

# Le infezioni cutanee da herpesvirus nel gatto: aspetti patogenetici, manifestazioni cliniche e metodiche diagnostiche

## RIASSUNTO

Le lesioni cutanee causate da herpesvirus felino (felid herpesvirus 1, FHV-1) nel gatto sono poco frequenti, si presentano con un carattere erosivo-ulcerativo e si localizzano prevalentemente al muso. L'infezione da FHV-1 è più comunemente responsabile di malattie ad andamento acuto e cronico del distretto oculare e dell'apparato respiratorio. Il virus penetra nell'organismo attraverso la mucosa nasale, orale e congiuntivale. L'infezione è caratterizzata da una fase primaria e da un successivo periodo di latenza che può essere seguito da riattivazione in seguito ad immunodepressione. I segni clinici sono variabili ed aspecifici, tuttavia una diagnosi tempestiva è fondamentale per il corretto approccio terapeutico. In corso di dermatite herpetica, l'identificazione istopatologica dei corpi inclusi intranucleari è considerata diagnostica di infezione da FHV-1, ma gli inclusi sono difficili da identificare. Nei gatti in cui il sospetto clinico-patologico di infezione da FHV-1 permanga è possibile ricorrere ad altre metodiche diagnostiche quali la reazione a catena della polimerasi (*polymerase chain reaction*, PCR), l'isolamento virale, l'immunofluorescenza e l'immunoistochimica (IIC). Ad oggi la PCR è considerata il metodo di elezione per identificare la presenza di FHV-1. Scopo di questo lavoro è riassumere i dati riguardanti aspetti patogenetici, manifestazioni cliniche e principali metodiche diagnostiche dell'infezione cutanea da FHV-1.

Paola Persico (Med. Vet.)<sup>1</sup>,

Paola Roccabianca (Med. Vet., PhD, Dip. ECVP)<sup>2</sup>,

Antonella Vercelli (Med. Vet., Dip. CES)<sup>3</sup>,

Luisa Cornegliani (Med. Vet., Dip. ECVD)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Liberi professionisti, Milano; <sup>2</sup>Istituto di Anatomia Patologica e Patologia Aviare, Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano; <sup>3</sup>Ambulatorio Veterinario Associato, C.so Traiano 99/d, Torino

## INTRODUZIONE

Nel gatto, l'herpesvirus felino (felid herpesvirus 1, FHV-1) è responsabile di malattie ad andamento acuto e cronico, che possono interessare l'apparato respiratorio, gli occhi e, meno frequentemente, la cute. L'infezione è caratterizzata da una fase primaria cui segue un periodo di latenza; dopo quest'ultimo può verificarsi una riattivazione, per lo più conseguente ad immunodepressione.

La sintomatologia clinica è variabile a seconda dello stato immunitario del gatto colpito e sovrapponibile ad altre malattie virali. L'identificazione dell'agente eziologico è determinante per un corretto approccio terapeutico. Scopo di questo lavoro è riassumere i dati riguardanti aspetti patogenetici, manifestazioni cliniche e principali metodiche diagnostiche in caso di infezione sostenuta da FHV-1, con particolare riferimento alla cute.

## EZIOLOGIA: GENERALITÀ SULLA FAMIGLIA HERPESVIRIDAE E PARTICOLARITÀ DI FHV-1

Numerosi herpesvirus sono stati identificati in mammiferi, uccelli, rettili, anfibi, insetti e molluschi. Gli herpesvirus sono virus endonucleari, di dimensioni comprese tra 100 e 200 nm, con DNA a doppio filamento e nucleocapside a simmetria icosaedrica. Il virione è circondato da un *envelope* contenente lipidi e glicoproteine. Il virus, per le sue caratteristiche strutturali, è etere-sensibile e termolabile<sup>1,2,3</sup>. Il ciclo biologico della replicazione virale è caratteristico dei virus a DNA a doppio filamento<sup>1,2,3</sup>. La fase di replicazione utilizza una RNA-polimerasi cellulare e il processo di trascrizione porta alla formazione di proteine strutturali aggregate nel nucleo. Gli herpesvirus hanno la caratteristica di persistere per tutta la vita nei tessuti dell'ospite, malgrado la presenza di anticorpi circolanti, stabilendo così un'infezione latente.

