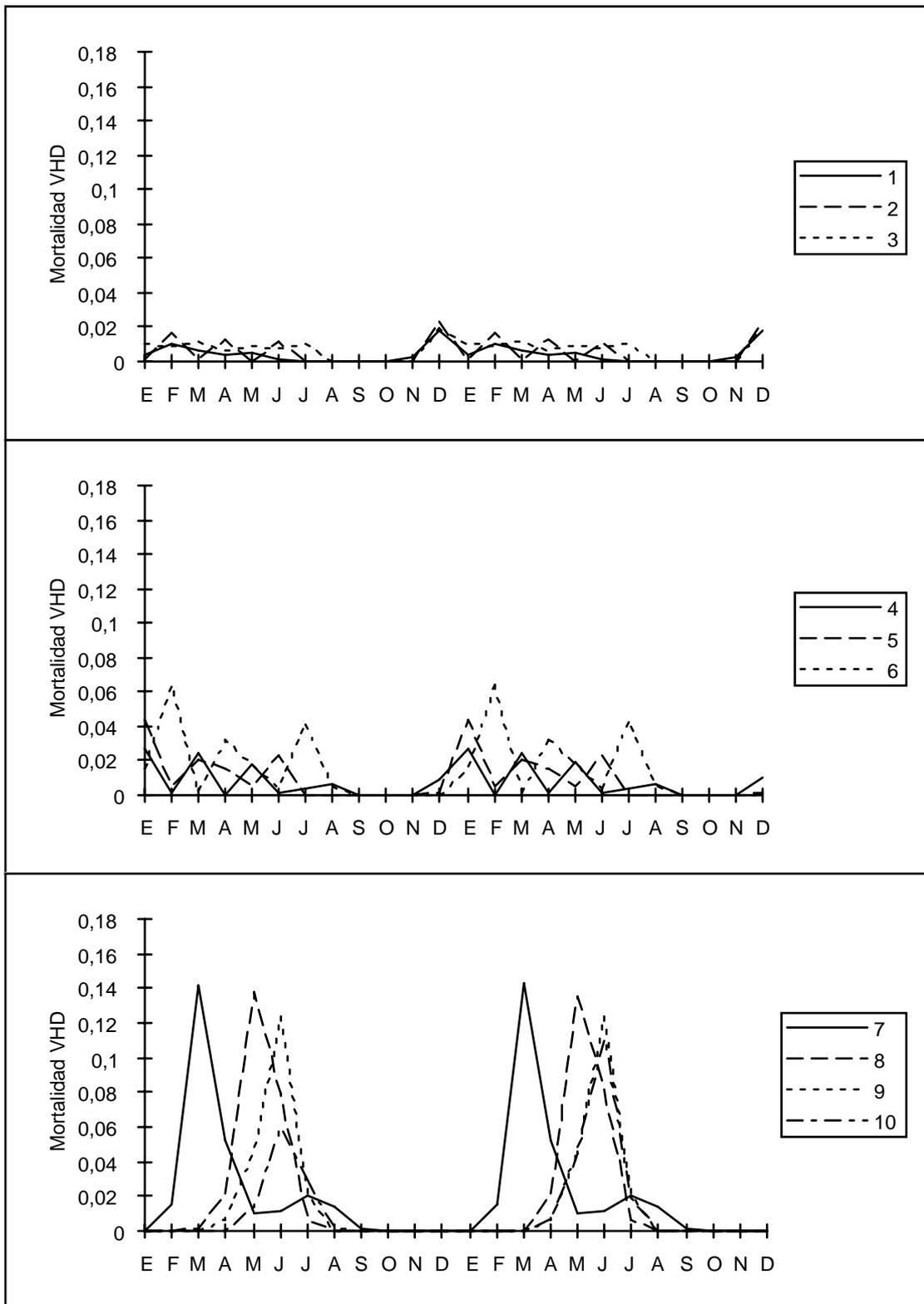


Figura 51: Media acumulada mensual de la mortalidad semanal por VHD para la variante del modelo en la que la inmunidad es adquirida. Parámetros: tamaño de camada= 4,5; período de inmunidad permanente.

En relación a la edad, la mortalidad de los adultos tiene lugar sobre todo en los comienzos del brote de enfermedad, formando parte del primer pico de mortalidad, por lo que si el brote está compuesto de sucesivos picos, éstos representan básicamente la mortalidad de las nuevas cohortes de conejos juveniles. Si el brote está compuesto por un único pico de mortalidad, éste comprende la muerte simultánea de todas las clases de edad.

4.6.4.7.2-Prevalencia de anticuerpos

La variación de la prevalencia de anticuerpos es consecuencia de la mortalidad por VHD y del período de inmunidad. El perfil de variación intraanual se caracteriza por una elevación de la prevalencia posterior al brote anual de enfermedad y un descenso progresivo de la misma como consecuencia del reclutamiento de nuevos individuos que han nacido después del mismo y que todavía no han sido infectados y, en el caso de que la inmunidad no sea permanente, por pérdida de la misma por una parte de los conejos, siendo en este caso más marcado el descenso.

En aquellos casos en los que la edad media de infección está próxima a los dos meses o es inferior, los niveles de prevalencia son muy elevados a lo largo de todo el año, con leves descensos correspondientes al inicio del período de reproducción.

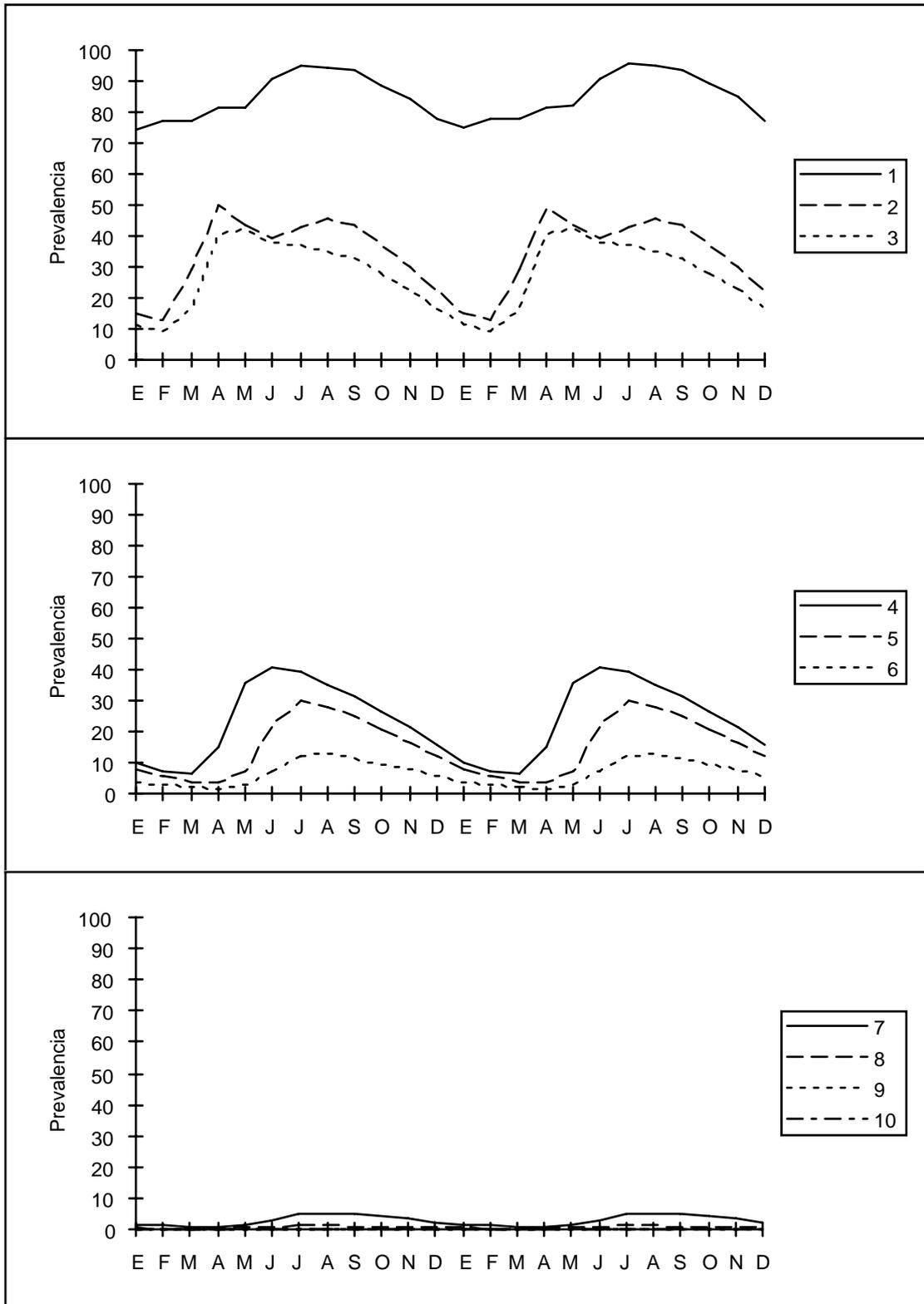


Figura 52: Media acumulada mensual de la prevalencia de anticuerpos frente a VHD para la variante del modelo en la que la inmunidad es innata. Parámetros: tamaño de camada= 2,5; período de inmunidad=8 meses.

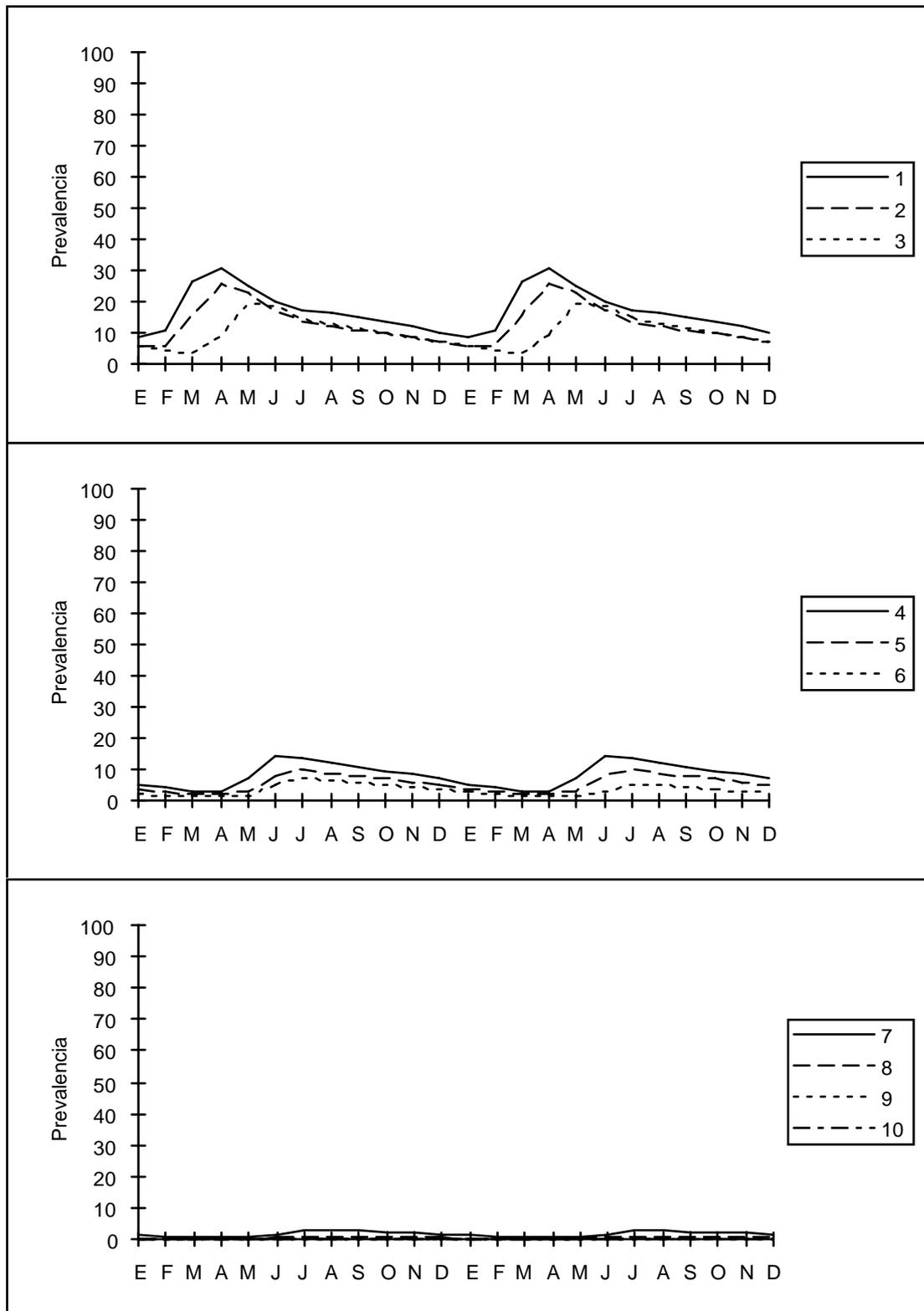


Figura 53: Media acumulada mensual de la prevalencia de anticuerpos frente a VHD para la variante del modelo en la que la inmunidad es adquirida. Parámetros: tamaño de camada= 2,5; período de inmunidad=8 meses.

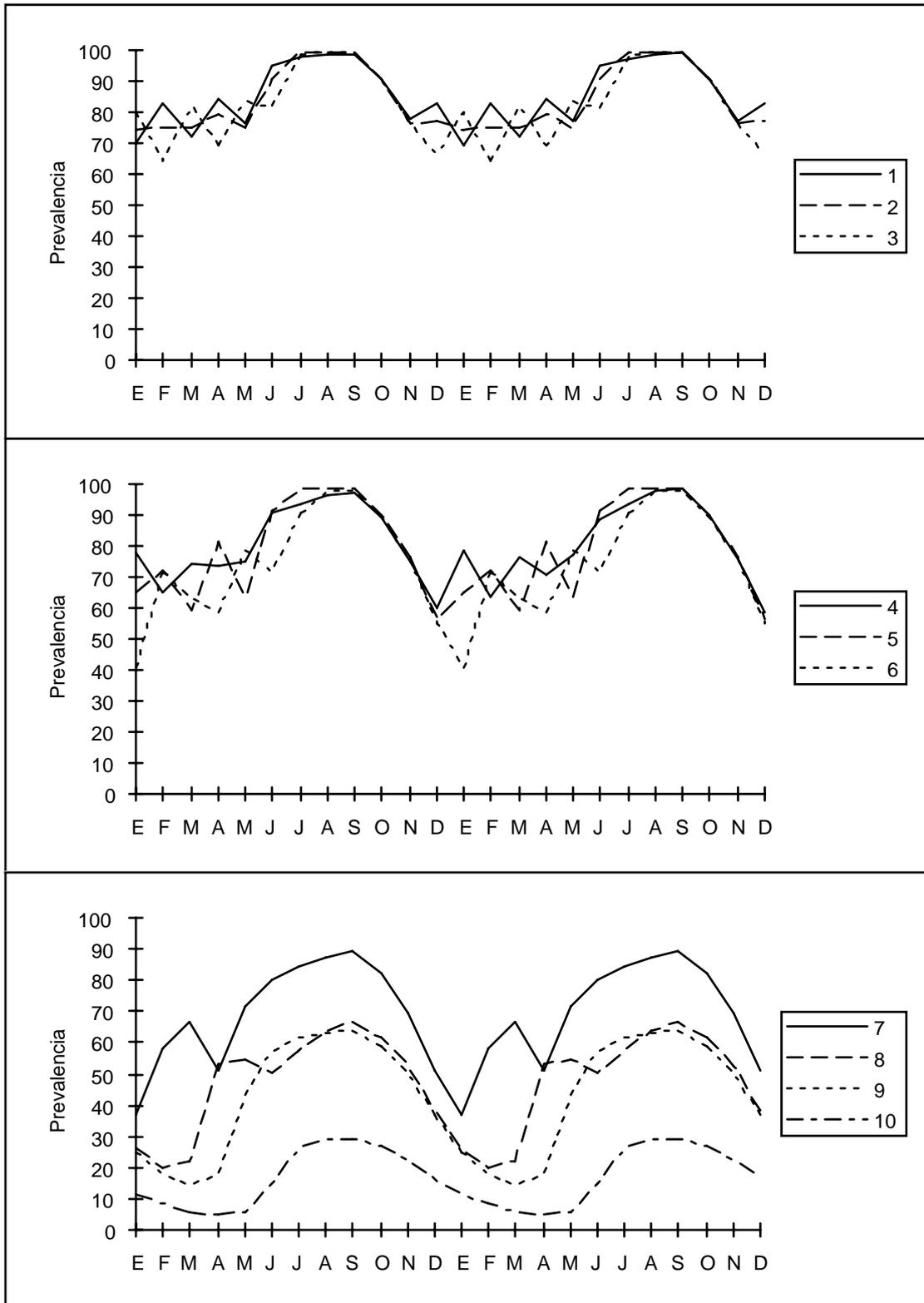


Figura 54: Media acumulada mensual de la prevalencia de anticuerpos frente a VHD para la variante del modelo en la que la inmunidad es innata. Parámetros: tamaño de camada= 4,5; período de inmunidad permanente.

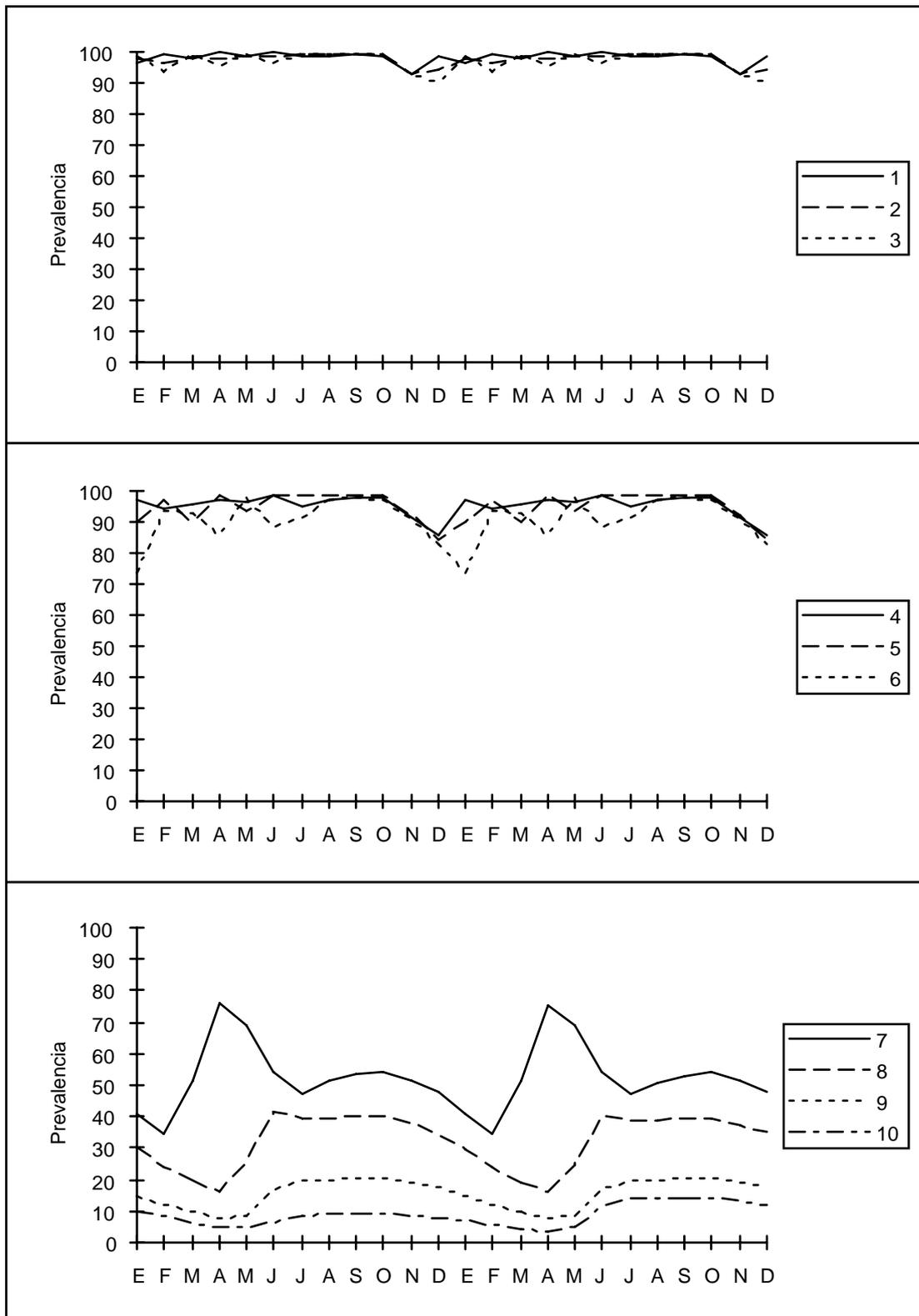


Figura 55: Media acumulada mensual de la prevalencia de anticuerpos frente a VHD para la variante del modelo en la que la inmunidad es adquirida. Parámetros: tamaño de camada= 4,5; periodo de inmunidad permanente.

4.6.4.8-Herramientas de gestión

4.6.4.8.1-Caza

Cuando se simula el aprovechamiento cinegético en una población exenta de VHD (figura 56) la reducción de la abundancia poblacional es mucho más intensa en aquellas situaciones en las que la mortalidad natural es más elevada.

Según la época del año, la práctica de la caza durante octubre-enero produce una mayor reducción de los efectivos poblacionales que si ésta tiene lugar en junio-septiembre. Esto se debe a que la mortalidad por caza de la población de adultos-subadultos durante junio-septiembre es compensada parcialmente por el aumento de supervivencia de los conejos que no son cazados, al disminuir la competencia intraespecífica entre ellos, logrando llegar a la época de reproducción un porcentaje mayor del que hubiera tenido lugar en condiciones normales. Sin embargo, si el aprovechamiento cinegético se practica en octubre-enero, la posibilidad de compensación de la mortalidad por caza mediante la reducción de la competencia intraespecífica es mínima, por lo que el impacto es mayor.

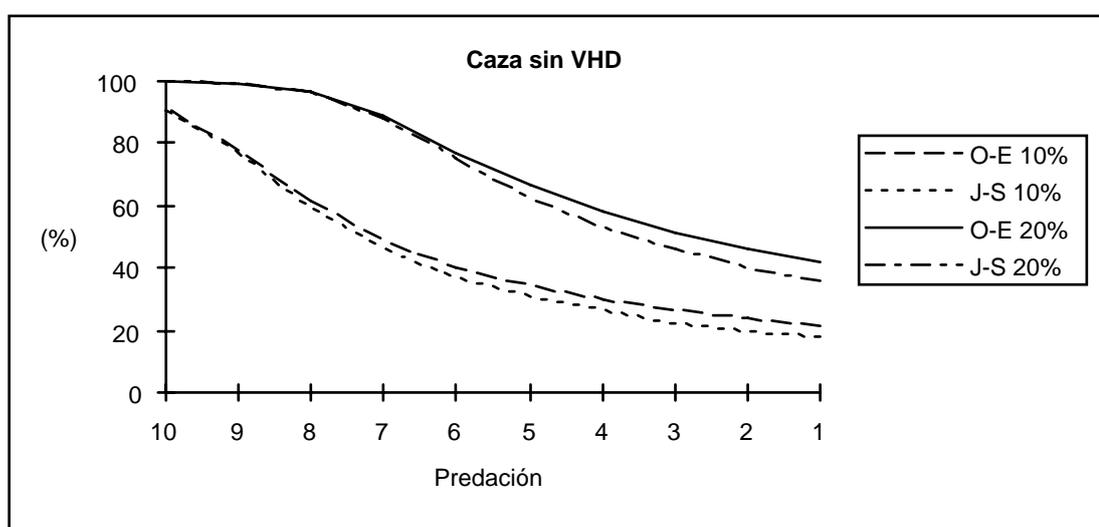


Figura 56: Porcentaje de reducción de la abundancia poblacional en una población de conejos exenta de VHD bajo diferentes tasas de mortalidad por predación y sometida a aprovechamiento cinegético. Este se ha simulado para dos épocas del año (octubre-enero y junio-septiembre) y con dos tasas de mortalidad por caza (10% y 20%).

Si el aprovechamiento cinegético tiene lugar en una población con VHD el patrón de reducción de la abundancia poblacional cambia ostensiblemente (figuras 57 y 58). La suave pendiente negativa observada en la figura 56, es sustituida en las simulaciones con elevada tasa de predación por una pendiente más acentuada, indicadora de que el impacto

de la caza es proporcionalmente menor en las poblaciones con baja densidad en presencia de VHD que cuando no existe la enfermedad. Esto es debido a que la reducción de la densidad poblacional provocado por la caza disminuye la tasa de reproducción del virus (al reducirse el contacto entre animales), de tal manera que el aumento de la mortalidad por caza es compensado en mayor o menor grado por la reducción de la mortalidad por VHD. Por el contrario, para aquellas poblaciones que en ausencia de caza se encuentran en una situación en la que la edad media de infección está próxima a los dos meses de edad (han superado el punto de inflexión de la mortalidad por VHD), el aumento de la mortalidad por caza implica un aumento en la edad media de infección y por lo tanto un incremento de la mortalidad por VHD. Así, en estas poblaciones el impacto de la caza es muy superior que el que tiene lugar cuando no existe la enfermedad.

Según estos resultados el impacto de la caza en función de la época del año en presencia de VHD está determinado por el equilibrio que alcanzan estos dos factores: por un lado la competencia intraespecífica, que también actúa en las poblaciones exentas de VHD, y por otro la influencia de la densidad poblacional sobre la mortalidad producida por esta enfermedad. Recordemos que la mortalidad por VHD en relación a la densidad de la población se caracteriza por la existencia de un punto de inflexión en el signo de su pendiente de crecimiento, de tal manera que para valores poblacionales inferiores a este punto de inflexión la pendiente de la mortalidad por VHD es de signo positivo para valores crecientes de la densidad de conejos, mientras que para valores superiores la pendiente se hace negativa, decreciendo la mortalidad conforme aumenta la densidad de la población.

Observando las figuras 57 y 58, para aquellas poblaciones en las que la edad media de infección está próxima o es inferior a los dos meses de edad, y el aprovechamiento cinegético no es lo suficientemente intenso como para que retornen a una situación previa al punto de inflexión, el período de junio-septiembre sigue siendo el que menor reducción poblacional ocasiona, como consecuencia de una mortalidad por VHD minimizada. En esta situación es la competencia intraespecífica la que básicamente determina el impacto de la caza. Si por el contrario, las poblaciones se encuentran por debajo del punto de inflexión, las diferencias entre ambos períodos de caza disminuyen, ya que la mayor reducción poblacional que produce la caza en octubre-enero implica proporcionalmente una mayor disminución de la mortalidad por VHD. En este caso la caza en junio-septiembre ocasiona una mayor reducción poblacional que si se practica en octubre-enero.

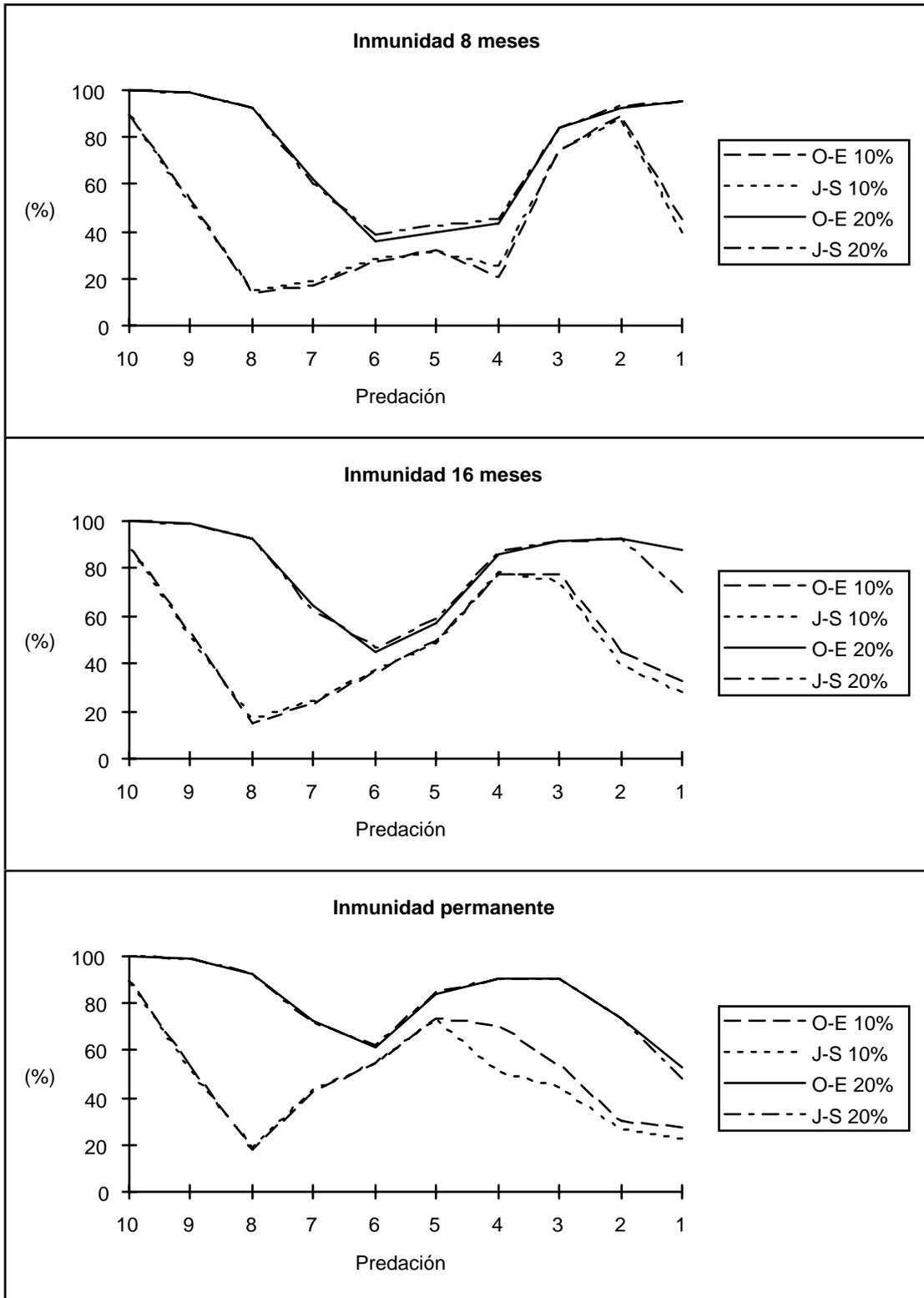


Figura 57: Porcentaje de reducción de la abundancia poblacional para una población con VHD en la que la resistencia de los conejos de dos meses de edad es innata y sometida a aprovechamiento cinegético. Este se ha simulado para dos épocas del año

(octubre-enero y junio-septiembre) y con dos tasas de mortalidad por caza (10% y 20%).

