



Efecto de la infección intravaginal con virus de mixomatosis en conejas nulíparas y múltiparas

Effect of the Myxomatosis virus in the reproductive tract of the female rabbit

Pagès-Manté¹ A., Majó² N.

¹Laboratorios Hipra, Avinguda de la Selva, 135 – Amer, Girona.

²CRReSA- Centre de Recerca en Sanitat Animal, Universitat Autònoma de Barcelona - Bellaterra, Barcelona

C Elect: apm@hipra.com

Resumen

El objetivo de este estudio experimental era el de determinar el efecto del virus de Mixomatosis (MV) en el tracto reproductor de la coneja. Para ello, 4 conejas nulíparas y 5 conejas múltiparas libres de anticuerpos de MV se inocularon con virus de MV cepa Lausanne por vía intravaginal. Una coneja nulípara se inoculó por vía intradérmica como control positivo de la infección vírica. Dos conejas más, una nulípara y otra múltipara, se inocularon con vía intravaginal con PBS y se utilizaron como controles negativos. Cada coneja estaba situada en una jaula independiente dentro de un animalario de bioseguridad de nivel 3, con agua y pienso *ad libitum*. Cada animal era inspeccionado clínicamente a diario para detectar posibles síntomas clínicos. A los 7 y 15 días post-inoculación (p.i) se sacrificaron las conejas para evidenciar lesiones macro y microscópicas en el tracto reproductor, así como detectar el agente vírico en tejidos mediante una técnica inmunohistoquímica y también mediante la técnica de PCR. La coneja control se sacrificó al observar claros signos de mixomatosis, a los 9 días p.i.. No se observaron lesiones histológicas ni presencia de antígeno vírico en el tracto reproductor de ninguna de las conejas. La técnica de PCR únicamente fue positiva en el útero de una coneja múltipara, el resto fueron negativas.

Palabras clave: Mixomatosis, tracto reproductor, coneja.

Abstract

The aim of this experimental study was to determine the effect of the Myxomatosis virus (MV) in the reproductive tract of the female rabbit. To carry on the study 4 first gestation does and 5 pluriparous does, free of MV antibodies, were infected with MV Lausanne strain by intravaginal route. One first gestation doe was inoculated by intradermic route as a virus control. Two does ,one first gestation and one pluriparous, were inoculated by intravaginal route with PBS , as negative controls .All the does were allocated in separated cages into a P3 bio security level with *ad libitum* access to water and commercial rabbit feed. Each doe was inspected daily to detect clinical signs of MV. At 7 and 15 days post-infection (p.i) the does were humanely sacrificed in order to detect macroscopic and microscopic lesions of MV in the reproductive tract and MV antigen by immunohistochemical technique and PCR. The virus control doe was sacrificed at 9 days p.i with clear signs of MV. We were neither able to detect MV lesions by histology nor MV antigen by immunohistochemical technique in the reproductive tract of the inoculated does. Only one pluriparous doe was positive to PCR.

Key words: Myxomatosis, reproductive tract, doe.

Introducción

El virus de Mixomatosis (MV) es un poxvirus que causa una enfermedad aguda, sistémica y fatal en el conejo europeo (*Oryctolagus cuniculus*). En los estudios de patogenia se ha demostrado que después de una inoculación experimental intradérmica, el virus se replica en la piel, en el punto de inoculación y seguidamente en el ganglio linfóide que drena la zona dérmica afectada. A través de los linfocitos

Vila Real, Trás-os-Montes, Portugal
5 y 6 de junio de 2007



infectados se difunde a otras zonas y tejidos más distantes, como el bazo, pulmón, y en conejos machos los testículos, donde se replica fácilmente (Best y Kerr, 2000). De hecho se ha descrito que el virus de MV se replica hasta títulos altos en testículos y puede causar una orquitis intersticial y epididimitis (Foutain et al., 1997). El papel del MV como contaminante del semen ha sido ya descrito (Pagès y Torrens, 2005), pero el papel que este virus como contaminante del semen puede causar en las hembras que se inseminan mediante inseminación artificial (IA), o con monta natural se desconoce. La aparición de procesos de MV en bandas de conejas tras haber sido inseminadas, ha creado la necesidad de conocer mejor como este virus puede evolucionar una vez situado en el tracto reproductor de la coneja.