La classificazione tassonomica degli herpesvirus è sottoposta a continua revisione<sup>1,4</sup> ed attualmente sono divisi in tre sottofamiglie:  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ <sup>1,2</sup>. Gli  $\alpha$ -herpesviridae (Tab. 1)<sup>1,4</sup> vengono definiti virus neurotropi per la caratteristica di risiedere, in forma latente, nei nervi craniali o nei gangli spinali. Sono responsabili delle lesioni delle mucose dell'apparato respiratorio, genitale e orale e di quelle a carico di occhi e cute<sup>1,2,3</sup>. Questi virus possiedono un elevato tropismo cellulare e causano necrosi tissutale (Tab. 2).

I  $\beta$ -herpesviridae stabiliscono un'infezione latente in diverse sedi, tra cui si annoverano le ghiandole salivari, il rene e i linfonodi (Tab. 2). Le cellule infettate presentano corpi inclusi molto grandi e possono andare incontro a lisi per la replicazione virale e la risposta del sistema immunitario dell'ospite<sup>1,2,3,5</sup>.

“Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 28/10/2008 ed accettato per la pubblicazione dopo revisione il 18/05/2009”.

**TABELLA 1**

Classificazione dei principali  $\alpha$ -herpesvirus suddivisi per genere, nome del virus e ospite più frequente<sup>1,4</sup>

Famiglia Herpesviridae, sottofamiglia $\alpha$ -herpesvirinae		
Genere	Virus	Ospite
Iltovirus	Herpesvirus pollo 1	Pollo
Mardivirus	Herpesvirus pollo 2-3	Pollo
Simplexvirus	Herpesvirus bovino 2	Bovino
	Herpesvirus cercopiteco 1- 2- 16	Macaco
Varicellovirus	Herpesvirus umano 1- 2	Uomo
	Herpesvirus bovino 1- 5	Bovino
	Herpesvirus bufalo 1	Bufalo
	Herpesvirus canino 1	Cane
	Herpesvirus caprino 1	Capra
	Herpesvirus cercopiteco 9	Primati
	Herpesvirus cervo 1-2	Cervo
	Herpesvirus equino 1-3-4-8-9	Equini
	Herpesvirus felino 1	Felini
	Herpesvirus umano 3	Uomo
	Herpesvirus foca 1	Foca
	Herpesvirus suino 1	Suino
Non assegnato	Herpesvirus psittacidi 1	Psittacidi

I  $\gamma$ -herpesviridae (detti anche herpesvirus linfotropici) instaurano un'infezione latente nelle cellule linfoidi, soprattutto linfociti B e T (Tab. 2). Il prototipo è il virus di Epstein-Barr, causa di un'infezione indicata come possibile modello sperimentale per lo studio dell'eziologia virale di alcuni tipi di tumore nell'uomo<sup>1,2,5</sup>.

FHV-1 è un virus appartenente alla sottofamiglia degli  $\alpha$ -herpesviridae<sup>1,4,6</sup> ed è strettamente correlato all'herpesvirus del cane (Canid herpesvirus 1, CHV-1)<sup>7,8</sup>, della foca (Phocid herpesvirus 1, PHV-1)<sup>8,9,10,11</sup> e del cavallo (Equid herpesvirus 1-3-4-8-9)<sup>8,12,13,14</sup>. Come gli altri herpesvirus, FHV-1 ha una doppia catena di DNA, circondata da un capsido icosaedrico e protetta da un tegumento proteico e da un *envelope* che contiene almeno dieci glicoproteine differenti<sup>14</sup>. Il virus è inattivato se esposto a temperature di 37° C per 3 ore ed è molto sensibile all'effetto dei comuni antisettici<sup>15</sup>. Alle basse temperature può rimanere infettante per 5 mesi (154 giorni a 4°C)<sup>16</sup>.

