

DERMATITE ULCERATIVA HERPETICA IN UN GATTO: DIAGNOSI IMMUNOISTOCHEMICA

SAMUELE NEPI, VANNA FORNARI, ERSILIA PAPPALARDO[°], FRANCESCA ABRAMO*

Libero Professionista, Firenze - [°]Libero Professionista, Acireale (CT) -

*Dipartimento di Patologia Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Pisa, Pisa

Riassunto

Viene segnalato un caso di dermatite herpetica felina caratterizzato da lesioni ulcerative facciali. Istologicamente erano rilevabili lesioni necrotiche e flogosi neutrofilica a carico di epidermide e follicoli e corpi inclusi intranucleari amfofilici, di caratteristico aspetto metallico, nei cheratinociti follicolari della regione infundibolare, istmica e bulbare. Con siero di un gatto con infezione herpetica nella fase acuta della malattia è stata condotta una indagine immunoistochimica che ha consentito di evidenziare una netta positività nucleare in aree focali della parete follicolare del gatto in esame. In alternativa all'isolamento virale o ad indagini più sofisticate quali la PCR o la microscopia elettronica l'indagine immunoistochimica può essere considerata un valido mezzo diagnostico di screening in caso di dermatite ulcerativa facciale felina di sospetta origine virale.

Summary

A case of feline herpesvirus associated dermatitis characterised by facial ulceration is described. The main histological alterations are epidermal and follicular necrosis, neutrophilic suppurative inflammation and the presence of intranuclear amphophilic inclusion bodies in the follicular keratinocytes. The serum obtained from another cat in the acute phase of herpesvirus infection has been used to perform immunohistochemistry. A clear intranuclear positivity has been detected focally in the follicular keratinocytes. Immunohistochemistry must be considered a useful diagnostic tool for feline facial ulcerative dermatides when a viral cause is suspected.

INTRODUZIONE

L'herpesvirus felino tipo 1 è responsabile di infezioni del tratto respiratorio superiore, di polmoniti, di glossiti, di congiuntiviti, di cheratiti e di aborti.^{1,2,3,4} Sono stati segnalati anche rari casi di infezione generalizzata che, in genere, interessano animali debilitati o soggetti neonati e, sempre raramente, casi caratterizzati da coinvolgimento cutaneo e della mucosa orale. Nei casi con coinvolgimento cutaneo, le lesioni si presentano multifocali con localizzazione variabile, di tipo sia ulcerativo che necrotizzante. Le lesioni istologiche risultano caratterizzate da una dermatite ulcerativa con un infiltrato che può presentarsi di volta in volta neutrofilico, eosinofilico, plasmocitario e dalla presenza di corpi inclusi intranucleari nelle cellule epiteliali.^{5,6,7,8,9,10}

Questo lavoro descrive l'aspetto clinico e istopatologico di un caso di dermatite ulcerativa herpetica felina con localizzazione facciale e suggerisce l'utilità diagnostica dell'esame immunoistochimico.

Caso clinico

Un gatto comune europeo, maschio castrato, di nove anni di età veniva condotto alla visita clinica per la presenza di una lesione ulcerativa facciale multifocale, insorta da circa un mese. Il gatto era stato normalmente vaccinato. All'esame obiettivo generale il soggetto si presentava in buone condizioni di salute e l'unica alterazione presente era quella cutanea riferita dal proprietario. All'esame dermatologico si rilevavano due ulcere asimmetriche a margini netti, delle dimensioni di circa 1-2 cm, localizzate nella regione facciale compresa tra il canto mediale dei due occhi e nella zona laterale destra della canna nasale (Fig. 1).

L'esame microscopico del pelo presente alla periferia della lesione non evidenziava alterazioni strutturali né presenza di elementi fungini. La scarificazione per la ricerca di parassiti forniva esito negativo. All'esame citologico effettuato sia per impronta che dopo lieve scarificazione si evidenziavano materiale proteico di fondo, numerosi eritrociti e granulociti neutrofili, alcuni dei quali degenerati. Veniva effettuata una biopsia cutanea ai margini della lesione ulcerativa e in attesa del referto veniva prescritta una terapia antibiotica con cefadrossile 20 mg/kg BID (Cefacure tabs[®] compresse 200 mg, 1/2 compressa BID).

“Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 22/2/2004 ed accettato per pubblicazione dopo revisione il 5/9/2004”.



FIGURA 1 - Lesioni ulcerative facciali multifocali in gatto con dermatite herpetica.

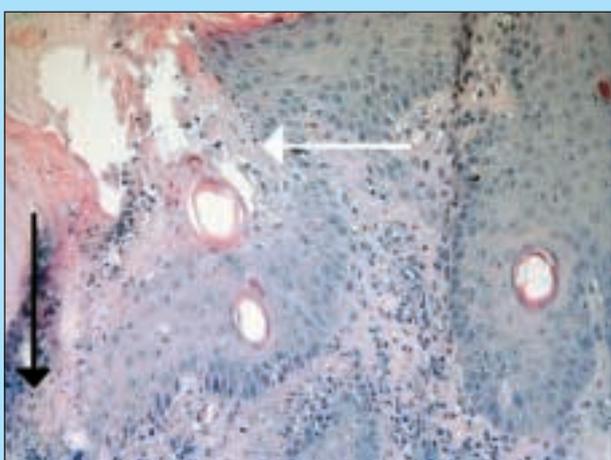


FIGURA 2 - Istologia della cute. Ulcera cutanea con necrosi dell'epidermide (freccia nera) e di parte della parete follicolare (freccia bianca) (E-E, medio ingrandimento).

All'esame istopatologico si osservavano aree focali di ulcerazione con necrosi sia dell'epidermide che della porzione infundibolare dei follicoli (Fig. 2). L'epidermide alla periferia delle ulcere appariva moderatamente iperplastica. Nel derma, soprattutto nelle aree sottostanti le zone ulcerative, si apprezzava una dermatite perivascolare e periannessiale di tipo prevalentemente neutrofilico. Nei cheratinociti follicolari, a livello del bulbo, dell'istmo e dell'infundibolo si rilevava la presenza di corpi inclusi intranucleari amfofilici, con caratteristico aspetto metallico, che condizionavano la marginazione della cromatina (Figg. 3, 4). Il rilievo di tali corpi inclusi, anche se presenti solo in aree molto limitate del prelievo biotico consentiva di emettere una diagnosi presuntiva di dermatite herpetica. Al gatto veniva quindi effettuata l'applicazione di aciclovir pomata (Zovirax®) due volte al giorno. Al test sierologico risultava positivo al virus dell'immunodeficienza felina.

Per una migliore caratterizzazione dei corpi inclusi, che solo per la loro localizzazione intranucleare e la caratteri-

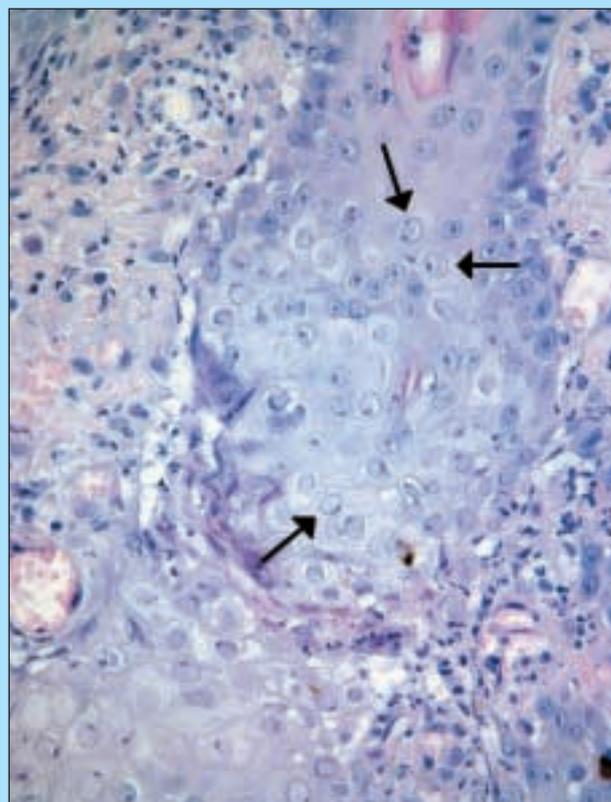


FIGURA 3 - Istologia della cute. Presenza di corpi inclusi intranucleari nei cheratinociti del follicolo (freccie) (E-E, forte ingrandimento).