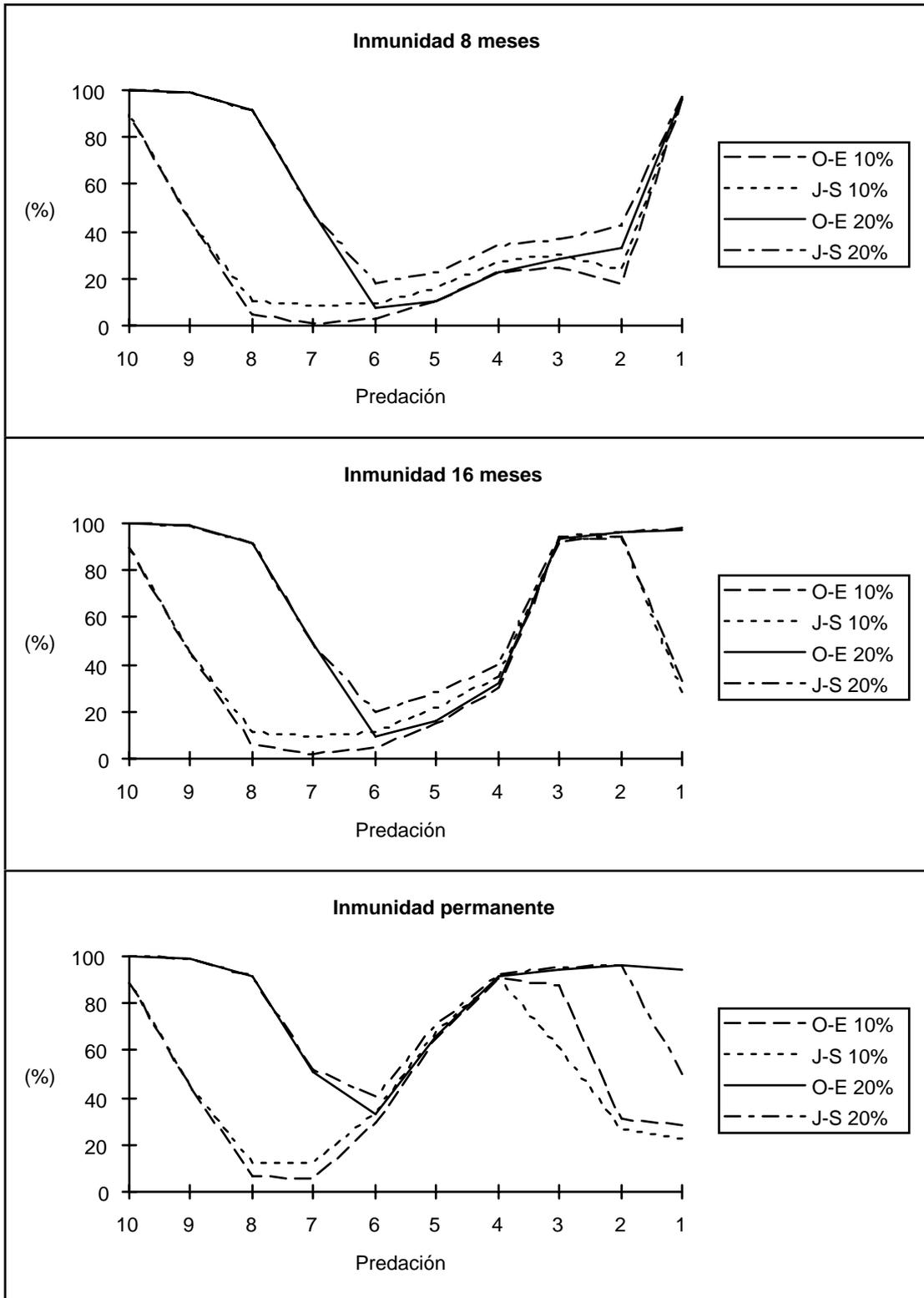


Figura 58: Porcentaje de reducción de la abundancia poblacional para una población con VHD sometida a aprovechamiento cinegético en la que la resistencia de los conejos de dos meses de edad es adquirida. Este se ha simulado para dos épocas del

año (octubre-enero y junio-septiembre) y con dos tasas de mortalidad por caza (10% y 20%).

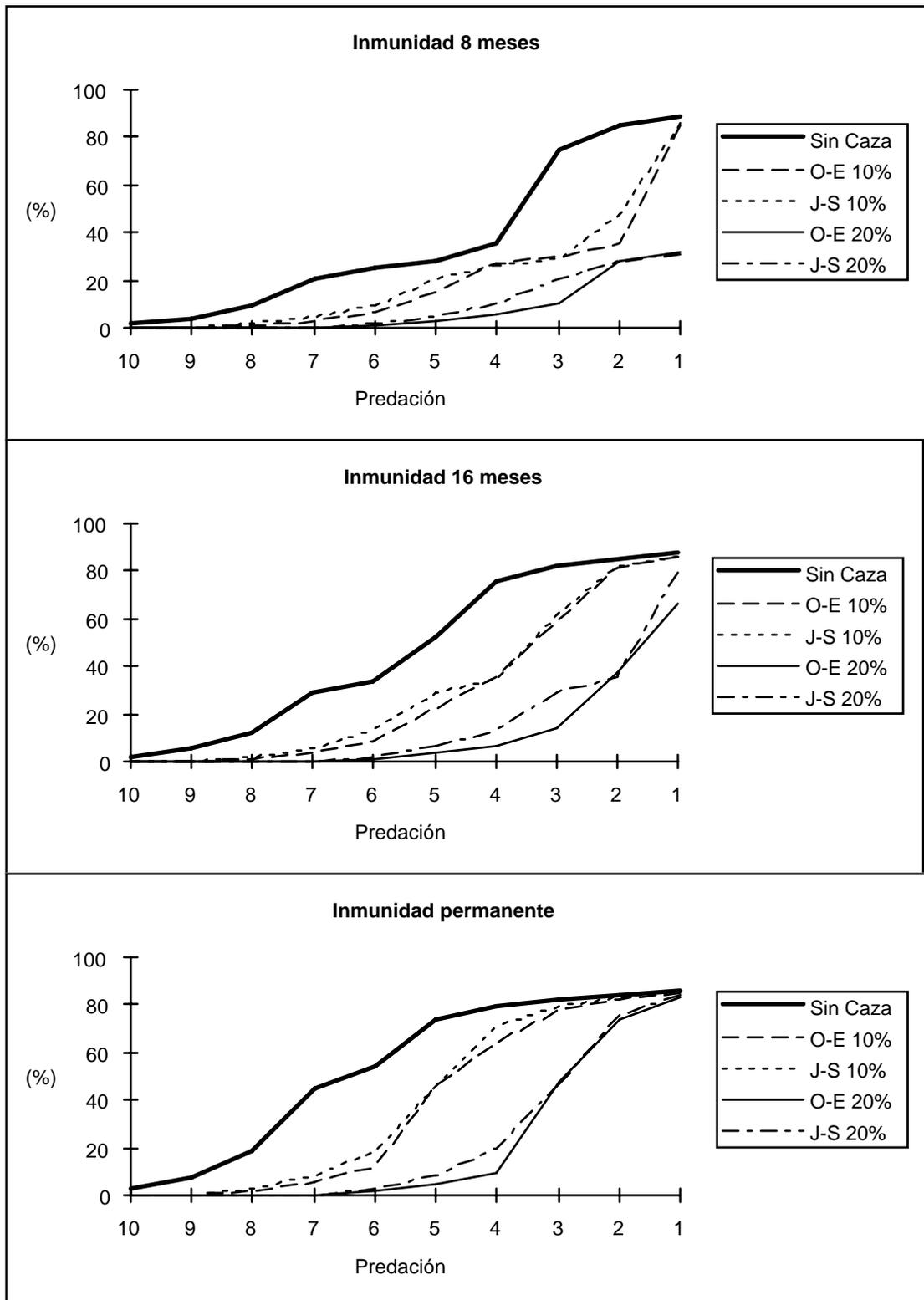


Figura 59: Prevalencia media de anticuerpos (%) calculada para una población con VHD y en la que la inmunidad es innata sometida a aprovechamiento cinegético. Este se ha simulado para dos épocas del año (octubre-enero y junio-septiembre) y con dos tasas de mortalidad por caza (10% y 20%).

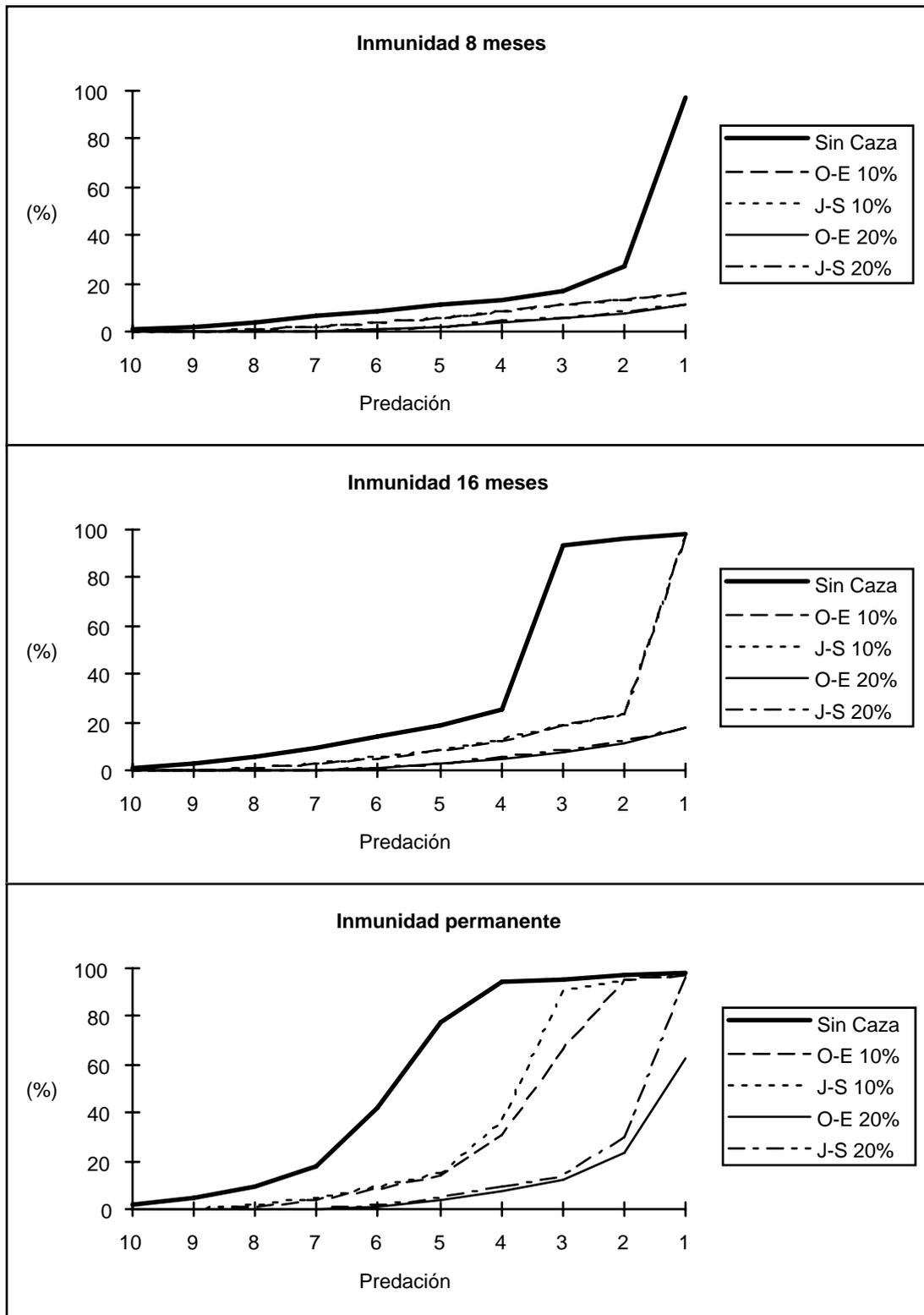


Figura 60: Prevalencia media de anticuerpos (%) calculada para una población con VHD en la que la inmunidad es adquirida y sometida a aprovechamiento cinegético. Este se ha simulado para dos épocas del año (octubre-enero y junio-septiembre) y con dos tasas de mortalidad por caza (10% y 20%).

No obstante, los resultados del modelo muestran el impacto de la caza para poblaciones que ya se encuentran en equilibrio con la VHD. En situaciones en las que las poblaciones todavía no han alcanzado tal equilibrio, el ejercicio de la caza durante los meses de junio-septiembre será más favorable para la evolución de la población que la caza en octubre-enero, puesto que la prevalencia de anticuerpos, o lo que es lo mismo, la proporción de conejos resistentes que quedan en la población para el siguiente año es superior (figuras 59 y 60), al permitir una mayor tasa de reproducción del virus. En este caso la caza en octubre-enero deriva en una población más densa pero con menor nivel de inmunidad, y por lo tanto más susceptible a futuros brotes endémicos de la enfermedad en el momento en que la densidad aumente, bien porque se reduzca el esfuerzo de caza o bien por cambios en los factores ambientales.

4.6.4.8.2-Control de la predación

En primer lugar se ha simulado el control de predación en una población exenta de VHD. En este caso, como la reducción de la predación en el modelo ha sido proporcional a las tasas de cada una de las simulaciones, lógicamente los mayores incrementos poblacionales han correspondido a aquellas situaciones en las que la tasa de mortalidad era más elevada, y que en términos absolutos han experimentado las mayores reducciones (figura 61).

El período para el cual el control de la mortalidad ha ocasionado los mayores incrementos de la población ha sido junio-septiembre. Cuando se reduce la mortalidad en octubre-enero, la población está compuesta básicamente por conejos adultos reproductores y juveniles. Los conejos adultos presentan de por sí las tasas más bajas de predación, por lo que la reducción proporcional de esta mortalidad es, en términos absolutos, una reducción relativamente pequeña. Por el contrario, los conejos juveniles presentan las tasas más elevadas de mortalidad, así que una reducción proporcional de la mortalidad por predación supone un incremento notable de su supervivencia.

El mismo fenómeno ocurre cuando la reducción de la predación tiene lugar en febrero-mayo, cuando la mayoría de la población está constituida por conejos jóvenes con elevada tasa de mortalidad por esta causa. Una disminución proporcional de ésta implica una reducción considerable de la mortalidad en términos absolutos. Sin embargo, esta elevada supervivencia de los jóvenes tanto en octubre-enero como en febrero-mayo supone un incremento de la competencia intraespecífica que es máxima en el período anterior a la época de reproducción (cuando más conejos adultos hay en la población), elevando su mortalidad considerablemente durante junio-septiembre.

Por este motivo, si el control de la predación se realiza en junio-septiembre, cuando la competencia intraespecífica es mayor, se consigue minimizar el principal mecanismo regulador del crecimiento poblacional establecido en el modelo. No obstante, hay que tener en cuenta que éste no contempla el fenómeno de la emigración, por lo que aunque la emigración es inherente a una reducción de la supervivencia, en una situación real el efecto de la competencia intraespecífica no ha de traducirse totalmente en mortalidad.

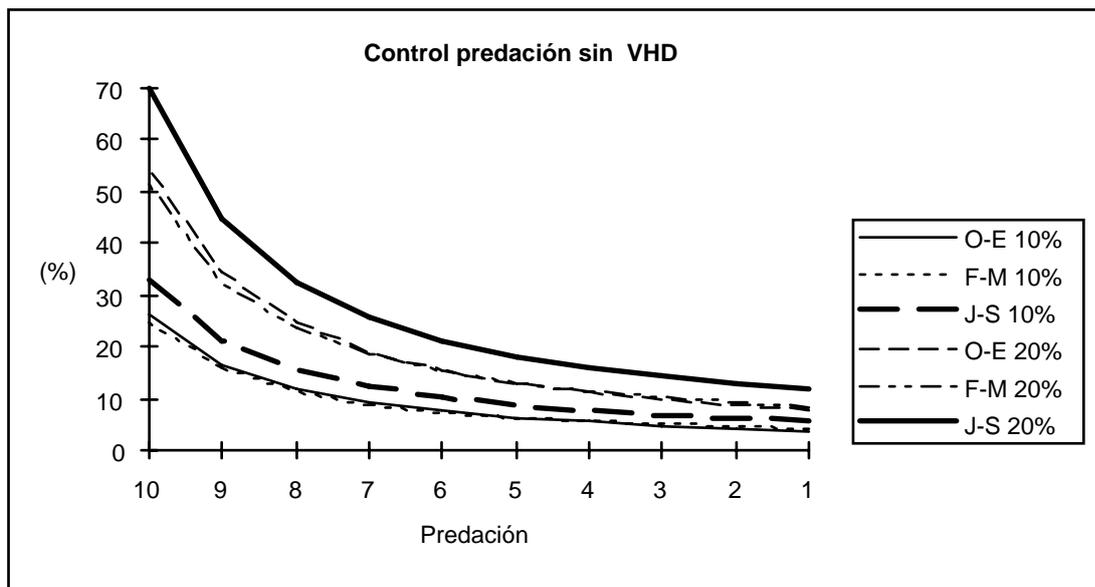


Figura 61: Porcentaje de incremento de la abundancia poblacional en una población de conejos exenta de VHD bajo diferentes tasas de predación y con control de éstas. Se ha simulado la reducción de las tasas de predación para tres épocas del año (octubre-enero, febrero-mayo y junio-septiembre) y con dos tasas de reducción (10% y 20%).

Cuando la simulación del control de predadores se realiza sobre una población de conejos con VHD, los menores incrementos de abundancia son experimentados precisamente en aquellas situaciones con mayores tasas de mortalidad por predación, incluso para algunas simulaciones el incremento es negativo, lo que significa que la abundancia poblacional decrece con el control de predadores (figuras 62 y 63). El motivo es el mismo que el comentado para la caza; un aumento de la densidad poblacional en aquellas poblaciones que se encuentran por debajo del punto de inflexión de la mortalidad

por VHD, supone un incremento de mortalidad por esta enfermedad que contrarresta parcial o totalmente la disminución de la mortalidad por predadores.

Los mayores incrementos los experimentan aquellas poblaciones que, previamente a la reducción de la predación, se encuentran en una situación próxima al punto de inflexión. En este caso, la disminución de la mortalidad posibilita la superación del mismo, aumentando la densidad poblacional como consecuencia de la reducción de la mortalidad por predación y de la mortalidad por VHD simultáneamente.

Para las poblaciones que ya han superado este punto de inflexión, la reducción de la predación induce aumentos poblacionales menos marcados que los anteriores, ya que en este caso la mortalidad por VHD ya se encuentra previamente minimizada como consecuencia de las elevadas densidades de población.

El período junio-septiembre es el que refleja los mayores incrementos de la población en todas las situaciones. Para las poblaciones que ya han superado el punto de inflexión esto es debido a que la reducción de la mortalidad tiene lugar cuando la competencia intraespecífica es máxima (de la misma manera que ocurre cuando no existe la VHD), mientras que para las poblaciones que se encuentran en situación previa al punto de inflexión, además de este mecanismo, la reducción de la mortalidad por predación en junio-septiembre implica que las posibilidades de compensación por parte de un incremento de la mortalidad por VHD son mínimos. Así, una reducción de la predación durante el período reproductor (octubre-mayo), cuando más juveniles hay en la población y cuando tienen lugar los principales brotes de VHD, supone una mayor abundancia de esta clase de animales y por lo tanto una mayor facilidad de propagación del virus, por lo que la mortalidad por VHD se ve incrementada, compensando en mayor o menor grado la reducción de la predación.

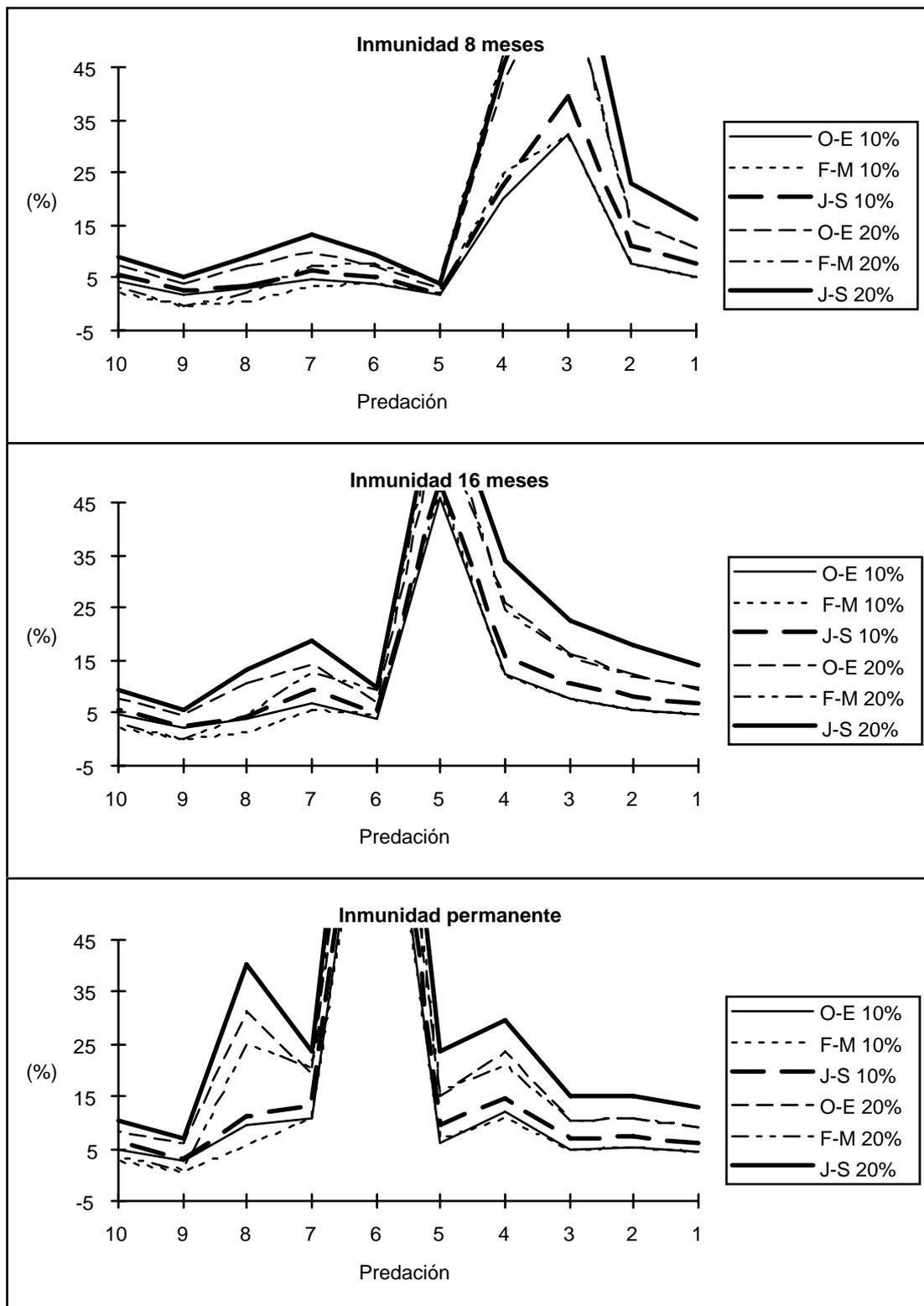


Figura 62: Porcentaje de incremento de la abundancia poblacional en una población de conejos con VHD en la primera variante del modelo (inmunidad innata), bajo diferentes tasas de predación y con control de éstas. Se ha simulado la reducción de

las tasas de predación para tres épocas del año (octubre-enero, febrero-mayo y junio-septiembre) y con dos tasas de reducción (10% y 20%).

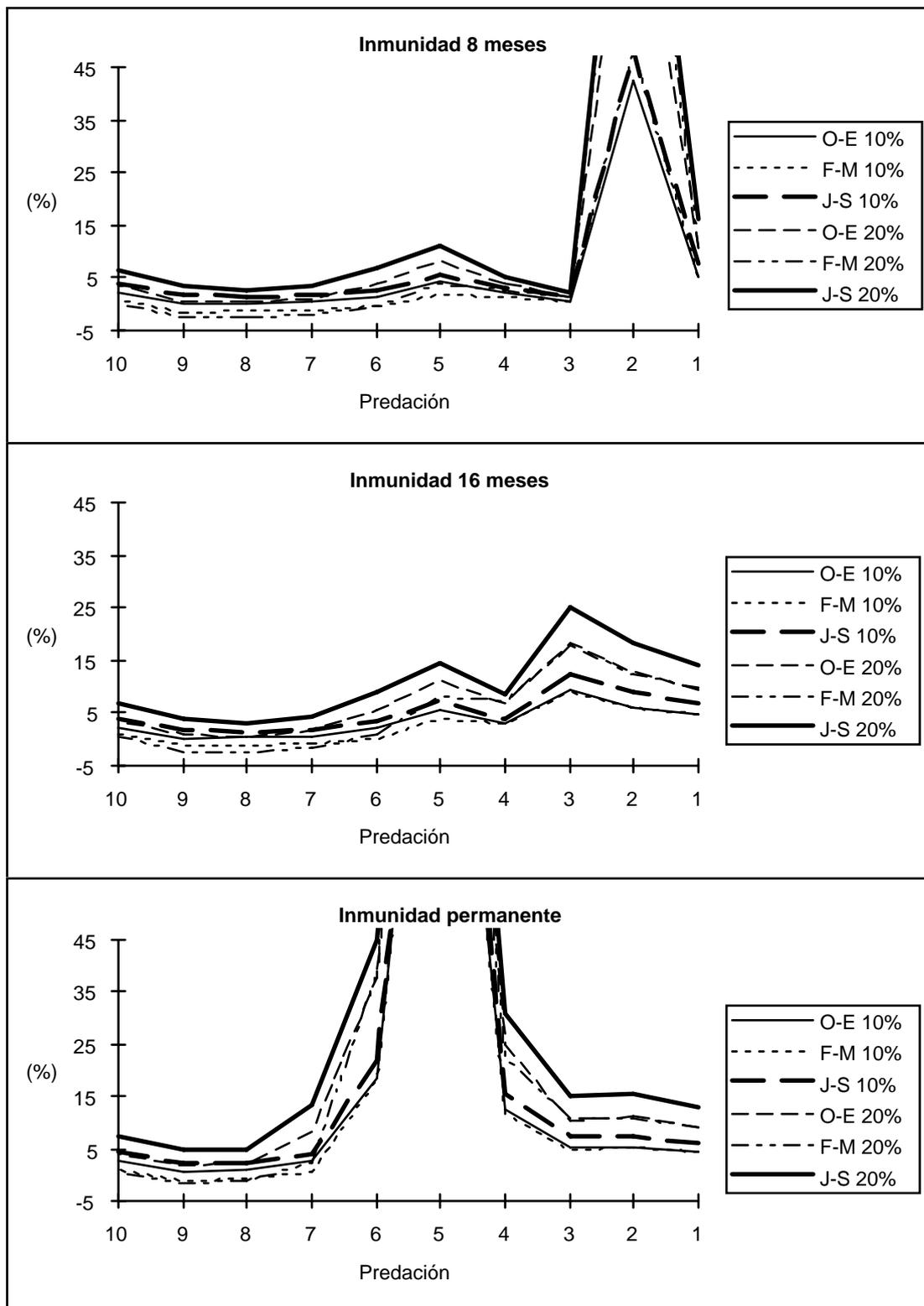


Figura 63: Porcentaje de incremento de la abundancia poblacional en una población de conejos con VHD en la primera variante del modelo (inmunidad adquirida), bajo diferentes tasas de predación y con control de éstas. Se ha simulado la reducción de

las tasas de predación para tres épocas del año (octubre-enero, febrero-mayo y junio-septiembre) y con dos tasas de reducción (10% y 20%).

4.6.4.8.3-Inmunización frente a VHD

La inmunización frente a VHD ha supuesto un aumento de la abundancia poblacional en todas las situaciones para las que ha sido simulada (figuras 64 y 65). Este incremento ha sido más importante en aquellas situaciones en las que la mortalidad por VHD ha sido de mayor magnitud. Sin embargo cuando la población a vacunar ya ha superado el punto de inflexión de la pendiente de crecimiento de la mortalidad por VHD, la inmunización ha producido un efecto decreciente conforme ha aumentado la densidad poblacional, ya que ello supone una edad media de infección muy reducida antes de la vacunación, y por lo tanto una escasa mortalidad por esta enfermedad.

También, la magnitud del incremento poblacional ha dependido de la duración del período de inmunidad, siendo más elevado conforme el período de inmunidad simulado ha sido más corto.

La vacunación en el período febrero-mayo ha conseguido los mayores incrementos poblacionales para un mayor número de situaciones. No obstante se observa que para aquellas simulaciones en las que la población a vacunar se encuentra próxima al punto de inflexión ha sido el período octubre-enero el que ha producido los mayores incrementos, especialmente conforme el período de inmunidad se ha hecho más corto. Este resultado obedece a varias razones: por un lado, para la mayoría de las situaciones en las que la población de conejos se encuentra en una situación previa al punto de inflexión, los principales brotes de VHD anuales tienen lugar durante los meses de febrero-mayo, por lo que la vacunación durante esta época reduce considerablemente la mortalidad. Sin embargo, conforme la situación de estas poblaciones es más próxima al punto de inflexión, los brotes de VHD se anticipan, teniendo lugar en diciembre-enero, por lo que la vacunación en octubre-enero produce la mayor reducción de la mortalidad. Por otro lado, la vacunación en este período supone la inmunización de conejos adultos durante la primera mitad del período reproductor; esto no representa una ventaja importante cuando la inmunidad es permanente, puesto que la proporción de conejos adultos con anticuerpos naturales es muy elevada, sin embargo supone un incremento de la eficacia de la vacunación conforme disminuye el período de inmunidad considerado, puesto que en este caso reduce la mortalidad entre los conejos adultos y por tanto aumenta el número de conejos juveniles producidos.

Parece claro con el modelo predictivo que el mejor momento para la vacunación es cuando hay conejos juveniles en la población, y especialmente si se lleva a cabo de forma anticipada a que tengan lugar los brotes anuales de mortalidad por VHD.

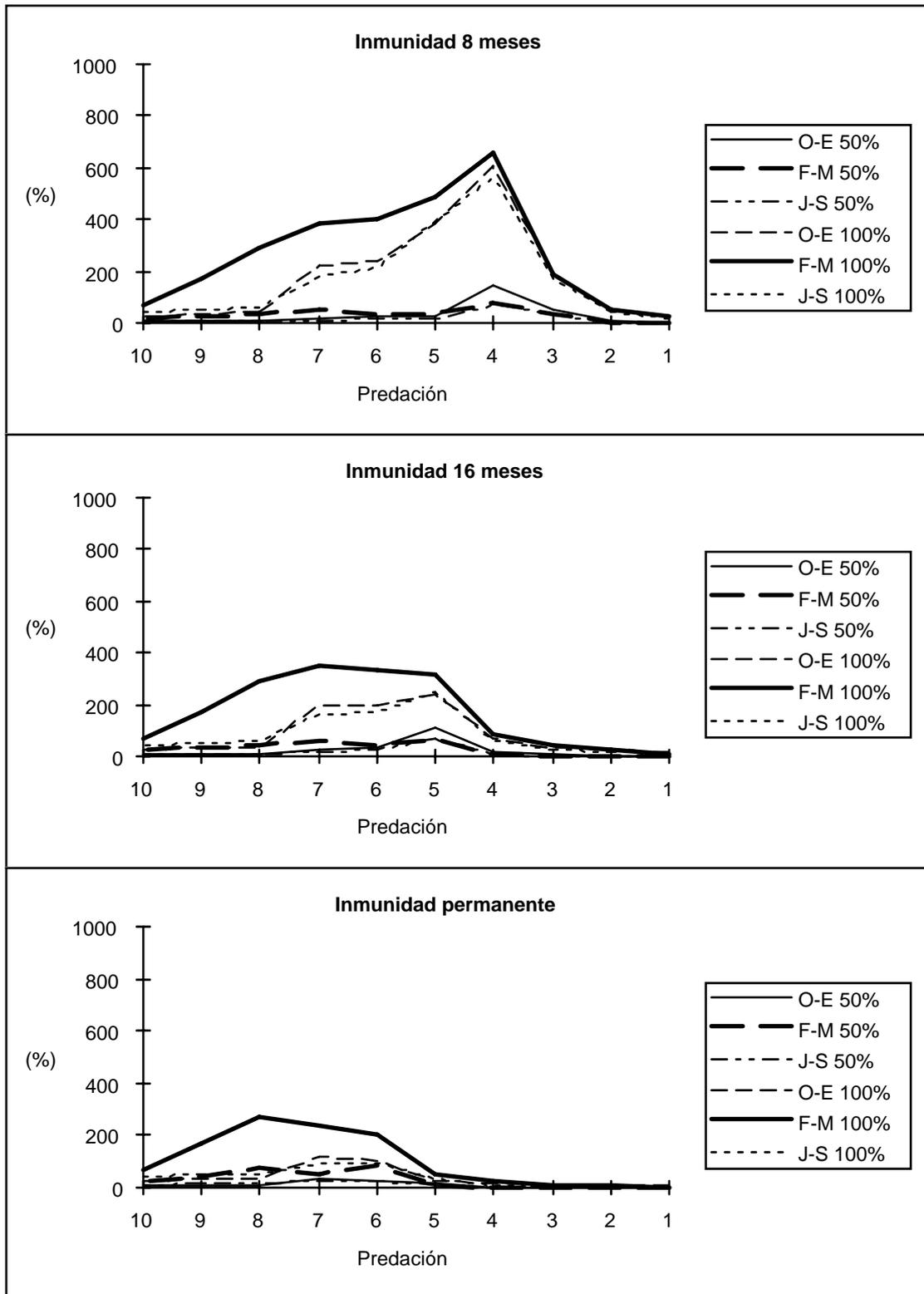


Figura 64: Porcentaje de incremento de la abundancia poblacional estimado para la primera variante del modelo (inmunidad innata) en una población con VHD, bajo diferentes tasas de predación y sometida a vacunación. Esta se ha simulado para tres épocas del año (octubre-enero, febrero-mayo y junio-septiembre) y con dos tasas de vacunación (50% y 100%). Los ejes de ordenadas se han representado a diferentes escala respecto de la figura 65.