## EPIDEMIOLOGIA

Il gatto domestico sembra rappresentare l'ospite di elezione di FHV-1, anche se il virus è stato isolato da altri felini quali leoni, ghepard e puma<sup>14,17</sup>. Diversi studi hanno dimostrato che la sieropreva-

**TABELLA 2**

Esempi di herpesvirus responsabili di malattie, segni clinici e ospiti principali

Virus	Malattia e/o segni clinici riconducibili	Ospiti
<b><math>\alpha</math>-herpes virus</b>		
Herpes simplex 1 e 2 <sup>71,72,73,74,75</sup>	Lesioni a labbra, mucosa orale, cute, esofago e congiuntiva (Herpes simplex 1) o ai genitali esterni (Herpes simplex 2). Gruppi di vescicole che possono esitare in erosioni e/o ulcere	Uomo (ospite naturale e serbatoio)
Herpesvirus canino <sup>176,77,78,79,80</sup>	Infezione sistemica necrotizzante nei cuccioli e delle vie aeree superiori negli adulti	Cane (serbatoio naturale)
Herpesvirus suino 1	Pseudorabbia	Suini
Herpesvirus bovino 1-5	Rinotracheite infettiva del bovino, vulvovaginite pustolosa, balanopostite, aborto virale	Bovini
Herpesvirus equino 1-4 <sup>80,82,3</sup>	Aborto virale, rinopneumonite virale, morte neonatale, malattie neurologiche, enterocoliti, esantema coitale	Equini
Herpesvirus equino 3 <sup>12</sup>	Pustole, vescicole, erosioni e ulcere a livello di vagina, vulva, perineo, pene e prepuzio	Equini
Herpesvirus felino 1	Herpes felino	Felini
Herpesvirus dei volatili 1-3	Laringotracheiti	Pollo
<b><math>\beta</math>-herpes virus</b>		
Citomegalovirus Muromegalovirus Roseolovirus		Altamente specie-specifici per uomo, bovini, suini, equini, api, scimmie, topi, ecc.
<b><math>\gamma</math>-herpesvirus</b>		
Epstein-Barr virus	Mononucleosi infettiva	Uomo
Marek virus	Malattia di Marek	Pollo

lenza dell'infezione da FHV-1 nella popolazione felina è pari al 10-20%<sup>14,18,19,20,21</sup> e tale percentuale aumenta nelle colonie e nei gattili fino al 50%-80%<sup>20</sup>.

## PATOGENESI

Le vie naturali di penetrazione di FHV-1 sono le cellule epiteliali delle membrane delle mucose delle vie aeree superiori, della cavità orale e della congiuntiva<sup>14</sup>. La trasmissione di FHV-1 avviene per contatto diretto con secrezioni oculo-congiuntivali, orali e respiratorie emesse da animali infetti<sup>21,22,23</sup>. In alcune situazioni di sovraffollamento, come può avvenire nei gattili, la trasmissione può verificarsi indirettamente con oggetti contaminati dalle secrezioni infette<sup>14</sup> (es. ciotole non deterse e riutilizzate). L'eliminazione del virus inizia dopo 24 ore dall'infezione e continua per 1-3 settimane<sup>14,23,24,25,26,27</sup>. In condizioni naturali, i cuccioli si infettano con FHV-1 prima della vaccinazione ed i segni clinici variano in rapporto al livello di anticorpi materni<sup>23,24</sup>. Se la concentrazione di anticorpi materni è alta i cuccioli sono protetti dalla forma respiratoria e/o oculare della malattia, ma possono sviluppare infezioni latenti. Diversamente, se il livello anticorpale è basso si ha la comparsa dei segni clinici<sup>22,24</sup>. Superata l'infezione naturale da FHV-1, si può instaurare un'immunità umorale che non protegge dalla re-infezione<sup>14,21</sup>. L'infezione da FHV-1 può essere indotta sperimentalmente inoculando il virus nella vagina di gatte gravide, inducendo malattia nei cuccioli e, in casi sporadici, aborto spontaneo<sup>23</sup>.

