

## **6 Zusammenfassung**

Mittels der indirekten Peroxidasetechnik wurde eine Methode zum Virusantigennachweis in formalinfixiertem Organmaterial von Kaninchen entwickelt, welche an der Rabbit Viral Haemorrhagic Disease erkrankt waren.

Unter Verwendung eines Kaninchenhyperimmunserums (Anti-RHDV-Serum) als primärer Antikörper und eines Schwein-anti-Kaninchenimmunglobulin-Peroxidase-Konjugates als Sekundärantikörper ließ sich RHDV-Antigen regelmäßig in Präparaten der Leber, nur im Einzelfall allerdings in der Niere darstellen. Die Färbung in Leberzellen war hauptsächlich im Zytoplasma aber auch in Kern und Zytoplasma von Hepatozyten lokalisiert.

Bei der Anwendung der indirekten Peroxidasetechnik in einem Infektionsversuch, in welchem experimentell RHDV-infizierte Kaninchen jeweils im Abstand von sechs Stunden getötet wurden, konnten folgende Beobachtungen gemacht werden:

24 Stunden post infectionem zeigten die Kaninchen eine erhöhte Körpertemperatur sowie geringgradige pathologisch-anatomische und histologische Veränderungen insbesondere in der Leber. Gleichzeitig ließ sich RHDV-Antigen in den einzeln oder herdförmig gelegenen, histologisch alterierten Hepatozyten immunhistochemisch nachweisen. Die Färbung erstreckte sich anfangs auf das Zytoplasma, im weiteren Verlauf der RVHD auf Zytoplasma und Kern der Hepatozyten.

Die histologischen Veränderungen wie auch die RHDV-Antigendarstellungen in der Leber nahmen schnell an Umfang zu. Im Finalstadium waren nahezu alle Hepatozyten degeneriert bzw. nekrotisch, wobei die ab 36 bis 42 h p.i. häufig beobachtete vakuoläre Degeneration offensichtlich unabhängig von dem Vorhandensein von Virusantigen in diesen Zellen auftrat und vermutlich auf Hypoxie infolge von Zirkulationsstörungen zurückzuführen war. Ab 42 h p.i. waren die immunhistochemischen Farbpräzipitate als mehr diffus und wenig zellgebunden zu bezeichnen, was Anlaß zu der Folgerung gab, daß das Virus aus den hochgradig nekrotischen Hepatozyten in Interzellularräume gelangte und auch ein Übertritt in das Blutgefäßsystem und somit eine Virämie wahrscheinlich wurde.

**Ute von Elling:**

**Immunohistochemical detection (indirect immunoperoxidase method) of Rabbit Haemorrhagic Disease Virus (RHDV) in tissues of naturally and experimentally infected domestic rabbits.**

## **7 Summary:**

**The objective of this investigation was to develop a method for the detection of virus antigen in organs of rabbits, affected with Rabbit Viral Haemorrhagic Disease. For this purpose, formalin fixed tissues were examined with the indirect peroxidase method.**

**Using a rabbit-hyperimmune-serum (Anti-RHDV-Serum) as primary antibody and a Pig-anti-Rabbit-Immunoglobulin-Peroxidase-Conjugate as secondary antibody, RHDV-antigen could constantly be detected in sections of the liver, but only in one case be found in the kidney. The stain in liver-cells was mostly located in the cytoplasm but could also be found in the nucleus and the cytoplasm of hepatocytes.**

**In a further part of the investigation rabbits were experimentally infected with RHDV and killed at intervals of six hours. Their tissues were examined with the indirect peroxidase method. The results were as follows:**

**24 hours post infectionem (p.i.) the rabbits showed an increase in body temperature. At necropsy slight pathological and histological lesions, especially in the liver, could be found. At the same time, immunohistochemical detection of RHDV-antigen was possible in single histologically altered hepatocytes and in clusters of these cells. At first, staining was only located in the cytoplasm but in the further course of RVHD it could also be found in nucleus and cytoplasm of hepatocytes.**

**Histological alterations as well as the incidence of RHDV-antigen detection in the hepatic tissues showed rapid increase. At the final stage of the disease almost all of the hepatocytes showed degeneration or necrosis. The occurrence of vacuolar degeneration which was frequent from 36 to 42 hours p.i. was apparently not dependent on the presence of viral antigen but probably due to hypoxia resulting from circulatory disorders. From 42 h p.i. on immunohistochemical staining was more diffuse and less cell-associated. This fact led to the assumption that the virus was released from highly damaged necrotic hepatocytes into the intercellular space and probably into the blood vascular system causing viraemia.**