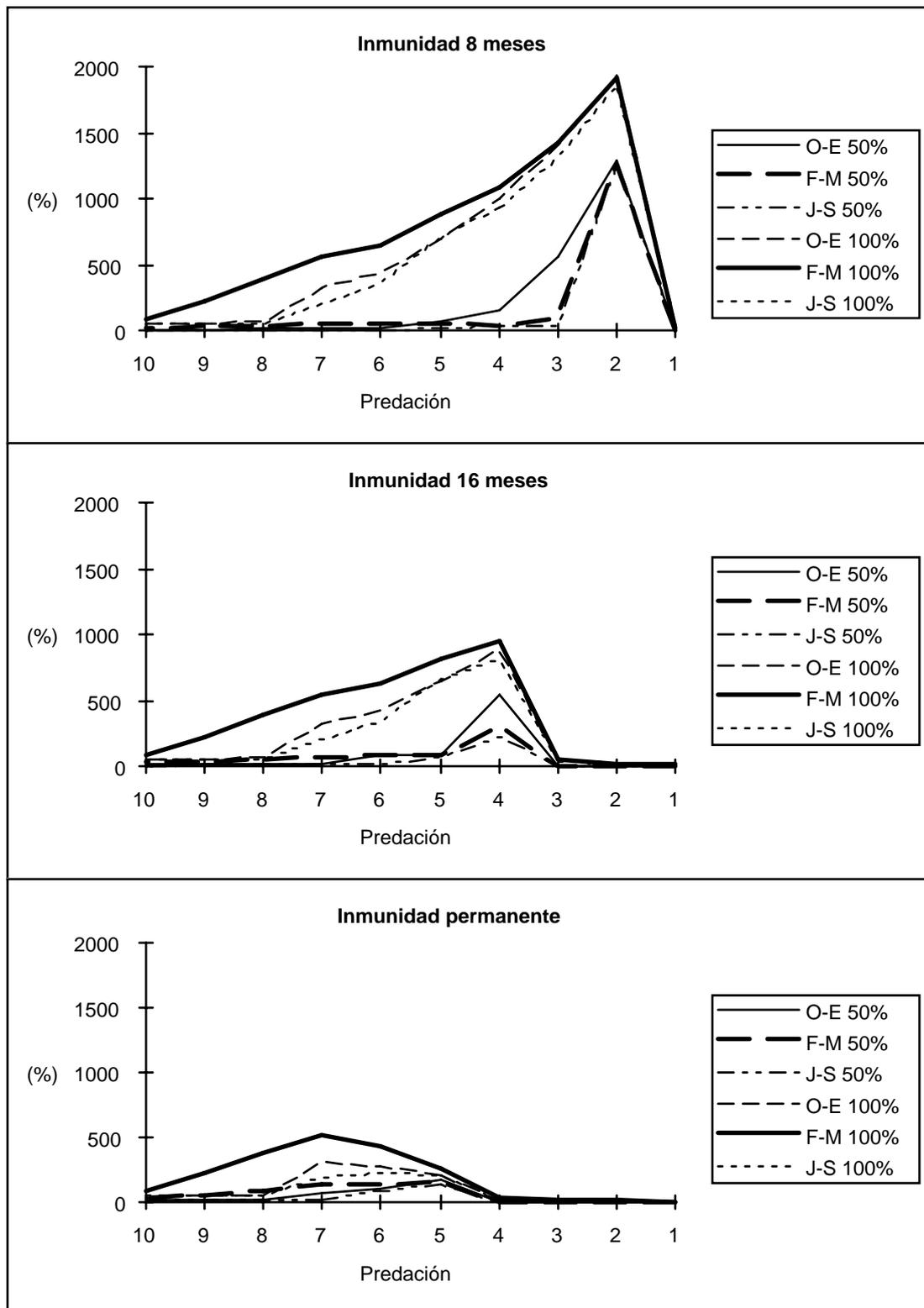


Figura 65: Porcentaje de incremento de la abundancia poblacional estimado para la primera variante del modelo (inmunidad adquirida) en una población con VHD, bajo diferentes tasas de predación y sometida a vacunación. Esta se ha simulado para tres épocas del año (octubre-enero, febrero-mayo y junio-septiembre) y con dos tasas de vacunación (50% y 100%). Los ejes de ordenadas se han representado a diferentes escala respecto a la figura 64.

DISCUSSION

5-DISCUSSION

El estudio de cualquier aspecto de interés de una especie silvestre implica enfrentarse con numerosos problemas metodológicos, pero si además lo que se pretende es la investigación de un agente infeccioso que afecta a un animal silvestre los problemas se multiplican, puesto que en este caso la metodología y la posterior interpretación de los resultados deben cubrir la ecología de la especie con su entorno y con el agente infeccioso. Este es el motivo de la escasez de trabajos acerca de enfermedades que afecten a especies silvestres, puesto que el esfuerzo y las necesidades metodológicas son considerables en comparación a la precisión obtenida en los resultados, influidos por numerosos factores que no pueden ser totalmente controlados por el investigador.

El presente trabajo ha podido ser realizado gracias a la disposición de una finca particular en la que ha sido posible actuar con gran libertad. Sin embargo, esta disposición y el hecho de estudiar una especie cinegética nos ha condicionado a actuar con gran respeto hacia los intereses y el uso tradicional de la propia finca, por lo que los resultados han estado influenciados por la limitación en el muestreo de algunos datos. Especialmente importante ha sido la imposibilidad de estimar la productividad de las conejas mediante la extracción regular de algunos ejemplares a lo largo del año, o renunciar al muestreo serológico de ejemplares de corta edad o sobre todo la fuerte interferencia que ha supuesto el ejercicio de la caza a la hora de interpretar los datos de mortalidad, especialmente cuando se ha realizado de forma furtiva y con el fuerte impacto que supone la utilización de hurones y escopetas simultáneamente, lo que en más de una ocasión ha supuesto inutilizar el esfuerzo de captura y marcaje de varios días.

5.1-Discusión de la metodología

5.1.1-Índice de abundancia

El seguimiento de la abundancia poblacional mediante la tasa de deposición de excrementos se ha mostrado extremadamente útil para la detección de variaciones tanto intra como interanuales de esta especie. Ha posibilitado el seguimiento cuando la densidad de la población fue menor, y donde otros métodos más convencionales como la realización al atardecer de transectos desde vehículo no hubieran obtenido resultado alguno ante la escasez de avistamientos. Aún en el caso de que el transecto se realizase por la noche con el fin de prolongar el tiempo y la distancia de muestreo, la tasa de deposición de excrementos ha presentado la enorme ventaja de facilitar el seguimiento de poblaciones muy localizadas geográficamente, más interesante para los objetivos de este estudio que obtener datos acerca de una población más extensa.

Por otro lado, la tasa mensual de deposición de excrementos no está influenciada por los factores ambientales que puedan concurrir en el momento del muestreo, tal y como puede suceder en malas condiciones climatológicas en las que el número de avistamientos puede reducirse considerablemente. No obstante, vientos fuertes o precipitaciones intensas pueden ser suficientes para alterar la distribución de los excrementos, arrastrándolos al exterior de las estaciones de muestreo, o lo que es más frecuente, introduciendo excrementos viejos al interior de las mismas, con lo que el índice aumenta de forma artificial. Esto ha supuesto que en ocasiones el muestreo de algunas estaciones no se haya tenido en cuenta.

Dos características del método que podrían considerarse negativas para un estudio de estas características, en el que se ha tratado de determinar el impacto de un agente infeccioso de rápida transmisión sobre una especie de gran capacidad reproductiva, son: por un lado que el método estima la abundancia media de conejos que ha existido durante el período entre dos muestreos sucesivos, cuando podría haber sido más interesante la estimación de la abundancia instantánea en varios momentos dentro de cada mes; posibilitando una correlación más precisa entre la incidencia de la mortalidad por VHD y la abundancia poblacional. Para ello hubiera sido necesario la realización de un buen número de transectos, si bien ni los medios disponibles ni las condiciones de la población, ni en muchas ocasiones las condiciones meteorológicas durante el invierno lo hubieran hecho posible. Por otro lado, el incremento del índice de abundancia debido a la reproducción de la especie tiene lugar con al menos un mes de retraso, porque este es el tiempo que los conejos juveniles permanecen en el interior de la madriguera, y cuando emergen, su actividad sigue estando muy ligada a ella, por lo que sus excrementos contribuyen con retraso a la estimación de la abundancia poblacional.

En contraposición, el método empleado ha resultado extremadamente fácil y barato para la consecución de los objetivos perseguidos, más fiable a la hora de obtener resultados durante el invierno, aunque siempre menos atractivo que la realización de un transecto desde vehículo.

5.1.2-Métodos de captura

La captura de los animales fue el aspecto metodológico que más problemas nos planteó, y también el más difícil de solventar. Durante la primera mitad del trabajo, la baja densidad de conejos, unida a la baja eficacia, variabilidad en los resultados, y restricción de uso hacia madrigueras de mediano y pequeño tamaño que caracterizó el uso de hurones, hizo necesario un gran esfuerzo para obtener capturas mínimas, especialmente durante el

verano, cuando las altas temperaturas afectaron extraordinariamente la actividad de estos animales. Esta dificultad para la captura supuso una práctica imposibilidad de conseguir muestras equilibradas y abundantes, afectando a la precisión de los resultados.

Durante la segunda mitad del trabajo, la mayor abundancia poblacional y sobre todo el desarrollo de las cercas de madriguera como nuevo método de captura nos permitió la obtención de muestras de mayor tamaño, tanto en serología como en radiomarcaje, y concentradas espacial y temporalmente.

5.1.3-Radiomarcaje

El método de radiomarcaje utilizado para la estimación de las tasas de mortalidad, ha demostrado ser muy eficiente en estas condiciones, en las que la especie objeto de estudio tiene costumbres hipogeas, que determinan que parte de los conejos mueran dentro de las madrigueras (Robinson y Wheeler 1983), y cuando la densidad no es muy elevada, lo que desaconseja el uso de otras metodologías basadas en la captura-recaptura de los animales. Además, anula la interferencia de la emigración, que tiene lugar especialmente entre los animales jóvenes, y permite el estudio individualizado de ejemplares que por sus condiciones particulares son de especial interés.

Por contra, es una metodología muy costosa, que requiere tiempo y una inversión económica muy importante por la tecnología utilizada. Este costo económico es el que ha hecho que, en ocasiones, el número de conejos radiomarcados haya sido escaso, como ocurrió durante el primer año de estudio en el que los datos obtenidos fueron extremadamente variables o cuando se marcaron animales juveniles, para los cuales el coste de los emisores no estuvo en consonancia con su reducida duración de funcionamiento ni con la elevada mortalidad de estos animales (que propició numerosas pérdidas). Además, la colocación de un radioemisor en un animal puede alterar significativamente su comportamiento, deteriorando su estado fisiológico y/o facilitando su predación durante los primeros días posteriores al marcaje (Boag 1972; Gilmer y cols. 1974).

Otro problema intrínseco a este método, y que tiene lugar cuando es problemática la recaptura de los animales o no se dispone de un número suficiente de emisores para ir marcando nuevos ejemplares, es el progresivo incremento del sesgo de las características de la muestra de animales marcados respecto de las de la población que se pretende estudiar. Este sesgo está originado por el remanente de conejos supervivientes marcados a lo largo de diferentes ocasiones y que van formando parte de la muestra. Con el tiempo,

pueden llegar a ser una proporción importante de la misma disminuyendo su representatividad de la población que se pretende estudiar, al ser conejos que, por ejemplo, por su edad y experiencia sean más difícilmente predados, o bien sean inmunes a la enfermedad porque ya la han superado. Como medidas paliativas de este sesgo pueden ponerse en práctica dos posibilidades: por un lado el marcaje de nuevos grupos de conejos, representativos de la población, a intervalos de tiempo predeterminados en función de las características de ésta, cuyos datos sólo serán válidos hasta el marcaje del siguiente grupo de conejos. Por otro, proceder a la recaptura de los ejemplares marcados para hacer una nueva valoración de su estatus frente a los factores de interés y complementar la muestra con nuevas capturas hasta que vuelva a ser representativa de la población.

En el presente trabajo, la primera posibilidad ha estado fuera del alcance logístico y económico, mientras que no ha sido posible el estricto cumplimiento de la segunda por las dificultades que ha presentado la captura y recaptura de los conejos. No obstante, la elevada mortalidad causada principalmente por dos factores de características muy diferentes (predación y VHD) que ha propiciado un elevado renuevo de la muestra de animales, y el análisis estratificado de los resultados en función de diferentes factores como la edad o el estatus inmunológico, posibilitan que los resultados obtenidos puedan ser extrapolables en gran medida a la población estudiada, si bien la variabilidad intrínseca a las categorías de edad establecidas, o el desconocimiento del estatus inmunológico de los conejos posteriormente a su captura y marcaje son inconvenientes para la precisión de los resultados.

Un tercer inconveniente del método surge en su limitación para la exacta valoración del impacto producido por diferentes causas de muerte cuando estas no son excluyentes entre sí. En el presente trabajo la interferencia entre predación y caza ha sido probablemente pequeña, puesto que ambas causas de mortalidad son parcialmente excluyentes (sólo puede ser dado como predado un conejo herido en la caza y que no ha sido cobrado por el cazador) y el impacto de la caza ha sido el más reducido de todas las causas de mortalidad (a excepción de la muerte por inundación). Sin embargo, la interferencia de la predación con ambas enfermedades puede haber sido más importante, ya que cualquier conejo muerto por enfermedad que haya sido consumido como carroña, o cualquier conejo enfermo cuya debilidad haya facilitado su predación, lo habremos clasificado como predado.

Esta interferencia puede ser minimizada aumentando la frecuencia de las localizaciones y para enfermedades que cursen de forma aguda, sin embargo en aquellas enfermedades que, como la mixomatosis, se caracterizan por una elevada prevalencia de infección entre la población de conejos y un desarrollo grave y más o menos prolongado

de la enfermedad en el animal, la delimitación del impacto producido por la predación y por la patología es extremadamente difícil, salvo la posibilidad de establecer un diseño experimental en el que puedan ser excluidos de forma selectiva cada uno de los factores de mortalidad, lo que constituiría una experiencia muy compleja y costosa económicamente cuando se trata de especies salvajes.

Una posibilidad más accesible es el establecimiento de un lote control en el que el impacto de la enfermedad se minimiza con la inmunización de todos los animales mediante una vacunación efectiva. Este es el caso de los conejos adultos frente a VHD en el presente trabajo, en los cuales ha coincidido la existencia de una vacuna altamente eficaz con una población de conejos adultos en los que prácticamente la totalidad han sido resistentes frente a mixomatosis. En el extremo opuesto han estado los conejos juveniles, en los cuales a una elevada tasa de predación se ha sumado el impacto de la VHD y la mixomatosis con sus propias interferencias. En este caso, hubiera sido adecuado el diseño de tres lotes control, uno inmunizado contra VHD, otro contra mixomatosis y otro contra las dos enfermedades simultáneamente, con el fin de aislar en lo posible el impacto individualizado y conjunto de ambos virus. Sin embargo, la limitación de medios económicos y el hecho de que la eficacia de la vacunación en campo contra mixomatosis no parece muy elevada (Gallego y cols. 1989) nos decidió al diseño de un solo lote experimental, vacunado contra ambas enfermedades, con el único fin de evaluar su eficacia como herramienta de gestión de la especie.

No obstante, los datos generados por un lote control de animales vacunados no son totalmente equiparables a los de una población exenta de enfermedad, puesto que mientras en ésta el impacto de predación afecta a todos los animales por igual dentro de cada una de las categorías biológicas (edad, sexo, estado fisiológicos, etc), un lote control de animales inmunizados inmerso en una población en la que el virus está circulando, posiblemente sean seleccionados negativamente por los predadores, que tendrán facilitada la captura de los ejemplares enfermos.

5.1.4-Obtención de muestras biológicas

El hecho de trabajar con especies silvestres supone un gran inconveniente a la hora de obtener muestras que reúnan unas mínimas condiciones para su análisis laboratorial. Así ocurrió en el caso de aquellas muestras que tomamos de conejos encontrados muertos con el fin de confirmar mediante HA la muerte por VHD. Pese a que las muestras enviadas a laboratorio las seleccionamos por su estado de conservación, éste no siempre fue el óptimo, puesto que en ocasiones la importancia de diagnosticar la causa de muerte

en algún caso de especial interés aconsejó su remisión a análisis. Por este motivo, aunque lo deseable hubiera sido que todos los casos clasificados como muerte por VHD hubieran estado confirmados por un análisis laboratorial positivo, la variabilidad en el estado de conservación de los cadáveres o sus restos obligó a que el diagnóstico lo hiciésemos en base a los hallazgos de necropsia en primer lugar, y la analítica laboratorial como apoyo.

Las técnicas serológicas empleadas no permitieron diferenciar los animales que presentaron anticuerpos maternos de los que habían superado la infección o de aquellos que presentaban una infección persistente. No obstante, el límite de edad a partir del cual tomamos las muestras de sangre minimiza el porcentaje de individuos positivos por anticuerpos maternos, mientras que, al menos en lo que respecta a la VHD, el porcentaje de animales con infección persistente en la naturaleza (con anticuerpos y antígeno simultáneamente) parece muy bajo, estimado en un 1,6% por Simon y cols. (1998).

5.2- Caracterización de la población de conejos

Las condiciones climatológicas en las que se desarrolló el trabajo se caracterizaron por un aumento de las temperaturas durante 1994 y que alcanzó su punto máximo durante 1995, para descender ligeramente durante la primera mitad de 1996, cuando finalizó el estudio. Esta elevación de las temperaturas medias fue acompañada de un incremento de la evaporación y una disminución de las precipitaciones, lo que fue causa de un período de sequía más o menos prolongado desde principios de 1994 hasta comienzos de 1996 y que fue especialmente intenso durante todo el año 1995. Estas condiciones afectaron tanto a la reproducción de la especie como a su condición física, reflejada en el peso corporal medio, el cual experimentó un descenso notable durante 1995 y principios de 1996.

5.2.1- Reproducción

Todos los estudios que abordan la reproducción del conejo coinciden en que ésta comienza en los últimos meses del año, dependiendo siempre del ciclo del crecimiento vegetal, factor último que regula la entrada en estro de las hembras (Poole 1960). La duración, también en lo que respecta a las hembras, está relacionada directamente con el crecimiento de la hierba que consumen, con lo que el inicio y la longitud de la temporada reproductiva depende de la del crecimiento vegetal, y éste de las precipitaciones y temperaturas.

En el caso de los machos, el principal factor que influye en la reproducción es el fotoperíodo, ya que con el aumento de la duración del día crece el tamaño medio testicular y por tanto la capacidad reproductiva. Sin embargo, existen diferencias entre localidades de igual latitud que demuestran que también intervienen otros factores como la temperatura (Myers y Poole 1962; Andersson y cols. 1979).

En general, para que después de un periodo de sequía tenga lugar la reproducción de los conejos, es necesario la existencia de unas primeras precipitaciones intensas y concentradas en el tiempo que aumenten sustancialmente la humedad del suelo, y después un período de al menos 4 semanas durante el cual nuevas precipitaciones mantengan esta humedad para permitir el crecimiento de los pastos (Newsome 1966; Wood 1980). La rapidez del inicio de la reproducción después de las primeras precipitaciones más intensas parece depender tanto de la duración del período de sequía previo (a mayor duración más pronta es la respuesta) como de la cuantía de las precipitaciones posteriores (Wood 1980).

Por otro lado, durante la reproducción los índices reproductivos no se mantienen constantes, sino que tanto la proporción de hembras preñadas como el tamaño medio de camada se incrementa paulatinamente desde su inicio para alcanzar su máximo, avanzado el período reproductor, y después descender progresivamente hasta el cese de la reproducción.

Si examinamos la variación del índice de abundancia de la población estudiada en el presente trabajo, se observa que sigue este mismo patrón, con un período reproductivo dependiente de las lluvias precedentes, que normalmente suelen tener lugar durante el otoño, o en ocasiones en invierno tal y como sucedió durante el período reproductivo 1995-96.

El índice de abundancia que hemos utilizado detecta a los nuevos animales cuando éstos son capaces de desarrollar una elevada actividad más allá de la proximidad de la madriguera (depositan excrementos lejos de ella); de esta manera si tenemos en cuenta que los gazapos no comienzan a emerger de ella hasta que no tienen los 21-30 días de edad y que la gestación en esta especie dura entre 28 y 30 días, quiere decir que el inicio del período en que la actividad copuladora fue mayor no tuvo lugar hasta al menos dos meses antes de que el índice de abundancia se incrementara.

Si tenemos en cuenta la presencia de excrementos de gazapo en los muestreos, parece que la actividad reproductora de los conejos comenzó inmediatamente después de la caída de las primeras lluvias importantes en el otoño. Los animales nacidos de estos primeros apareamientos no contribuyeron a incrementar sustancialmente la tasa de

deposición de excrementos, lo que sugiere que la tasa de reclutamiento de nuevos ejemplares en la población no superó, o incluso fue inferior a la tasa de desaparición de los ejemplares adultos. Posteriormente, conforme avanzó el período reproductivo, se incrementó el número de apareamientos y por tanto la proporción de hembras gestantes en los siguientes meses, a la par que el tamaño de camada. Ello produjo un notable incremento de la tasa de reclutamiento de animales juveniles que, en el momento que superó la tasa de desaparición de los animales adultos, comenzó a ser detectado por el índice de abundancia (suponiendo tasas similares de deposición de excrementos para adultos y juveniles, ya que en caso contrario existiría otro ligero desfase en el incremento del índice respecto a la detección de animales juveniles).

El período de reproducción de 1995-96, se caracterizó por un considerable retraso en la aparición de las primeras lluvias, que tuvieron lugar a principios de invierno. Esto supuso un retraso en el inicio de la reproducción, aunque se vio compensado parcialmente porque el incremento del índice tuvo lugar tan sólo 3 meses después de que tuvieran lugar las precipitaciones, y no 4 como en los anteriores años. No se detectaron excrementos de gazapos 2 y 3 meses antes de que el índice de abundancia se incrementara, lo que puede interpretarse como una ausencia de las primeras fases del período reproductor debido a la escasez de precipitaciones. Esta falta de conejos jóvenes durante este período produjo un descenso del índice de abundancia por debajo de los valores registrados en otros años. A pesar de la ausencia de esta actividad reproductora inicial, el incremento del índice de abundancia un mes antes de lo observado otros años en relación a la precipitaciones, sugiere que los conejos aprovecharon las lluvias caídas comenzando una actividad reproductiva cuyos índices estuvieron más próximos a los que tienen lugar cuanto el período de reproducción esta más avanzado que en sus inicios.

En general, si tenemos en cuenta que los mayores incrementos en el índice de abundancia ocurrieron entre los meses de febrero-mayo, significa que el mayor porcentaje de hembras gestantes tuvo lugar al menos entre los meses de enero-abril, y la mayor actividad copuladora al menos entre diciembre-marzo. La no detección de excrementos de gazapo durante los muestreos coincidió en todas las ocasiones con el descenso del índice de abundancia, debido al no reclutamiento de nuevos individuos en la población.

Si hemos de atender a los resultados proporcionados por los índices biológicos, éstos coinciden con las anteriores extrapolaciones obtenidas a partir de la abundancia poblacional, apoyando el hecho de que la población estudiada presentó una reproducción anual cíclica en función de las condiciones del medio.

Respecto a los machos, la estimación del ciclo reproductor a partir de la presencia de testículos escrotales es algo arriesgada, ya que debido al estrés de la captura un conejo puede retraer sus gónadas al interior de la cavidad abdominal. No obstante, los elevados porcentajes observados en este trabajo fueron suficientes para que podamos trazar a grandes rasgos la evolución testicular a lo largo del año. Esta fue similar a la de otros trabajos realizados en España (Soriguer 1981; Villafuerte 1994) y en otras partes del mundo (Myers y Poole 1962) con máximos durante los meses de enero-febrero y mínimos durante los meses de verano, principalmente, julio, agosto e incluso septiembre. Si sólo nos guiamos por la presencia o no de testículos exteriorizados, aparentemente existieron machos en disponibilidad de reproducirse durante casi todo el año. No obstante, según Soriguer (1981) si se mide la variación testicular mediante un índice que refleje el volumen de las gónadas parece ser que el desarrollo testicular únicamente es superior a la media anual durante los meses de octubre-abril, con variaciones interanuales entre septiembre-mayo, lo que indica que la capacidad reproductiva de los machos varía con la época del año.

Para al ciclo reproductor de las hembras, los índices siguieron idéntico patrón al encontrado en otras poblaciones españolas (Soriguer 1981; Villafuerte 1994) con el máximo porcentaje de hembras gestantes durante los meses de febrero, marzo y abril, seguidos por los meses de noviembre, diciembre y enero. Parece que el porcentaje de hembras gestantes encontradas mes a mes sigue un patrón universal en aquellas zonas en las que la especie tiene un comportamiento reproductor cíclico, netamente condicionado por las condiciones ambientales (Soriguer 1981).

5.2.2-Abundancia poblacional

La población de conejos se caracterizó por mostrar una tendencia creciente en su abundancia a lo largo de todo el período de estudio, manifestada más claramente en el índice mensual de abundancia por el incremento de la magnitud de los picos de cría más que por el incremento de los valores mínimos anuales. A lo largo de esta trayectoria creciente reflejada por la media acumulada anual, tuvo lugar un repunte de la abundancia originado por la amplitud y altura del pico de cría de 1995, que, paradójicamente, coincidió con el período de sequía más intensa. Posteriormente, y debido al retraso y a la reducida amplitud del pico de cría de 1996 (en comparación al de 1995) los valores de la media acumulada retornaron a los valores esperados en función de la pendiente de crecimiento seguida en años precedentes.

El perfil del índice se caracterizó por unos marcados picos de reproducción, los cuales, en aparente sincronización con el crecimiento vegetal, evidenciaron un rápido y elevado incremento hasta alcanzar el máximo valor anual, para descender después con la misma rapidez hasta valores más próximos al mínimo anual que al máximo alcanzado durante el pico de cría. Este patrón de variación en la abundancia poblacional está originado por la acción simultánea de una elevada capacidad reproductiva, que incrementa rápidamente la densidad poblacional y una elevada mortalidad, en especial para las clases de conejos más jóvenes, que reduce drásticamente la población a niveles cercanos al mínimo anual en cuanto cesa la reproducción (Tyndale-Biscoe y Williams 1955; Wheeler y King 1985; Gibb 1993; Villafuerte 1994).

5.3-Distribución temporal de los casos de VHD y mixomatosis

La observación directa en el área de estudio de casos clínicos de VHD y mixomatosis estuvo estrechamente relacionada con la reproducción de la especie, relación que se hizo evidente en 1996 cuando la ausencia de reproducción en la primera mitad del ciclo, debido a la falta de precipitaciones, coincidió con un retraso temporal del brote de mixomatosis y VHD.

Los casos clínicos de mixomatosis únicamente fueron observados en conejos jóvenes, durante invierno y primavera. Estos brotes de enfermedad podrían sustentarse principalmente en la transmisión por pulgas de la especie *Spilopsyllus cuniculi*, (Joubert y cols. 1972) cuya abundancia está asociada a la reproducción del conejo y es la especie de sifonáptero más abundante en la zona entre marzo y mayo (Osácar 1996). El mantenimiento posterior de la enfermedad podría estar al cargo de otras especies de pulgas como *Xenopsylla cunicularis* (Launay 1982) muy abundante en la zona y por dípteros. No obstante, esto no siempre ha sido así, ya que en 1991, el aumento de la frecuencia de casos de mixomatosis tuvo lugar en los meses de septiembre-octubre, después de un período de abundantes precipitaciones y el aumento de las poblaciones de mosquitos.

La frecuencia de aparición de los brotes de mixomatosis está regulada por la existencia de una densidad mínima de conejos susceptibles y de vectores (Joubert y cols. 1972; Fullagar 1977; Ross y Tittensor 1986b). La eficacia del vector en la transmisión del virus determinará a su vez la densidad mínima necesaria de conejos susceptibles para que tenga lugar el aumento de la frecuencia de la enfermedad. La variedad de vectores potenciales, su variación estacional en cuanto a número o potencial de transmisión y las cambiantes condiciones ecológicas en las que se desarrollan las poblaciones de conejos y que afectan a su reproducción y mortalidad, hacen que la presentación de la enfermedad

pueda variar enormemente de un lugar a otro (Ross y cols. 1989; Dwyer 1990). No obstante, si suponemos la presencia constante en el medio de alguna especie de artrópodo que sea un eficaz vector, en una población de conejos con baja productividad de juveniles, o con baja densidad poblacional, el brote de la enfermedad probablemente tendrá lugar más tardíamente que en una población con una alta productividad o con mayor densidad poblacional, ya que será necesaria la acumulación de diferentes cohortes de juveniles para lograr alcanzar la masa crítica de conejos susceptibles.

Esta observación es acorde con el hecho de que la población estudiada presentó un incremento constante de la abundancia poblacional, siendo posible que las densidades previas al estudio propiciasen los brotes de mixomatosis a finales de verano o en otoño, para después tener una presentación en invierno-primavera.

Respecto a la VHD, las fechas en que fue más fácil el hallazgo de cadáveres de conejos con lesiones compatibles con esta enfermedad fueron también durante los meses de invierno y primavera. En invierno la práctica totalidad de los cadáveres correspondieron a conejos adultos, mientras que en primavera la proporción de conejos jóvenes fue superior. No obstante, el número de cadáveres de conejos jóvenes que se encontró fue inferior a lo esperado si se tiene en cuenta la proporción de juveniles/adultos de la población durante esa época del año y la mortalidad que produce esta enfermedad. El motivo fue la creciente actividad, con el comienzo de la primavera, de las especies predatoras y carroñeras. Mientras en invierno la mayoría de los cadáveres que encontramos estaban íntegros o consumidos en una pequeña parte, conforme transcurría la primavera fue difícil encontrar cadáveres completos, siendo lo más frecuente el hallazgo de restos de conejos jóvenes semidevorados por córvidos. Hasta tal punto fue importante esta actividad carroñera que muchos de los cadáveres recogidos durante este período los encontramos gracias a la observación de la actividad de milanos y sobre todo urracas, cuya concentración solía ser indicativo de la existencia de un conejo muerto, pudiendo observar en una ocasión como un conejo juvenil, todavía agonizante por VHD, había sido empezado a devorar por estos córvidos.

