

CARACTERÍSTICAS LABORATORIALES DE UNA CEPA DE VIRUS DE MIXOMATOSIS AISLADA EN LAS ISLAS CANARIAS.

Albert Pagès Manté
Doctor en Veterinaria
Laboratorios HIPRA, S.A.

INTRODUCCIÓN

La Mixomatosis es una enfermedad infecto-contagiosa de etiología vírica producida por un poxvirus. Los conejos de tipo *Oryctolagus cuniculi* se presentan muy susceptibles a la enfermedad, mientras los de la especie *Sylvilagus* se mantendrían como reservorios del virus a nivel natural. Este hecho se constató por Sanarelli en Montevideo en 1896. El virus fue llevado voluntariamente a Francia por A. Delille en 1952 ⁽¹⁾ y utilizado para eliminar biológicamente conejos silvestres, sitios en su propiedad. A partir de este momento el virus se difundió por la mayoría de países europeos. Sanchez-Botija y col ⁽²⁾ lo reportaron en España en 1954. Desde estas fechas, el virus ha ido afectando tanto al conejo industrial como al conejo silvestre. Afortunadamente el control de esta enfermedad en conejos industriales mediante vacunación ha sido considerable, sin embargo en el conejo silvestre la falta de una apropiada profilaxis ha hecho que las poblaciones del mismo quedaran muy mermadas.

Las Islas Canarias por sus condiciones orográficas, climáticas y quizás por su estratégica situación con barreras de contención naturales ha sido de los últimos lugares donde el virus ha aparecido en España. Hoy por hoy aún se desconocen las causas de este contagio que pueden ser lógicas si consideramos que se trata de un virus que puede ser transportado por insectos y que puede subsistir en animales específicos tras un traslado potencial de animales vivos. Afortunadamente es un virus que no afecta a otra especie animal que no sea el conejo. El objetivo de este estudio es realizar una investigación sobre las características de este virus aislado en Canarias en cuanto a su nivel de patogenicidad, difusibilidad y control.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para llevar a cabo estas evaluaciones se han utilizado los siguientes materiales y métodos:

Virus

El virus aislado en Canarias fue facilitado por el Dr. J. Póveda de la Universidad de Las Palmas. El inóculo que recibimos era un mixoma de conejo de monte afectado de M.V. congelado. Una vez recibido el nódulo, se descongeló, se trituroó con PBS + antibióticos en un Virtis y se filtró a 0,45 μ . Posteriormente se pasó a un monoestato celular de RK₁₃ utilizando Falcons de 25 cm² y medio MEM Glasgow. Tras el primer pase se centrifugó a los 7 días post-inoculación a 4000 r.p.m. filtrado posteriormente por 0'45 μ y se volvió a sembrar igual que en el pase P₁, se observó en el P₃ un efecto citopático débil en las células RK₁₃ se recogió y se liofilizó al 50/50 con un liofilizador de laboratorio marca Telstar para disponer de 20 viales para su estudio posterior. Se realizaron los pertinentes controles de esterilidad que fueron todos ellos negativos y se tituló mediante dilución límite en RK₁₃ dando un título por ml de 10^{5,25} DICT₅₀. Este aislamiento se denominó cepa 7411.

Se realizaron pruebas de identidad vírica mediante inmunofluorescencia indirecta siendo totalmente positivas a virus de Mixomatosis.

Conejos

Los conejos utilizados fueron híbridos de conejo silvestre de tipo (*Oryctolagus cuniculi*), de tres meses de edad con un peso aproximado de 850 gramos.

Control de patogenicidad y difusibilidad

Se inocularon 10 conejos vía intrapárpalo en el párpado derecho con 10⁴ DICT₅₀ y se juntaron con 10 conejos testigos sin inocular. Estos conejos se observaron cada día durante 45 días anotándose la evolución de las lesiones y su cronología.

Las lesiones observadas fueron las siguientes:

- **PD:** Lesión párpado derecho
- **PI:** Lesión párpado izquierdo

- **GT:** Lesión en genitales
- **G:** Generalización
- **SR:** Síntomas respiratorios
- **DI:** PD + PI
- **GR:** G + SR
- **M:** Mortalidad
- **R:** Recuperados

Para valorar la evolución de las lesiones observadas se dio un valor a cada una de ellas tal como sigue:

- PD = 1
- PI = 2
- GT = 3
- G = 4
- SR = 5
- M = 6

Con todos estos valores se confeccionó un gráfico cronológico para ver la evolución de las lesiones en conejos inoculados y controles.