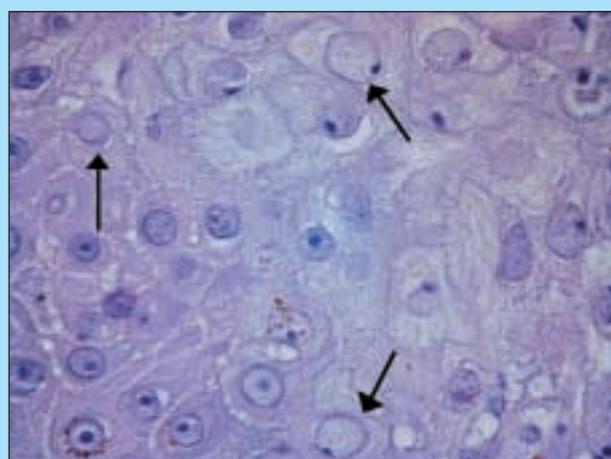


FIGURA 4 - Istologia. Corpi inclusi intranucleari amfofilici con tipico aspetto metallico e marginazione della cromatina (freccie) (E-E, immersione).

stica affinità tintoriale avevano indirizzato verso la diagnosi di dermatite herpetica, è stata condotta un'indagine immunoistochimica. Come anticorpo primario veniva utilizzato il siero di un gatto con infezione herpetica in atto e in fase acuta. Il gatto aveva manifestato lesioni cutanee ulcerativo-crostose sia sul muso che sugli arti compatibili con la diagnosi di dermatite ulcerativa cronica herpetica e dalle croste erano state identificate particelle virali riferibili ad Herpes mediante microscopia elettronica.¹¹

Per l'indagine di immunistoichimica sezioni di tessuto, ottenute dalla biopsia cutanea fissata in formalina e routinariamente processata, sono state deparaffinate, reidratate in una serie decrescente di alcoli e trattate con Endblocker (Biomedica Corp., Foster City, CA, USA) al fine di bloccare l'attività perossidasi endogena. L'applicazione del siero come anticorpo primario è stata preceduta da una breve incubazione con un siero immune di cavallo. Il siero del gatto con infezione herpetica è stato utilizzato non diluito e a diluizioni scalari di 1:2, 1:10 e 1:20. Come controllo negativo alcune sezioni sono state incubate con un anticorpo non relato. Le sezioni di tessuto sono state in seguito incubate con anticorpo di cavallo pan-specifico biotinilato (Vector Laboratories inc., Burlingame, CA, USA) e il complesso streptavidina-perossidasi (Biospa, Milan, Italy). La reazione colorimetrica è stata effettuata mediante NovaRed (Vector, Mi) e la positività valutata in base alla presenza di una colorazione rossa intranucleare evidenziabile nelle sezioni controcolorate con ematosilina. In alcuni cheratinociti follicolari circondati da intensa reattività flogistica neutrofilica la positività color rosso ha consentito una facile identificazione dei corpi inclusi intranucleari (Figg. 5, 6).

Discussione

L'infezione herpetica felina può presentarsi clinicamente come forma classica e come forma cutanea ulcerativa. La forma classica può manifestarsi in forma acuta o in forma cronica.^{10,12}

La forma acuta interessa, nella maggior parte dei casi, cuccioli e gatti giovani e i sintomi clinici, prevalentemente respiratori delle vie superiori, possono associarsi a quadri più generici caratterizzati da disoressia/anoressia, abbattimento e febbre. Sempre in questa forma sono di frequente riscontro lesioni oculari, caratterizzate da cheratocongiuntivite con accumulo di materiale mucoso o mucopurulento e da blefarospasmo.^{1,4}

La forma cronica colpisce prevalentemente soggetti adulti che in età giovanile hanno manifestato e superato la malattia;¹³ raramente è la conseguenza di una reinfezione, più frequentemente si tratta della riattivazione di una infezione latente. Il virus infatti si localizza e permane in forma latente nel ganglio del trigemino e, secondo alcuni autori, anche in altre sedi da cui, in fasi successive può riattivarsi.^{12,13,14,15} La prevalenza delle forme di infezione latente è stimata essere dell'80% con possibile riattivazione e successiva eliminazione del virus in circa la metà di questi soggetti. Numerosi fattori stressanti possono indurre la riattivazione del virus; e tra questi ricordiamo il sovraffollamento, i cambi di ambiente (traslochi e/o pensionamenti), le mostre, il parto, l'allattamento e la somministrazione di glucocorticoidi o, più in generale, stati di immunosoppressione.^{12,14} Nei gatti adulti i sintomi clinici della forma cronica sono più lievi della forma acuta e generalmente si tratta di lesioni oculari; la cheratite herpetica sembra essere dovuta ad una riattivazione del virus che diffonde lungo o attraverso il nervo trigemino sino all'occhio.⁴