Por este motivo y por el hecho de que muchos de los conejos mueren dentro de las madrigueras, la frecuencia en el hallazgo de cadáveres o su cantidad no puede tomarse como un índice fiable de variación de la mortalidad causada por la enfermedad, puesto que depende de factores tan importantes como la abundancia de especies carroñeras o la actividad de los conejos. Si ésta se halla restringida por unas condiciones climáticas desfavorables, los conejos permanecen más tiempo en el interior de las madrigueras, por lo que en un brote de VHD, el número de conejos que morirán dentro de ellas será superior que cuando desarrollen una mayor actividad en el exterior, propiciada por una climatología más benigna.

Por otro lado, las lesiones encontradas durante la necropsia de los cadáveres incluidos en la tabla V fueron evidentes y plenamente compatibles con el cuadro lesional típico de la VHD. Sin embargo, como la necropsia es un método de diagnóstico muy limitado y las condiciones de conservación de las muestras remitidas al laboratorio no siempre fueron las más adecuadas, es lógico que parte de los resultados de la técnica de HA fuesen negativos, bien porque el animal pudiera haber muerto por alguna otra causa diferente a VHD o bien porque la degradación de las partículas víricas con la

descomposición cadavérica imposibilitó la reacción de hemoaglutinación (Capucci y cols. 1991).

No obstante, la ausencia de resultados positivos de HA a partir de comienzos de 1995 podría estar relacionado con los cambios detectados en los parámetros epidemiológicos de la enfermedad durante ese período del estudio. Una posibilidad es que la enfermedad cursase en estos animales de forma subaguda o crónica, lo que suele estar asociado a la proteólisis parcial de la proteína VP60, o bien a la aparición de formas degradadas de las partículas víricas que carecen de poder hemoaglutinante (Capucci y cols. 1991; Capucci y cols. 1996; Granzow y cols. 1996). La otra posibilidad es que esta ausencia de resultados positivos fuese debida a la generalización de la infección por una cepa de virus VHD no hemoaglutinante (Capucci y cols. 1996; Kesy y cols. 1996).

Teniendo en cuenta ambas posibilidades, los cambios acaecidos en aquel período y que afectaron a algunos de los parámetros epidemiológicos estudiados, sugieren un cambio sustancial en la patogenia de la enfermedad, bien por la generalización de una nueva cepa de virus no hemoaglutinante y causante de una mortalidad reducida que favoreció el incremento de la prevalencia de anticuerpos, o bien por un incremento en la resistencia de los conejos. Este aumento de la resistencia de los conejos es improbable que fuese de origen genético debido a su rapidez de aparición. Sin embargo podría estar relacionado con el aumento de la prevalencia de anticuerpos en la población y con el aumento de la incidencia de la enfermedad. En este caso, la mortalidad por VHD pudo afectar a una elevada proporción de conejos con títulos bajos de anticuerpos en los cuales la infección cursó de forma subaguda o crónica, dificultando el diagnóstico mediante HA.

5.4-Serología de mixomatosis y VHD

Los resultados serológicos demuestran que durante el período de estudio un elevado porcentaje de los conejos adultos (entre el 90 y el 100%) presentaron anticuerpos frente a mixomatosis con valores del IR relativamente elevados, lo que significa que fueron resistentes a la enfermedad durante todo el año. El hecho de que el IR de los conejos adultos seropositivos fuese más elevado en las hembras que en los machos pudiera estar originado por una mayor exposición de éstas a la parasitación por *Spilopsyllus cuniculi* durante la época de reproducción, lo que favorecería el número de reinfecciones por el virus de la mixomatosis. Por otra parte, los conejos juveniles se caracterizaron por unos valores del IR y una prevalencia de anticuerpos mínima durante el período enero-abril de cada año, cuando tiene lugar el mayor número de nacimientos, para posteriormente incrementarse hasta alcanzar los niveles de inmunidad de los conejos adultos.

Este patrón serológico de la enfermedad coincide plenamente con el encontrado en poblaciones francesas de conejos (Vandewalle 1986; Arthur y Louzis 1988; Rogers y cols. 1994), caracterizadas por una prevalencia de anticuerpos del 100% entre los conejos adultos, y por el inicio del brote de mixomatosis cuando la prevalencia de la población desciende hasta el 50-20% como consecuencia del reclutamiento de juveniles susceptibles, alcanzando los supervivientes niveles de prevalencia similares a los de los adultos. En estos trabajos la variación del período de aparición del brote de mixomatosis estuvo también asociado a la variación del período reproductor de cada población, al igual que ocurrió en el presente estudio durante 1996, cuando el retraso en la reproducción ocasionó una presentación de la enfermedad más tardía.

En general, la mixomatosis cursó de forma enzoótica, experimentando pulsos o incrementos de su incidencia relacionados con el reclutamiento de conejos jóvenes susceptibles, que fueron prácticamente infectados en su totalidad a edades relativamente tempranas.

Respecto a la VHD, los resultados serológicos de los conejos adultos muestran que el valor medio del IR y la prevalencia de anticuerpos experimentaron un fuerte incremento a partir de 1994, llegando a alcanzar prevalencias que oscilaron entre el 80 y el 100% en 1995 y 1996.

En los conejos jóvenes la prevalencia mostró variaciones anuales, experimentando, al igual que en los adultos, un incremento de su valor para 1995 y 1996. La variación intraanual de este parámetro y del IR medio entre los seropositivos se caracterizó por presentar los máximos valores para enero-abril y mínimos para septiembre-diciembre. Probablemente, esta reducción a lo largo del año estuvo ocasionada por la inclusión de las cohortes de jóvenes nacidos a finales del período de reproducción, cuando la población ya ha alcanzado su máximo nivel de inmunidad y el brote de VHD remitió en intensidad.

Un perfil serológico similar ha sido encontrado por Cooke (1997) en poblaciones australianas un año después de la introducción del virus VHD, en las cuales la reducción de la prevalencia de anticuerpos en la población, como consecuencia de la reproducción, son seguidas de nuevos brotes de enfermedad, tras los cuales la prevalencia llega a alcanzar valores próximos al 100%. Simon y cols. (1998) también evidencian un patrón similar en poblaciones de Navarra, caracterizado por una máxima prevalencia de anticuerpos durante invierno-primavera.

Comparando los resultados serológicos de mixomatosis y VHD, el hecho de que durante el período enero-abril los conejos juveniles presentasen el mínimo valor del IR frente a la primera y el máximo frente a la segunda indica que, en igualdad de condiciones poblacionales y en presencia de los mismos vectores, el brote de VHD se inició antes que el de mixomatosis. Es decir, la población de conejos alcanzó antes las condiciones adecuadas para la propagación efectiva del virus VHD que el de la mixomatosis. Por el contrario, el hecho de que conforme avanzase el año, la prevalencia de anticuerpos de mixomatosis en los juveniles alcanzara niveles próximos al 100%, mientras que para la VHD la prevalencia fue mucho más baja e incluso con tendencia decreciente, sugiere que muchos de los conejos que nacieron posteriormente no fueron infectados, y que por lo tanto el brote de VHD remitió antes que el de mixomatosis.

Estas observaciones pueden explicarse en base a las diferencias existentes entre ambas enfermedades respecto al nivel de inmunidad de la población, al período de latencia y al mecanismo de transmisión.

La prevalencia de anticuerpos en la población al inicio del período reproductor fue más baja para la VHD, como consecuencia del reclutamiento de conejos adultos, nacidos en la temporada pasada, que no fueron infectados por el virus, por lo que la masa crítica de conejos susceptibles necesaria para la propagación del virus se pudo alcanzar con el nacimiento de las primeras cohortes. Por el contrario, la prevalencia de anticuerpos frente a mixomatosis estuvo próxima al 100% entre la población de reproductores, siendo necesario el acúmulo de un mayor número de cohortes de jóvenes para alcanzar los mismos niveles de prevalencia.

El período medio de latencia (definido como el tiempo transcurrido desde la infección de un hospedador hasta que éste es infectivo) es más corto en la VHD que en la mixomatosis, lo que produce un incremento más pronunciado y en menor tiempo del número de infecciones por el virus VHD que el mixoma (Sartwell 1966; Thrusfield 1990; Heesterbeek y Roberts 1995;). Mientras que en relación a la eficacia de los mecanismos de transmisión, un período infectivo más largo (caso de la mixomatosis) aumenta la probabilidad de infección de los conejos susceptibles, por lo que el número de conejos infectados es mayor. Además, una transmisión mediada por una abundante población de vectores facilita la persistencia de la infección a niveles más bajos de población, tanto en densidad como en proporción de conejos susceptibles (Williams y Parer 1972; Fullagar 1977; May y Anderson 1979). De esta manera ambos factores favorecen la persistencia de la infección por mixomatosis, mientras que la VHD se caracteriza por un período infectivo corto y un desconocido, aunque probablemente escaso, papel de los vectores en su transmisión.

El hecho de que los brotes de VHD se iniciasen antes que los de mixomatosis, y que la prevalencia de infección fuese mayor en esta última enfermedad, pudiera ser el motivo de que el análisis de covarianza haya detectado una asociación de la prevalencia de anticuerpos frente a VHD con la edad de los conejos jóvenes, en contraposición a la mixomatosis, para la cual no se ha detectado tal asociación. La totalidad de los conejos jóvenes fueron capturados cada año a partir de los meses de febrero-marzo. Como el comienzo del brote de VHD tuvo lugar antes, implica que la muestra de conejos capturados estuvo compuesta por individuos pertenecientes a las cohortes nacidas en primer lugar, que en su momento fueron infectados por el virus VHD a edades muy tempranas, cuando se reduce la mortalidad y aumenta el número de supervivientes con anticuerpos. Mientras, el resto de la muestra estuvo compuesta por individuos más jóvenes pertenecientes a cohortes que todavía no habían sido infectadas, o que si lo estaban siendo en ese momento, su tasa de mortalidad por la infección fue más elevada, siendo menor el número de supervivientes con anticuerpos y aumentando la diferencia de prevalencia entre las diferentes clases de edad.

Para la mixomatosis, la muestra estuvo compuesta en su mayoría por conejos de diferentes cohortes que estaban siendo infectados simultáneamente al inicio del brote de enfermedad, y con escasas diferencias de supervivencia entre las diferentes clases de edad, por lo que la diferencia de prevalencia de anticuerpos entre ellas no fue tan marcada. Posteriormente, la abundancia de vectores en el medio facilitaron la infección de los conejos a edades muy tempranas que no fueron muestreadas en el presente trabajo, reduciendo las probabilidades de encontrar conejos sin anticuerpos.

5.5-Mortalidad

Pese a que ninguno de los trabajos publicados hasta ahora describe el patrón de mortalidad para una población de conejos en la que la VHD está presente de forma enzoótica, los resultados que hemos obtenido son muy similares a los de otros autores, aunque la estimación de las tasas de mortalidad dependen tanto de la población estudiada como de la metodología empleada. La mortalidad estimada en el presente estudio ha seguido la distribución característica para esta especie, con las tasas más elevadas en las categorías de edad más jóvenes para ir decreciendo paulatinamente hasta los adultos, que es la clase de edad con menor mortalidad (Wheeler y King 1985; Cowan 1987; Villafuerte 1994; Kunkele y Hols 1996).

5.5.1-Adultos

La tasa anual de mortalidad estimada para los conejos adultos no vacunados se caracterizó por presentar unos valores muy estables a lo largo del estudio. La tasa media anual fue del 57,44%, que se reduce al 54,24% cuando eliminamos la mortalidad por caza. Ambos valores entran dentro del rango considerado normal para la especie, que oscila entre el 20% y el 80% (Tyndale y Williams 1955; Wheeler y King 1985; Gibb 1993; Villafuerte 1994).

Cuando estimamos la mortalidad anual total en función del estatus inmunitario frente a VHD, ésta fue superior para los conejos con anticuerpos, con un valor medio del 57,72% frente al 56,83% de los seronegativos, manteniéndose esta ligera diferencia cuando eliminamos la mortalidad por caza; en este caso los seropositivos presentaron una mortalidad media anual del 54,76% frente al 53,58% de los seronegativos. El resultado esperado hubiera sido una mayor mortalidad para los conejos seronegativos, ya que se supone que la presencia de anticuerpos frente a VHD es un factor protector frente a la enfermedad; sin embargo esto no fue así. La estimación obtenida podría estar distorsionada por la variabilidad inherente a la reducción del tamaño muestral, originada al analizar los datos en función del estatus inmunológico, ya que durante los dos primeros tercios del estudio la tasa de mortalidad por predación de los seropositivos fue muy superior a la de los seronegativos, superando la mortalidad conjunta por predación y VHD de este grupo, mientras que en el último tercio la mortalidad por patología afectó exclusivamente a los conejos seropositivos de la muestra.

No obstante, si el resultado obtenido no es debido a la variabilidad de la propia muestra, la explicación a este resultado podría ser, por un lado, la existencia de conejos seropositivos con infección persistente, los cuales verían facilitada su predación o bien habrían muerto por VHD, pero sus cadáveres fueron consumidos como carroña. Por otro lado, una duración del período de inmunidad similar o inferior al intervalo de tiempo transcurrido entre los brotes anuales de VHD. Esto traería como consecuencia previsible la pérdida de inmunidad de una elevada proporción de conejos seropositivos antes del inicio del siguiente brote, por lo que las diferencias de mortalidad entre conejos calificados como seropositivos o seronegativos a lo largo del año serían mínimas.

5.5.2-Jóvenes

La mortalidad estimada para los juveniles ha estado influida por un reducido tamaño muestral, lo que ha originado fuertes variaciones cuando se ha intentado estimar en función del período cuatrimestral o de la edad. No obstante, las elevadas tasas de mortalidad durante su primer año de vida, que han oscilado entre el 98,93% y el 95,9% cuando hemos excluido los datos de la primera semana, están de acuerdo con lo encontrado por otros autores (Parer 1977; Wood 1980; Villafuerte 1994). Frente a la relativa estabilidad de la mortalidad entre los adultos, los jóvenes se caracterizaron por presentar notables variaciones interanuales, con un máximo de mortalidad para 1993 y un mínimo para 1994.

Las diferencias que encontramos en las tasas de mortalidad estimadas para la primera semana postmarcaje con respecto al resto del período de radioseguimiento supuso un fuerte incremento de la mortalidad en general. Es lógico que en una especie caracterizada por presentar las mayores mortalidades a edades más tempranas, la primera semana, en teoría, debe cursar con mayor mortalidad que la segunda, esta con la siguiente y así sucesivamente. Sin embargo, las diferencias encontradas en el presente trabajo son grandes, por lo que cabe la sospecha de que algún factor o factores incrementaron la mortalidad de los conejos radiomarcados. Tal y como ya se ha comentado en el apartado de discusión de la técnica de radioseguimiento, la captura, manipulación de los animales para la toma de datos, y sobre todo el radiomarcaje, probablemente afectaron el comportamiento de los conejos, como han descrito para otras especies Boag (1972) y Gilmer y cols. (1974) ya que aunque el emisor era de pequeño tamaño fue necesario instalarlo en el pabellón auricular, lo que indudablemente afectó negativamente a las funciones de vigilancia y evasión frente a los predadores, especialmente durante los primeros días antes de que los conejos se acostumbrasen a la molestia.

Las diferencias en la mortalidad durante la primera semana entre conejos no vacunados y vacunados, cuando la mortalidad por patologías fue aparentemente superior entre estos últimos, también sugieren que la vacunación en sí misma suscitó el desarrollo de patologías que aumentaron la mortalidad de los jóvenes durante los primeros días; posiblemente se trató de infecciones secundarias o en estado de incubación que fueron exacerbadas por el efecto inmunosupresor de la vacuna de mixomatosis (Brun y cols. 1981a) y/o por los efectos secundarios de este tipo de vacunas contra VHD (Peeters y cols. 1995).

5.6-Vacunación

Al margen del efecto anteriormente descrito sobre los conejos jóvenes durante la primera semana postmarcaje, la vacunación frente a VHD y mixomatosis supuso reducir la mortalidad de los adultos en un 10,22% o un 20,36% si eliminamos la mortalidad por caza. Para los jóvenes la vacunación también significó un aumento de su supervivencia, ya que en esta clase de edad la reducción de la mortalidad osciló entre el 8,46-8,79% cuando incluimos los datos de la primera semana, y el 28,97-30,11% si los excluimos.

La reducción de la mortalidad entre los conejos adultos fue debida básicamente a la inmunización frente a VHD, ya que la práctica totalidad de los conejos de esta edad fueron resistentes a la mixomatosis. El incremento de la supervivencia que implicó la vacunación fue muy similar a la mortalidad media anual debida a patologías entre el grupo de no vacunados (17,98%), lo que confirma que fue la VHD la principal enfermedad causante de muerte que afectó a los conejos adultos. En relación a los conejos jóvenes la reducción estimada de la mortalidad podría parecer escasa en comparación al notable impacto que ambas enfermedades parece que tuvieron en esta clase de edad. Ello posiblemente sea debido a que como la predación compensa parcialmente la mortalidad debida a las enfermedades (es lógico suponer que los predadores consumirán conejos enfermos en la misma o superior proporción que conejos sanos) y el impacto de la predación es relativamente elevado en esta clase de edad, cualquier actuación dirigida a minimizar el impacto de las enfermedades tendrá reducida su eficacia por esa proporción de conejos, que si bien no enfermarán, seguirán siendo predados como conejos sanos.

Parece contradictorio que la supervivencia de los conejos adultos se incrementase con la vacunación, mientras que los conejos con anticuerpos frente a VHD no presentaron una supervivencia similar. Ello podría apoyar la idea de que entre los conejos seropositivos hubo un elevado porcentaje de conejos con infección persistente, sin embargo, aunque no excluimos totalmente la anterior hipótesis, hay una diferencia

metodológica importante entre conejos vacunados y conejos seropositivos; en el caso de que el período de inmunidad sea similar al intervalo transcurrido entre dos brotes anuales de VHD, una proporción importante de conejos con anticuerpos adquiridos naturalmente en el anterior brote serán sensibles a la infección durante el siguiente, puesto que habrán perdido paulatinamente su resistencia natural al transcurrir un ciclo completo. Sin embargo, los conejos vacunados fueron capturados, y por tanto vacunados, de forma más o menos progresiva a lo largo del año, conforme fue necesario renovar la muestra, de tal manera que una gran proporción de ellos podrían haber llegado al siguiente brote de VHD en mejor situación inmunológica que los infectados naturalmente, sobreviviendo a la infección y aumentando por tanto su supervivencia en relación a éstos. También cabría considerar la posibilidad de que la inmunidad conferida por la vacunación sea superior a la inmunidad adquirida naturalmente.

5.7-Causas de mortalidad

Durante la realización del estudio pudimos identificar cuatro factores de mortalidad: inundación, caza, predación y patologías, mientras que la presumible mortalidad causada por mixomatosis no pudo ser estimada por la imposibilidad de diferenciar la mortalidad causada por la enfermedad misma de la producida por otros factores como la predación.

De todas estas causas de mortalidad, hemos considerado a la inundación como un factor accidental y esporádico, debido a su infrecuencia temporal y a la limitación espacial de sus efectos. No obstante, si bien la proporción de conejos muertos por esta causa no fue muy elevada, posiblemente gracias a la complejidad de las madrigueras, el impacto de un catastrófe de este tipo puede aumentar si estas son más pequeñas o de estructura más simple, lo que podría provocar la extinción de núcleos poblacionales de baja densidad o limitación geográfica.

La mortalidad por caza fue un factor artificial y con gran poder de distorsión para la estimación de la mortalidad natural en la población estudiada. La principal impresión que podemos extraer de los resultados es que es un factor de mortalidad importante y muy a tener en cuenta en aquellos lugares en los que la actividad cinegética se realiza en ausencia de cualquier planificación y en los que la sobrepresión de caza puede ser excesiva. No obstante el verdadero efecto de la caza sobre las poblaciones de esta especie y sobre la estimación de la mortalidad por causas naturales es todavía incierto, pues se desconoce en qué medida la mortalidad por caza es aditiva a la mortalidad natural (predación sobre todo) o es compensada por ésta.

Así pues, las dos principales causas de mortalidad natural detectadas en el presente estudio y que conformaron el patrón de mortalidad para la especie fueron la predación y las patologías, con especial referencia a la VHD, mientras que el impacto de la mixomatosis, como ya hemos dicho, probablemente se solapó con el de la predación

5.7.1-Mortalidad por predación

5.7.1.1-Adultos

La predación fue el factor para el cual se han estimado las mayores tasas de mortalidad anual entre los conejos adultos. La variación de las tasas se caracterizó por la existencia de ciclos intraanuales que presentaron los valores máximos de mortalidad coincidiendo con los mínimos de abundancia poblacional. Este patrón también ha sido observado por Villafuerte (1994) y es debido a la selección negativa de los predadores hacia los conejos adultos en presencia de juveniles, que son seleccionados positivamente por su mayor capturabilidad.

Los resultados más interesantes se obtienen cuando fusionamos los datos de los conejos vacunados y no vacunados. En este caso, la media acumulada anual de las tasas diarias muestra una tendencia creciente a lo largo del período de estudio que acompaña al aumento progresivo de la abundancia poblacional (figura 24). Este crecimiento de la tasa de predación aparentemente se vio truncado hacia el año 1994, momento en el que la mortalidad por predación entre los adultos experimentó un descenso que se vio correspondido con cierto retraso por un incremento del crecimiento de la población. Posteriormente, hacia finales de 1995 el aumento de la predación anticipó la disminución de la abundancia poblacional. La reducción de la mortalidad por predación coincidió con un brote de sarna sarcóptica (cuyo agente es el ácaro *Sarcoptes scabiei*) en la población de zorros de la zona, especialmente durante principios y finales de 1994, siendo frecuente la observación de zorros adultos gravemente afectados.

La sarna sarcóptica ya ha sido descrita como una enfermedad parasitaria capaz de producir elevada mortalidad en poblaciones de cánidos silvestres (Pence y Windberg, 1994). Además, por la frecuencia estimada sobre el total de predaciones, el zorro parece que fue la especie predadora con mayor impacto sobre la población de conejos, algo habitual en la mayoría de las poblaciones españolas (Villafuerte 1994), por lo que posiblemente el brote de sarna redujo la densidad de zorros de la zona disminuyendo las tasas de predación sobre el conejo. Esto trajo como consecuencia un incremento de las poblaciones, experimentado básicamente durante el pico de reproducción de 1995, que fue el de mayor amplitud y el que presentó, según el índice de abundancia, un descenso menos pronunciado una vez finalizado el período reproductor (menor mortalidad), a pesar de que coincidió con unas condiciones del medio de extrema sequía y escasez de alimento que supuso una marcada disminución del peso medio corporal de los conejos.

5.7.1.2-Jóvenes

Los resultados obtenidos para los conejos jóvenes han presentado una mayor variabilidad, si bien es evidente que presentaron mayor mortalidad por esta causa en comparación a los conejos adultos. La variación interanual se caracterizó por un descenso de la mortalidad por predación durante 1994, coincidiendo con las estimaciones realizadas para los conejos adultos, lo que apoyaría la hipótesis de una reducción del impacto de predación en ese período.

5.7.2-Mortalidad por patologías

5.7.2.1-Adultos

Como ya se ha comentado anteriormente, la práctica totalidad de los conejos adultos fueron resistentes a mixomatosis y todos los conejos encontrados muertos por enfermedad presentaron lesiones compatibles con VHD, por lo que cabe suponer que en esta edad la mortalidad por patologías se correspondió únicamente con la mortalidad producida por el virus VHD. Únicamente aquellos casos en los que los animales murieron dentro de las madrigueras, fuera de los períodos de máxima mortalidad por esta enfermedad, suscitan dudas acerca de su etiología, sin embargo, al ser un número escaso su interferencia es reducida.

La VHD entre los conejos adultos se caracterizó por una tendencia cíclica en sus brotes de mortalidad. Esta regularidad en la variación de su presentación indica que la VHD es una enfermedad enzoótica de la población estudiada, y que estos brotes son pulsaciones enzoóticas originadas por el incremento de la población de conejos como consecuencia de la reproducción (Thrusfield 1990). Este incremento producido por el reclutamiento de nuevos individuos susceptibles conlleva el aumento de la incidencia de la enfermedad, produciendo mortalidad tanto entre los conejos jóvenes como en los adultos. Esta relación entre los pulsos enzoóticos y la reproducción fue especialmente manifiesta en 1996, cuando el retraso en la reproducción produjo un retraso equivalente en la aparición del pulso enzoótico.

En general, la mortalidad fue mayor entre los conejos adultos nacidos el año anterior, como consecuencia del mayor porcentaje de susceptibles que hubo en este grupo de edad, si bien la presencia de anticuerpos no fue sinónimo de resistencia total a la infección. Así, desde 1993 hasta el brote de VHD de 1995 la casi totalidad de los conejos muertos por causas patológicas no presentaron niveles detectables de anticuerpos frente a

este virus en el momento de la captura, sin embargo, tanto un conejo vacunado que murió en 1993 como todos los demás que murieron desde mediados de 1995 hasta el final del período de estudio fueron conejos seropositivos, aunque todos ellos con valores del IR muy bajos.

En estos casos cabría considerar la posibilidad de que fuesen conejos con infección persistente, no obstante la ciclicidad de la mortalidad incluso entre los conejos seropositivos, sugiere con mayor fuerza que en realidad estos animales fueron conejos resistentes cuyo nivel de inmunidad descendió con el paso del tiempo y se hicieron nuevamente susceptibles a la infección. Esta inmunidad residual que no les dio una protección total contra la enfermedad sería la responsable del aumento de casos de infección subaguda o crónica que inactivaría las propiedades hemoaglutinantes del virus para su diagnóstico por HA, originando la ausencia de resultados laboratoriales positivos a partir de 1995, tal y como ya hemos comentado en apartados anteriores.

La duración del período de inmunidad, tanto natural como vacunal, ha sido estimada por algunos autores en al menos 12-18 meses (Pagés 1989; Argüello 1991; Chasey 1995; Dugast 1995), aunque otros han descrito una duración de tan solo 7 meses para la inmunidad vacunal, tras la cual la infección de los conejos produjo un cuadro clínico crónico y mortal (Simon y cols. 1993). No obstante este período de inmunidad podría ser mucho más corto en la naturaleza debido a la cantidad de antígeno vírico fluctuante (Pagés 1989), de tal manera que los conejos con elevado título de anticuerpos verían reducido rápidamente este nivel a causa de la neutralización producida por la cantidad de virus con la que contactarían. Los conejos con títulos medios experimentarían un efecto recuerdo, potenciando su nivel de inmunidad ante la infección del virus, mientras que los conejos con bajo nivel de anticuerpos aumentarían su mortalidad ante la infección, padeciendo cuadros clínicos de la enfermedad subagudos o crónicos (Rodak y cols. 1990).

En relación a la evolución temporal, la mortalidad por VHD entre los conejos adultos se caracterizó por una variabilidad anual relativamente importante. Así, el período anual con la mínima mortalidad por patología, prácticamente incluyó el año 1994 desde el mes de marzo hasta febrero de 1995, excluyendo por tanto el brote de VHD de enero-febrero de 1994 e incluyendo el de 1995, que fue de menor intensidad, mientras que el período de máxima mortalidad prácticamente abarcó el año 1995, caracterizado por la mayor abundancia poblacional, que posiblemente facilitó la propagación del virus.

5.7.2.2-Jóvenes

La mortalidad por patologías entre los conejos jóvenes se caracterizó porque la casuística fue más variada que en los adultos, especialmente entre los conejos de menor edad, ya que posteriormente la etiología quedó prácticamente restringida a VHD.

Es de suponer que entre las clases más jóvenes, la mixomatosis por sí misma causase un impacto significativo en la mortalidad por patologías, sin embargo, el hecho de que en ocasiones encontrásemos juveniles radiomarcados predados, y con evidentes signos de mixomatosis, indica que el impacto de esta enfermedad fue encubierto en gran medida por el de la predación. Otra patología identificada fue la coccidiosis, enfermedad característica de esta clase de edad y que ya ha sido descrita como causa importante de muerte en esta especie (Tyndale-Biscoe y Williams 1955; Stodart 1968), sin embargo debido a la escasez de precipitaciones en el área de estudio, lo que dificultaría el ciclo biológico del parásito, su importancia parece muy pequeña en comparación a las dos enfermedades víricas estudiadas.

La mortalidad por VHD aparentemente fue detectada más fácilmente en las clases de edad intermedias o de mayor edad, lo que coincide con las observaciones de otros autores (Morisse y cols. 1991; Smid y cols. 1991; Xu 1991; Lenghaus 1993; Cooke 1997). Desgraciadamente el hecho de que muchos de los conejos (el 61,11% de los casos) muriesen dentro de las madrigueras hizo muy difícil la valoración de su impacto, así como el de otras patologías. Es de destacar la muerte de dos conejos vacunados en el interior de la madriguera 6 días después de su captura y vacunación, presentando ambos valores medios del IR frente a VHD. Posiblemente, tal y como ya se ha comentado, el estrés del manejo y/o la vacunación exacerbase algún tipo de patología secundaria que los mató en breve tiempo. No obstante, hubiera sido muy interesante poder identificar la causa de su muerte, puesto que si ésta fue la VHD podríamos estar ante dos casos de conejos con infección persistente, lo que ya ha sido descrito por Simon y cols. (1998) como una forma de presentación de la enfermedad más frecuente entre conejos de esta edad (subadultos). La persistencia de la infección podría estar propiciada por las propias circunstancias fisiológicas inherentes a la edad de los animales (incluido el papel de la inmunidad materna adquirida), que les haría ser resistentes al desarrollo clínico de la enfermedad durante las primeras semanas de vida y que facilitaría en algunos casos la evolución hacia cuadros crónicos de la enfermedad (Simon y cols. 1998).

Cuando se analiza la evolución temporal de la frecuencia de presentación de la mortalidad por causas patológicas en función de los años, para los conejos jóvenes se observa claramente un fuerte y progresivo incremento de la misma desde 1993 hasta 1995.

La coincidencia de este incremento entre 1994 y 1995 con el incremento de la mortalidad por VHD entre los conejos adultos, y el hecho de que aumentase la prevalencia de anticuerpos frente a esta enfermedad entre los conejos nacidos en 1995 que llegaron a la siguiente época de reproducción, sugiere que este incremento de la mortalidad por causas patológicas entre los conejos jóvenes fue debido al incremento de la mortalidad por VHD.

5.8-Tasas de mortalidad y morbilidad de VHD

Para la estimación de las tasas de morbilidad y mortalidad mediante las fórmulas empleadas hemos supuesto una relación lineal entre la morbilidad y la prevalencia de anticuerpos después del brote de enfermedad. Esta suposición que podría no ser correcta si se hubiesen realizado las estimaciones con los datos de los conejos juveniles, puede ser aceptada con suficientes garantías cuando se utilizan los datos de los conejos adultos, puesto que aparentemente la susceptibilidad a la infección es similar para todos los conejos incluidos dentro de esta categoría.

La no existencia de conejos seropositivos muertos por VHD durante los brotes de 1994 y 1995 y la relativamente elevada proporción de conejos seronegativos que había en la población ha facilitado la estimación de la morbilidad y mortalidad para esos períodos. Esto no ha podido realizarse para el brote de 1996, ya que la elevada prevalencia de anticuerpos de la población hubiera hecho necesario un profundo conocimiento de la influencia de la inmunidad humoral y su respuesta respecto a la sensibilidad a la infección para poder estimar ambos parámetros.