Categorización de la cepa

Para la categorización de la cepa se han utilizado los criterios de Joubert E. et al sitas en "la Mixomatose vol I y II". Editorial d'expansion Scientifique française. París September 1972⁽³⁾.

Patogenicidad:

- Cepa velogénica: mata a los conejos inoculados en 15 días.
- Cepa mesogénica: mata a los conejos inoculados entre los 15 - 25 días.
- Cepa lentogénica: mata a los conejos inoculados en más de 25 días.

Difusión:

- Rápida: El contagio de los conejos controles se produce en 15 días.
- Media: El contagio de los conejos controles se produce entre 15 y 25 días.
- Lenta: El contagio de los conejos controles se produce en más de 25 días.

Eficacia vacunal

Para ello se vacunan 10 conejos con vacuna heteróloga adyuvantada FSA y 10 conejos con vacuna homóloga, a los 30 días post-vacunación se realizó un challenge intraparpebral con 10^3 DIC₅₀ de la cepa 7411 y se observaron durante 20 días. En el momento del challenge se incorporan 10 conejos de la misma categoría como controles sin vacunar.

RESULTADOS

- Los resultados obtenidos se expresan en el cuadro 1 y 2 en cuanto a patogenicidad y difusibilidad.
- La valoración de las lesiones se expresa en el cuadro 3.
- La expresión gráfica de estas lesiones se expresan en el gráfico 1.
- Los resultados de categorización de la cepa se expresa en el cuadro 4.
- Los resultados de la eficacia vacunal se expresan en el cuadro 5.

CUADRO 1. EVOLUCION DE LAS LESIONES EN LOS CONEJOS INOCULADOS Y CONTROLES. PE-445

LESIONES A DIAS POST INOCULACION																													
	Jaula	Nº conejo	DIAS																										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25		
INFECTADOS	1	91	-	-	-	-	PD	PD	PI	PI	PI	GT	GT	G	G	G	G	G	G	G	M								
		92	-	-	-	-	PD	PD	PI	PI	PI	GT	GT	GT	G	G	G	G	G	G	G	M							
		93	-	-	-	-	PD	PD	PD	PI	PI	GT	GT	GT	G	G	G	GT	GR	M									
		94	-	-	-	PD	PD	PI	PI	PI	GT	GT	GT	G	G	G	GT	GT	M										
		95	-	-	-	-	PD	PD	PI	PI	PI	PI	GT	GT	G	G	G	G	G	M									
INFECTADOS	2	96	-	-	-	-	PD	PD	PD	PI	PI	GT	GT	GT	GT	G	G	G	G	G	G	M							
		97	-	-	-	PD	PD	PI	PI	PI	GT	GT	GT	G	G	G	GT	GT	M										
		98	-	-	-	PD	PD	PD	PI	PI	PI	GT	GT	G	G	G	G	G	M										
		99	-	-	-	-	PD	PD	PD	PD	PI	PI	GT	GT	GT	G	G	G	G	G	M								
		100	-	-	-	-	PD	PD	PD	PD	PI	GT	GT	GT	GT	G	G	G	GR	M									
CONTROLES	3	101	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	DI	DI	DI	DI	GT	GT	GT	GT	GT	GT	
		102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	DI	DI	GT	GT	GT	GT	GT	GT	G	G	
		103	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	DI	DI	DI	GT	GT	GT	GT	GT	G	G	
		104	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	DI	DI	DI	GT	GT	GT	GT	GT	GT	G	G
		105	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	DI	DI	DI	DI	DI
CONTROLES	4	106	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	DI	DI	GT	GT	GT	GT	G	G	G	G	
		107	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	DI	DI	DI	GT	GT	GT	GT	GT	G	G
		108	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	DI	DI	DI	GT	GT	GT	GT
		109	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	DI	DI	DI	GT	GT	GT	GT
		110	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	DI	DI	GT	GT	GT	GT	G	G	G	G

* PD: Lesión párpado derecho
 * PI: Lesión párpado izquierdo

* GT: Lesión en genitales
 * G: Generalización

* M: Mortalidad
 * SR: Síntomas respiratorios

* DI: PD + PI
 * GR: G + SR

CUADRO 2. EVOLUCION DE LAS LESIONES EN LOS CONEJOS INOCULADOS Y CONTROLES.