Sporadici casi di forme cutanee ulcerative/necrotizzanti multifocali sono stati descritti in passato.^{5,6} In una prima segnalazione, in tre casi di dermatite ulcerativa herpetica le lesioni si erano manifestate successivamente ad una ova-

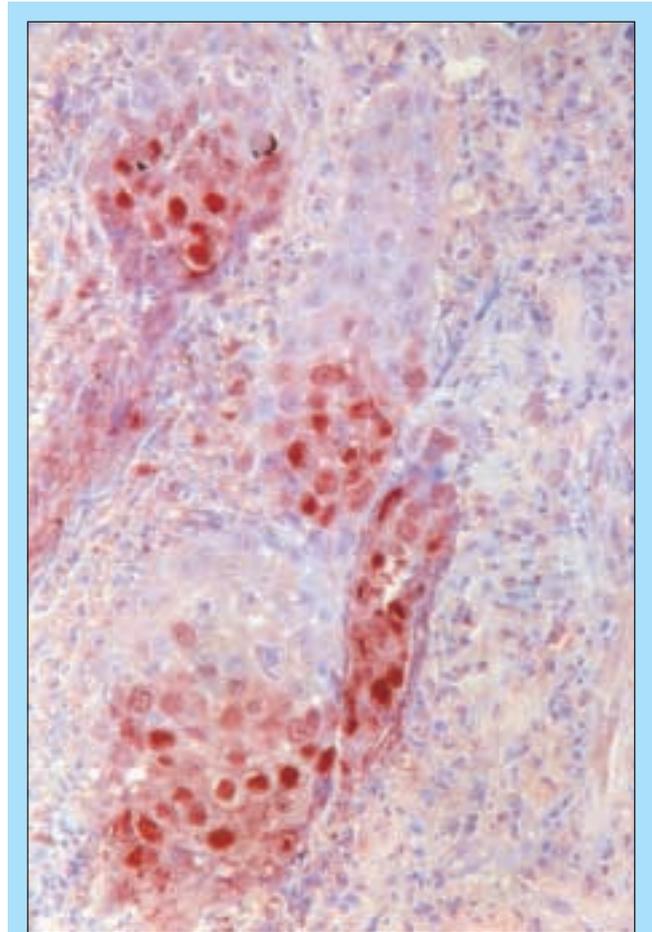


FIGURA 5 - Immunistoichimica con siero di gatto con infezione herpetica in fase acuta, marcata positività intranucleare (metodo streptavidina-perossidasi, medio ingrandimento) (il siero è stato gentilmente fornito dalla dr. Katia Bucci).

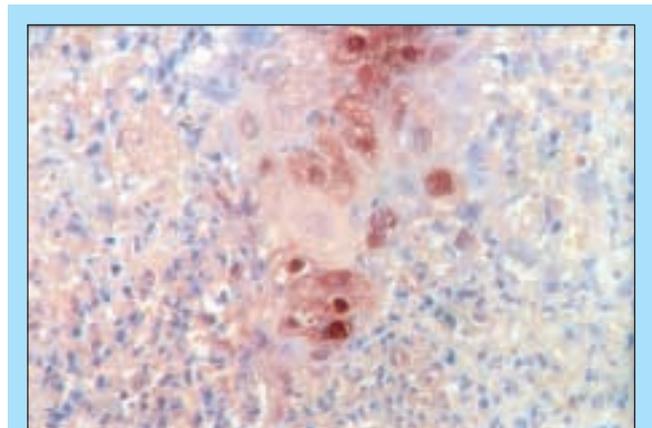


FIGURA 6 - Immunistoichimica. Netta positività intranucleare in un follicolo necrotico circondato da reazione neutrofilica (metodo streptavidina-perossidasi, forte ingrandimento).