La malattia, con segni clinici a carico delle vie aeree superiori e del distretto oculare, può avere un decorso acuto risolvendosi in 10-14 giorni o può presentarsi in forma cronica<sup>14</sup>.

L'infezione è caratterizzata da una fase primaria, da una di latenza neuronale e da recidive associate alla riattivazione del virus<sup>1,5,14,25</sup>. Nella fase primaria FHV-1 grazie alle giunzioni neuroepiteliali penetra nelle terminazioni nervose e, per via centripeta, giunge ai neuroni sensoriali e ai rispettivi gangli, sedi in cui si moltiplica. FHV-1 integra il proprio DNA in quello dei neuroni dell'ospite e, in forma episodica, stabilisce un'infezione latente (fase di latenza

neuronale) che può durare per tutta la vita dell'ospite<sup>1,2,14,28,29,30</sup>. Alcuni stimoli che inducono immunodepressione, come malattie e stress<sup>5,14</sup>, attivano il virus latente che inizia a replicare (riattivazione del virus) e, lungo la fibra nervosa sensitiva, arriva alle giunzioni neuroepiteliali colonizzando le cellule epiteliali da essi innervate. La presenza di FHV-1 nelle fibre nervose sembra permettergli di sfuggire all'azione degli anticorpi dell'ospite. Il meccanismo stress-indotto della riattivazione del virus non è del tutto chiaro ma sembra fondamentale il ruolo della risposta immunitaria<sup>14</sup>.

L'azione patogena di FHV-1 e le relative manifestazioni cliniche associate sembrano essere dovute a due meccanismi principali: l'effetto citolitico e l'effetto immunomediato. Il primo, caratterizzato dalla lisi cellulare causata dalla replicazione virale, si realizza nel corso dell'infezione primaria o durante la riattivazione<sup>31,32</sup>. L'effetto citolitico a carico delle cellule epiteliali<sup>14,31,32,33,34,35,36,37</sup> è responsabile delle manifestazioni cliniche erosive della cute e di altri tessuti dell'ospite, come cornea e mucosa nasale. L'effetto immunomediato è caratterizzato dall'infiltrazione di cellule infiammatorie, soprattutto linfociti, nei tessuti colpiti dal virus e da una bassa attività replicativa del virus<sup>31,32,33</sup>.

L'esatto meccanismo patogenetico di FHV-1 non è stato spiegato completamente, così come non è chiara la patogenesi delle lesioni cutanee da FHV-1<sup>14,31,32,33,34,35,36,37</sup>.

## MANIFESTAZIONI CLINICHE DELL'INFEZIONE DA FHV-1

FHV-1 è responsabile di malattie respiratorie e oculari come riniti acute e croniche<sup>18,34,35,36</sup>, cheratocongiuntiviti ulcerative<sup>29,37,38,39,40</sup>, sequestri corneali<sup>41,42</sup>, cheratocongiuntiviti eosinofiliche<sup>41</sup> ed uveiti anteriori<sup>43</sup>. Lo stesso virus può causare stomatiti<sup>28,44</sup> e dermatiti facciali e nasali ulcerative<sup>28,33,44,45,46,47,48,49</sup> (Tab. 3). La malattia respiratoria ha un periodo d'incubazione di 2-6 giorni e, nel caso in cui siano coinvolte le vie aeree superiori, l'infezione da FHV-1 è spesso associata a *Calicivirus* e/o *Chlamydomydia felis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Mycoplasma* spp., *Staphylococcus* spp. ed *Escherichia*

TABELLA 3  
Manifestazioni cliniche riscontrabili in corso di infezione acuta e cronica da FHV-1 nel gatto

Tipo di infezione	Principali segni clinici
Decorso acuto (caratterizzato dall'effetto citolitico del virus)	Congiuntiviti, ulcere corneali, scolo nasale, starnuti. Lesioni erosivo ulcerative localizzate soprattutto a muso, aree periorbitali e dorso del naso. Alcuni gatti infetti presentano lesioni simmetriche facciali che possono mimare malattie immunomediate. Possibile viremia con segni clinici sistemici che può portare a morte.
Decorso cronico (caratterizzato dall'effetto immunomediato)	Edema della cornea, sequestri corneali, cheratiti eosinofiliche, uveite, cecità. Sinusiti croniche caratterizzate da starnuti e scolo nasale.