Material y métodos

El estudio se realizó en el animalario de nivel de bioseguridad 3 del CReSA (Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona). Las conejas utilizadas fueron 6 conejas nulíparas de 5 meses y 6 conejas múltiparas de 3, 2, 2, 4, 4 y 7 partos, a los 12, 6, 9, 9, 10, 10 días postparto respectivamente. Estas conejas procedían de una granja libre de MV y ninguna tenía anticuerpos frente a esta enfermedad. El virus utilizado para la inoculación experimental fue la cepa Lausanne. Se utilizó una dosis de 10^3 TID/coneja en el caso de las inoculadas por vía intravaginal con una sonda de inseminación artificial y una dosis de 10^5 TID/coneja en el caso de la coneja inoculada vía intradérmica.

Se realizó una inspección clínica diaria de cada uno de los animales, para evidenciar signos clínicos de MV que suelen aparecer a los 7-10 días post inoculación (p.i). La coneja control de virus, inoculada intradérmicamente, se sacrificó cuando mostró signos clínicos, a los 9 días p.i.. Dos conejas del grupo de las nulíparas y dos de las múltiparas inoculadas intravaginalmente se sacrificaron el día 7 p.i y el resto de animales inoculados y contactos a los 15 días p.i . Se llevó a cabo una necropsia ordenada, sistemática y completa donde se evaluaron las posibles lesiones macroscópicas y se obtuvieron muestras del tracto reproductor (ovarios, cuernos uterinos, útero y vagina) así como de piel, bazo, hígado, riñón y pulmón para el estudio histológico y la determinación de antígeno de MV mediante inmunohistoquímica.

Por un lado, los tejidos obtenidos en la necropsia se fijaron en formol y se procesaron según métodos histológicos rutinarios. Se tiñeron con una tinción de hematoxilina-eosina y se examinaron al microscopio óptico. Además, se realizó una técnica de inmunohistoquímica con el método de avidita-biotina-peroxidasa, utilizando como anticuerpo primario un suero hiperimmune para detectar presencia de antígeno vírico en los tejidos. También se realizó una técnica de PCR (*Polimerasa Chain Reaction*) para detectar genoma vírico, que en concreto, amplifica el gen MA51 del MV.

Resultados

Los resultados obtenidos tal como se demuestra en el Tabla 1, nos indican que la coneja inoculada por vía intradérmica presentó signos clínicos de MV a los 9 días p.i y fue positiva a virus de MV en la piel (párpado y nariz), mientras que las conejas inoculadas intravaginalmente no presentaron en ningún momento a lo largo de todo el experimento signos de MV ni lesiones en el tracto reproductor ni



en la piel, independientemente del día de sacrificio. Ninguna coneja control presentó tampoco signos, lesiones ni presencia de antígeno vírico de MV a los 15 días p.i.

En cuanto a la técnica de PCR del tracto reproductor, solamente una coneja múltipara fue positiva a MV a los 7 días p.i. Esta coneja era la que menos tiempo tenía entre el parto y el enfrentamiento vírico, 6 días.