La tasa de morbilidad estimada para 1994 fue considerablemente inferior a la de 1995, en consonancia a la abundancia poblacional, ya que la mayor densidad de conejos durante este último año debió favorecer la transmisión del virus entre la población. Sin embargo, las tasas de mortalidad estimadas son muy similares, de tal manera que la mortalidad por la infección del virus VHD en conejos adultos se estimó alrededor de un 80% para los dos años. Esta mortalidad es muy similar a las encontradas por autores como Leon y Cooke (no publicado) que estimaron una tasa de mortalidad próxima al 90% durante la primera epizootia en una población de conejos silvestres de Murcia, mientras que Cooke (1997) también estimó la mortalidad en un 85% en poblaciones silvestres australianas un año después de la introducción de la VHD. En nuestro trabajo no es posible averiguar si la mortalidad del virus ha descendido en el área de estudio, ya que no existen datos precedentes. No obstante hay que tener en cuenta que en estas estimaciones no se ha tenido en cuenta la posible mortalidad acaecida entre conejos seropositivos, por lo que probablemente estaremos subestimado la mortalidad real. En este caso es importante

resaltar que aunque existe una relativa abundancia de conejos en la zona de estudio, y una elevada prevalencia de anticuerpos, la mortalidad del virus VHD sigue siendo muy alta, con valores similares a los estimados durante las primeras epizootías.

A la luz de los anteriores resultados, según los cuales el aumento de la tasa de anticuerpos frente a VHD que tuvo lugar en 1995 fue debido a un aumento de la morbilidad, y que la mortalidad producida por el virus se mantuviese en niveles similares a años anteriores, la hipótesis de la existencia de un virus de reducido poder patógeno que, compitiendo con el virus VHD, sería el responsable del aumento de la prevalencia de anticuerpos y de la reducción de la mortalidad que tuvo lugar en la población estudiada entre 1995 y 1996, carece de validez. Así pues, cabe pensar que la variación de estos parámetros obedeció a un cambio de las condiciones epidemiológicas que determinan el equilibrio entre el virus y su hospedador, descritas por el modelo matemático descriptivo de la epidemiología de esta enfermedad.

5.9-Modelización de VHD

El modelo desarrollado para la simulación de la epidemiología de la VHD recoge las principales características de la biología del conejo y del virus. Aunque algunos elementos como la respuesta funcional y numérica de los predadores en función de la densidad de conejos, la distribución contagiosa de las poblaciones de esta especie, o la consideración de tasas de contacto diferentes para cada clase de edad hubieran supuesto una aproximación más realista para la simulación de la evolución y manejo de las poblaciones de conejos. No obstante, la inclusión de estos factores hubiera supuesto un aumento importante de la complejidad del modelo y posiblemente no hubiera implicado cambios cualitativos importantes en la escala de resultados que se ha pretendido obtener.

Los resultados del modelo analizado han estado determinados por dos factores: la tasa de contacto entre conejos y la resistencia a la enfermedad de los animales más jóvenes.

La tasa de contacto ha estado determinada en el modelo por la densidad poblacional, y esta a su vez por el equilibrio entre la mortalidad y la productividad de la población. Una variación en la tasa de contacto supone una variación directamente proporcional en la fuerza de infección o incidencia, y como esta magnitud está inversamente relacionada con la edad media a la cual los conejos son infectados por primera vez por el virus (Anderson y May 1982b; Anderson y May, 1983), el incremento de la tasa de contacto supone la disminución de la edad media de infección. Conforme

ésta va disminuyendo, una proporción cada vez mayor de conejos son infectados a edades en las que son resistentes al desarrollo de la enfermedad, aumentado su supervivencia, lo que se traduce en una disminución de la mortalidad por VHD a nivel poblacional, y por tanto de su impacto.

Este modelo epidemiológico de la enfermedad no se ve cualitativamente afectado por la naturaleza de la resistencia de los conejos más jóvenes (inherente a la edad o de origen maternal) ni por la duración del período de inmunidad, factores que únicamente han producido variaciones cuantitativas en los parámetros estudiados de la enfermedad. Sin embargo, el modelo epidemiológico puede manifestarse de manera muy diversa en las poblaciones de conejos silvestres en función de los condicionantes ecológicos y de su variación tanto inter como intraanual. Esta diversidad se podría resumir diciendo que, en general y para aquellas poblaciones con la densidad suficiente como para que la enfermedad persista por sí sola, brotes de enfermedad ocurridos prematuramente en relación a la reproducción de la especie suponen que el equilibrio alcanzado entre el virus y la población de conejos es más favorable a la evolución y persistencia de ésta.

La validación del modelo viene dada por su capacidad para explicar muchos de los fenómenos que han tenido lugar en la evolución de las poblaciones de conejos posteriormente a la aparición de la enfermedad. Así, la dependencia del impacto de la VHD respecto de las condiciones ecológicas demostrada en el modelo es suficiente para justificar el hecho de que con posterioridad a la aparición de la VHD, la recuperación de la especie haya sido proporcionalmente mayor en aquellas áreas de condiciones más favorables o en las que las medidas de manejo han supuesto una reducción de la mortalidad por predación (Blanco y Villafuerte 1994). También es capaz de explicar satisfactoriamente la aparición de núcleos poblacionales muy localizados espacialmente (como la población estudiada) pero con elevadas densidades, sin que en ello tenga que mediar necesariamente ningún tipo de resistencia genética como ha sido discutido por algunos investigadores (Simon y cols. 1998), ya que sería la propia densidad poblacional la que propiciaría la disminución del impacto de la VHD a nivel local. También explicaría el porqué de la dificultad de expansión de estos núcleos poblacionales densos, expansión que sería más rápida si dependiese de una resistencia genética. En este caso, el gradiente decreciente de densidad poblacional que va del centro a la periferia de la población posiblemente irá acompañado de un aumento del impacto de la VHD, además de la predación, por lo que aunque las condiciones del medio sean idénticas, la expansión se verá retardada por un incremento de carácter centrífugo de la mortalidad.

De manera similar, mediante el patrón epidemiológico evidenciado por el modelo es posible explicar la existencia de poblaciones con elevada prevalencia de anticuerpos

frente a VHD y aparentemente indemnes, inmersas en macropoblaciones en las que existe esta enfermedad de forma enzoótica (Dugast 1995; Marchandeu y cols. 1998). En estos casos, la explicación no sólo podría venir de la existencia de un virus apatógeno, como proponen estos autores, sino que también podría deberse a la existencia de una mayor tasa de contacto y por tanto una reducción de la mortalidad por VHD a unos niveles difícilmente detectables con la metodología empleada en estos trabajos. Ello implicaría que el virus apatógeno denominado RCV no estaría tan extendido como se supone.

Cooke (1997) en un estudio realizado sobre conejos silvestres estimó que la relación entre morbilidad y la prevalencia de anticuerpos posterior al brote de VHD no es de naturaleza lineal cuando se consideran estos parámetros para el total de la población, sino que conforme aumenta la morbilidad aumenta también la pendiente de crecimiento de la prevalencia. Ello también es compatible con los resultados del presente modelo, en donde el aumento progresivo de la tasa de contacto (relacionada directamente con la morbilidad) supone un descenso de la mortalidad por VHD y por tanto un incremento de la proporción de conejos que sobreviven y se hacen resistentes a la enfermedad.

Por último, el modelo también está de acuerdo con los resultados obtenidos en el estudio de la población de conejos de la finca ARPAL. En este caso, una reducción de la mortalidad por predación, como consecuencia de una epizootia de sarna entre los zorros pudo propiciar un incremento notable de la densidad poblacional hacia 1995. Ello supuso el aumento de la morbilidad que tuvo como consecuencia a su vez un aumento de la mortalidad estimada para las clases de edad superiores a los dos meses, este aumento de la morbilidad se tradujo en un aumento sustancial de la prevalencia de anticuerpos y por tanto una reducción de la mortalidad por VHD entre los conejos adultos a comienzos de 1996. Esta elevada prevalencia, que se estimó próxima al 100% entre los conejos adultos, no es incompatible, según el modelo, con un reducido período de inmunidad, que tal y como ya se ha comentado, podría ser la causa de no haber estimado una supervivencia superior entre los conejos seropositivos respecto de los seronegativos.

5.9.1-Efecto de la VHD en la ecología del conejo silvestre

Siguiendo los resultados obtenidos en el análisis del modelo matemático, es posible evaluar el efecto que la VHD ha tenido sobre la ecología de la especie.

En las figuras 66(A) y (B) se ha representado lo que sería el primer y segundo modelo de predación descrito por Pech y cols. (1995) para aquellas situaciones en las que, ante un descenso de la especie presa principal (en este caso el conejo) la especie predatora

cuenta con recursos secundarios con los que subsistir sin ver mermada su abundancia poblacional. En estas figuras se ha representado el incremento (N) de la población de conejos (como % en el eje de ordenadas) en función de la densidad (D) de la misma población (eje de abscisas). Este incremento decrece paulatinamente conforme aumenta la densidad y se va alcanzando la capacidad de carga del medio (D_k). En el eje de ordenadas también se ha reflejado la mortalidad por predación (P) para tres densidades teóricas de predadores (P1, P2 y P3), incluyendo esta mortalidad por predación tanto la respuesta funcional como la respuesta numérica de los predadores antes los cambios de densidad de la presa.

Considerando la situación previa a la aparición de la VHD, con un nivel de predación elevado (P1), la población únicamente contaría con un punto de equilibrio estable (a1) a una densidad poblacional "Da1" en la que el crecimiento poblacional sería compensado por la predación. Si la densidad de predadores fuese inferior, a un nivel P2, en este caso la población podría experimentar dos situaciones de equilibrio, una a baja densidad (correspondiente al punto a2) y otra a elevada densidad (punto c2). Al rango de densidad poblacional comprendido entre a2 y b2 se le ha denominado "trampa del predador" o "pozo de la predación", y supone que para cualquier densidad superior al punto a2, pero inferior a b2 será reducida por la predación hasta a2. Únicamente la superación de la densidad correspondiente al punto b2 implicará el crecimiento de la población hasta alcanzar el equilibrio a densidades más elevadas (c2).

A un nivel de predación todavía más bajo (P3), la población de conejos únicamente tendrá un punto de equilibrio (c3) a elevadas densidades, puesto que para valores inferiores de la densidad, el crecimiento poblacional es siempre superior a la mortalidad por predación.

Cuando se incluye el efecto de la VHD sobre el crecimiento poblacional, básicamente existen dos situaciones. En la figura 66(A), debido a los condicionantes ecológicos, la población de conejos no supera el punto de inflexión de la mortalidad por VHD, de tal manera que la gráfica del crecimiento poblacional (N') se caracteriza por una fuerte pendiente negativa. En esta situación, la población únicamente puede alcanzar un punto de equilibrio a baja densidad para cada una de las tres gráficas de predación (a1', a2' y a3'), siendo estas densidades inferiores a las correspondientes cuando la población está exenta de VHD. En esta situación de baja densidad, la intervención de otros factores pueden ocasionar la extinción de la población de conejos.

La segunda situación, reflejada en la figura 66(B) tiene lugar cuando las condiciones ecológicas permiten que la población supere el punto de inflexión de la

mortalidad por VHD. En este caso la curva de crecimiento poblacional (N') experimenta una reducción máxima para aquella densidad en la cual la mortalidad por VHD está próxima al punto de inflexión. En este caso, el impacto de la VHD supone que para un nivel de predación P1 la población alcanzará un punto de equilibrio ($a1'$) a una densidad inferior. Para un nivel de predación P2, en el que la población sin VHD contaba con la posibilidad de dos puntos de equilibrio, uno a baja y otro a elevada densidad, con la VHD las densidades a las cuales alcanzará estos puntos de equilibrio son menores, ampliándose el intervalo de densidad (desde $a2'$ hasta $b2'$) que comprende el pozo de la predación. Mientras que para un nivel de predación inferior (P3), la introducción de la VHD implica la aparición de una situación de pozo de la predación entre $a3'$ y $b3'$ y dos puntos de equilibrio, el $a3'$ que antes de la VHD no existía y el $c3'$ cuya densidad puede estar próxima a la que había antes de introducir la enfermedad.

Estas dos últimas situaciones son especialmente interesantes, ya que implican la posibilidad de que algunas de las poblaciones originales, cuya densidad se vio drásticamente reducida por las primeras epizootias de VHD, podrían permanecer en la actualidad en una situación de equilibrio a baja densidad (puntos $a2'$ y $a3'$) cuando, con una gestión adecuada, sería posible superar las densidades correspondientes a los puntos $b2'$ y $b3'$ y conseguir que esas poblaciones alcanzasen un equilibrio estable a elevadas densidades. Esta posibilidad puede estar ocurriendo de forma natural en aquellos lugares en los que, tal y como ya se ha comentado, surgen núcleos poblacionales muy localizados con elevadas densidades.

En aquellas poblaciones en las que es posible superar el punto de inflexión, el impacto de la VHD ha supuesto básicamente la reducción de la capacidad de superación del impacto negativo de otros factores de mortalidad, provocando situaciones como el pozo de la predación o aumentando el intervalo de densidades en las que este tiene lugar, a costa de reducir los intervalos en los que la población tiende hacia un equilibrio estable, de tal manera que el efecto de terceros factores que afecten temporalmente y de forma negativa a la densidad y que en una situación exenta de VHD no supondrían mayor problema, bajo el impacto de esta enfermedad pueden ser capaces de llevar a la población a situaciones de densidad mínima, con el riesgo de extinción.

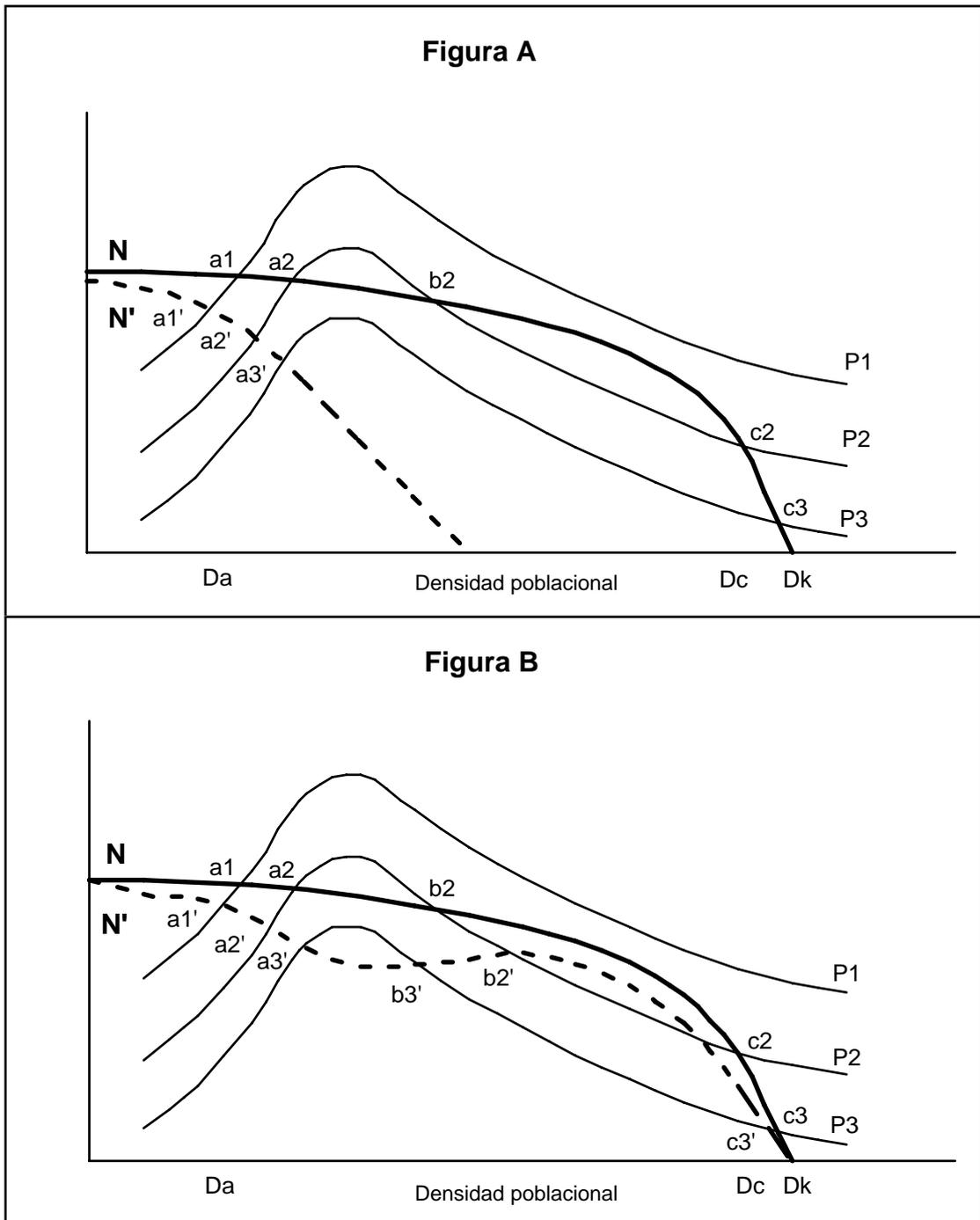


Figura 66: Efecto de la VHD sobre la ecología del conejo silvestre según el primer y segundo modelo de predación de Pech y colaboradores (1995).

5.9.2-Herramientas de gestión

La gestión y el fomento de esta especie pasa en primer lugar por la mejora de las condiciones del hábitat. Un aumento de la capacidad de carga del medio supone un incremento de la curva "N", lo que posibilitará que la población alcance mayores densidades y por tanto el punto de inflexión de la mortalidad por VHD, pudiendo alcanzar entonces un equilibrio estable a elevada densidad.

Cuando la población en cuestión ya se encuentra en las situaciones determinadas en la figura B por los niveles de predación P2 y P3, y ha alcanzado los puntos de equilibrio a elevada densidad, su mantenimiento exige un aprovechamiento cinegético conservador, con el fin de impedir que la población descienda por debajo de los puntos b2' o b3', lo que conllevaría un fuerte descenso de la densidad poblacional hasta los puntos a2' o a3'. En este sentido los resultados del modelo analizado están de acuerdo con los obtenidos por otros autores (Darwin y Williams 1964; Smith y Trout 1994; Smith 1997) según los cuales el incremento de la mortalidad de conejos adultos al comienzo de la época de reproducción produce el mayor impacto negativo sobre la tasa de crecimiento de la población, por lo que la opción más conservativa para la población simulada sería el ejercicio de la caza durante el período junio-septiembre.

No obstante, el modelo ha supuesto que el impacto de la caza es independiente de la edad o el sexo de los animales. Sin embargo existen evidencias de que estas suposiciones no son del todo correctas y que la mortalidad debida a la caza durante junio-septiembre podría ser más selectiva hacia los conejos jóvenes, mientras que durante octubre-enero lo sería hacia los machos. Sería necesario una profundización en el conocimiento del efecto de la caza sobre la dinámica poblacional de la especie con el fin de optimizar su rendimiento y disminuir su impacto negativo.

Por otro lado, cuando la población se encuentra en situaciones de equilibrio correspondientes a los puntos a2' o a3', su recuperación hasta alcanzar los puntos de equilibrio a densidad elevada parece más compleja, puesto que en este caso el fenómeno del pozo de la predación se encuentra potenciado por el impacto de la VHD.

El control de la mortalidad por predación lógicamente logrará los mejores resultados cuando se mantenga todo el año, sin embargo si por alguna razón éste ha de estar limitado en el tiempo, el período en el que se obtiene una eficacia mayor es durante junio-septiembre, ya que es cuando más subadultos hay en la población. No obstante, estos resultados dependen estrechamente del tipo y magnitud del incremento de la mortalidad que suponga la competencia intraespecífica, para la cual se ha asumido la

forma de un incremento lineal con la densidad de conejos adultos, además de que no se ha contemplado el efecto de la emigración. Por otro lado, el modelo tampoco contempla la eficacia del control desde el punto de vista de la especie predatora, lo que puede suponer importantes variaciones en la determinación del período más apropiado para practicar este control, por lo que los resultados obtenidos podrían alterarse sustancialmente con la introducción en el modelo de parámetros más realistas que deberían ser objeto de estudio.

No obstante, independientemente de cómo se practique el control de la predación o de otros factores de mortalidad diferentes a la VHD, el principal resultado es que el esfuerzo aplicado a este fin se ve en parte mediatizado por la compensación de la mortalidad debida a esta enfermedad, ya que el aumento de la densidad poblacional implica un aumento de la tasa de contacto y por tanto de la incidencia.

Por otro lado, la inmunización frente a VHD en fechas previas a la ocurrencia de los brotes anuales, y en especial si afecta a las clases de edad más susceptibles a la infección, también puede constituir una herramienta para la recuperación de la especie. Sin embargo, en estas situaciones una reducción de la mortalidad por VHD supone un incremento de la densidad poblacional que es correspondido por un aumento del impacto de predación, por lo que los resultados son mediatizados por ésta. Así pues, si la gestión realizada para lograr que una población de conejos supere los puntos b_2' y b_3' se basa únicamente en el control de predadores o únicamente en la inmunización frente a VHD, el esfuerzo necesario será proporcionalmente superior que si se aplican las dos herramientas de gestión simultáneamente, ya que en este caso disminuirá la compensación de la mortalidad que experimenta cada factor ante la disminución del otro. Estos resultados lógicamente, serán más fáciles de lograr si además se actúa sobre la capacidad de carga del medio, especialmente en lo que se refiere a potenciar la productividad de la población.

Una última herramienta de gestión a tener en cuenta, cuya aplicación no es excluyente de las anteriores, pero que sin embargo por sí misma puede ser suficiente para que la población supere simultáneamente el pozo de la predación y el punto de inflexión de la mortalidad por VHD, es el incremento de la tasa de contacto mediante la introducción del contingente necesario de conejos hasta alcanzar una densidad poblacional superior a los puntos b_2' o b_3' . Estas reintroducciones deben ser realizadas con el objetivo de alcanzar un equilibrio entre la supervivencia a largo plazo de los conejos introducidos (con la finalidad de potenciar su aportación al crecimiento poblacional) y la transmisión eficaz del virus a través de la mayor proporción posible de conejos juveniles con menos de dos meses de edad, por lo que será necesario asegurarse de que el virus VHD está presente y tiene posibilidades de persistir en la nueva población. De lo contrario se originaría un núcleo poblacional indemne y con elevada densidad, que en el momento que el virus

volviese a ser introducido, sufriría una mortalidad y una reducción poblacional similares a la primera epizootía.

Las ventajas de las reintroducciones como herramienta para la recuperación de las poblaciones de esta especie son considerables respecto al control de predadores o la inmunización. El proceso de recuperación es más rápido, ya que la densidad poblacional aumenta instantáneamente, y no está tan expuesto a la acción de factores ambientales negativos de carácter puntual (sequía, incremento de la predación, etc.), como lo está cuando la recuperación se basa en la realización de campañas de vacunación o el control de las poblaciones de predadores, ya que en este caso el tiempo de actuación necesario es más prolongado. También, el esfuerzo necesario para las reintroducciones es relativamente menor y sobre todo su aplicación no es tan agresiva con el ecosistema como podría ser la realización de un intensivo y prologando control de predadores, ya que si éste adolece de una falta de selectividad puede acabar reduciendo drásticamente la biodiversidad ecológica.

CONCLUSIONES

6-CONCLUSIONES

La realización del presente trabajo nos ha permitido obtener las siguientes conclusiones:

1.- La mixomatosis tuvo una presentación enzoótica, con incrementos de su incidencia relacionados con la incorporación a la población de conejos susceptibles durante los períodos de reproducción.

2.- El perfil serológico de esta enfermedad en los conejos adultos se caracterizó por una prevalencia de anticuerpos próxima al 100% y unos valores elevados del índice relativo de inmunidad durante todo el estudio. En los conejos jóvenes los valores menores de prevalencia e índice relativo de inmunidad tuvieron lugar durante el período enero-abril de cada año, para aumentar rápidamente, hasta alcanzar el nivel de inmunidad de los adultos en septiembre-diciembre.

3.- La VHD cursó también de forma enzoótica, con incrementos de su incidencia asociados al reclutamiento de conejos susceptibles durante los períodos reproductivos.

4.- El perfil serológico de la VHD se caracterizó por un notable incremento de la prevalencia de anticuerpos y del índice relativo de inmunidad para ambas clases de edad hacia el final del estudio, en correspondencia a un aumento de la mortalidad por esta enfermedad en la población. Los niveles de inmunidad de los conejos jóvenes fueron máximos después de los brotes anuales de VHD, para después disminuir progresivamente hasta el brote de enfermedad del siguiente año. Su nivel de inmunidad fue siempre menor que el de los adultos, por lo que la mortalidad por VHD entre los conejos adultos nacidos en el año fue siempre superior a la de los adultos de mas edad.

5.- El estudio no ha detectado una supervivencia mayor para aquellos conejos adultos con anticuerpos frente a VHD.

6.- La tasa de mortalidad producida por el virus VHD en los conejos adultos infectados se estimó alrededor de un 80%, lo que supone que el virus siguió presentando un elevado poder patógeno cinco años después de detectarse por primera vez la enfermedad en la población.

7.- La vacunación frente a VHD y mixomatosis redujo la mortalidad para las clases de edad estudiadas; entre los adultos esta reducción fue debida exclusivamente a la inmunización frente a VHD.

8.- El modelo matemático desarrollado para la Enfermedad Hemorrágica sugiere que su patrón epidemiológico está determinado básicamente por la tasa de contacto entre los conejos y la resistencia a la enfermedad de los más jóvenes, independientemente de la naturaleza de ésta.

El incremento de la tasa de contacto conlleva la disminución de la edad media a la cual los conejos son infectados por primera vez. La aproximación de ésta a la edad, por debajo de la cual aumenta la resistencia de los conejos a la enfermedad, supone alcanzar un punto de inflexión en su epidemiología, a partir del cual la mortalidad producida por la VHD sobre el total de la población disminuye conforme aumenta la tasa de contacto. Esto implica que, a pesar del elevado poder patógeno del virus, es posible la existencia de poblaciones densas que muestran una elevada prevalencia de anticuerpos.

9.- Siguiendo el primer y segundo modelo de predación descrito por Pech y cols. (1995), aquellas poblaciones de conejos que no tienen posibilidad de superar el punto de inflexión de la mortalidad por VHD, el impacto de esta enfermedad implica el establecimiento de un único punto de equilibrio a bajas densidades poblacionales, mientras que, en aquellas poblaciones en las que es posible superar este punto de inflexión, el impacto de la VHD favorece la aparición del fenómeno del pozo de la predación, o el aumento del intervalo de densidad poblacional para el cual tiene lugar.

10.- Las actuaciones orientadas a la recuperación de las poblaciones de esta especie deben ir dirigidas a aumentar la tasa de contacto entre los conejos, con el fin de disminuir el impacto de la VHD. El efecto logrado por las campañas de inmunización frente a esta enfermedad o por el control de la predación, es parcialmente contrarrestado, respectivamente, por un incremento de la predación o por un aumento de la mortalidad por VHD, por lo que la eficacia es mayor con la aplicación simultánea de ambas medidas de gestión.

11.- Las repoblaciones son la herramienta más rápida para la recuperación de una población, debido al incremento instantáneo de la densidad poblacional y por tanto de la tasa de contacto.

RESUMEN

7-RESUMEN

El conejo silvestre es uno de los vertebrados más importantes de los ecosistemas mediterráneos, y una de las especies cinegéticas que mayores rentas producen en número de ejemplares cazados. De su abundancia dependen numerosas especies de predadores, algunas de ellas en peligro de extinción.

En 1988 fue diagnosticada por primera vez en España (Arguello y cols. 1988) la Enfermedad Hemorrágica del conejo, también denominada VHD, producida por un calicivirus y caracterizada por su elevada mortalidad. En dos años la enfermedad se extendió por las poblaciones de conejo silvestre de todo el país, provocando la extinción y rarefacción de números núcleos poblacionales de la especie. Los efectos de la enfermedad perduran en la actualidad, si bien el escaso conocimiento de su epidemiología en el conejo silvestre dificulta la puesta en práctica de herramientas de gestión adecuadas para la recuperación de la especie.

Los objetivos del presente estudio han sido: estudio de la epidemiología de VHD y mixomatosis en una población de conejos silvestres del Valle Medio del Ebro; valoración de la eficacia en campo de la vacunación frente a ambas enfermedades; desarrollo de un modelo matemático de la VHD con el fin de profundizar en el conocimiento de su epidemiología y valorar el efecto de diferentes herramientas de gestión, como son el aprovechamiento cinegético, el control de predadores y la inmunización frente a mixomatosis y VHD, dirigidas a la recuperación de la especie.

El estudio se prolongó desde finales de 1991 hasta mediados de 1996. La metodología empleada para el estudio en campo se ha basado principalmente en la captura y radiomarcaje de ejemplares de conejo silvestre. De los animales capturados se registraron diferentes parámetros de interés para la caracterización de la fenología reproductiva de la población así como se extrajo una muestra de suero sanguíneo para la determinación del perfil serológico frente a mixomatosis y VHD.

El modelo matemático es de tipo determinista y se ha desarrollado mediante diagrama de flujos. El modelo recoge los principales parámetros de la biología del conejo silvestre y de la epidemiología de la VHD.

Los resultados obtenidos indican que la mixomatosis es una enfermedad enzoótica que presenta aumentos anuales de la incidencia relacionados con la reproducción del conejo, como consecuencia del reclutamiento de animales jóvenes susceptibles a la

enfermedad. Su perfil serológico se ha caracterizado para los conejos adultos por unos niveles de inmunidad elevados durante todo el estudio, con prevalencias cercanas al 100%, mientras que los jóvenes presentaron el menor nivel de inmunidad durante el período enero-abril de cada año, para después, como consecuencia del brote anual de mixomatosis, aumentar rápidamente hasta alcanzar niveles similares a los de los adultos durante ese mismo año. La mortalidad producida por esta enfermedad en la población no ha podido ser estimada debido a su solapamiento por otros factores de mortalidad como la predación.

La VHD, por su parte, también tuvo una presentación enzoótica, con pulsos endémicos asociados a la reproducción del conejo. El comienzo de estos pulsos tuvo lugar con antelación a los de mixomatosis, remitiendo también antes que los de esta enfermedad. El perfil serológico de la VHD en los conejos adultos se caracterizó por unos niveles de inmunidad inferiores a los de mixomatosis al comienzo del estudio, para después incrementarse en 1995 y 1996 hasta alcanzar prevalencias cercanas al 100%. En los conejos jóvenes los mayores niveles de inmunidad tuvieron lugar después del brote anual de enfermedad, a comienzos de año, para después disminuir progresivamente, de tal manera que al comienzo del período reproductor los conejos adultos nacidos la temporada anterior presentaron unos niveles de inmunidad inferiores a los adultos de mayor edad y por tanto una mortalidad superior por VHD.

Los niveles de inmunidad para la VHD aumentaron debido a un incremento de la incidencia de la enfermedad, producido a su vez por un aumento de la densidad poblacional. La mortalidad producida en la población estuvo condicionada por las variaciones en los niveles de inmunidad y la morbilidad, si bien la mortalidad producida por el virus entre los conejos susceptibles infectados fue estimada en un 80%. La tasa total de mortalidad entre los conejos adultos seropositivos frente a VHD no fue significativamente diferente de la de los conejos seronegativos.

