

L'INFEZIONE DEL CANE DA PARVOVIRUS TIPO 1 (CPV-1): RILIEVI VIROLOGICI ED ANATOMO-ISTOPATOLOGICI

ANNAMARIA PRATELLI, MARIA TEMPESTA, FRANCESCO CIRONE, VITO MARTELLA, FRANCO GUARDA*, CANIO BUONAVOGLIA

Dipartimento di Sanità e Benessere Animale - Facoltà di Medicina Veterinaria - Bari - Italia

** Dipartimento di Patologia Animale - Facoltà di Medicina Veterinaria - Torino - Italia*

Riassunto

Vengono riportati i risultati delle prove virologiche e la descrizione delle lesioni anatomo-istopatologiche osservate in cinque cuccioli di due distinte cucciolate, morti per infezione da parvovirus del cane tipo 1 (CPV-1). Due soggetti, di 35 giorni di età, sono morti evidenziando una grave sintomatologia cardio-respiratoria. Gli altri tre soggetti, di 10 giorni di età, sono morti con gravi sintomi a carico dell'apparato gastroenterico.

Dagli omogenati d'organo di tutti i soggetti sono stati isolati, su cellule WRCC, stipiti CPV-1 identificati in prove di Immunofluorescenza Indiretta.

Summary

Results of virological investigations and the description of the histological findings observed in five pups from two different litters and dead for CPV-1 infection, are reported. Two 35-day-old pups died for severe either cardiac and respiratory distress. The other three 10-day-old pups died with severe gastroenteric symptoms.

From the organ homogenates of all the pups, CPV-1 strains were isolated onto WRCC cell line and identified by Indirect Immunofluorescence assay.

INTRODUZIONE

Il parvovirus del cane tipo 1 (CPV-1), anche noto come *Minute Virus of Canines* (MVC), è un parvovirus autonomo del cane isolato per la prima volta nel 1967 dalle feci di cani sani¹.

MVC possiede caratteristiche antigeniche e genomiche nettamente distinte dal parvovirus del cane tipo 2 (CPV-2) responsabile di gravi forme di gastroenterite emorragica nei cuccioli di 40-50 giorni³.

Il potere patogeno di CPV-1 in condizioni naturali è molto variabile: il virus è stato infatti evidenziato sia nelle feci di cani normali che in quelle di soggetti con diarrea^{1,4}. CPV-1 è stato anche isolato da cuccioli di 2 settimane di età morti con una grave forma di enterite e di patologia respiratoria⁶.

Prove di infezione sperimentale hanno evidenziato che CPV-1 può causare una patologia di gravità variabile nei cuccioli di 1 settimana di età, mentre nelle cagne gravide può determinare riassorbimento embrionale o la morte dei

feti qualora l'infezione venga effettuata tra il 25° e il 35° giorno di gestazione^{2,5}.

Recentemente in Svezia è stato segnalato il primo caso di malattia causata da CPV-1 al di fuori degli Stati Uniti⁷. In una cucciolata di schnauzer nani, due soggetti sono morti a 7 e 9 giorni di età con una forma gastroenterica, un soggetto è stato sottoposto ad eutanasia in quanto colpito da una grave patologia respiratoria, mentre gli altri 2 sono guariti. Gli esami istopatologici e virologici hanno permesso di evidenziare negli organi sia l'antigene CPV-1 sia le tipiche inclusioni intranucleari. Inoltre dagli omogenati di intestino è stato isolato uno stipite CPV-1 su cellule di cane *Walter Reed Canine Cell* (WRCC).

In Italia nel 1998 è stato riportato l'isolamento di CPV-1 da cuccioli con una grave forma di polmonite⁸. Un'indagine sierologica ha inoltre evidenziato una significativa presenza di anticorpi specifici in un campione di sieri prelevati nelle province di Bari e Napoli⁹.

Nella presente nota vengono riportati i risultati degli esami virologici e le lesioni anatomo-istopatologiche osservate in 5 cuccioli morti per infezione da CPV-1.