colf<sup>1,50</sup>. I segni clinici iniziali della malattia includono depressione, starnuti, inappetenza e febbre, seguiti da secrezioni sierose nasali e oculari<sup>14,37</sup>. Questi possono accompagnarsi a salivazione eccessiva, correlata alla stomatite<sup>14,28,31,44,49</sup> e a scolo oculo-nasale inizialmente sieroso, che può diventare purulento per la presenza di infezioni batteriche secondarie<sup>14,31</sup>; si può osservare una linfoadenopatia regionale<sup>14,28,31,44,49</sup>. Nei casi più gravi si ha un coinvolgimento sistemico che può portare a morte il soggetto<sup>14,31</sup>. Raramente sono stati descritti segni neurologici<sup>11</sup>. La presenza di FHV-1 a livello corneale e/o ematico è stata evidenziata in gatti che presentavano sequestri corneali o cheratiti eosinofile<sup>38,39,40,41,49</sup>. Il DNA virale è stato riscontrato anche nell'umor acqueo di gatti affetti da uveite e questo potrebbe suggerire un ruolo del virus nel provocare l'infiammazione dell'uvea<sup>43</sup>. L'infezione da FHV-1 può manifestarsi con lesioni localizzate, come quelle sopraelencate, e/o sistemiche, con decorso asintomatico e/o fatale. La prognosi dipende dall'età e dallo stato immunitario dell'ospite<sup>1,5,11,14,31</sup>.

### MANIFESTAZIONI CLINICHE CUTANEE DELL'INFEZIONE DA FHV-1

Le lesioni cutanee causate da FHV-1 nel gatto sono poco frequenti<sup>14,17,28,30,31,33,44,46,47,48,49</sup>. Sono state descritte su muso (Fig. 1), aree periorbitali, dorso del naso ed estremità distali. Queste ultime lesioni sono forse dovute al contatto diretto con le secrezioni e/o le aree ulcerate del muso durante la toelettatura<sup>28,44,47,48</sup>. Alcuni gatti presentano lesioni simmetriche facciali che possono apparire simili a

quelle indotte da malattie di origine immunomediata<sup>48</sup>. Le lesioni cutanee sono erosive, ulcerative, crostose e talora vescicolari e si accompagnano ad eritema ed essudazione<sup>28,30,44</sup>. Il prurito è generalmente moderato o assente<sup>30,44</sup>. Può essere riscontrata una linfoadenopatia regionale collegata probabilmente a infezioni batteriche secondarie<sup>30,46,48</sup>. Le diagnosi differenziali includono l'ipersensibilità alla puntura e/o al morso di insetti, la reazione avversa al cibo, le malattie correlate al complesso del granuloma eosinofilo, le infezioni batteriche, altre dermatiti virali, il pemfigo foliaceo e alcune forme di neoplasia come il carcinoma squamocellulare<sup>30,48</sup>. Per quanto FHV-1 sia stato segnalato in altri felini, lesioni cutanee sono state osservate solo nei ghepard<sup>14,17</sup>. In questi ultimi è stata descritta una dermatite ulcerativa nasale associata a stomatite e caratterizzata istopatologicamente da un infiltrato eosinofilo e dal riscontro dei corpi inclusi caratteristici<sup>14,17</sup>.

### DIAGNOSI

I gatti che presentano un'infezione da FHV-1 acuta (fase primaria), presentano segni respiratori e congiuntivali comuni anche ad altri agenti patogeni; per questo motivo sono state perfezionate numerose metodiche di laboratorio atte ad identificare FHV-1 e a differenziarlo da altri patogeni nelle secrezioni oculo-congiuntivali, orali e respiratorie<sup>14,21,22,39</sup>. Durante le recidive associate alla riattivazione di FHV-1 la bassa attività replicativa del virus influisce sulla scelta degli esami complementari<sup>32</sup>.