El análisis del modelo matemático de la VHD sugiere que cualitativamente el patrón epidemiológico está caracterizado por la resistencia a la enfermedad de las clases de edad más jóvenes, independientemente de la naturaleza de esta resistencia (inherente a la edad o adquirida por vía maternal), y que su impacto viene determinado por la tasa de contacto entre los conejos. Conforme ésta aumenta, la tasa de mortalidad por VHD se incrementa, al infectar el virus un mayor número de conejos. No obstante, este aumento de la incidencia conlleva una disminución de la edad media de infección; conforme ésta se va reduciendo la proporción de conejos que son infectados a edades en las que todavía son resistentes a la enfermedad aumenta, existiendo un valor de la edad media de infección por debajo del cual la mortalidad producida por la VHD sobre el total de la población invierte su tendencia, y disminuye conforme aumenta la tasa de contacto.

Los resultados del modelo implican que a pesar de la elevada mortalidad del virus es posible la existencia de poblaciones de conejos con gran densidad (elevada tasa de contacto) y caracterizadas por una elevada prevalencia de anticuerpos y reducida mortalidad por VHD.

Referente a las herramientas de gestión, la vacunación en campo frente a VHD y mixomatosis ha supuesto la reducción significativa de las tasas de mortalidad. Según el modelo, la eficacia de la aplicación de campañas de vacunación en campo es parcialmente contrarrestada por el incremento de la predación, mientras que la eficacia del control de predadores es a su vez parcialmente contrarrestada por un incremento de la mortalidad por VHD, por lo que para obtener el mayor rendimiento es necesaria la aplicación simultánea de ambas medidas. No obstante, la gestión para la recuperación de la especie debe estar orientada a incrementar la tasa de contacto entre los conejos, lo que significa aumentar la densidad poblacional. En este sentido la herramienta de gestión más eficaz parece ser la realización de repoblaciones, ya que elevan instantáneamente la tasa de contacto entre los conejos, haciendo menos vulnerable el proceso de recuperación ante las posibles variaciones de entorno.

Con la VHD presente de forma enzoótica en las poblaciones de conejo silvestre el aprovechamiento cinegético debe ser conservador, siendo mayor el impacto negativo cuando se practica durante la época de reproducción del conejo que en el período previo a ésta.

BIBLIOGRAFIA

8-BIBLIOGRAFIA

- ABRAMS, P.; MATSUDA, H. (1993) -Effects of adaptative predatory and anti-predator behaviour in a two-prey-predator system. *Evolutionary Ecology*, 7:312-326.
- ALBONETTI, M.E.; FARABOLLINI, F.; DESSI-FULGHERI, F. (1988) -The acquisition of social dominance in female rabbits. *Monitore Zool. Ital. (N.S.)*, 22: 465-476.
- ANDERSON, R.M. (1978) -The regulation of host population growth by parasitic species. *Parasitology*, 76:119-157.
- ANDERSON, R.M. (1979) -Parasite pathogenicity and the depression of host population equilibria. *Nature*, 279:150-152.
- ANDERSON, R.M. (1992) -Spread and persistence of infectious diseases within mammal populations. *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 12:175-179.
- ANDERSON, R.M.; GRENFELL, B.T.; MAY, R.M. (1984) -Oscillatory fluctuations in the incidence of infectious disease and the impact of vaccination: time series analysis. *Journal Hygiene*, 93:587-608.
- ANDERSON, R.M.; JACKSON, H.C.; MAY, R.M.; SMITH, A.M. (1981) -Population dynamics of fox rabies in Europe. *Nature*, 289:765-771.
- ANDERSON, R.M.; MAY, R.M. (1978) -Regulation and stability of host-parasite population interactions. I. Regulatory processes. *Journal of Animal Ecology*, 47:219-247.
- ANDERSON, R.M.; MAY, R.M. (1979) -Population biology of infectious diseases: Part I. *Nature*, 280:361-367.
- ANDERSON, R.M.; MAY, R.M. (1982a) -Coevolution of hosts and parasites. *Parasitology*, 85:411-426.
- ANDERSON, R.M.; MAY, R.M. (1982b) -Directly transmitted infectious diseases: Control by vaccination. *Science*, 215:1053-1060.
- ANDERSON, R.M.; MAY, R.M. (1983) -Vaccination against rubella and measles: quantitative investigations of different policies. *Journal of Hygiene*, 90:259-325.
- ANDERSON, R.M.; MAY, R.M. (1985) -Age-related changes in the rate of disease transmission: implications for the design of vaccination programmes. *Journal of Hygiene*, 94:365-436.
- ANDERSSON, M.; BORG, B.; MEURLING, P. (1979) -Biology of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, in Southern Sweden. II.- Modifications in the onset of breeding, in relation to weather conditions. *Swedish Wildlife Research*, 11:129-137.
- ANDERSSON, M.; DAHLBACK, M.; MEURLING, P. (1979) -Biology of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, in Southern Sweden. I.- Breeding season. *Swedish Wildlife Research*, 11:103-127.
-

- ANDREWES, C.H.; MUIRHEAD-THOMSON, R.C.; STEVENSON, J.P. (1956) - Laboratory studies of *Anopheles atroparvus* in relation to myxomatosis. *Journal of Hygiene*, 54:478-486.
- ANDREWES, C.H.; THOPSON, H.V.; MANSI, W. (1959) -Myxomatosis: present position and future prospects in Great Britain. *Nature*, 184:1179-1180.
- ARAGAO, H.B. (1927) -Myxoma of rabbits. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro)*, 20:225-247.
- ARAGAO, H.B. (1943) -O virus do coelho do mato, *Sylvilagus minensis* sua transmisao pelos *Aedes scapularis* e *aegypti*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro)*, 38:93-99.
- ARGUELLO, J.L. (1986) -Contribución a la profilaxis de la mixomatosis del conejo mediante el uso de una cepa homóloga. *Medicina Veterinaria*, 3:91-103.
- ARGUELLO, J.L. (1991) -La enfermedad hemorrágica viral del conejo: vacunación y respuesta inmunológica. *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 10:459-467.
- ARGUELLO, J.L.; LLANOS, A.; PEREZ, L.I. (1988) -Enfermedad vírica hemorrágica del conejo en España. *Medicina Veterinaria*, 5:645-650.
- ARGUELLO, J.L.; LLANOS, A.; PEREZ, L.I. (1989) -Contribución al estudio de la enfermedad vírica hemorrágica del conejo. *Información Veterinaria*, 85:29-32.
- ARMOUR, C.J.; THOMPSON, H.V. (1955) -Spread of myxomatosis in the first outbreak in Great Britain. *The Annals of Applied Biology*, 43:511-518.
- ARTHUR, C.P. (1989) -A propos du vaccin espagnol contre la myxomatose. *B.M. Office National Chasse*, 12:132.
- ARTHUR, C.P. (1989) -Avenir des moyens de lutte contre la myxomatose. *B.M. Office National Chasse*, 34:15-16.
- ARTHUR, C.P. (1989) -La vaccination des lapins de garenne en nature à l'aide des puces. *B.M. Office National Chasse*, 133:35-40.
- ARTHUR, C.P.; LOUZIS, C. (1988) -Myxomatose du lapin en France: une revue. *Revue Scientifique et Technique. O.I.E.*, 7:939-957.
- ARTOIS, M. (1992) -Epidemiology of contagious diseases, ecology of mammals, health, management and conservation biology: concluding remarks. *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 12:203-219.
- BACON, P.J.; MACDONALD, D.W. (1980) -To control rabies: vaccinate foxes. *New Scientist*, 87:640-645.

- BARNES, R.F.W.; TAPPER, S.C. (1986) -Consequences of the myxomatosis epidemic in Britain's rabbit (*Oryctolagus cuniculus* L.) population on the numbers of brown hares (*Lepus europaeus* Pallas). *Mammalogy Review*, 16:111-116.
- BART, J.; ROBSON, D.S. (1982) -Estimating survivorship when the subjects are visited periodically. *Ecology*, 63:1078-1090.
- BELL, D.J.; WEBB, N.J. (1991) -Effects of climate on reproduction in the european rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Zoology, London.*, 224:639-648.
- BERNINGER, M.L.; HOUSE, C. (1995) -Serologic comparison of four isolates of rabbit hemorrhagic disease virus. *Veterinary microbiology*, 47:157-165.
- BERTAGNOLI, S.; GELFI, J.; LE GALL, G.; BOILLETOT, E.; VAUTHEROT, J.F.; RASSCHAERT, D.; LAURENT, S.; PETIT, F.; BOUCRAUT, C.; MILON, A. (1996a) -Protection against myxomatosis and rabbit viral hemorrhagic disease recombinant myxoma viruses expressing rabbit hemorrhagic disease virus capsid protein. *Journal of Virology*, 70:5061-5066.
- BERTAGNOLI, S.; GELFI, J.; PETIT, F.; VAUTHEROT, J.F.; RASSCHAERT, D.; LAURENT, S.; LE GALL, E.; BOILLETOT, E.; CHANTAL, J.; BOUCRAUT, C. (1996b) -Protection of rabbits against rabbit viral haemorrhagic disease with a vaccinia-RHDV recombinant virus. *Vaccine*, 14:506-510.
- BETAGNOLI, S.; BELFI, J.; PETIT, F.; CHANTAL, J.; BOUCRAUT-BARALON, C. (1994) -Construction of a recombinant myxoma-RVHD virus. *10th Int. Conf. Poxviruses and Iridoviruses*. Alberta, Canadá.
- BLANCO, J.C.; VILLAFUERTE, R. (1994) -Factores ecologicos que influyen sobre las poblaciones de conejos. Incidencia de la enfermedad hemorrágica. Informe técnico. *Empresa de Transformación Agraria*, 137 pp.
- BLOCK, W.; UPTON, C.; McFADDEN, G. (1985) -Tumorigenic poxviruses: genomic organisation of malignant rabbit virus, a recombinant between Shope fibroma virus and myxoma virus. *Virology*, 140:113-124.
- BOAG, D.A. (1972) -Effect of radio packages on behaviour of captive red grouse. *Journal of Wildlife Management*, 36(2):511-518.
- BOAG, B. (1987) -Reduction in numbers of the wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) due to changes in agricultural practices and land use. *Crop Protection*, 6:347-351.
- BOAG, B. (1988) -Observations on the seasonal incidence of myxomatosis and its interactions with helminth parasites in the european rabbit (*Oryctolagus cuniculus*), *Journal of Wildlife Diseases*, 24:450-455.
- BOAG, B.; KOLB, H.H. (1989) -Influence of host age and sex on nematode populations in the wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus* L.). *Proceedings Helminthology Society, Washington*, 56:116-119.

- BORG, B.; ANDERSSON, M.; MEURLING, P. (1978) -Biology of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, in Southern Sweden. III.- Histology of the uterus in the non-breeding season. *Acta Zool. (Stockh.)*, 59:253-260.
- BOUVIER, G. (1954) -Quelques remarques sur la myxomatose. *Bulletin de l'Office International des Epizooties*, 46:76-77.
- BOYD, I.J.; MYHILL, D.G. (1987) -Seasonal changes in condition, reproduction and fecundity in the wild european rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Zoology*, 212:223-233.
- BOYD, I.L. (1986) -Photoperiodic regulation of seasonal testicular regression in the wild european rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Reproduction and Fertility*, 77:463-470.
- BOYD, I.L. (1985) -Investment in growth by pregnant wild rabbits in relation to litter size and sex of the offspring. *Journal of Animal Ecology*, 54:137-147.
- BREMERMANN, H.J. (1983) -A game-theoretical model of parasite virulence. *Journal of Theoretical Biology*, 100:411-426.
- BROTHERS, N.P.; EBERHARD, I.E.; COPSON, G.R.; SKIRA, I.J. (1982) -Control of rabbits on Macquarie island by myxomatosis. *Australian Wildlife Research*, 9:477-487.
- BRUN, A.; GODARD, A.; MOREAU, Y. (1981a) -La vaccination contre la myxomatose: vaccins heterologues et homologues. *Bulletin de la Societe des Sciences Veterinaires et de Medecine Comparee de Lyon*, 83:251-254.
- BRUN, A.; SAURAT, P.; GILBERT, Y.; GODARD, A. (1981b) -Donnés actuelles sur l'épidémiologie, la pathogénie et la symptomatologie de la myxomatose. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 132:585-590.
- BULTS, H.G.; BRANDON, M.R. (1982) -An immunological method to determine antigenic variation in three strains of myxoma virus. *Journal of Virological Methods*, 5:21-26.
- BULL, L.B.; MULES, M.W. (1944) -An investigation of Myxomatosis cuniculi with special reference to the possible use of the disease to control rabbit populations in Australia. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research of Australia*, 17:79-93.
- CALVETE, C.; VILLAFUERTE, R.; LUCIENTES, J.; OSACAR, J. (1997) -Effectiveness of traditional wild rabbit restocking in Spain. *Journal of Zoology*, 241:271-277.
- CANAVOS, G.C. (1993) -Probabilidad y estadística. Aplicaciones y métodos. Ed. McGraw Hill. México. 651pp.
- CANCELLOTTI, F.; COLIN, M.; PRIGENT, A.Y. (1990) -Compte rendu du seminaire sur la maladie hemorrhagique virale du lapin, *Cuni-Sciences*, 6:1-11.

- CANCELLOTTI, F.M.; RENZI, M. (1991) -Epidemiology and current situation of viral haemorrhagic disease of rabbits and the european brown hare syndrome in Italy. *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 10(2):409-418.
- CAPUCCI, L.; CHASEY, D.; LAVAZZA, A.; WESCOTT, D. (1996) -Preliminary characterization of a non-haemagglutinating strain of rabbit haemorrhagic disease virus from the United Kingdom. *Journal of Veterinary Medicine*, 43:245-250.
- CAPUCCI, L.; FUSI, P.; LAVAZZA, A.; LODOVICA, M.; ROSSI, C. (1996) -Detection and preliminary characterization of a new rabbit calicivirus related to rabbit hemorrhagic disease virus but nonpathogenic. *Journal of Virology*, 70:8614-8623.
- CAPUCCI, L.; SCICLUNA, M.T.; LAVAZZA, A. (1991) -Diagnosis of viral haemorrhagic disease of rabbits and the european brown hare syndrome. *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 10(2):347-364.
- CATLING, P.C. (1988) -Similarities and contrasts in the diets of foxes, *Vulpes vulpes*, and cats, *Felis catus*, relative to fluctuating prey populations and drought. *Australian Wildlife Research*, 15:307-317.
- CAUGHLEY, G. (1965) -Mortality patterns in mammals. *Ecology*, 47(6):906-918.
- CEBALLOS, O.; FERNANDEZ, C.; URMENETA, A. (1990) -Repercusión de la parvovirus sobre el conejo y las poblaciones de buho real, alimoche, aguililla real y aguililla perdicera. *Servicio de Medio Ambiente, Gobierno de Navarra, Pamplona*, Informe técnico, 180pp.
- CLARKE, N.; LAMB DEN, P.R. (1997) -The molecular biology of caliciviruses. *Journal of General Virology*, 78:291-301.

- COLLINS, B.J.; WHITE, J.R.; LENGHAUS, C.; MORRISSY, C.J.; WESTBURY, H.A. (1996) -Presence of rabbit haemorrhagic disease virus antigen in rabbit tissues as revealed by a monoclonal antibody dependent capture ELISA. *Journal of Virological Methods*, 58:145-154.
- CONOVER, W.J.; IMAN, R.L. (1981) -Rank transformations as a bridge between parametric and nonparametric statistics. *The American Statistician*, 35(3):124-129.
- COOKE, B.D. (1982a) -A shortage of water in natural pastures as a factor limiting a population of rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.), in Arid, North-Eastern Australia. *Australian Wildlife Research*, 9:465-476.
- COOKE, B.D. (1982b) -Reduction of food intake and other physiological responses to a restriction of drinking water in captive wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.). *Australian Wildlife Research*, 9:247-252.
- COOKE, B.D. (1983) -Changes in the age-structure and size of populations of wild rabbits in South Australia, following the introduction of european rabbit fleas, *Spilopsyllus cuniculi* (dale), as vectors of Myxomatosis. *Australian Wildlife Research*, 10:105-120.
- COOKE, B.D. (1994) -Rabbit haemorrhagic disease in wild rabbits. Animal and plant control commission. Informe inédito, 16pp.
- COOKE, B.D. (1996) -Field epidemiology of rabbit Calicivirus Disease in Australia. *ESVV Symposium on caliciviruses, 15-17 Septiembre. Universidad de Reading. U.K.*
- COOKE, B.D. (1997) -Epidemiology of RHD. CSIRO, Wildlife and Ecology. Informe inédito, 8pp.
- COWAN, D.P. (1987c) -Group living in the european rabbit (*Oryctolagus cuniculus*): mutual benefit or resource localization. *Journal of Animal Ecology*, 56:779-795.
- COWAN, D.P. (1987b) -Patterns of mortality in a free-living rabbit population. *Symposium of Zoological Society of London*, 58:59-77.
- COWAN, D.P. (1987a) -Aspects of the social organisation of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Ethology*, 75:197-210.
- CHANTAL, J.; CLIQUET, F.; BARRAL, D.; MILWARD, F.; GUILLOT, A.; SAGNE, A.; BERTAGNOLI, S.; BOUCRAUT, C. (1997) -Vaccination du lapin par voie orale. Essais préliminaires utilisant le vaccin recombinant Vaccine-Rage. *Revue Médecine Veterinaire*, 148:117-122.
- CHAPPLE, P.J.; LEWIS, N.D. (1965) -Mixomatosis and the rabbit flea. *Nature*, 207:388-389.
- CHASEY, D. (1994) -Possible origin of rabbit haemorrhagic disease in the United Kingdom. *The Veterinary Record*, 135(21):496-499.

- CHASEY, D. (1997) -Rabbit Haemorrhagic disease: the new scourge of *Oryctolagus cuniculus*. *Laboratory Animal (London)*, 31(1):33-44.
- CHASEY, D.; LUCAS, M.H.; WESTCOTT, D.G.; SHARP, G.; KITCHING, A.; HUGHES, S.K. (1995) -Development of a diagnostic approach to the identification of rabbit haemorrhagic disease. *The Veterinary Record*, 137 (August 12):158-160.
- CHASEY, D.; TROUT, R.C. (1995) -Rabbit haemorrhagic disease in Britain. *Mammalia*, 59:599-603.

- CHASEY, D.; TROUT, R.C.; EDWARDS, S. (1997) -Susceptibility of wild rabbits in the United Kingdom to rabbit haemorrhagic disease (RHD). *Veterinary Research*, 28:271-276.
- CHEN, K.Y.(1986) -Rabbit plague, *Infectious Diseases in Domestic Animals*, 3:53-55.
- DAHLBACK, M.; ANDERSSON, M. (1981) -Biology of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, in Southern Sweden. V.- Seasonal variation of weight of the anal and inguinal glands. *Z. Säugetierkunde*, 46:280-283.
- DALY, J.C. (1980) -Age, sex and season: factors which determine the trap response of the european wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. *Australian Wildlife Research*, 7:421-432.
- DALY, J.C. (1981) -Effects of social organization and enviromental diversity on determining the genetic structure of a population of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. *Evolution*, 35(4):689-706.
- DARWIN, J.H.; WILLIAMS, R.M. (1964) -The effect of time of hunting on the size of a rabbit population. *New Zealand Journal of Science*, 7:341-352.
- DAVID, F.N.; BARTON, D.E. (1966) -Two space-time interaction tests for epidemicity. *Brit. J. prev. soc. Med.*, 20:44-48.
- DAVIS, D.E. (1970) -Evaluation of technics for measuring mortality. *Journal of Wildlife Diseases*, 6:365-375.
- DELIBES, M.; CALDERON, J. (1979) -Datos sobre la reproducción del conejo, *Oryctolagus cuniculus* (L.), en Doñana, S.O. de España, durante un año seco. *Doñana, Acta Vertebrata*, 6(1):91-99.
- DELIBES, M.; HIRALDO, F. (1979) -The rabbit as prey in the iberian mediterranean ecosystem. *Proc. of the World Lagomorph Conference*, 614-620.
- DI MODUGNO, G.; NASTI, R. (1990) -La malattia emorragica virale in Publia. Contributo sperimentale. *Rivista di Coniglicoltura*, 27:25-32.
- DOBSON, A.; HUDSON, P. (1994) -The interaction between the parasites and predators of Red Grouse *Lagopus lagopus scoticus*. *Ibis*, 137:87-96.
- DONALDSON, A.I.; GLOSTER, J.; HARVEY, D.J.; HEANS, D.H. (1982) -Use of prediction models to forecast and analyse airborne spread during the foot-and-mouth disease outbreaks in Brittany, Jersey and the Isle of Wight in 1981. *The Veterinary Record*, 16 January:53-57.
- DONAZAR, J.A.; CEBALLOS, O. (1989) -Selective predation by eagle owls *Bubo bubo* on rabbits *Oryctolagus cuniculus*: age and sex preferences. *Ornis Scandinavica*, 20:117-122.
- DU, N.X. (1991) -Molecular biology of the viral haemorrhagic disease virus of rabbits. *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 10(2):325-333.

DU, N.; XU, W.; LIU, S. (1986) -A preliminary report on the identification of a new virus-rabbit haemorrhagic disease virus. *Chinese Journal of Virology*, 2:146-151.

DUDZINSKI, M.L.; MYKYTOWYCZ, R. (1963) -Relationship between sex and age of rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.) and infection with nematodes *Trichostrongylus retortaeformis* and *Graphidium strigosum*. *Journal of Parasitology*, 49(1):55-59.

- DUFF, J.P.; CHASEY, D.; MUNRO, R.; WOOLDRIDGE, M. (1994) -European brown hare syndrome in England. *The Veterinary Record*, 134(26):669-673.
- DUGAST, F. (1995) -Etude de la prevalence serologique de la maladie hemorrhagique virale dans une population de lapins de garenne. *Tesis Doctoral, Faculté de Médecine de Nantes*, 68pp.
- DUNSMORE, J.D. (1974) -The rabbit in subalpine South-eastern Australia. I.- Population structure and productivity. *Australian Wildlife Research*, 1:1-16.
- DUNSMORE, J.D.; DUDZINSKI, M.L. (1968) -Relationship of numbers of nematode parasites in wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.), to host sex, age and season. *Journal of Parasitology*, 54(3):462-474.
- DUNSMORE, J.D.; PRICE, W.J.(1972) -A non-winter epizootic of myxomatosis in subalpine South-eastern Australia. *Australian Journal of Zoology*, 20:405-409.
- DUNSMORE, J.D.; WILLIAMS, R.T.; PRICE, W.J. (1971) -A winter epizootic of myxomatosis in subalpine South-eastern Australia. *Australian Journal of Zoology*, 19:275-286.
- DWYER, G.; LEVIN, S.A.; BUTTEL, L. (1990) -A simulation model of the population dynamics and evolution of myxomatosis. *Ecological Monographs.*, 60(4):423-447.
- EDMONDS, J.W.; NOLAN, I.F.; SHEPHERD, R.C.H.; GOCS, A. (1975) -Myxomatosis: the virulence of field strains of myxoma virus in a population of wild rabbits with high resistance to myxomatosis. *Journal of Hygiene*, 74:417-418.
- EISERMANN, K.; MEIER, B.; KHASCHEI, M.; HOLST, D. (1993) -Ethophysiological responses to overwinter food shortage in wild european rabbit. *Physiology & Behaviour*, 54:973-980.
- EWALD, P.W. (1983) -Host-parasite relations, vectors, and the evolution of disease severity. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 14:465-485.
- FENNER, F. (1953) -Changes in the mortality rate due to myxomatosis in the australian wild rabbit. *Nature*, 172 (August 8):228-230.
- FENNER, F. (1983) -Biological control, as exemplified by small-pox eradication and myxomatosis. *Proceedings of the Royal Society of London*, 218:259-285.
- FENNER, F. (1986) -Myxomatosis. In: *Pests and parasites as migrants*. Cambridge University Press, 147-151.
- FENNER, F.; CHAPPLE, P.J. (1965) -Evolutionary changes in myxoma viruses in Britain. An examination of 222 naturally occurring strains obtained from 80 counties during the period October-November 1962. *Journal of Hygiene*, 63:175-185.
- FENNER, F.; DAY, M.F.; WOODROOFE, G.M. (1952) -The mechanism of the transmission by myxomatosis in the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) by the

mosquito *Aedes aegypti*. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, 30:139-152.

FENNER, F.; DAY, M.F.; WOODROOFE, G.M. (1956) -Epidemiological consequences of the mechanical transmission of myxomatosis by mosquitoes. *Journal of Hygiene*, 54:284-303.

- FENNER, F.; MARSHALL, I.D. (1954) -Passive immunity in Myxomatosis of the European rabbit: The protection conferred on kittens born by immune does. *Journal of Hygiene*, 52(3):321-336.
- FENNER, F.; MARSHALL, I.D. (1957) -A comparison of the virulence of European rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) of strains of myxoma virus recovered in the field in Australia, Europe and America. *Journal of Hygiene*, 55:149-191.
- FENNER, F.; MYERS, K. (1978) -Myxoma virus and myxomatosis in retrospect: the first quarter century of a new disease. *Viruses and environment*, 539-570. Kurstak, E. & Maramorosch, K. (Eds). New York-London: Academic Press.
- FENNER, F.; RATCLIFFE, F.N. (1965) -Myxomatosis. *Cambridge University Press*.
- FENNER, F.; ROSS, J. (1994) -Myxomatosis: The European rabbit. *The history and biology of a successful colonizer*. Edited by: Thompson, H.V. & KING, C.M.:205-239
- FENNER, F.; WOODROOFE, G. (1952) -The mechanism of the transmission of myxomatosis in the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) by the mosquito *Aedes Aegypti*. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, 30:139-152.
- FENNER, F.; WOODROOFE, G.M. (1965) -Changes in the virulence and antigenic structure of strains of myxoma virus recovered from Australian wild rabbits between 1950 and 1964. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, 43:359-370.
- FENNER, F.; WOODROOFE, G.M. (1953) -The pathogenesis of infectious myxomatosis: The mechanism of infection and the immunological response in the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *British Journal of Experimental Pathology*, 34:400-411.
- FLOWERDEW, J.R.; TROUT, R.C.; ROSS, J. (1992) -Myxomatosis: population dynamics of rabbits and ecological effects in the United Kingdom. *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 11:1109-1112.
- FORAN, B.D.; LOW, W.A.; STRONG, B.W. (1985) -The response of rabbit populations and vegetation to rabbit control on a calcareous shrubby grassland in Central Australia. *Australian Wildlife Research*, 12:237-247.
- FROLICH, K.; MEYER, H.H.; PIELOWSKI, Z.; RONSHOLT, L.; LANZENDORF, S.; STOLTE, M. (1996) -European brown hare syndrome in free-ranging hares in Poland. *Journal of Wildlife Diseases*, 32(2):280-285.
- FUCHS, A.; WEISSENBOCK, H. (1992) -Comparative histopathological study of rabbit haemorrhagic disease (RHD) and European brown hare syndrome (EBHS). *Journal of Comparative Pathology*, 107:103-113.
- FULLAGAR, P.J. (1977) -Observations on myxomatosis in a rabbit population with immune adults. *Australian Wildlife Research*, 4:263-280.

- FULLAGAR, P.J. (1981) -Methods for studying the behaviour of rabbits in a 33-ha enclosure at Canberra and under national conditions at Calindary, N.S.W. *Proceedings of the World Lagomorph Conference* (1979):240-255.
- FULLER, H.E.; CHASEY, D.; LUCAS, M.H.; GIBBENS, J.C. (1993) -Rabbit haemorrhagic disease in the United Kingdom. *The Veterinary Record*, 18/25:611-613.

- GARSON, P.J. (1986) -Intraspecific influences on juvenile recruitment rate in rabbits: observational and experimental evidence from a study in coastal habitat. *Mammalogy Review*, 16:195-196.
- GAVIER-WIDEN, D.; MORNER, T. (1993) -Descriptive epizootiological study of european brown hare syndrome in Sweden. *Journal of Wildlife Diseases*, 29(1):15-20.
- GAVIER-WIDEN, D.; MORNER, T. (1991) -Epidemiology and diagnosis of the european brown hare syndrome in Scandinavian countries: a review. *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 10(2):453-456.
- GETTINBY, G.; McCLEAN, S.(1979) -A matrix formulation of the life-cycle of liver fluk. *Proceedings of the Royal Irish Academy*, 79 B:155-167.
- GIBB, J.A. (1993) -Sociality, time and space in a sparse population of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Zoology*, London, 229:581-607.
- GIBB, J.A. (1990) -The european rabbit *Oryctolagus cuniculus*. *Rabbits, hares and pikas*. J.A. Chapman & J.E.C. Flux (Eds.), 116-120.
- GIBB, J.A. (1979) Factors affecting population density in the wild rabbit and their relevance to small mammals. *Evolutionary Ecology*. Ed. Stonehouse & Perrins. Mc Millan, London, 33-46.
- GIBB, J.A.; WARD, G.D.; WARD, C.P. (1969) -An experiment in the control of a sparse population of wild rabbits in New Zealand. *New Zealand Journal of Science*, 12:509-534.
- GIBB, J.A.; WARD, G.D.; WARD, C.P. (1978) -Natural control of a population of rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.), for ten years in the Kourarau enclosure. *New Zealand DSIR Bulletin*, 223:
- GIBSON, T.E. (1978) -The Mt system for forecasting the prevalence of fascioliasis. Weather and parasitic animal disease. *World meteorological organization technical*, note. n°. 159:3-5.
- GILBERT, N.; MYERS, K.; COOKE, B.D.; DUNSMORE, J.D.; FULLAGAR, P.J.; GIBB, J.A.; KING, D.R.; PARER, I.; WHEELER, S.H.; WOOD, D.H. (1987) -Comparative dynamics of australasian rabbit populations. *Australian Wildlife Research*, 14:491-503.
- GILMER, D.S.; BALL, I.J.; COWARDIN. L.M.; RIECHMANN, J.H. (1974) -Effects of radio packages on wild ducks.*Journal of Wildlife Management*, 38(2):243-252.
- GONG, X.M.; JI, C.Y. (1991) -Systematic morphogenesis of the viral haemorrhagic disease of rabbits and in adapted cell culture. . *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 10(2):499-509.
- GOULD, A.R.; KATTENBELT, J.A.; LENGHAUS, C.; MORRISSY, C.; CHAMBERLAIN, T.; COLLINS, B.J.; WESTBURY, H.A. (1997) -The complete

nucleotide sequence of rabbit haemorrhagic disease virus (Czech strain V351): use of the polymerase chain reaction to detect replication in australian vertebrates and analysis of viral population sequence variation. *Virus Research*, 47:7-17.

GRAHAM, K.A.; OPGENORTH, A.; UPTON, C.; MCFADDEN, G. (1992) -Myxoma virus M11L ORF encodes a protein for which cell surface localization is critical in manifestation of viral virulence. *Virology*, 191:112-124.

