

ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA INMUNOHISTOQUÍMICA PARA LA DETECCIÓN DEL VIRUS RÁBICO EN EL LABORATORIO DE PATOLOGÍA VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE CALDAS

INTRODUCCIÓN

A las ya altas tasas epidemiológicas de enfermedades controlables, como malaria, dengue clásico y hemorrágico, fiebre amarilla, tuberculosis y leishmaniosis se agregan los brotes de rabia humana de origen canino o felino observados en el territorio colombiano.

La rabia es una enfermedad letal transmitida al hombre por animales domésticos o silvestres producida por el virus rábico perteneciente al género *Lyssavirus* de la familia *Rhabdoviridae*, prevenible mediante vacunación.

El aumento de la casuística de pacientes con síndromes neurológicos en nuestra facultad, ha hecho imperativo maximizar los esfuerzos para que los alumnos de Mvz y personal en general conozcan más de la enfermedad.

OBJETIVOS

Estandarizar la técnica de inmunohistoquímica en el laboratorio de Patología Veterinaria de la Universidad de Caldas permitiendo realizar vigilancia del virus rábico obteniendo a su vez información oportuna y confiable del comportamiento de la rabia en el medio.

Formar profesionales con conocimientos sólidos en dicha neuropatología.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron tejidos cerebrales de animales naturalmente infectados que llegaron en los últimos años a procedimiento necroscópico y de los cuales se realizó un oportuno diagnóstico a través del instituto nacional de salud pública como ente de referencia.

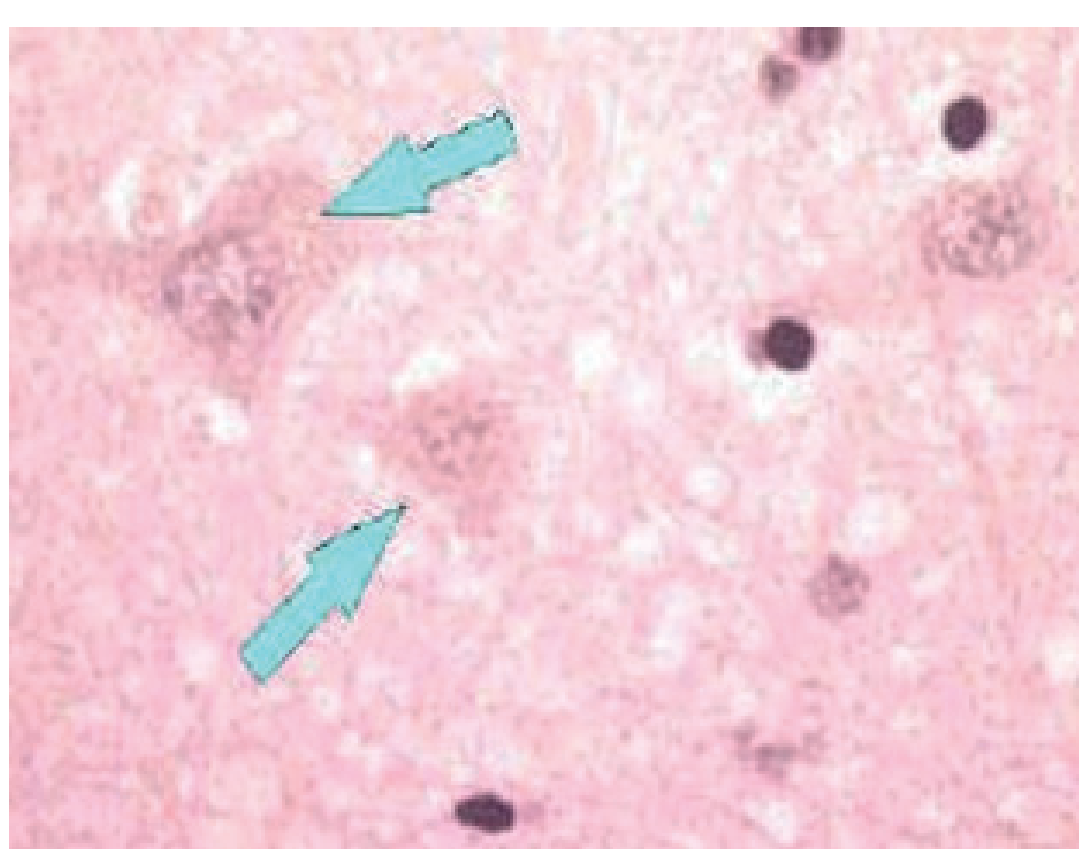
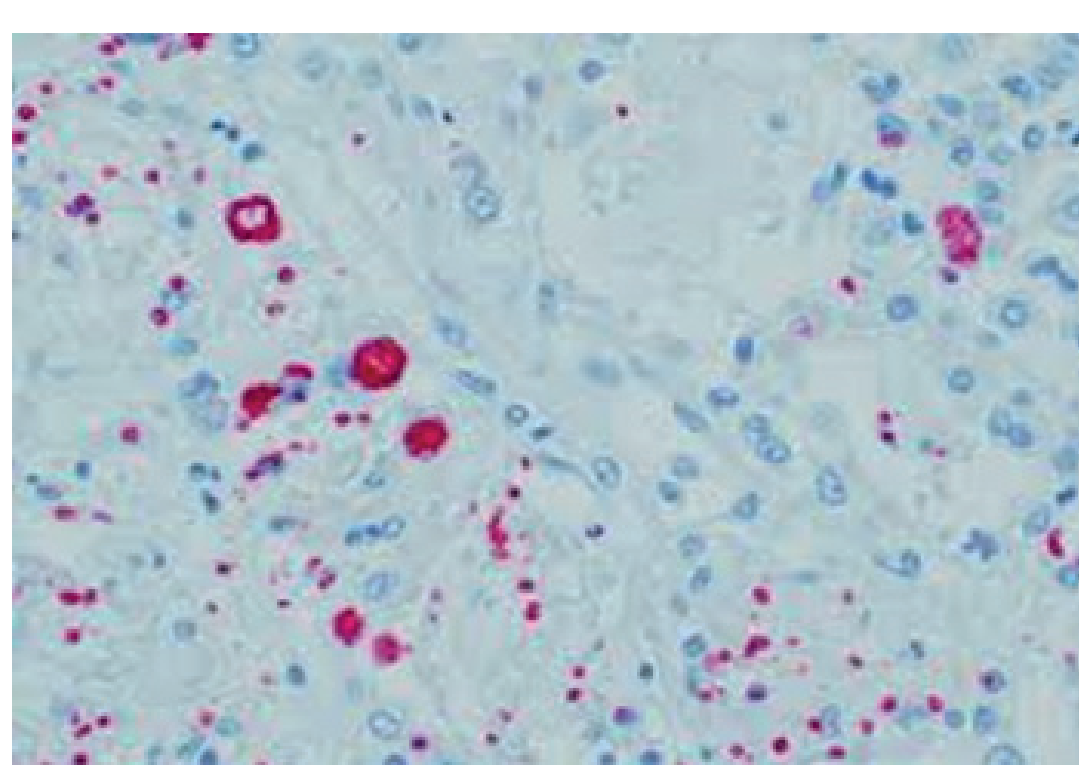
Fue realizada la técnica inmunohistoquímica clásica a fin de detectar los antígenos rábicos presentes en las muestras. Fueron usados tejidos cerebrales sanos como control negativo.