### METODICHE DIAGNOSTICHE PER LA RICERCA DI FHV-1 NELLA CUTE DI GATTI CON LESIONI DERMATOLOGICHE

#### Reazione a catena della polimerasi (Polymerase chain reaction, PCR)

La PCR, tramite primer specifici, consente di identificare il virus nel campione in esame mediante l'amplificazione di una sequenza nucleotidica del DNA virale. Nei laboratori di diagnostica, per l'identificazione di FHV-1, si utilizzano PCR convenzionale, nested-PCR e real-time PCR<sup>26,27,43,50,51,52,53,54</sup>. I primer specifici amplificano una regione del gene della timidina chinasi che rappresenta uno dei target preferenziali per la diagnosi di infezione da herpesvirus tramite PCR<sup>41,49,51,55</sup>. La diagnosi molecolare sembra più sensibile dell'isolamento virale o dell'immunofluorescenza indiretta<sup>27</sup>. La PCR è attualmente considerata il metodo di elezione per valutare la presenza di FHV-1 nelle biopsie cutanee, oltre che in altri campioni biologici<sup>33,49,55,56,57</sup>. L'uso della PCR in campioni cutanei di gatti con



FIGURA 1 - Lesioni cutanee da FHV-1 localizzate su muso e dorso del naso.

dermatiti ulcerative facciali in cui si sospetta un'eziologia virale (FHV-1), ha diversi limiti. L'integrazione del DNA virale con il DNA cellulare dell'ospite non permette di differenziare l'infezione attiva dallo stato di portatore (infezione latente)<sup>14,32,58</sup>. Un altro limite nell'impiego della PCR è che la sensibilità varia a seconda del tipo di PCR impiegata, dal numero di cicli, dal tipo di primer, dal tampone, dalla temperatura e dall'eventuale contaminazione<sup>32</sup>. In generale, con l'aumentare della sensibilità (capacità di rilevare un basso numero di coppie) aumenta anche la possibilità di ottenere falsi positivi<sup>14,50,59</sup>. Un risultato positivo della PCR va sempre interpretato con cautela e correlato al quadro clinico<sup>49</sup> al fine di stabilire se le lesioni cutanee possono essere considerate conseguenza della presenza del virus.

### Isolamento virale

L'isolamento del virus si esegue con colture su linee cellulari feline in cui è possibile rilevare l'effetto citopatico causato dalla replicazione di FHV-1<sup>53</sup>. Tale metodica diagnostica potrebbe teoricamente essere applicata, anche se gli autori non hanno trovato studi effettuati in merito, su biopsie cutanee conservate ed inviate al laboratorio di riferimento in determinate condizioni di trasporto (a 4°C per un massimo di 1-24 ore).

L'isolamento virale può essere utile in corso di infezione acuta, vista l'elevata capacità replicativa virale. Nelle infezioni croniche tale metodica risulta difficoltosa<sup>43,53</sup> ed è considerata meno sensibile della PCR<sup>43</sup>.

### Tecniche immunologiche

L'identificazione di FHV-1 in campioni cutanei può avvenire tramite tecniche immunologiche (come immunofluorescenza e immunoistochimica)<sup>57</sup>. L'immunoistochimica è considerata un metodo diagnostico sensibile che permette l'identificazione di proteine specifiche di FHV-1 in biopsie cutanee<sup>53,56,60</sup>.

Il riconoscimento delle proteine virali è importante non solo per la dimostrazione di antigeni virali, ma indica l'avvenuta trascrizione dei geni e la traduzione dell'mRNA. L'immunoistochimica è in grado di evidenziare un'elevata quantità di proteine virali tale da poter essere ritenuta indicativa di un'infezione in corso e non di un'infezione latente (in cui vengono tradotte piccole quantità di proteine virali).

L'immunofluorescenza fornisce dati analoghi a quelli dell'esame immunoistochimico ed è ritenuta leggermente più sensibile ma è necessaria la lettura con un microscopio a fluorescenza<sup>14</sup>.