- GRANZOW, H.; WEILAND, F.; STREBELOW, G.G.; LIU, C.M.; SCHIRRMIEIER, H. (1996) -Rabbit hemorrhagic disease virus (RHDV): ultrastructure and biochemical studies of typical and core-like particles present in liver homogenates. *Virus Research*, 41:163-172.
- GREGG, D.A.; HOUSE, C. (1989) -Necrotic hepatitis of rabbits in Mexico: a parvovirus. *Vet. Rec.*, 125:486-487.
- GREGG, D.A.; HOUSE, C.; MEYER, R.; BERNINGER, M. (1991) -Viral haemorrhagic disease of rabbits in Mexico: epidemiology and viral characterisation. *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 10(2):435-448.
- GRENFELL, B.T.; ANDERSON, R.M. (1985) -The estimation of age-related rates of infection from case notifications and serological data. *Journal of Hygiene*, 95:419-436.
- GU, Z.D.; WANG, X.X.; LI, Q.Z.; SUN, F.F. (1986) -An inactivated vaccine against haemorrhagic pneumonia in rabbits, *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 12:50-51.
- GUARDO, G. (1991) -Viral haemorrhagic disease of rabbits: a pathogenetic hypothesis. *Acta virologica*, 35:106.
- GUELFY, J.F.; GANIERE, J.P.; PLASSIAN, G.; ANDRE-FONTAINE, G.; DEBAILLEUL, M. (1993) -Modifications hématologiques observées dans la maladie hémorragique virale du lapin. *Recueil Médecine Veterinaire*, 169(2):93-99.
- GUILLOT, A.E.M. (1994) -Vaccination par voie orale du lapin de garenne *Oryctolagus cuniculus*. Essais du recombinant vaccine-rage et de différents types d'appâts. *Ecole Nationale Veterinaire de Toulouse*. Tesis Doctoral, 79pp.
- GUITTRE, C.; RUVOEN, N.; BARRAUD, L.; CHEREL, Y.; BAGINSKI, I.; PRAVE, M.; GANIERE, J.P.; TREPO, C.; COVA, L. (1996) -Early stages of rabbit haemorrhagic disease virus infection monitored by polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Medicine*, 43:109-118.
- GUNNING, R.F.; PROUD, A.J. (1994) -Rabbit haemorrhagic disease. *The Veterinary Record*, 29:123.
- HALL, L.S.; MYERS, K. (1978) -Variations in the microclimate in rabbit warrens in semi-arid New South Wales. *Australian Journal of Ecology*, 3:187-194.
- HASSELL, M.P.; ANDERSON, R.M. (1984) -Host susceptibility as a component in host-parasitoid systems. *Journal of Animal Ecology*, 53:611-621.
- HAYWARD, J.S. (1961) -The ability of the wild rabbit to survive conditions of water restriction. *CSIRO Wildlife Research*, 6:160-175.
- HEARD, H.K.; O'CONNOR, K.; STRAYER, D.S. (1990) -Molecular analysis of immunosuppression induced by viral replication in lymphocytes. *Journal of Immunology*, 144:3992-3999.

- HEISEY, D.M.; FULLER, T.K. (1985) -Evaluation of survival and cause-specific mortality rates using telemetry data. *Journal of Wildlife Management*, 49(3):668-674.
- HENDERSON, B.A. (1979) -Regulation of the size of the breeding population of the european rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, by social behaviour. *Journal of Applied Ecology*, 16:383-392.
- HEESTERBEEK, J.A.P., ROBERTS, M.G. (1995) - Mathematical models for microparasites of wildlife. In *Ecology of infectious diseases in natural populations* (1995). Ed. Grenfell, B.T. and Dobson, A.P. 90-122pp.
- HOLLING, C.S. (1959) -Some characteristics of simple types of predation and parasitism. *The Canadian Entomologist*, 91(7):385-398.
- HOUSEKNECHT, C.R. (1970) -Biotelemetry as a technique in disease ecology studies. *Journal of Wildlife Diseases*, 6:414-417.
- HUANG, H.B. (1991) -Vaccination against and immune response to viral haemorrhagic disease of rabbits: a review of research in the people's Republic of China. . *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 10(2):481-492.
- HUDSON, J.R.; THOMPSON, H.V.; MANSI, W. (1955) -Myxoma virus in Britain. *Nature*, 176:783.
- HUGHES, K.L.; FARAGHER, J.T. (1994) -Rabbit haemorrhagic disease virus: a calicivirus with differences. *Australian Veterinary Journal*, 71(8):264-266.
- JACOTOT, H.; VIRAT, B.; RECLARD, P.; VALEE, A. (1967) -Etude d'une souche atténuee du virus du myxome infectieux obtenue par passages en cultures cellulaires. *Annales de l'Institut Pasteur*, 113:221-237.
- JAKSIC, F.M.; JIMENEZ, J.E.; CASTRO, S.A.; FEINSINGER, P. (1992) -Numerical and functional response of predators to a long-term decline in mammalian prey at a semi-arid Neotropical site. *Oecologia*, 89:90-101.
- JAKSIC, F.M.; SORIGUER, R.C. (1981) -Predation upon the european rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in mediterranean habitats of Chile and Spain: a comparative analysis. *Journal of Animal Ecology*, 50:269-281.
- JI, C.Y.; DU, N.X.; XU, W.Y (1991) -Adaptation of the viral haemorrhagic disease virus of rabbits to the DJRK cell strain. . *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 10(2):337-342.
- JOUBERT, L.; BRUN, A. (1976) -Prophylaxie medicale a dessein cynegetique de la myxomatose des garennes. La fibromatisation auriculaire au Dermojet. *Bulletin de la Societe des Sciences Veterinaires de Medecine Comparee de Lyon.*, 78:101-107.
- JOUBERT, L.; CUCLOS, Ph.; TUAILLON, P. 1982) -La myxomatose des garennes dans le Sud-est. La myxomatose amyxomateuse. *Revue Medicine*, 133(12):739-753.

- KELLEY, K.W. (1980) -Stress and immune function: a bibliographic review. *Ann. Rech. Vet.*, 11(4):445-478.
- KERR, P.J. (1997) -An ELISA for epidemiological studies of myxomatosis: persistence of antibodies to myxoma virus in european rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Wildlife Research*, 24:53-65.
- KESSEL, J.F.; PROUTY, C.C.; MEYER, J.W. (1931) -Occurrence of infectious myxomatosis in southern California. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 28:413-414.
- KESY, A.; FITZNER, A.; NIEDBALSKI, W.; PAPROCKA, G.; WALKOWIAK, B. (1996) -A new variant of the viral haemorrhagic disease of rabbit virus. *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 15(3):1029-1035.
- KING, D.R.; OLIVER, J.A.; WHEELER, S.H. (1985) -The european rabbit flea, *Spilopsyllus cuniculi*, in South-western Australia. *Australian Wildlife Research*, 12:227-236.
- KING, D.R.; WHEELER, S.H. (1985) -The european rabbit in Southwestern Australia. I.- Study sites and population dynamics. *Australian Wildlife Research*, 12:183-196.
- KING, D.R.; WHEELER, S.H.; ROBINSON, M.H. (1984) -Daytime locations of european rabbits at three localities in South-western Australia. *Australian Wildlife Research*, 11:89-92.
- KNOX, E.G. (1964) -The detection of space-time interactions. *Applied Statistics*, 13:25-29.
- KOLB, H.H. (1985) -The burrow structure of the european rabbit (*Oryctolagus cuniculus* L.). *Journal of Zoology*, 206:253-262.
- KOLB, H.H. (1994) -The use of cover and burrows by a population of rabbits (Mammalia: *Oryctolagus cuniculus*) in eastern Scotland, *Journal of Zoology*, 233:9-17.
- KOLB, H.H. (1994) -Rabbit *Oryctolagus cuniculus* populations in Scotland since the introduction of myxomatosis. *Mammalogy Review*, 24:41-48.
- KOVACS, G.; OCSENYI, M. (1981) -Age structure and survival of a european hare population determined by periosteal growth lines. Preliminary study. *Acta Oecologica*, 2(3):241-245.
- KUNKELE, J.; VON HOLST, D. (1996) -Natal dispersal in the European wild rabbit. *Animal Behaviour*, 51:1047-1059.
- LAMARQUE, F.; BARRAT, J.; MOUTOU, F. (1996) -Principal diagnoses for determining causes of mortality in the european brown hare (*Lepus europaeus*) found dead in france between 1986 and 1994). *Gibier Faune Sauvage, Game Wild*, 13:53-72.

- LAUNAY, H. (1982) -Données préliminaires sur l'écologie de *Xenopsylla cunicularis* Smit, 1957 (Siphonaptera Pulicidae) parasite du lapin de garenne. *Annales de Parasitologie* (Paris), 57:145-163.
- LAUNAY, H. (1980) -Approche d'une prophylaxie de la myxomatose: écologie des puces du lapin de garenne. *Bull. mens. Off. Nation. Chasse.*, N°. sp. Scien. Tech.:213-241.
- LAUNAY, H.; CHAPUIS, J.L. (1984) -Contribution a la prophylaxie de la myxomatose: essai de lutte par insecticide contre un des vecteurs: *Spylopsyllus cuniculi* (Dale) (Siphonaptera: Pulicidae), puce spécifique du lapin de garenne. *Gibier Faune Sauvage*, 4:45-68.
- LAURENT, S.; VAUTHEROT, J.F.; MADELAINE. M.F.; LE GALL, G.; RASSCHAERT, D. (1994) -Recombinant rabbit hemorrhagic disease virus capsid protein expressed in baculovirus self-assembles into virus-like particles and induces protection. *Journal of Virology*, 68:6794-6798.
- LAVAZZA, A.; SCICLUNA, M.T.; CAPUCCI, L. (1996) -Susceptibility of Hares and Rabbits to the European Brown hare syndrome virus (EBHS) and rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV) under experimental conditions. *Journal of Veterinary Medicine B*, 43:401-410.

- LAVAZZA, A.; SCICLUNA, M.T.; CORRADINI, L.; POLI, A.; BARIGAZZI, G.; CAMMI, G.; CAPUCCI, L. (1990) -Diagnostic procedures for European Brown Hare Syndrome: application in epidemiological surveys in two Italian regions. *14th Conference of the OIE Regional Commission for Europe*, Sofia, 2-5 October, OIE Paris.
- LE GALL, G.; BOILLETOT, E.; MORISSE, J.P. (1992) -Viral haemorrhagic disease of rabbit: purification and characterization of a strain isolated in France. *Ann. Rech. Vet.*, 23:381-387.
- LE GALL, G.; HUGUET, S.; VENDE, P.; VAUTHEROT, J.F.; RASSCHAERT, D. (1996) -European brown hare syndrome virus: molecular cloning and sequencing of the genome. *Journal of General Virology*, 77:1693-1697.
- LE GAY BRERETON, J. (1953) -Initial spread of myxomatosis in Australia. *Nature*, 172:108-112.
- LEIGHTON, F.A.; ARTORIS, M.; CAPUCCI, L.; GAVIER-WIDEN, D.; MORISSE, J. (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*, 31:541-544.
- LENGHAUS, C. (1993) -Rabbit haemorrhagic disease assessing the potential of a new virus to control wild rabbits in Australia. *Australian Rabbit Control Conference*, Adelaide:18-22.
- LEON VIZCAINO, L.; COOKE, B.D. Recent research of viral haemorrhagic disease in wild rabbits in the Murcia region of South-eastern Spain. Informe inédito, 17pp.
- LEVIN, S.; PIMENTEL, D. (1981) -Selection of intermediate rates of increase in parasite-host systems. *The American Naturalist*, 117:308-315.
- LIN, Z.; TIANXIAN, L.; BAOYUN, S.; FULIN, S. (1992) -A new virus of rabbit. III.- Study on morphological superstructure and antigenicity of rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV). *Acta Microbiológica Sínica*, 32(5):359-363-
- LIU, S.J.; XUE, H.P.; PU, B.Q.; QIAN, N.H. (1984) -A new viral disease in rabbits. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 16:253-255.
- LOCKLEY, R.M. (1961) -Social structure and stress in the rabbit warren. *Journal of Animal Ecology*, 30:385-423.
- LOLIGER, CH.; ESKENS, U. (1991) -Incidence, epizootiology and control of viral haemorrhagic disease of rabbits and the european brown hare syndrome in Germany. *. Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 10(2):423-430.
- LÖLIGER, H.C.; MATTHES, S.; LIES, B. (1989) -Über das Auftreten einer infektiöse hämorrhagischen Erkrankung bei Hauskaninchen in der Bundesrepublik Deutschland. *Tierärztliche Umschau*, 44:22-25.

- LUTZ, W. (1992) -Etudes préliminaires du role des maladies et de la pollution de l'environnement sur la dynamique des populations de lapins de garenne dans l'Etat federe de Rhenanie-Westphalie (Allemagne). *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 12:27-32.
- LYLES, A.M.; DOBSON, A.P. (1993) -Infectious disease and intensive management: population dynamics, threatened hosts, and their parasites. *Journal of Zoology and Wildlife Medicine*, 24:315-326.

- LLOYD, H.G. (1963) -Intra-uterine mortality in the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* L., in populations of low density. *Journal of Animal Ecology*, 32:549-563.
- MANDELLI, G.; GALLAZZI, D.; GELMETTI, D.; LAVAZZA, A.; ABRAMO, F.; POLI, A. (1990) -European brown hare syndrome: anatomohistopathologic and negative staining electronmicroscopic studies. In *6th International Conference on Wildlife Diseases: abstracts of papers*, Berlin, 6-11 August, Wildlife Disease Association, Ames, Iowa.,44.
- MANTEL, N. (1967) -The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer research*, 27:209-220.
- MARCATO, P.S.; BENAZZI, C.; GALEOTTI, M.; DELLA SALDA, L. (1989) -L'epatite necrotica infettiva dei leporidi. Nuove ricerche sulla patogenesi della malattia emorragica del coniglio e della lepre. *Rivista di Coniglicoltura*, 26:41-50.
- MARCATO, P.S.; BENAZZI, C.; VECCHI, G.; DELLA SALDA, L.; SIMONI, P.; AIELLO, P.; TUMINO, G. (1988) -L'epatite necrotica infettiva del coniglio. Profilo patogenitico di una nuova malattia emorragica. *Rivista di coniglicoltura*, 25:59-64.
- MARCATO, P.S.; BENAZZI, C.; VECCHI, G.; GALEOTTI, M.; DELLA SALDA, L.; SARLI, G.; LUCIDI, P. (1991) -Clinical and pathological features of viral haemorrhagic disease of rabbits and the european brown syndrome. *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 10(2):371-388.
- MARCHANDEAU, S.; RICCI, J.C.; CHANTAL, J. (1998) -Taux de prevalence serologique du virus de la maladie virale hemorrhagique (VHD) du lapin de garenne (*Oryctolagus cuniculus*) et de ses formes apparentees au sein de differentes populations sauvages en France. *Mammalia*, 62(1):95-103.
- MARIN, M.S.; ALONSO, J.M.; PEREZ-ORDOYO, L.I.; BOGA, J.A.; ARGUELLO-VILLARES, J.L.; CASAIS, R.; VENUGOPAL, K.; JIANG, W.; GOULD, E.A.; PARRA, F. (1995) -Immunogenetic properties of rabbit haemorrhagic disease virus structural protein VP60 expressed by a recombinant baculovirus: an efficient vaccine. *Virus research*, 39:119-128.
- MARSHALL, I.D. (1959) -The influence of ambient temperature on the course of myxomatosis in rabbits. *Journal of Hygiene*, 57:484-497.
- MARSHALL, I.D.; DYCE, A.L.; POOLE, W.E.; FENNER, F. (1954) -Studies in the epidemiology of infectious myxomatosis of rabbits. IV.- Observations of disease behaviour in two localities near the northern limit of rabbit infestation in Australia, May 1.952 to april 1.953. *Journal of Hygiene*, 53:12-25.
- MAY, R.M. (1977) -Dynamical species of host-parasite associations: Crofton's model revisited. *Parasitology*, 75:259-276.
- MAY, R.M.; ANDERSON, R.M. (1978) -Regulation and stability of host-parasite population interactions. II. destabilizing processes. *Journal of Animal Ecology*, 47:249-267.

- MAY, R.M.; ANDERSON, R.M. (1979) -Population biology of infectious diseases: Part II. *Nature*, 280:455-461.
- MAY, R.M.; ANDERSON, R.M. (1983) -Epidemiology and genetics in the coevolution of parasites and hosts. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 219:281-313.
- MAY, R.M.; ANDERSON, R.M. (1984) -Spatial heterogeneity and the desing of immunization programs. *Mathematical Biosciences*, 72:83-111.
- MAY, R.M.; ANDERSON, R.M. (1985) -Endemic infections in growing populations. *Mathematical Biosciences*, 77:141-156.
- McCALLUM, H.I.; ANDERSON, R.M. (1984) -Systematic temporal changes in host susceptibility to infection: demographic mechanisms. *Parasitology*, 89:195-208.
- McFADDEN, G.; GRAHAM, K.; ELLISON, K.; BARRY, M.; MACEN, J.; SCHREIBER, M.; MOSSMAN, K.; NASH, P.; LALANI, A.; EVERETT, H. (1995) - Interruption of cytokine networks by poxviruses: lessons from myxoma virus. *Journal of leukocyte biology*, 57:731-739.
- MEAD-BRIGGS, A.R. (1964) -Some experiments concerning the interchange of rabbit fleas, *Spilopsyllus cuniculi* (Dale), between living rabbit hosts. *Journal of Animal Ecology*, 33:13-26.
- MEAD-BRIGGS, A.R.; VAUGHAN, J.A. (1975) -The differential transmissibility of myxoma virus strains of differing virulence grades by the rabbit flea *Spilopsyllus cuniculi* (Dale). *Journal of Hygiene.*, 75:237-247.
- MEAD-BRIGGS, A.R.; VAUGHAN, J.A. (1980) -The importance of the european rabbit flea *Spilopsyllus cuniculi* (Dale) in the evolution of myxomatosis in Britain. *FLEAS. Proceedings of the international conference on fleas*. Ashton wold /Peterborough /UK/ 21-25 june, 1977, Edited by: R. Traub & H. Starcke. Editorial A.A. Balkema/Rotterdam; 1980:309-313.
- MEAD-BRIGGS, A.R.; VAUGHAN, J.A.; RENNISON, B.D. (1975) -Seasonal variation in numbers of the rabbit flea on the wild rabbit. *Parasitology*, 70:103-118.
- MECH, L.D. (1967) -Telemetry as a technique in the study of predation. *Journal of Wildlife Management*, 31(3):493-497.
- MILTON, J.S.; TSOKOS, J.O. (1989) -Estadística para biología y ciencias de la salud. Ed. McGraw Hill. México. 527pp.
- MILTON, I.D.; VLASAK, R.; NOWOTNY, N.; RODAK, L.; CARTER, M.J. (1992) - Genomic 3' terminal sequence comparison of three isolates of rabbit haemorrhagic disease virus. *FEMS Microbiology Letters*, 93:37-42.
- MITRO, S.; KRAUSS, H. (1993) -Rabbit hemorrhagic disease: a review with special reference to its epizootiology. *European Journal of Epidemiology*, 9(1):70-78.

- MORISSE, J.P. (1989) -La maladie hémorragique virale du lapin (VHD). Etat des recherches et évolution de la maladie un an après son apparition en France. *L'éleveur des lapins*, 26:18-27.
- MORISSE, J.P.; LE GALL, G.; BOILLETOT, E. (1991) -Hepatitis of viral origine in leporidae: introduction and aetiological hypotheses. . *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 10(2):283-298.
- MORISSE, J.P.; PICAULT, J.P.; BOILLETOT, E.; MORIN, M. (1990) -Relations etiologiques entre le syndrome du lievre brun europeen (EBHS) et la maladie hemorragique virale du lapin (VHD). *Revue Medicine Veterinaire*, 141:463-467.
- MOSES, A. (1911) -O Virus do mixoma does coelhos. *Memorias do Instituto Oswaldo Crus (Rio de Janeiro)*, 3:46-53.

- MOSSMAN, K.; LEE, S.F.; BARRY, M.; BOSHKOV, L.; McFADDEN, G. (1996) - Disruption of M-T5, a novel myxoma virus gene member of the poxvirus host range superfamily, results in dramatic attenuation of myxomatosis in infected european rabbits. *Journal of Virology*, 70(7):4394-4410.
- MOSSMAN, K.; NATION, P.; MACEN, J.; GARBUTT, M.; LUCAS, A.; MCFADDEN, G. (1996) -Myxoma Virus M-17, a secreted homolog of the interferon- γ receptor, is a critical virulence factor for the development of myxomatosis in European rabbits. *Virology*, 215:17-30.
- MUGURUZA, R.; SIMON, M.C.; GIRONES, O.; MUZQUIZ, J.L.; GARCIA, J.; ORTEGA, C.; ALONSO, J.L. (1993) -Enfermedad vírica hemorrágica del conejo: determinación de la mínima dosis infectante en la reproducción experimental por las vías intramuscular y aerosol.. *Medicina Veterinaria*, 10(3):163-168.
- MUIRHEAD-THOMSON, R.C. (1956) -The part played by woodland mosquitoes of the genus *Aedes* in the transmission of myxomatosis in England. *Journal of Hygiene*, 54:461-471.
- MUÑOZ, G. (1960) -Anverso y reverso de la mixomatosis. *Dirección General de Montes, Caza y Pesca Fluvial.*, Madrid, 154pp.
- MURDOCH, W.W. (1970) -Population regulation and population inertia. *Ecology*, 51(3):497-502.
- MYERS, K. (1958) -Further observations on the use of field enclosures for the study of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.). *Wildlife Survey Section, C.S.I.R.O, Field Station*, Albury, N.S.W., 3:40-49.
- MYERS, K. (1958) -Further observations on the use of field enclosures for the study of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.). *CSIRO Wildlife Research*, 3:40-49.
- MYERS, K. (1967) -Morphological Changes in the Adrenal Glands of Wild rabbits. *Nature*, 14:147-150.
- MYERS, K. (1964) -Influence of density on fecundity, growth rates and mortality in the wild rabbit. *CSIRO Wildlife Research*, 3:40-48.
- MYERS, K.; BULTS, H.G. (1977) Observations on changes in the quality of food eaten by the wild rabbit. *Australian Journal of Ecology*, 2:215-229.
- MYERS, K.; GILBERT, N. (1968) -Determination of age of wild rabbit in Australia. *Journal of Wildlife Management*, 32(4):841-849.
- MYERS, K.; MARSHALL, I.D.; FENNER, F. (1954) -Studies in the epidemiology of infectious myxomatosis in rabbits. III.- Observations on two succeeding epizootics in australian wild rabbits on the riverine plain of south-eastern Australia 1.951-1.953. *Journal of Hygiene*, 52(3):337-360.

- MYERS, K. PARER, I.; WOOD, D. COOKE, B.D. (1994) -The rabbit in Australia, The European rabbit. *The history and biology of a successful colonizer*, Edited by: Thompson, H.V.&KING, C.M.:108-157.
- MYERS, K.; PARKER, B.S. (1965) -A study of the biology of the wild rabbit in climatically different regions in Eastern Australia. *CSIRO Wildlife Research*, 10:1-32.
- MYERS, K.; PARKER, B.S. (1975) -A study of the biology of the wild rabbit in climatically different regions in Eastern Australia. VI.- Changes in numbers and distribution related to climate and land systems in semiarid Northwestern New South Wales. *Australian Wildlife Research*, 2:11-32.
- MYERS, K.; PARKER, B.S.; DUNSMORE, J.D. (1975) -Changes in numbers of rabbits and their burrows in a subalpine environment in Southeastern New South Wales. *Australian Wildlife Research*, 2:121-133.
- MYERS, K.; POOLE, W.E. (1959) -A study of the biology of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L), in confined populations. I. The effects of density on home range and the formation of breeding groups. *CSIRO Wildlife Research*, 4:14-27.
- MYERS, K.; POOLE, E. (1961) -A study of the biology of the wild rabbit in confined populations. II the effects of season and population increase on behaviour. *CSIRO Wildlife Research*, 6:1-41.
- MYERS, K.; POOLE, W.E. (1962) -A study of the biology of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.) in confined populations. III.- Reproduction. *Australian Journal of Zoology*, 10:225-267.
- MYERS, K.; POOLE, W.E.(1963a) -A study of the biology of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.), in confined populations. IV. The effects of rabbit grazing on sown pastures. *Journal of Ecology*, 51:435-451.
- MYERS, K.; POOLE, W.E. (1963b) -A study of the biology of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.), in confined populations. V.- Population dynamics. *CSIRO Wildlife Research*, 8:166-203.
- MYERS, K.; SCHNEIDER, E.C. (1964) -Observations on reproduction, mortality, and behaviour in a small, free-living population of wild rabbit. *CSIRO Wildlife Research*, 9:138-143.
- MYKYTOWYCZ, R. (1953) -An attenuated strain of the myxomatosis virus recovered from the field. *Nature*, 172:448-451.
- MYKYTOWYCZ, R. (1957) -The transmission of myxomatosis by *Simulium melatum* Wharton (Diptera: Simuliidae). *CSIRO Wildlife Research*, 2(1):1-4.
- MYKYTOWYCZ, R. (1958a) -Contact transmission of infectious myxomatosis of the rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.). *CSIRO Wildlife Research*, 3:1-6.

- MYKYOTWYCZ, R. (1958b) -Social behaviour of an experimental colony of wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.). I.- Establishment of the colony. *CSIRO Wildlife Research*, 3:7-25.
- MYKYTOWYCZ, R. (1959a) -Effect of infection with myxomatosis virus on endoparasites of rabbit. *Nature*, 183:55-556.
- MYKYTOWYCZ, R. (1959b) -Social behaviour of an experimental colony of wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.). II.- First breeding season. *CSIRO Wildlife Research*, 4:1-13.
- MYKYTOWYCZ, R. (1961) -Social behaviour of an experimental colony of wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.). IV.- Conclusion: outbreak of myxomatosis, third breeding season, and starvation. *CSIRO Wildlife Research*,:142-155.
- MYKYTOWYCZ, R. (1962) -Epidemiology of coccidiosis (*Eimeria* spp.) in an experimental population of the australian wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.). *Parasitology*, 52:375-395.

- MYKYTOWYCZ, R.; FULLAGAR, P.J. (1973) -Effect of social environment on reproduction in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.). *Journal of Reproduction and Fertility*, 19:503-522.
- MYKYTOWYCZ, R.; GAMBALE, S. (1965) -A study of the inter-warren activities and dispersal of wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.), living in a 45-AC paddock. *CSIRO Wildlife Research*, 10:111-123.
- MYKYTOWYCZ, R.; GAMBALE, S. (1969) -The distribution of dunghills and the behaviour of free-living rabbits, *Oryctolagus cuniculus* on them. *Forma et Functio*, 1:333-349.
- MYKYTOWYCZ, R.; HESTERMAN, E.R.; PURCHASE, D. (1960) -Technique employed in catching rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.), in an experimental enclosure. *CSIRO Wildlife Research*, 5:85-86.
- NARDELLI, S.; AGNOLETTI, F.; CONSTANTINI, F.; PARPAJOLA, R (1996) - Diagnosis of rabbit haemorrhagic disease (RHD) and European brown hare syndrome (EBHS) by Indirect sandwich polyclonal ELISA. *Journal of Veterinary Medicine B*, 43:393-400.
- NAUWYNCK, H.; CALLEBAUT, P.; PEETERS, J.; DUCATELLE, R.; UYTTEBROEK, E. (1993) -Susceptibility of hares and rabbits to a belgian isolate of european brown hare syndrome virus. *Journal of Wildlife Diseases*, 29(2):203-208.
- NAWWAR, A.A.M.; MOUSA, H.A.A.; DAWLAT, S.A.; THAN, A. (1996) -Studies on rapid diagnostic methods for rabbit haemorrhagic viral disease (RHVD). *Veterinary Medicine Journal of Giza.*, 44(3):601-611.
- NEWSOME, A. (1990) -The control of vertebrate pests by vertebrate predators. *Tree*, 5(6):187-191.
- NEWSOME, A.E.; PARER, I.; CATLING, P.C. (1989) -Prolonged prey suppression by carnivores-predator-removal experiments. *Oecologia*, 78:458-467.
- NORTHEY, W.T. (1965) -Studies on the interrelationship of cold environment, immunity and resistance to infection. *The Journal of Immunology*, 94:649-657.
- NUNNEY, L. (1985) -The effect of long time delays in predator-prey systems. *Theoretical Population Biology*, 27:202-221.
- NUNNEY, L. (1985) -Short time delays in population models: a role in enhancing stability. *Ecology*, 66(6):1849-1858.
- OHLINGER, V.F.; HAAS, B.; AHL, R.; WEILAND, F. (1989) -Die infektiöse hämorrhagischen Krankheit der Kaninchen-eine durch ein Calicivirus verursachte Tierseuche. *Tierärztliche Umschau*, 44:22-25.
- OHLINGER, V.F.; THIEL, H.J. (1991) -Identification of the viral haemorrhagic disease virus of rabbits as a calicivirus. *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 10(2):311-319.

OLLERENSHAW, C.B.; ROWLANDS, W.T. (1959) -A method of Forecasting the incidence of fasciolasis in Anglesey. *The Veterinary Record*, 71(29):591-598.

- OPGENORTH, A.; NATION, N.; GRAHAM, K.; MCFADDEN, G. (1993) -Transforming growth factor alpha, Shope fibroma growth factor, and vaccinia growth factor can replace myxoma growth factor in the induction of myxomatosis in rabbits. *Virology*, 192:701-709.
- OSACAR, J.J. (1996) -Ecología de las pulgas (*Siphonaptera*) del conejo silvestre en el Valle Medio del Ebro. Facultad de Veterinaria de Zaragoza. Tesis Doctoral.
- PAGES, A. (1989) -Aspectos epidemiológicos y laboratoriales de la enfermedad hemorrágica del conejo (R.H.D.) en España. *Medicina Veterinaria*, 6(3):153-158.
- PAGES, A. (1989) -Consideraciones técnicas de la sueroterapia y de la profilaxis vacunal en la enfermedad hemorrágica vírica del conejo (R.H.D.V.). *Medicina Veterinaria*, 6(5):285-291.
- PAGES, A.; ARTIGAS, C. (1992) -Advisable vaccinal programme against mixomatosis and rabbit haemorrhagic disease viruses on wild rabbits. V World rabbit congress, July 1992. Corvallis (USA).
- PAGES, A.; ARTIGAS, C.; ESPUÑA, E. (1991) -Serological profile (by ELISA) of the active and passive immunity on rearing does vaccinated with an oil inactivated vaccine against RHD. *International Symposium on RHD*. Beijing, 1991, PRC.
- PAGES, A.; COSTA, L.I. (1990) -Control de la enfermedad hemorrágica vírica del conejo (R.H.D.V.) mediante vacunación. *Medicina Veterinaria*, 7(2):93-97.
- PAGES, A.; ESPUÑA, E. (1988) -Estudios sobre la aplicación de vacunas homólogas de mixomatosis en conejos silvestres. *Medicina Veterinaria*, 5(7-8):365-374.
- PARER, I. (1977) -The population ecology of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.), in a Mediterranean-type climate in New South Wales. *Australian Wildlife Research*, 4:171-205.
- PARER, I. (1982) -Dispersal of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, at Urana in New South Wales, *Australian Wildlife Research*, 9:427-441.
- PARER, I.; CONOLLY, D.; SOBEY, W.R. (1981) -Myxomatosis: the introduction of a highly virulent strain of myxomatosis into a wild rabbit population at Urana in New South Wales. *Australian Wildlife Research*, 8:613-626.
- PARER, I.; CONOLLY, D.; SOBEY, W.R. (1985) -Myxomatosis; the effects of annual introductions of an immunizing strain and a highly virulent strain of mixoma virus into rabbit populations at Urana, N.S.W. *Australian Wildlife Research*, 12:407-423.
- PARER, I.; FULLAGAR, P.J. (1986) -Biology of rabbits, *Oryctolagus cuniculus*, in Subtropical Queensland. *Australian Wildlife Research*, 13(4):545-558.
- PARER, I.; FULLAGAR, P.J.; MALAFANT, K.W. (1987) -The history and structure of a large warren of the rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, at Cambera, A.C.T. *Australian Wildlife Research*, 14:505-513.