MATERIALI E METODI

Descrizione dei casi clinici

Nel mese di giugno 1998 sono stati esaminati due cuccioli (n.1 e n.2) di 35 giorni di età, morti all'improvviso con sintomi respiratori. I due animali appartenevano ad una cucciolata di 5 soggetti di razza pastore tedesco (cucciolata A). Gli altri 3 cuccioli avevano presentato lievi sintomi respiratori ed erano guariti nel giro di una settimana.

L'esame autoptico dei soggetti n.1 e n.2 ha messo in evidenza una grave forma di polmonite (Fig. 1) ed una imponente degenerazione e necrosi del miocardio, mentre non è stata rilevata alcuna lesione intestinale.

L'altra cucciolata di razza pastore tedesco (cucciolata B) era costituita da 7 soggetti, tre dei quali (n.3, n.4, n.5), a circa 10 giorni di età erano morti improvvisamente presentando forte abbattimento, letargia, una grave forma respiratoria con dispnea, e diarrea emorragica.

L'esame autoptico dei soggetti n.3, n.4 e n.5 ha permesso di evidenziare una imponente ed estesa polmonite interstiziale, degenerazione cardiaca ed una enterite emorragica a carico dell'intestino tenue, particolarmente evidente nel cucciolo n.5.

Prove virologiche

Campioni di polmone e intestino di ciascun soggetto sono stati omogenati al 20% (p/v) in terreno RPMI-L15 (GIBCO) contenente antibiotici (5000 U.I./ml penicillina, 2500 µg/ml streptomina, 10 µg/ml amfotericina B). Dopo centrifugazione a 2000xg x 20', il surnatante di ciascun campione è stato inoculato su cellule WRCC subito dopo la tripsinizzazione. Per la crescita delle cellule, è stato utilizzato il terreno RPMI-L15 contenente il 10% di siero fetale bovino.

Le cellule sono state osservate ogni giorno per valutare la comparsa di effetto citopatico (ECP). Dopo 8 giorni di incubazione, in assenza di ECP, le cellule sono state sotto-

poste a 3 cicli di congelamento e scongelamento e con il criolisato è stato effettuato il passaggio successivo.

Dopo 24, 48, 72 e 96 ore dall'infezione, monostrati cellulari sviluppati su vetrini sono stati sottoposti a colorazione con ematossilina-eosina e a prove di Immunofluorescenza Indiretta (IFI).

Il test IFI è stato effettuato utilizzando un siero di cane positivo per CPV-1 gentilmente fornito dal prof. L.E. Carmichael e -globuline di topo anti IgG di cane marcate con fluoresceina (Sigma).

Esami istologici

Frammenti di polmone, cuore e intestino sono stati fissati in formalina tamponata al 10% e inclusi in paraffina. Le sezioni istologiche ottenute sono state colorate con ematossilina ed eosina.

RISULTATI

Le prove di isolamento su cellule WRCC hanno permesso di osservare un ECP di scarsa entità nelle colture inoculate con il secondo passaggio degli omogenati di polmone di entrambi i soggetti della cucciolata A, e con l'omogenato di intestino del cucciolo n.5 della cucciolata B. Nei passaggi successivi tutti i campioni hanno indotto un ECP che è comparso più rapidamente (24-48h post infezione) ed è risultato più evidente (Fig. 2).

Nelle cellule sviluppate su vetrini ed inoculate con i campioni in esame già dopo 24h dall'infezione sono stati evidenziati i tipici corpi inclusi intranucleari (Fig. 3) ed una marcata fluorescenza intranucleare (Fig. 4).

Nelle sezioni di intestino è stata evidenziata una grave enterite catarrale con accentuata infiltrazione di cellule mononucleate nei villi che, nella parte superiore, hanno mostrato fenomeni di desquamazione e necrosi (Fig. 5). Negli strati muscolari più interni della parete intestinale la flogosi è risultata di minore intensità.

Nell'epitelio interstiziale sono stati evidenziati rari inclusi intranucleari (Fig. 6).

Nelle sezioni di polmone è stata osservata una polmonite interstiziale molto grave con infiltrazione nei setti interalveolari di cellule mononucleate (Figg. 7 e 8).



FIGURA 1 - Polmoni di cucciolo morto per infezione da CPV-1.