Tabla1. Estudio histológico de las conejas, día del sacrificio, lesiones macro y micro tras el challenge, IHQ y PCR

Tipo coneja	Nº parto /Días post-parto	Vía inoculación	Sacrificio d.p.i.	Lesiones Macro y Micro	IHQ	PCR útero
Nulípara	-	Intradérmica	9	piel, nariz y vulva	+	-
Nulípara	-	Intravaginal	7	No	-	-
Nulípara	-	Intravaginal	15	No	-	-
Nulípara	-	Intravaginal	7	No	-	-
Nulípara	-	Control	15	No	-	-
Nulípara	-	Intravaginal	15	No	-	-
Múltipara	3/12	Intravaginal	15	No	-	-
Múltipara	2/6	Intravaginal	7	No	-	+
Múltipara	2/9	Intravaginal	15	No	-	-
Múltipara	4/9	Intravaginal	7	No	-	-
Múltipara	4/10	Control	15	No	-	-
Múltipara	7/10	Intravaginal	15	No	-	-

IHQ: Inmunohistoquímica
d.p.i.: Días post-inoculación

Discusión

Algunos autores indican que el virus de MV produce lesiones en la mucosa uterina y que el endometrio tiene gran sensibilidad a este virus (Joubert *et al.*, 1973). Los datos obtenidos en el presente estudio y las determinaciones realizadas anteriores al presente trabajo no han permitido determinar la presencia de lesiones de MV en el tracto reproductor de las conejas, a diferencia de lo que ocurre en el macho (Pagès y Torrens 2005). Es curioso observar que la técnica de PCR de la coneja que al inocularse con MV tenía menos días posparto ha sido positiva y sin embargo no ha mostrado presencia de lesiones ni de antígeno de MV por inmunocitoquímica. Creemos que este detalle es muy interesante de poder profundizar en el futuro porque explicaría algunos procesos que ocurren con este virus durante las IA. Sería lógico pensar que si el virus de MV no tuviera capacidad de replicarse en la mucosa del tracto reproductor femenino, si que podría penetrar por esta vía hasta el sistema sanguíneo, siempre que la mucosa uterina estuviera en proceso de reparación posparto. Por esta vía sería capaz de producir una viremia y posiblemente una generalización de la MV. Naturalmente, independientemente de la capacidad de replicarse en el tracto reproductor femenino, sería imprescindible que el virus se situara allí y obviamente solamente la IA o la monta natural con semen de un macho portador de MV comportarían esta posibilidad.

Como conclusión, todas las medidas de bioseguridad, control de las dosis seminales, de los machos en monta natural y del propio proceso reproductivo evitando peleas, rasguños en la vagina de la hembra por malas prácticas o prisas a la hora de la IA, serían recomendables para neutralizar la posibilidad de que el virus de MV contacte con la mucosa uterina lesionada fisiológicamente o mecánicamente y generalizar la MV. Creemos que este proceso, podría explicar algunos casos de MV ocurridos esporádicamente en granjas de conejos durante el periodo reproductivo. Desconocemos por ahora si la inoculación de virus de MV por esta vía intravaginal es tan eficaz como



por la vía intradérmica y si la temperatura uterina obviamente superior a la intradérmica puede hacer que los contagios por esta vía sean más dificultosos pero posibles.

Bibliografía

Best S.M., Kerr P.J. 2000. Coevolution of host and virus: The pathogenesis of virulent and attenuated strains of myxoma virus in resistant and susceptible European rabbits. *Virology*, 267, 36-48.

Fenner F. 1952. Myxomatosis: The virus and the disease it causes. *Australian Journal Science*, 15: 81.

Fountain S., Holland M.K., Hinds L.A., Janssens P.K., Kerr P.J. 1997. Interstitial orchitis with impaired steroidogenesis and spermatogenesis in the testes of rabbit infected with an attenuated strain of myxoma virus. *Journal of Reproduction and Fertility*, 110:161-169.

Joubert L., Leftheriotis E., Mouchet J. 1973. La Myxomatose II. L'expansion scientifique française. Paris.

Pagès-Manté A. 1996. Patología asociada a la reproducción de la coneja. REA Jornadas Profesionales de Cunicultura "Especial Reproducción". Sitges 8.1-8.13.

Pagès-Manté A., Torrens D. 2005. Efecto del virus de Mixomatosis en el tracto reproductor del conejo macho adulto. Estudio preliminar. XXX Symposium de Cunicultura. Valladolid 25-28.