roisterectomia e in tutti i casi l'herpesvirus era stato isolato dalle ulcere cutanee.⁵ In una seconda descrizione tre gatti, di cui due adulti e uno molto giovane, avevano manifestato lesioni ulcerative sia cutanee che orali e l'herpesvirus era stato isolato dalle lesioni cutanee.⁶ Una terza segnalazione descriveva lesioni ulcerative in un gatto, in seguito

alla vaccinazione annuale, in questo caso il virus era stato evidenziato tramite microscopia elettronica.⁷

L'herpes virus felino di tipo 1 è stato anche isolato da ulcere cutanee di cuccioli di ghepardi ospitati in zoo, che presentavano le stesse caratteristiche cliniche e istopatologiche osservate nei gatti domestici.¹⁶

È di recente pubblicazione una rassegna su 9 casi di dermatite herpetica felina in cui la localizzazione delle lesioni risulta essere in modo caratteristico quella facciale.¹⁰ Mentre nelle segnalazioni precedenti l'esame istologico riportava la presenza nelle biopsie di alterazioni ulcerativo/necrotiche di solito accompagnate da infiltrato neutrofilico e plasmacellulare, nella rassegna di Hargis *et al.*¹⁰ viene sottolineata la presenza nell'infiltrato di una cospicua componente eosinofila tale che, ad una prima lettura dei preparati, le lesioni potevano sembrare attribuibili a dermatiti eosinofile secondarie a malattia parassitaria o allergica.

La natura ulcerativa e necrotica dell'infezione rende piuttosto difficile l'individuazione dei corpi inclusi nei cheratinociti. Corpi inclusi intranucleari di tipo A di Cowdry sono stati talvolta evidenziati solo dopo un attento riesame del preparato biptico.^{6,10} Per la conferma della diagnosi di dermatite herpetica è quindi spesso necessario ricorrere a metodologie specifiche quali la PCR, l'ibridazione in situ (IIS), l'isolamento virale, la microscopia elettronica e l'immunoistochimica.^{6,10,17} Le tecniche di PCR e IIS hanno comunque un limitato valore diagnostico in quanto la loro positività può essere legata alla presenza di portatori sani (con virus integrato nel genoma) piuttosto che ad uno stato di infezione in corso. Anche nel caso descritto le lesioni ulcerative erano localizzate in modo tipico a livello facciale e solo un attento esame del preparato biptico ha consentito il rilievo dei corpi inclusi amfofilici. Questi erano presenti solo in piccole aree della biopsia e solo in cheratinociti follicolari circondati da reazione suppurativa. In medicina umana viene descritta una variante di dermatite herpetica, la follicolite herpetica, in cui le tipiche lesioni balloniformi dei cheratinociti sono evidenti solo nella guaina follicolare esterna e sono accompagnate da estesi fenomeni necrotici della guaina follicolare interna.¹⁸ L'indagine immunoistochimica ha sicuramente facilitato la lettura del preparato, tale metodica può essere quindi considerata un valido mezzo diagnostico di screening in caso di lesioni ulcerative facciali feline di sospetta origine virale. L'utilizzo dell'immunoistochimica come test diagnostico nelle infezioni da herpesvirus felino è già stato impiegato e descritto precedentemente in un gatto.¹⁷

Le lesioni ulcerative facciali e della mucosa orale nel gatto possono avere numerose diagnosi differenziali tra le quali le più frequenti sono i traumi, le reazioni di ipersensibilità (alimentare, atopia, puntura di artropodi), le infezioni batteriche/fungine, le reazioni da corpi estranei, le neoplasie, e le condizioni idiopatiche.^{19,20} Risulta, quindi, chiaro come la diagnosi definitiva di dermatite ulcerativa herpetica possa essere difficile, sia per le molteplici diagnosi differenziali da porre, sia per la frequente assenza o presenza di rari corpi inclusi nelle sezioni cutanee.