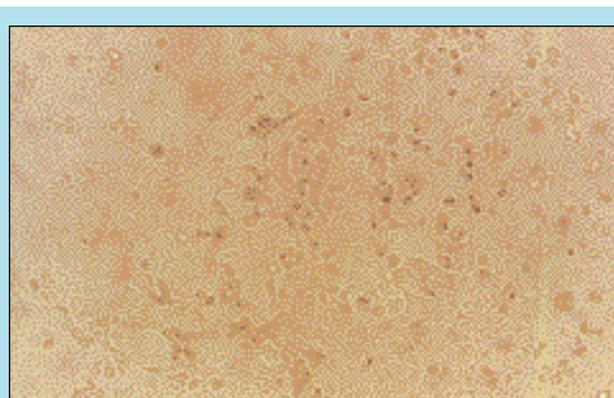


FIGURA 2 - Cellule WRCC con effetto citopatico da CPV-1 (10X).

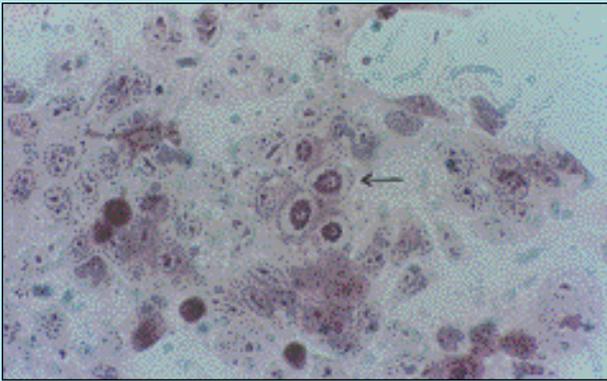


FIGURA 3 - Cellule WRCC con i tipici inclusi intranucleari. Colorazione Ematossilina - Eosina (40X).

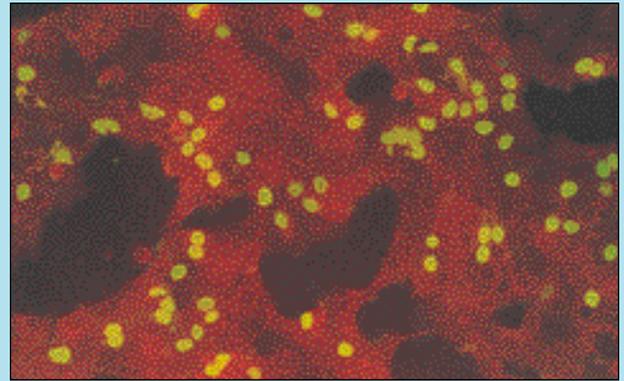


FIGURA 4 - Cellule WRCC: fluorescenza intranucleare (20X).

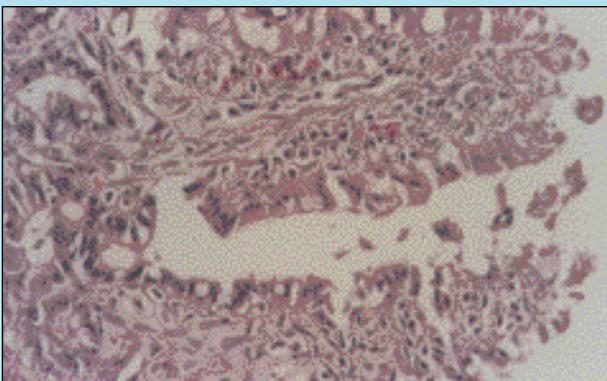


FIGURA 5 - Intestino di cucciolo morto per infezione da CPV-1: desquamazione e necrosi dei villi.

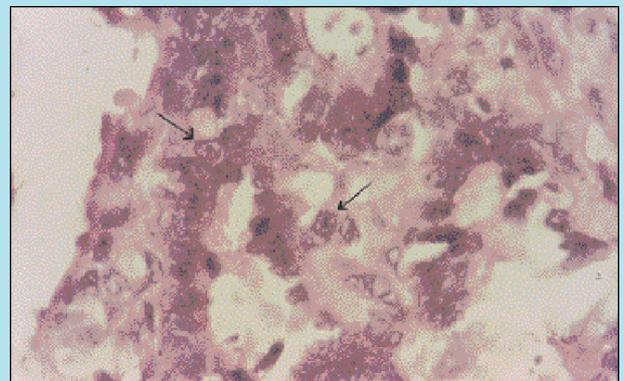


FIGURA 6 - Intestino di cucciolo morto per infezione da CPV-1: tipici corpi inclusi intranucleari.