Conociendo lo difícil del proceso de recuperación antigénica del virus rábico, se probaron varios tipos de recuperación a fin de establecer cuales combinaciones facilitaban la observación de los corpúsculos de inclusión viral o Cuerpos de Negri.

RESULTADOS

Se observó que la mejor recuperación antigénica fue obtenida tras el uso de un protocolo mixto de proteasa durante 3 minutos o tripsina con cloruro de calcio a 37°C durante 30 minutos más la recuperación térmica en olla de vapor durante 60 minutos.

Además de la peroxidasa del rábano, que es la enzima más utilizada en estas técnicas, el uso de otras enzimas como la estreptoavidina marcada con fosfatasa alcalina o la glucosa-oxidasa en nuestras pruebas, mostro como ventaja la disminución del marcaje inespecífico (Background) observado con el sistema de peroxidasa endógena del DAB.



Inmunohistoquímica del virus rábico marcado con fosfatasa alcalina (Tejido cerebral). Se observan los cuerpos de inclusión viral (cuerpos de negri). Vs Técnica clásica con coloración de rutina. Se observan cuerpos de inclusión viral intracitoplasmáticos.

CONCLUSIÓN

Dada la importancia de la detección oportuna del virus rábico en el medio y de su adecuado seguimiento, se deben crear estrategias que permitan mejorar la detección e identificación del mismo como parte importante en el diagnóstico diferencial de todos aquellos pacientes con algún tipo de manifestación neuropatológica.

BIBLIOGRAFÍA

Beltrán FJ, Dohmen FG, Del Pietro H, Cisterna DM. Diagnosis and molecular typing of rabies virus in samples stored in inadequate conditions. *J Infect Dev Ctries.* 2014; 8(8):1016-1021.

Guarino H, Castilho JG, Souto J, Oliveira RDN, Carrieri ML, Kotait I. Antigenic and genetic characterization of rabies virus isolates from Uruguay. *Virus Res.* 2013;173(2):415-420.

Johnson N, Aréchiga CN, Aguilar SA. Vampire bat rabies: ecology, epidemiology and control. *Viruses.* 2014; 296(5):1911-1928.

King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz E. *Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses, Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* 2012. Academic Press an Imprint of Elsevier, USA.

Páez A, Núñez C, García C, Boshell J. Molecular epidemiology of rabies epizootics in Colombia: evidence for human and dog rabies associated with bats. *J Gen Virol.* 2003; 84:795-802.