

## DIAGNOSTICO INMUNOHISTOLOGICO DE LA ENFERMEDAD VIRICA HEMORRAGICA DEL CONEJO

**F. Rodríguez\*, L. Carrasco\*, E. Díaz\*\*, J.B. Poveda\*\*\*, J. Martín de las Mulas\*, A. Espinosa de los Monteros\*, A. Gasca\*\* y A. Fernández\*.**

\* Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. 14071-Córdoba.

\*\* Laboratorio de Sanidad Animal - Córdoba.

\*\*\* Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. 14071-Córdoba.



TABLA 1.

	HIGADO				PULMON			
	IFI	IPD	IPI	ABC	IFI	IPD	IPI	ABC
anti-parvo-canino	ND	ND	++	+++	ND	ND	+	++
anti-parvo-felino	ND	+	+	++	ND	+	+	+
anti-parvo-porcino	ND	ND	+	++	ND	ND	+	+
anti-EVHC	+++	ND	++	+++	ND	ND	+	+++

ND: No determinado; +: escaso; ++: abundante; +++: muy abundante.

sacrificaron o murieron entre las 24 a 72 horas postinoculación. Dos conejos adultos no inoculados fueron utilizados como control.

Se sacrificaron seis conejos tras ser anestesiados con eter, realizándose la perfusión vascular con glutaraldehído al 2,5% en tampón fosfato.

Los dos conejos restantes fueron encontrados muertos 48 horas después de la inoculación, y las muestras fueron fijadas en formaldehído al 10% en tampón fosfato, se procesaron rutinariamente y se incluyeron en parafina.

Para el estudio inmunohistológico se emplearon diferentes sueros hiperinmunes, obtenidos en conejos mediante la inoculación de vacunas comerciales contra el parvovirus porcino y canino y contra el EVH hasta encontrar títulos inhibidores de la hemaglutinación adecuados. Además se utilizó un suero hiperinmune comercial anti-virus de la panleucopenia felina producido en caballo.

Se estudió comparativamente la aplicación de cuatro métodos inmunohistoquímicos sobre los pulmones e hígados de los conejos inoculados experimentalmente: inmunofluorescencia indirecta (IFI), inmunoperoxidasa directa (IPD), inmunoperoxidasa indirecta, (IFI) y Complejo Avidina-Biotina-Peroxidasa (ABC).

La Inmunofluorescencia indirecta se empleó sobre improntas frescas de hígados procedentes de los dos conejos muertos de forma espontánea. Por otra



parte, las técnicas de IPD, IPI y ABC se utilizaron en tejidos fijados en glutaraldehído o formaldehído e incluidos en parafina.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados inmunohistológicos se muestran en la tabla 1.

Todas las reacciones fueron negativas cuando se aplicaron sobre los conejos testigos.

La reacción positiva en el hígado, se presentó en la mayoría de los hepatocitos, tanto en el citoplasma como en el núcleo (figura 2). Igualmente otras células como las células de Kupffer, células circulantes intrasinusoidales (no bien identificadas) y células del epitelio de los canalículos biliares (en el núcleo), también presentaron inmunoreacción positiva. En el pulmón el antígeno se observó en el citoplasma de macrófagos intravasculares (figura 3).

Nuestros resultados muestran una reacción cruzada similar al emplear diferentes antisueros frente a parvovirus, observación descrita previamente por otros autores (3) en el brote de EVH en México. Este fenómeno ha permitido el uso de estos antisueros para demostrar antígenos del virus de la EVH en tejidos fijados en glutaraldehído o formaldehído, e incluidos en parafina, utilizando las técnicas inmunohistoquímicas descritas anteriormente (2).

Los mejores resultados se obtuvieron con la técnica del ABC, debido a su capacidad de amplificación y a la utilización del suero anti-EVH como anticuerpo primario. En este sentido, actualmente se están poniendo a punto otras técnicas con el objetivo de realizar una investigación más completa, para establecer la distribución de los antígenos del virus de la EVH.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) ARGÜELLO, J.L.; A. LLANOS; Y J.L. PEREZ ORDOYO, 1988: *Enfermedad vírica hemorrágica del conejo en España*. Medicina Veterinaria 12, 645-650.
- 2) CARRASCO, L.; J.C. GOMEZ-VILLAMANDOS; E. DIAZ, J.B. POVEDA, Y A. FERNANDEZ, 1990: *Intravascular macrophage in the lung of rabbits with experimental viral haemorrhagic disease*. Schweiz Arch. Tierheilk 132, 409-484.
- 3) GREGG, D.A., AND C. HOUSE, 1989: *Necrotic hepatitis of rabbits in*

Mexico: a parvovirus. Vet. Record 125, 603-604.

- 4) LEE, C.S., AND C.K. PARK, 1987: *Etiological studies on the acute fatal disease of angora rabbits: the so called Rabbit viral sudden death*. Korean J. Vet. Res. 27, 277-290.
- 5) LIU, S.J., H.P. XUE, P.Q. PU, AND N.H. QUIAU, 1984: *A new viral disease in rabbits*. Anim. Husb. Vet. Med. 16, 253-255.
- 6) MARCATO, P.S., C. BENAZZI, G. VECCHI, L. SALDA, P. SIMONI, P. ATELLO, AND G. TUMINO, 1988: *L'epatite necrotica infettiva del coniglio. Profilo patogenetico di una nuova malattia emorragica*, Rivista di Coniglioltura 9, 59-64.
- 7) PLANA DURAN, J., M.V. CASADEVAL, M.V. PRAT AND X.V. MOLAS, 1989: *Calicivirus: firme candidato como agente inductor de la enfermedad vírica hemorrágica del conejo*. Med. Vet. 6, 87-88.
- 8) SMID, B., L. VALIECK, J. STEPANEK, E. JURAK, AND L. RODAK, 1989: *Experimental transmission and electron microscopic demonstration of the virus of haemorrhagic disease of rabbits in Czechoslovakia*. J. Vet. Med. B. 36, 237-240.
- 9) WEIYAN, X., D. NIANXING, AND L. SHENGJIANG, 1988: *A new virus isolated from hemorrhagic disease in rabbits*. 4 th. World Rabbit Congress Budapest 456-461.