La diagnosi di dermatite herpetica richiede l'analisi accurata dei segni clinici compatibili con una infezione virale da herpesvirus quali interessamento dell'apparato respiratorio superiore e dell'apparato oculare. Esami di laboratorio quali l'esame emocromocitometrico e il profilo biochimico non evidenziano nulla di specifico, ma rivelano segni

di infezione generica con leucocitosi e neutrofilia nelle prime fasi dell'infezione e linfocitosi durante la fase di remissione della malattia. Le indagini sierologiche dei gatti infetti non sono di alcun valore diagnostico nei gatti vaccinati e che hanno già manifestato la malattia.^{19,20}

Il presente lavoro descrive gli aspetti clinico-patologici della rara forma ulcerativa cutanea dell'infezione herpetica felina e suggerisce, in alternativa all'isolamento virale o ad indagini più sofisticate, l'impiego dell'immunoistochimica per l'evidenziazione dei corpi inclusi.

Parole chiave

Gatto, dermatite ulcerativa facciale, herpesvirus, corpi inclusi, immunoistochimica.

Key words

Cat, facial ulcerative dermatitis, herpesvirus, inclusion bodies, immunohistochemistry.

Bibliografia

- Holzworth J: Naturally occurring upper respiratory infection in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 158: 964-8, 1971.
- Bistner SI, Carlson JH, Shively JN et al: Ocular manifestations of feline herpesvirus infection. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 159: 1223-1237, 1971.
- Crandell RA: Feline viral rhinotracheitis (FVR). *Adv. in Vet. Sc. And Comp. Med.* 17: 201-224, 1973.
- Nasissse MP: Feline herpesvirus ocular disease. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 20: 667-680, 1990.
- Johnson RP, Sabine M: The isolation of herpesviruses from skin ulcers in domestic cats. *Vet. Record* 89: 360-3, 1971.
- Flecknell PA, Orr CM, Wright AI, et al.: Skin ulceration associated with herpesvirus infection in cats. *Veterinary Record* 104: 313-5, 1979.
- Clark EG, Haines DM, Head LL et al.: Primary viral skin diseases in three cats caused by three different viruses and confirmed by immunohistochemical and/or electron microscopic technique on formalin-fixed tissue. *Proceedings AAVD/ACVD* 9:56, 1993.
- Wojciechowski J, Ginn P, Kunkle G et al.: Herpesvirus dermatitis in a cat. *Proceedings of the 14th American Academy of Veterinary Dermatology and American College of Veterinary Dermatology Meeting, San Antonio*, p.85, 1998.
- Hargis AM, Ginn PE: Feline herpesvirus 1-associated facial and nasal dermatitis and stomatitis in domestic cats. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 29: 1281-1290, 1999.
- Hargis AM, Ginn PE, Mansell JEK, Garber RL.: Ulcerative facial and nasal dermatitis and stomatitis in cats associated with feline herpesvirus 1. *Veterinary Dermatology.* 10, 267-274, 1999
- Bucci K, Salemi GP, Abramo F: Un caso di dermatite facciale da herpesvirus in un gatto. *Quaderni di Dermatologia* 2: 7-9, 2000.
- Gaskell RM, Povey RC: Experimental induction of feline viral rhinotracheitis reexcretion in FRV-recovered cats. *Vet. Record* 100: 128-133, 1977.
- Gaskell RM, Dennis PE, Goddard LE et al.: Isolation of felid herpesvirus 1 from the trigeminal ganglia of latently infected cats. *J. Gen. Virol.* 66: 391-394, 1985.
- Gaskell RM, Povey RC: Re-excretion of feline viral rhinotracheitis virus following corticosteroid treatment. *Vet. Rec.* 93: 204-5, 1973.
- Bastian FO, Rabson AS, Yee CL et al.: Herpesvirus varicellae isolated from human dorsal root ganglia. *Arch.f Pathol.* 97:331-3, 1974.
- Junge RE, Miller E, Boever WJ, Scherba G, Sundberg J. Persistent cutaneous ulcers associated with feline herpesvirus type 1 infection in a cheetah. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 198: 1057-8, 1991.
- Suchy A, Bauder B, Gelbman W et al.: Diagnosis of feline herpesvirus infection by immunohistochemistry, polymerase chain reaction, and in situ hybridization. *J. Vet. Diagn. Invest.* 12: 186-191, 2000.
- Massi G. *Atlante di Dermatopatologia.* Masson SpA, Milano, p: 135, 1995.
- Greene CE. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 2 edn. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998.
- Scott DW, Miller WHJr, Griffin CE. *Small Animal Dermatology*, 6 edn. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001.