- PARER, I.; KORN, T.J. (1989) -Seasonal incidence of myxomatosis in New South Wales. *Australian Wildlife Research*, 16:563-568.
- PARER, I.; LIBKE, J.A. (1991) -Biology of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.), in the southern tablelands of New South Wales, *Australian Wildlife Research*, 18:327-341.
- PARER, I.; LIBKE, J.A. (1985) -Distribution of rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, warrens in relation to soil type. *Australian Wildlife Research*, 12:387-405.
- PARER, I.; SOBEY, W.R.; CONOLLY, D.; MORTON, R. (1994) -Virulence of strains of myxoma virus and the resistance of wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.), from different locations in Australasia. *Australian Journal of Zoology*, 42:347-362.
- PARER, I.; SOBEY, W.R.; CONOLLY, D.; MORTON, R. (1995) -Sire transmission of Acquired resistance to Myxomatosis. *Australian Journal of Zoology*, 43:459-465.
- PARER, I.; WOOD, D.H. (1986) -Further observations of the use of warren entrances as an index of the number of rabbits, *Oryctolagus cuniculus*. *Australian Wildlife Research*, 13:331-332.
- PARK, J.H.; OCHIAI, K.; ITAKURA, C. (1992) -Detection of rabbit haemorrhagic disease virus particles in the rabbit liver tissues. *Journal of Comparative Pathology*, 107:329-340.
- PARRA, F.; PRIETO, M. (1990) -Purification and characterization of a Calicivirus as the causative agent of a lethal hemorrhagic disease in rabbits. *Journal of Virology*, 64:4013-4015.
- PATON, G.; GETTINBY, G. (1985) -Comparing control strategies for parasitic gastro-enteritis in lambs grazed on previously contaminated pasture: a network modelling approach. *Preventive Veterinary Medicine*, 3:301-310.
- PATON, G.; GETTINBY, G. (1983) -The control of a parasitic nematode population in sheep represented by discrete time network with stochastic inputs. *Proceedings of Royal Irish Academy*, 83 B:267-280.
- PECH, R.P.; SINCLAIR, A.R.E.; NEWSOME, A.E.; CATLING, P.C. (1992) -Limits to predator regulation of rabbits in Australia: evidence from predator-removal experiments. *Oecologia*, 89:102-112.
- PECH, R.P.; SINCLAIR, R.E.; NEWSOME, A.E. (1995) -Predation models for primary and secondary prey species. *Wildlife Research*, 22:55-64.
- PEETERS, E. (1968) -Coccidiosis in wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.), at four sites in different climatic regions in Eastern Australia. II.- The relationship of oocyst output to climate and to some aspects of the rabbit's physiology. *Australian Journal of Zoology*, 16:619-628.

- PEETERS, J.E.; VANDERGHEYNST, D.; GEERONMS, R. (1995) -Vacunación contra la enfermedad hemorrágica virica del conejo (VHD): efecto protector de dos vacunas comerciales. *Cuni-Sciences*, 7(3):101-106.
- PEIRO, V.; SEVA, E. (1991) -Maladie Haemorrhagique Virale du Lapin de garenne au sud-est d l'Espagne. *XXth Congress of the International Union of Game Biologists*, Godollo, Hungary, August 21-26:752-758.
- PENCE, D.B.; WINDBERG, L.A. (1994) -Impact of a sarcoptic mange epizootic on a coyote population. *Journal Wildlife Management*, 58(4):624-633.
- PESHEV, R.; ALEXANDROV, M.; IVANOV, Y.; GOGOY, Y. (1996) -Demonstration of rabbit haemorrhagic disease virus antigen by Staphylococcus protein A coagglutination test. *Journal of Virological Methods*, 57:15-18.
- PIKE, M.C.; SMITH, P.G. (1968) -Disease clustering: a generalization of knox's approach to the detection of space-time interactions. *Biometrics*, September: 541-556
- PLANA, J.; BASTONS, M.; RODRIGUEZ, M.J.; CLIMENT, I.; CORTES, E.; VELA, C.; CASAL, I. (1996) -Oral immunization of rabbits with VP60 particles confers protection against rabbit hemorrhagic disease. *Arch. Virol.*, 141:1423-1436.
- PLANA, J.; VAREDA, M.; BASTONS, M.; VILA, X. (1989) -Calicivirus: Firme candidato como agente inductor de la enfermedad virica hemorrágica del conejo. *Medicina Veterinaria*, 6:87-88.
- PLASSIART, G.; GUELFY, J.F.; GANIERE, J.P.; WANG, B.; ANDRE-FONTAINE, G.; WYERS, M. (1992) -Hematological parameters and visceral lesions relation-ship in rabbit viral hemorrhagic disease. *Journal of Veterinary Medicine*, 39:443-453.
- PLOWRIGHT, R.C. (1977) -A theoretical study of population dynamics in the sheep tick. *Theoretical population biology*, 12:286-297.
- POLLARD, J.H. (1966) -On the use of the direct matrix product in analysing certain stochastic population models. *Biometrika*, 53(3-4):397-415.
- POOLE, W.E. (1960) -Breeding of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, in relation to the environment. *CSIRO Wildlife Research*, 5:21-43.
- PU, B.Q.; QIAN, H.H.; CUI, S.J. (1985) -Micro HA and HI tests for the detection of antibody titres to so-called haemorrhagic pneumonia in rabbits. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 11:16-17.
- REGNERY, D.C.(1971) -The epidemic potential of brazilian myxoma virus (Lausanne strain) for three species of north america cottontails. *American Journal of Epidemiology*, 94(5):514-519.
- REGNERY, D.C.; MILLER, J.H. (1972) -A myxoma virus epizootic in a brush rabbit population. *Journal of Wildlife Research*, 8:327-331.

- REGNEY, D.C.; MARSHALL, I.D. (1971) -Studies in the epidemiology of myxomatosis in California. IV.- The susceptibility of six leporid species to californian myxoma virus and the relative infectivity of their tumors for mosquitoes. *American Journal of Epidemiology*, 94(5):508-513.
- RICHARDSON, B.J.; OSBORNE, P.G. (1982) -Experimental ecological studies on a subalpine rabbit population. II.- The effect of sodium and nutritional supplementation on breeding and physiological condition. *Australian Wildlife Research*, 9:451-463.
- RICHARDSON, B.J.; WOOD, D.H. (1982) -Experimental ecological studies on a subalpine rabbit population. I.- Mortality factors acting on emergent kittens. *Australian Wildlife Research*, 9:443-450.
- ROBERTS, S.C. (1987) -Group-living and consortships in two populations of the european rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Mammalogy*, 68(1):28-38.
- ROBERTS, S.C. (1988) -Social influences on vigilance in rabbits. *Animal Behaviour*, 36:905-913.
- ROBINSON, M.H.; WHEELER, S.H. (1983) -A radiotracking study of four poisoning techniques for control of the european rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.). *Australian Wildlife Research*, 10:513-520.
- RODAK, L.; SIMD, B.; VALICEK, L.; VESELY, T.; STEPANEK, J.; HAMPL, J.; JURAK, E. (1990) -Enzyme-linked immunosorbent assay of antibodies to rabbit haemorrhagic disease virus and determination of its major structural proteins. *Journal of General Virology*, 71:1075-1080.
- RODAK, L.; SMID, B.; VALICEK, L. (1991) -Application of control measures against viral haemorrhagic disease of rabbits in the Czech and Slovak Federal Republic. . *Revue Scientifique et Technique O.I.E.*, 10(2):513-521.
- ROGERS, P.M. (1981) -Ecology of the european wild rabbit *Oryctolagus cuniculus* (L.) in mediterranean habitats. II.- Distribution in the landscape of the Camargue, S. France. *Journal of Applied Ecology*, 18:355-371
- ROGERS, P.M.; ARTHUR, C.P.; SORIGUER, R.C. (1994) -The rabbit in continental Europe, The European rabbit. *The history and biology of a successful colonizer*, Edited by: Thompson, H.V.&KING, C.M.:22-63.
- ROGERS, P.M.; MYERS, K. (1979) -Ecology of the european wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.), in mediterranean habitats. I.- Distribution in the landscape of the coto Doñana, S. Spain. *Journal of Applied Ecology*, 16:691-703.
- RONSHOLT, L.; DIETZ, H.H.; LEI, J.; HENRIKSEN, P. (1991) -Viral haemorrhagic disease of rabbits. In *14th Conference of the OIE.*, Sofia, 2-5 Octubre 1990. Paris.
- ROSELL, J.M.; BADIOLA, J.I.; PEREZ, A.; BADIOLA, J.J.; GARCIA, J.A.; VARGAS, M.A. (1989) -Enfermedad vírica hemorrágica del conejo. I.- Epizootológica y clínica. *Medicina Veterinaria*, 6(5):275-284.

- ROSS, J. (1982) -Myxomatosis: the natural evolution of the disease. *Symposium of Zoological Society of London*, 50:77-95.
- ROSS, J.; SANDERS, M.F. (1977) -Innate resistance to myxomatosis in wild rabbits in England. *Journal of Hygiene*, 29:411-415.
- ROSS, J.; SANDERS, M.F. (1984) -The development of genetic resistance to myxomatosis in wild rabbits in Britain. *Journal of Hygiene*, 92:255-261.
- ROSS, J.; SANDERS, M.F. (1987) -Changes in the virulence of myxoma virus strains in Britain.. *Epidemiology Infectious*, 98:113-117.
- ROSS, J.; TITTENSOR, A.M. (1986a) -Influence of myxomatosis in regulating rabbit numbers. *Mammalogy Review*, 16(3/4):163-168.
- ROSS, J.; TITTENSOR, A.M. (1986b) -The establishment and spread of myxomatosis and its effect on rabbit populations. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 314:599-606.
- ROSS, J.; TITTENSOR, A.M.; FOX, A.P.; SANDERS, M.F. (1989) -Myxomatosis in farmland rabbit populations in England and Wales. *Epidemiology Infectious*, 103:333-357.
- ROTHMAN, K.J. (1975) -A pictorial representation of confounding in epidemiological studies *J. Chron. Dis.*, 28:101-108.
- ROTHSCHILD, M. (1953) -Notes on the European rabbit flea. *Report to the Myxomatosis Advisory Committee, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food*, United Kingdom.
- ROWLEY, I. (1956) -Field enclosures for the study of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.). *CSIRO Wildlife Research*, 101-105.

- SANARELLI, G. (1898) -Das myxomatogene Virus. Beitrag zum Stadium der Krankheitserreger ausserhalb des Sichtbaren.,Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitekunde. *Infektionskrankheiten und Hygiene*, 23:865-873.
- SANCHEZ, B.C.; ARROYO, C.; BLANCO, A. (1954) -Myxomatosis in rabbits in Spain. *Revista del Patronato de Biologia Animal*, 1:75-77.
- SARTWELL, P.E. (1966) -The incubation period and the dynamics of infectious disease. *American Journal of Epidemiology*, 83:204-216.
- SARTWELL, P.E. (1950) -The distribution of incubation periods of infectious disease. *American Journal of Hygiene*, 51:310-318.
- SAUNDERS, I.W. (1980) -A model for myxomatosis. *Mathematical Biosciences*, 48:1-15.
- SAURAT, P.; GILBERT, Y. GANIERE, J.P. (1978) -Etude d'une souche de virus myxomateus modifié. *Revue de Medecine Veterinaire*, 129:415-451.
- SCOTT, M.E.; DOBSON, A. (1989) -The role of parasites in regulating host abundance. *Parasitology Today*, 5:176-183.
- SCOTT, M.E.; SMITH, G. (1994) -Parasitic and infectious diseases. Epidemiology and Ecology. Academic Press. California.
- SCHIRRMEIER, H.; GRANZOW, H.; BERGMANN, H.; SCHLUTER, H. (1990) - Experimentelle Untersuchungen zur hämorrhagischen Septikämie der Kaninchen. *Mh. VetMed.*, 45:193-197.
- SELLERS, R.F. (1987) -Possible windborne spread of myxomatosis to England in 1.953. *Epidemiology Infectious*, 98:119-125.
- SESEVICKOVA, A.; PECHAC, O.; MIROSSAY, E.; VOLOSIN, M.; KORMAN, J. (1988) -K problematike hynutia domacich kralikov na vychodnom Slovensku. *Veterinarstvi*, 38:250-251.
- SEYMOUR, R.M. (1992) -A study of the interaction of virulence, resistance and resource limitation in a model of myxomatosis mediated by the european rabbit flea *Spilopsyllus cuniculi* (Dale). *Ecological Modelling*, 60:281-308.
- SHEAIL, J. (1991) -The management of an animal population: changing attitudes towards the wild rabbit in Britain. *Journal of Enviromental Management*, 33:189-203.
- SHEPHERD, R. (1980) -The European rabbit flea *Spilopsyllus cuniculi* (Dale) in Australia - Its use as a vector of myxomatosis,FLEAS. *Proceedings of the international conference on fleas*. Ashton wold /Peterborough /UK/ 21-25 june 1977,Edited by: R. Traub & H. Starcke. Editorial A.A. BALKEMA/ROTTERDAM/1980:301-307.
- SHEPHERD, R.C.H.; EDMONDS, J.W. (1976) -The establishment and spread of *Spilopsyllus cuniculi* (Dale) and its location on the host, *Oryctolagus cuniculus* (L.), in the Mallee region of Victoria. *Australian Wildlife Research*, 3:29-44.

SHEPHERD, R.C.H.; EDMONDS, J.W. (1977) -Myxomatosis: the transmission of a highly virulent strain of myxoma virus by the European rabbit flea *Spilopsyllus cuniculi* in the Mallee region of Victoria. *Journal of Hygiene*, 79:405-409.

- SHEPHERD, R.C.H.; EDMONDS, J.W. (1978a) -Myxomatosis: changes in the epidemiology of myxomatosis coincident with the establishment of the European rabbit flea *Spilopsyllus cuniculi* (Dale) in the Mallee region of Victoria. *Journal of Hygiene*, 81:399-403.
- SHEPHERD, R.C.H.; EDMONDS, J.W.; NOLAN, I.F. (1981) -Observations on variations in the sex ratio of wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.), in Victoria. *Australian Wildlife Research*, 8:361-367.
- SHEPHERD, R.C.H.; WILLIAM, D. (1975) -Use of a gill net for the capture of wild rabbits *Oryctolagus cuniculus* (L.). *Journal of Applied Ecology*, 13:57-59
- SHOPE, R.E. (1932) -A transmissible tumor-like condition in rabbits. A filtrable virus causing a tumor-like condition in rabbits and its relationship to virus myxomatosis. *Journal of Experimental Medicine*, 56:793-802.
- SIEGEL, S. (1991) -Estadística no paramétrica. Ed. Trillas. Mexico. 344pp.
- SIMON, M.C.; GIRONES, O.; ALONSO, J.L.; MUZQUIZ, J.L.; GARCIA, J.; ORTEGA, C.; MUGURUZA, R. (1993) -Enfermedad vírica hemorrágica en el conejo industrial: eficacia de una vacuna inactivada en la protección frente a la inoculación experimental. *Medicina Veterinaria*, 10(1):44-48.
- SIMON, M.C.; MUGURUZA, R.; ALONSO, J.L.; MUZQUIZ, J.L.; GIRONES, O.; HAFFAR, A. (1994) -Recherche du virus de la maladie hémorragique virale du lapin (RHD) chez le renard et rôle des canides domestiques dans la transmission de la maladie. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 170(12):841-845.
- SIMON, M.C.; ORTEGA, C.; MAYNAR, P.; MUZQUIZ, J.L.; DE BLAS, I.; GIRONES, O.; ALONSO, J.L.; SANCHEZ, J. (1998) -Studies in wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) populations in Navarra (Spain). I. Epidemiology of rabbit viral haemorrhagic disease. *Gibier Faune Sauvage, Game Wildlife*, 15(1):47-64.
- SKIRA, I.J.; BROTHERS, N.P.; COPSON, G.R. (1983) -Establishment of the European rabbit flea on Macquarie island. *Australian Wildlife Research*, 10:121-127.
- SMID, B.; VALICEK, L.; RODAK, L.; STEPANEK, J.; JURAK, E. (1991) -Rabbit haemorrhagic disease: an investigation of some properties of the virus and evaluation of an inactivated vaccine. *Veterinary Microbiology*, 26:77-85.
- SMID, B.; VALICEK, L.; STEPANEK, J.; JURAK, E.; RODAK, L. (1989) -Experimental transmission and electron microscopic demonstration of the virus of haemorrhagic disease of rabbits in Czechoslovakia. *Journal of Veterinary Medicine*, 36:237-240.
- SMITH, G.C.; TROUT, R.C. (1994) -Using Leslie matrices to determine wild rabbit population growth and the potential for control. *Journal of Applied Ecology*, 31:223-230.
- SMITH, M.C.; LEATHERLAND, J.F.; MYERS, K. (1978) -Effects of seasonal availability of sodium and potassium on the adrenal cortical function of a wild

population of snowshoe hares, *Lepus americanus*. *Canadian Journal of Zoology*, 56:1869-1876.

SNEDDON, I.A. (1991) -Latrine use by the european rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Mammalogy*, 72(4):776-783.

SOBEY, W.R. (1969) -Selection for resistance to myxomatosis in domestic rabbits. *Journal of Hygiene*, 67:743-754.

- SOBEY, W.R.; CONOLLY, D. (1986) -Myxomatosis: non-genetic aspects of resistance to myxomatosis in rabbits, *Oryctolagus cuniculus*. *Australian Wildlife Research*, 13:177-187.
- SOBEY, W.R.; CONOLLY, D. (1975) -Myxomatosis: passive immunity in the offspring of immune rabbits infested with fleas (*Spilopsyllus cuniculi* Dale) and exposed to myxoma virus. *Journal of Hygiene*, 74:43-55.
- SOBEY, W.R.; CONOLLY, D.; ADAMS, K.M. (1966) -Myxomatosis: a simple method of sampling blood and testing for circulating soluble antigens or antibodies to them. *Australian Journal of Science*, 28:354.
- SOBEY, W.R.; CONOLLY, D.; HAYCOCK, P.; EDMONS, J.W. (1970) -Myxomatosis. The effect of age upon survival of wild and domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) with a degree of genetic resistance and unselected domestic rabbits infected with myxoma virus. *Journal of Hygiene*, 68:137-149.
- SOBEY, W.R.; CONOLLY, D.; WESTWOOD, N. (1983) -Myxomatosis: a search for a strain of virus to immunize a wild population of rabbits, *Oryctolagus cuniculus*. *Australian Wildlife Research*, 10:287-295.
- SOBEY, W.R.; MENZIES, W.; CONOLLY, D.; ADAMS, K.M. (1967) -Myxomatosis: the effect of raised ambient temperature on survival time. *Australian Journal of Science*, 30:322-324.
- SOBEY, W.R.; TURNBULL, K. (1956) -Fertility in rabbits recovering from myxomatosis. *Australian Journal of Biological Science*, 9:455-461.
- SOKAL, R; ROHLF, F. (1986) -Introducción a la bioestadística. Ed. Reverté. Barcelona. 362pp.
- SORIGUER, R. (1981b) -Estructura de sexos y edades en una población de conejos (*Oryctolagus cuniculus* L.) de Andalucía Occidental. *Doñana, Acta Vertebrata*, 8:225-236.
- SORIGUER, R.C. (1980c) -El conejo, *Oryctolagus cuniculus* (L.), en Andalucía Occidental: parámetros corporales y curva de crecimiento. *Doñana, Acta Vertebrata*, 7(1):83-90.
- SORIGUER, R.C. (1980b) -Ciclo anual de parasitismo por pulgas y garrapatas en el conejo de campo (*Oryctolagus cuniculus* L.) en Andalucía Occidental, España. *Revista Ibérica de Parasitología*, 40(4):539-550.
- SORIGUER, R.C. (1980a) -Mixomatosis en una población de conejos de Andalucía Occidental. Evolución temporal, epidemia invernal y resistencia genética. *I Reunión Iberoamericana de Zoología y Conservación de Vertebrados*. La Rábida, 241-250.
- SORIGUER, R.C. (1981a) -Biología y dinámica de una población de conejos (*Oryctolagus cuniculus*, L.) en Andalucía Occidental. *Doñana Acta Vertebrata*, Volumen Especial, 8:1-379.

SORIGUER, R.C.; ROGERS, P.M. (1981) -The european wild rabbit in Mediterranean Spain. *Proceedings of the world Lagomorph conference (1979)*, Ed. Myers and MacInnes, University of Guelph, Ontario, 600-613.

STODART, E. (1968) -Coccidiosis in wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.), at four sites in different climatic regions in Eastern Australia. I.- Relationship with the age of the rabbit. *Australian Journal of Zoology*, 16:69-85.

- STOERCKLE-BERGER, N.; KELLER-BERGER, B.; ACKERMANN, M.; HAUSER, B.; EHRENSPERGER, F. (1990) -Immunohistological studies on rabbit haemorrhagic disease (RHD). *Schweizer Arch. Tierheilk*, 132:474-475.
- STRAYER, D.S.; SELL, S. (1983) -Immunohistology of malignant rabbit fibroma virus - a comparative study with rabbit myxoma virus. *Journal of the National Cancer Institute*, 71:105-116.
- SUMPTON, K.J.; FLOWERDEW, J.R. (1985) -The ecological effects of the decline in rabbits (*Oryctolagus cuniculus* L.) due to myxomatosis. *Mammalogy Review*, 15(4):151-186.
- TAYLOR, R.H.; WILLIAMS, R.M. (1956) -The use of pellet counts for estimating the density of populatios of the wild rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.). *New Zealand Journal of Science and Technology*, 38:236-256.
- TEMPLE, S.A. (1987) -Do predators always capture substandard individuals disproportionately from prey populations? *Ecology*, 68(3):669-674.
- TESOURO, M.; OLIDEN, M.C.; FITE, M.R.; OLIVAR, F.; GONZALEZ, A.; CARRO, C.; COGOLLUDO, C.; DEL RIO, C.; RUIZ, P.; DOMINGUEZ, T.; FRIAS, N. (1990) -Diagnóstico de la enfermedad hemorrágica vírica de los conejos (EHVC). *Medicina Veterinaria*, 7(3):173-184.
- THRUSFIELD, M.V.; GETTINBY, G. (1984) -An introduction to techniques of veterinary modelling. *Society for Veterinary epidemiology and preventive medicine*. Proceedings Edinburgh, 10-11 July (1984) Ed. Thrusfield, M.V.,114-138.
- THRUSFIELD, M.V. (1990) -Epidemiología veterinaria. Ed. Acribia. Zaragoza. 339pp.
- TROUT, C.R.; ROSS, J.; TITTENSOR, A.M.; FOX, A.P. (1992) -The effect on a British wild rabbit population (*Oryctolagus cuniculus*) of manipulating myxomatosis. *Journal of Applied Ecology*, 29:679-686.
- TROUT, R.C.; SMITH, G.C. (1995) -The reproductive productivity of the wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in southern England on sites with different soils. *Journal of Zoology*, 237:411-422.
- TROUT, R.C.; SMITH, G.C. (1995) -The reproductive productivity of the wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in southern England on sites with different soils. *Journal of Zooogy*, 237:411-422.
- TROUT, R.C.; TAPPER, S.C.; HARRADINE, J. (1986) -Recent trends in the rabbit population in Britain. *Mammalogy Review*, 16(3/4):117-123.
- TROUT, R.C.; TITTENSOR, A.M. (1989) -Can predators regulate wild rabbit *Oryctolagus cuniculus* population density in England and Wales?. *Mammalogy Review*, 19(4):153-173.
- TWIGG, L.E.; GRIFFIN, S.L.; O'REILLY, C.M. (1997) -Live capture techniques for the european rabbit. *Western Australian Naturalist*, 21:131-140.

- TYNDALE-BISCOE, C.H.; WILLIAMS, R.M. (1955) -A study of natural mortality in a wild population of the rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. *New Zealand Journal of Science and Technology*, B36:561-580.
- UEDA, K.; PARK, J.H.; OCHIAI, K.; ITAKURA, C. (1992) -Disseminated intravascular coagulation (DIC) in rabbit haemorrhagic disease. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 40:133-141.
- VAN BAALEN, M. SABELIS, M.W. (1995) -The dynamics of multiple infection and the evolution of virulence. *The American Naturalist*, 146:881-910.
- VANDEWALLE, P. (1989) -Le cycle reproducteur du lapin de garenne (*Oryctolagus cuniculus*) en Camargue: influence des facteurs environnementaux. *Gibier Faune Sauvage*, 6:1-25.
- VAUGHAN, H.E.N.; VAUGHAN, J.A. (1968) -Some aspects of the epizootiology of myxomatosis. *Symposium of the Zoological Society*, London, 24:289-309.
- VAUGHAN, J.A. (1981) -The influence of the rabbit flea on the selection of attenuated strains of mixoma virus. *Proceedings of the World Lagomorph Conference*, 834-841.
- VILLAFUERTE, R. (1994) -Riesgo de predación y estrategias defensivas del conejo, *Oryctolagus cuniculus*, en el Parque Nacional de Doñana. *Tesis Doctoral*, 229pp.
- VILLAFUERTE, R.; CALVETE, C.; BLANCO, J.C.; LUCIENTES, J. (1995) -Incidence of viral hemorrhagic disease in wild rabbit populations in Spain. *Mammalia*, 59(4):651-659.
- VILLAFUERTE, R.; CALVETE, C.; GORTAZAR, C.; MORENO, S. (1994) -First epizootic of rabbit hemorrhagic disease in free living populations of *Oryctolagus cuniculus* at Doñana national park, Spain. *Journal Wildlife Diseases*, 30(2):176-179.
- VITALE, A.F. (1989) -Changes in the anti-predator responses of wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.), with age and experience. *Behaviour*, 110(1-4):47-61.
- WALLAGE-DREES, J.M. (1986) -Seasonal changes in the condition of rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.), in a coastal sand dune habitat. *Z. Säugetierkunde*, 51:26-36.
- WALLAGE-DREES, J.M. (1989) -A field study on seasonal changes in the circadian activity of rabbits. *Z. Säugetierkunde*, 54:22-30.
- WALLAGE-DREES, J.M.; MICHIENSEN, N.C. (1989) -The influence of food supply on the population dynamics of rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.), in a Dutch dune area., *Z. Säugetierkunde*, 54:304-323.
- WATSON, J.S.; TYNDALE-BISCOE, C.H. (1953) -The apophyseal line as an age indicator for the wild rabbit. *New Zealand journal of science and technology*, 34(6) B:427-435.

- WESTBURY, H. (1994) -Viral haemorrhagic disease. Laboratory aspects. Inédito, 3pp.
- WETHERALL, J.D.; CLAY, D.E.; KING, D.R. (1983) -Humoral immunity to myxoma virus in wild rabbits. *Australian Wildlife Research*, 10:277-285.
- WHEELER, S.H.; KING, D.R. (1985b) -The european rabbit in Southwestern Australia. III.- Survival. *Australian Wildlife Research*, 12:213-225.
- WHEELER, S.H.; KING, D.R. (1980) -The use of eye-lens weights for aging wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.), in Australia. *Australian Wildlife Research*, 7:79-84.
- WHEELER, S.H.; KING, D.R. (1985a) -The european rabbit in South-western Australia. II.- Reproduction. *Australian Wildlife Research*, 12:197-212.
- WHEELER, S.H.; KING, D.R.; ROBINSON, M.H. (1981) -Habitat and warren utilization by the european rabbit, *Oryctolagus cuniculus* (L.), as determined by radio-tracking. *Australian Wildlife Research*, 8:581-588.
- WHITE, K.A.J.; MURRAY, J.D.; LEWIS, M.A. (1996) -Wolf-deer interactions: a mathematical model. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 263:299-305.
- WHITE, P.C.L.; HARRIS, S.; SMITH, G. (1995) -Fox contact behaviour and rabies spread: a model for the estimation of contact probabilities between urban foxes at different population densities and its implications for rabies control in Britain. *Journal of Applied Ecology*, 32:693-706.
- WILLIAMS, C.K.; MOORE, R.J. (1989) -Genetic divergence in fecundity of australian wild rabbits *Oryctolagus cuniculus*. *Journal of Animal Ecology*, 58:249-259.
- WILLIAMS, C.K.; MOORE, R.J. (1991) -Inheritance of Acquired Immunity to Myxomatosis, *Australian Journal of Zoology*, 39:307-311.
- WILLIAMS, R.T. (1971) -Observations on the behaviour of the european rabbit flea, *Spilopsyllus cuniculi* (Dale), on a natural population of wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.), in Australia. *Australian Journal of Zoology*, 19:41-51.
- WILLIAMS, R.T.; DUNSMORE, J.D.; PARER, I. (1972a) -Evidence for the existence of latent myxoma virus in rabbits (*Oryctolagus cuniculus* (L.)). *Nature*, 238(5359):99-101.
- WILLIAMS, R.T.; FULLAGAR, P.J.; DAVEY, C.; KOGON, C. (1971) -Factors affecting the survival time of rabbits in a winter epizootic of myxomatosis at Canberra, Australia. *Journal of Applied Ecology*, 9:399-410.
- WILLIAMS, R.T.; FULLAGAR, P.J.; DAVEY, C.C.; KOGON, C. (1972b) -Factors affecting the survival time of rabbits in a winter epizootic of myxomatosis of rabbits in a winter epizootic of myxomatosis at Canberra, Australia. *Journal of Applied Ecology*, 9:403-414.
- WILLIAMS, R.T.; FULLAGAR, P.J.; KOGON, C.; DAVEY, C. (1972c) -Observations on a naturally occurring winter epizootic of myxomatosis at Canberra, Australia, in

the presence of rabbit fleas (*Spilopsyllus cuniculi* Dale) and virulent myxoma virus. *Journal of Applied Ecology*, 10:417-427.

WILLIAMS, R.T.; PARER, I. (1972) -The status of myxomatosis at Urana, New South Wales, from 1.968 until 1.971. *Australian Journal of Zoology*, 20:391-404.

WILLIAMS, R.T.; PARER, I. (1971) -Observations on the dispersal of the european rabbit flea, *Spilopsyllus cuniculi* (Dale), through a natural population of wild rabbits, *Oryctolagus cuniculus* (L.). *Australian Journal of Zoology*, 19:129-140.

WODZICKI, K. (1960) -Influence of population density on the adrenal and body weights of the wild rabbit *Oryctolagus cuniculus* L. in new Zealand. *New Zealand Journal of Science*, 3:103-120.

WOOD, D.H. (1980) -The demography of a rabbit population in an arid region of new south Wales Australia. *Journal of Animal Ecology*, 49:55-79.

WOOD, D.H. (1988) -Estimating rabbit density by counting dung pellets. *Australian Wildlife Research*, 15:665-671.

- XIE, M.L.; CHENG, C.P.; WEI, H.J.; YIN, L.Y. (1986) -Investigation on the infectious routes of rabbit plague. *Infectious Diseases in Domestic Animals*, 6:4.
- XU, F.N.; SHEN, W.P.; XI, Q.K. (1985) -Ultrastructural studies on viral haemorrhagic disease in rabbits. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 17:153-155.
- XU, W.; DU, N.; LIU, S. (1988) -A new virus isolated from hemorrhagic disease in rabbits. *In proceedings of 4th World Rabbit Congress*,456-461, Budapest.
- XU, W.Y.(1991) -Viral haemorrhagic disease of rabbits in the people's Republic of China: epidemiology and virus characterisation. *Revue Scientifique et Technique O.I.E*, 10(2):393-405.
- XU, Z.J.; CHEN, J.X. (1988) -Studies on viral haemorrhagic syndrome in rabbits. *Acta Agriculturae Universitatis Zhejiangensis*, 14:136-141.
- XU, Z.J.; CHEN, W.X. (1989) -Viral Hemorrhagic Disease in rabbits: a review. *Veterinary Research Communications*, 13:205-212.
- XU, Z.J.; CHEN, W.X.; CHEN, J.X.; YU, J.Y. (1985) -Studies on control and prevention of a new rabbit disease. *Zhejiang Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 10:12-13.
- YORKE, J.A.; NATHANSON, N.; PIANIGIANI, G.; MARTIN, J. (1979) -Seasonality and the requirements for perpetuation and eradication of viruses in populations. *American Journal of Epidemiology*, 109(2);103-123.