<i>LESIONES A DIAS POST INOCULACION</i>																											
	Jaula	Nº conejo	DIAS																								
			26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
INFECTADOS	1	91																									
		92																									
		93																									
		94																									
		95																									
INFECTADOS	2	96																									
		97																									
		98																									
		99																									
		100																									
CONTROLES	3	101	GT	GT	G	G	G	G	G	G	G	G	M														
		102	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	M														
		103	G	G	G	G	G	G	G	G	G	M															
		104	G	G	GR	GR	GR	GR	GR	M																	
		105	DI	GT	GT	GT	GT	GT	GT	G	G	G	G	G	G	G	G	G	M								
CONTROLES	4	106	G	G	G	GR	GR	GR	GR	M																	
		107	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	M														
		108	GT	G	G	G	G	G	G	GR	GR	M															
		109	GT	GT	G	G	G	G	G	G	G	G	G	M													
		110	G	G	G	G	GR	GR	GR	M																	

* PD: Lesión párpado derecho
 * PI: Lesión párpado izquierdo

* GT: Lesión en genitales
 * G: Generalización

* M: Mortalidad
 * SR: Síntomas respiratorios

* DI: PD + PI
 * GR: G + SR

CUADRO 3.- VALORACIÓN LESIONES CEPA VIRUS 7411

DÍAS	CONEJOS	
	INFECTADOS	CONTROLES
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	3	0
5	10	0
6	12	0
7	16	0
8	19	0
9	22	0
10	28	0
11	30	0
12	34	0
13	37	0
14	40	0
15	42	0
16	43	2
17	48	12
18	52	14
19	56	20
20	58	23
21	60	25
22	F.P.	28
23		32
24		34
25		35
26		35
27		37
28		40
29		41
30		42
31		42
32		42
33		46
34		47
35		50
36		54
37		56
38		58
39		58
40		58
41		58
42		60
43		F.P.