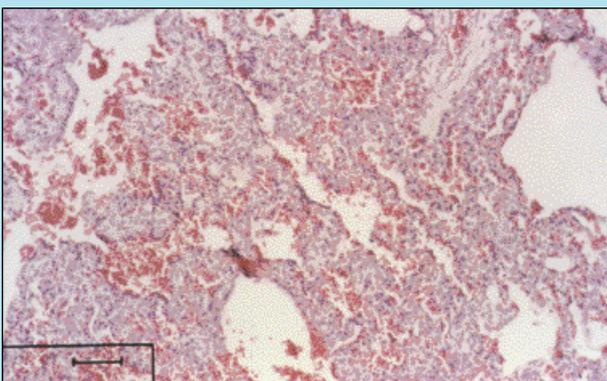


FIGURA 7 - Polmonite interstiziale con infiltrazione di cellule mononucleate.

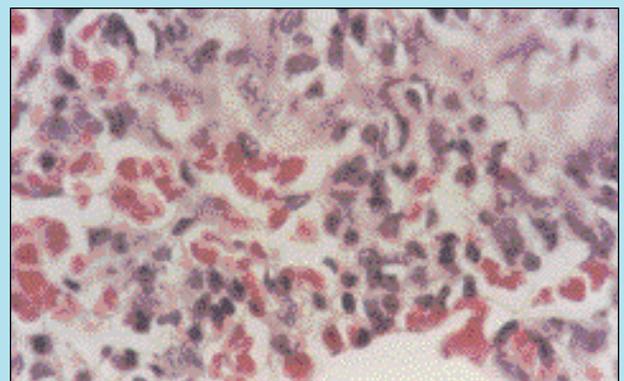


FIGURA 8 - Polmonite interstiziale con infiltrazione di cellule mononucleate.

È stato anche evidenziato un enfisema alveolare con rottura delle pareti degli alveoli.

Nel miocardio è stato constatato un marcato edema intestiziale con divaricamento delle fibre (Fig. 9) e assenza di flogosi. Sono stati inoltre osservati fenomeni degenerativi dei nuclei con prevalenza della carioliisi mentre solo raramente sono stati notati inclusi intranucleari. Evidenti anche numerose cellule di Anitschkov (Fig. 10).

DISCUSSIONE

È noto che la patogenicità di CPV-1 per il cane in condizioni naturali è molto variabile, dal momento che tale virus è stato isolato sia da animali in perfetto stato di salute^{1, 4} e sia, anche se più raramente, da cuccioli con gravi forme cliniche talvolta mortali^{5, 6, 7}.

Gli episodi di mortalità da CPV-1 descritti nella presente nota rappresentano quindi, oltre che un dato epidemio-

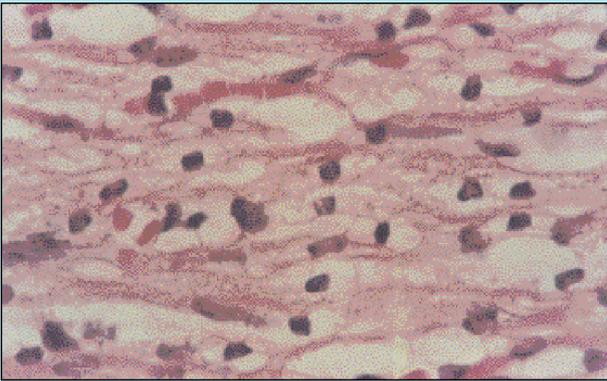


FIGURA 9 - Edema interstiziale del miocardio.