Valoración lesiones

Lesión párpado derecho = 1

Generalización = 4

Lesión párpado izquierdo = 2

Síntomas respiratorios = 5

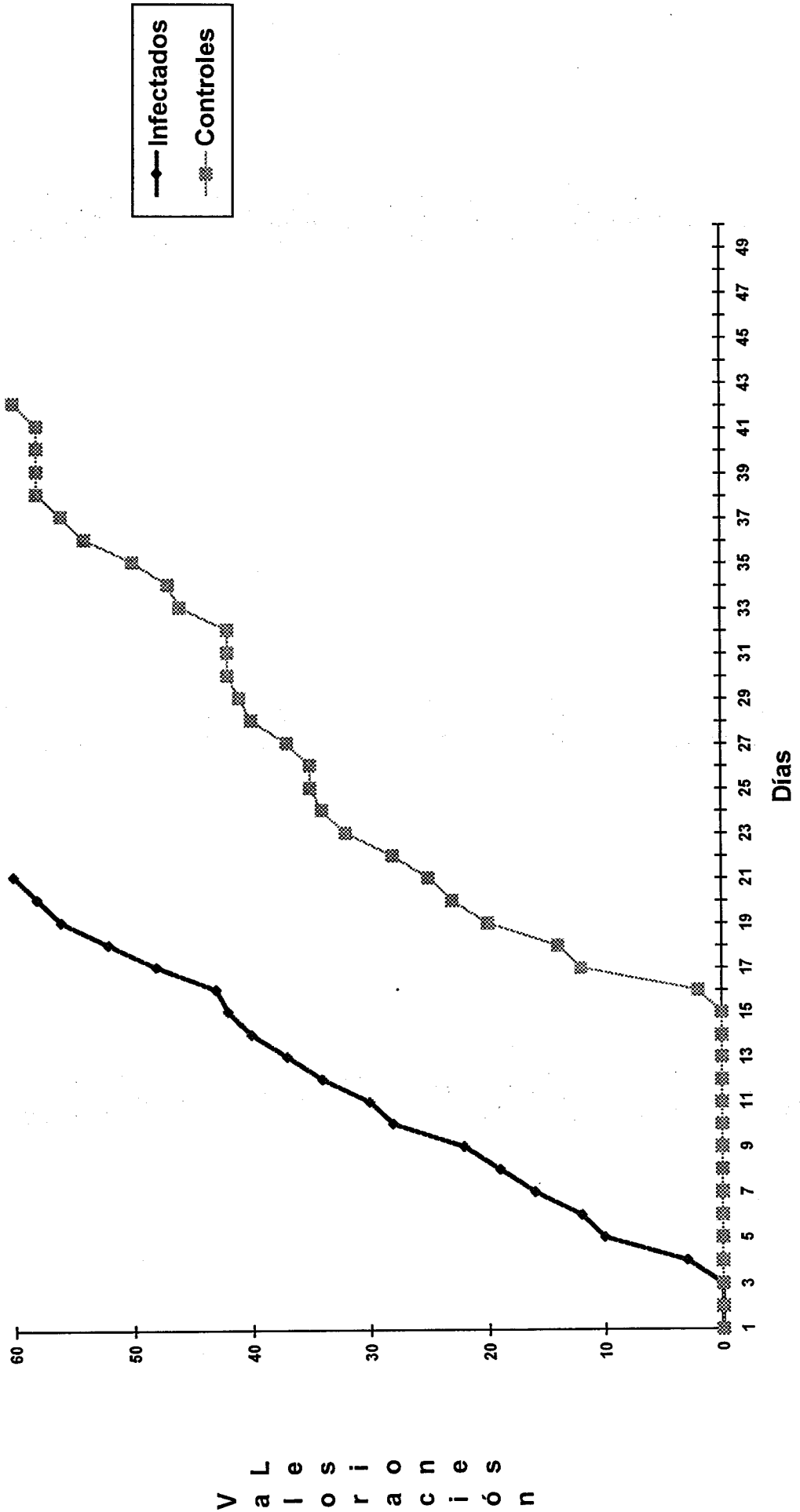
Lesión mucosa escrotal y perianal = 3

Muerte = 6

F.P. = Final de la prueba por muerte de los conejos.

GRÁFICA 1

VALORACIÓN LESIONES - Cepa Virus 7411



CATEGORIZACIÓN DE LA CEPA 7411

Tal como se desprende de los datos sites en el cuadro 3 de valoración de las lesiones, la cepa 7411 tiene la siguiente evolución lesional expresada en el cuadro 4:

CUADRO 4.

	Inicio lesiones/ días p.i.	Muerte / días p.i.		Sobrevivientes %
		Inicio	Final	
Conejos infectados	4	17	21	-
Conejos controles	16	33	42	-

Tal como se observa en el cuadro anterior, la difusión de la cepa 7411 de los conejos infectados a los controles es de 16 días y la muerte en los conejos infectados se produce en 21 días, lo que indicaría que la cepa 7411 es una cepa de categoría:

- Patogenicidad: **Mesogénica.**
- Difusión: **Media.**

CUADRO 5.- EFICACIA VACUNAL

Nº Conejos	Tipo vacuna	% sobrevivientes a los 20 días post-challenge
10	MIXOHIPRA-FSA (Heteróloga)	100%
10	MIXOHIPRA-H (Homóloga)	100%
10	—	0%

CONCLUSIONES

- Queda constatada la presencia de virus de Mixomatosis en Canarias.
- La categoría del virus es mesogénica. Las lesiones en los conejos infectados empiezan a los 4 días post-inoculación (p.i.). La muerte se inicia a los 17 días p.i. y a los 21 días p.i. mueren el 100% de los conejos infectados.
- La difusión es media ya que se produce a los 16 días post-contacto, muriendo el 100% de los conejos a los 42 días post-contacto con los conejos infectados.
- Las vacunas heterólogas y homólogas neutralizan totalmente el efecto de este virus a nivel experimental.

BIBLIOGRAFÍA

- ⁽¹⁾ Delille P.F.A. (1953) "Une méthode nouvelle permettant à l'agriculture de lutter efficacement contre la pululation du lapin" C.R. agric Fr. 39/638.
- ⁽²⁾ Sanchez-Botija, C. Arroyo, C. Blanco A. 1954 "Identificación de la Mixomatosis del conejo en España". Rev. Patrón Biol. anim. 1-75.
- ⁽³⁾ Joubert, L. Duclos P., Tuailon P. 1972 y 1973 "La Myxomatose I y II". L'expansion éditeur Paris.

Islas Canarias
Abril 1997