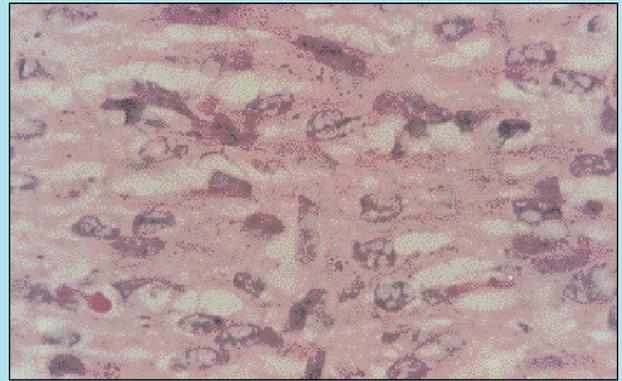


FIGURA 10 - Fenomeni degenerativi del miocardio e presenza di cellule di Anitschkov.

logico particolarmente significativo in merito alla circolazione di CPV-1 nella popolazione canina d'Italia, anche una rara segnalazione di infezione naturale da CPV-1 caratterizzata da un decorso clinico molto grave e da esito letale.

Le imponenti lesioni istologiche osservate a carico dei polmoni e dell'intestino, confermano l'evoluzione particolarmente grave dell'infezione nei cuccioli esaminati. Il raro ritrovamento dei corpi inclusi intranucleari sia nelle cellule del polmone che nei villi intestinali, potrebbe essere imputato alla rapida evoluzione dell'infezione.

I risultati dell'indagine sierologica per CPV-1 effettuata nelle province di Bari e Napoli⁹, i dati relativi all'isolamento di CPV-1 in Italia⁸, i risultati riportati nella presente nota, complessivamente evidenziano una significativa diffusione di CPV-1 nella popolazione canina dell'Italia, e possono rappresentare per il medico veterinario un importante orientamento diagnostico in presenza di episodi di mortalità di cuccioli di 1-3 settimane di età affetti da patologie a carico dell'apparato gastroenterico e respiratorio.

Parole chiave

Cane, parvovirus tipo 1, isolamento, lesioni.

Key words

Dog, parvovirus type 1, isolation, lesions.

Abbreviazioni

CPV-1: *canine parvovirus type 1*. MVC: *Minute virus of canines*. WRCC: *Walter Reed Canine Cell*. SFB: siero fetale bovino. ECP: effetto citopatico. IFI: Immunofluorescenza Indiretta.

Bibliografia

1. Binn L.N., Lazar E.C., Eddy G.A., et al., 1970. Recovery and characterization of a minute virus of canines. *Infect. Immun.* 1: 503-508.
2. Carmichael L.E., 1987. Canine Parvovirus type 1 (Minute Virus of Canines). In: *Virus Infections of Vertebrates*, Horzinek M.C., series ed., Vol.I. *Virus Infections of Carnivores*, Appel M.J., Elsevier Science Publishers, ed. Amsterdam, pp 63-67.
3. Carmichael L.E., Binn L.N., 1981. New enteric viruses in the dog. In: *Advances in veterinary science and comparative medicine*, ed. Cornelius CE, Simpson CF, Academic Press, New York, NY, pp 1-37.
4. Carmichael L.E., Joubert J.C., Pollock R.V.H., 1980. Hemagglutination by canine parvovirus: serologic studies and diagnostic applications. *Am. J. Vet. Res.* 41: 784-791.
5. Carmichael L.E., Schlafer D.H., Hashimoto A., 1994. Minute virus of canine (MVC, canine parvovirus type-1): Pathogenicity for pups and seroprevalence estimate. *J. Vet. Diagn. Invest.* 6: 165-174.
6. Harrison L.R., Styer E.L., Pursell A.R., Carmichael L.E., Nietfeld J.C., 1992. Fatal disease in nursing puppies associated with minute virus of canine. *J. Vet. Diagn. Invest.* 4: 19-22.
7. Jarplid B., Johansson H., Carmichael L.E., 1996. A fatal case of pup infection with minute virus of canines (MVC), *J. Vet. Diagn. Invest.* 8:484-487.
8. Pratelli A., Buonavoglia D., Tempesta M., Guarda F., Carmichael L.E., Buonavoglia C., 1998a. Fatal canine parvovirus type 1 infection in pups from Italy. *J. Vet. Diagn. Invest.* (in press).
9. Pratelli A., Tempesta M., Cirone F., Martella V., Camero M., Buonavoglia C., 1998b. Canine Parvovirus tipo 1: risultati di una indagine sierologica. *OdV* 12: 61-63.