La tecnica ELISA viene utilizzata principalmente per rilevare anticorpi anti-FHV-1 nel siero, nell'umor acqueo e nel liquido cerebrospinale<sup>43,61</sup>. A conoscenza degli autori non sono stati pubblicati studi che riportino l'impiego della tecnica ELISA nella ricerca di FHV-1 in biopsie cutanee. Il li-

mite di utilizzo della tecnica ELISA è dovuto all'elevata sieroprevalenza, dovuta sia all'infezione naturale che alla vaccinazione. La presenza di anticorpi specifici non può essere correlata alla malattia e/o a un'infezione attiva<sup>32,43,61</sup>.

### Esame citologico

L'utilità e l'accuratezza diagnostica dell'esame citologico nell'identificazione di corpi inclusi in lesioni cutanee da FHV-1 non sono state valutate, nonostante quest'approccio si sia dimostrato utile in corso di cheratite herpetica<sup>38,39,60,62</sup>.

### Esame istopatologico cutaneo

I reperti istopatologici in corso di dermatite herpetica sono caratterizzati da necrosi focale a multifocale a carico dell'epidermide, generalmente accompagnate da formazione di croste sierocellulari<sup>48</sup>, a cui si associa grave degenerazione del derma superficiale. L'epidermide attigua alle ulcere appare acantotica e può presentare reperti di spongiosi, degenerazione balloniforme e, occasionalmente, vescicole. La necrosi e la spongiosi si possono estendere fino all'istmo dei follicoli piliferi. Non di rado si osserva iperplasia dell'epitelio dell'infundibolo follicolare non colpito da necrosi e spesso si evidenzia infiltrazione e degranolazione di granulociti eosinofili.

I corpi inclusi intranucleari, cosiddetti corpi metallici o amfophilici (Fig. 2), sono difficili da identificare e non sono sempre riscontrabili. Quando sono presenti si localizzano soprattutto nell'epidermide e nella parete follicolare adiacente ai foci di necrosi.

Nelle aree di necrosi profonda i corpi inclusi si possono rilevare più facilmente nelle cellule del-

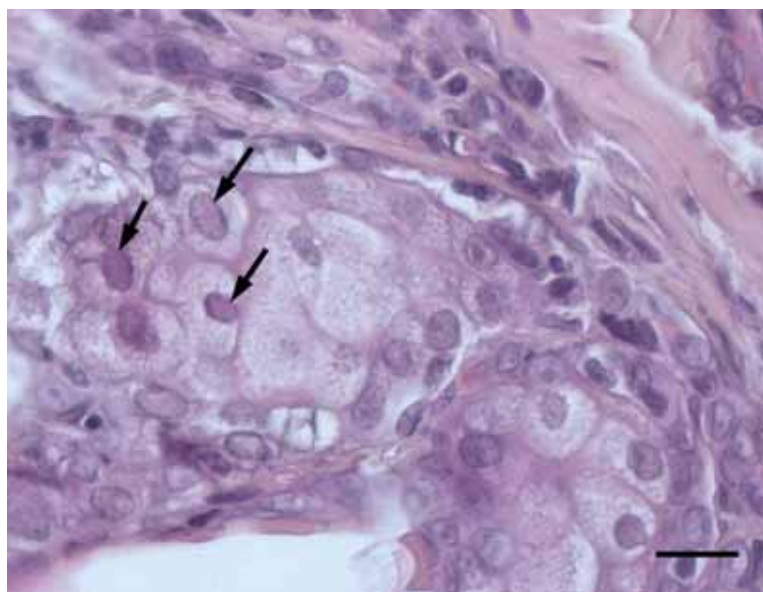


FIGURA 2 - Corpi inclusi intranucleari omogenei amfophilici da FHV-1 (frecce) con marginazione della cromatina nei sebociti. Barra di 1 cm pari a 20 micron (HE, 100X).

le ghiandole sebacee<sup>48</sup>. I corpi inclusi sono identificabili come un'area omogenea "metallica" che induce marginazione della cromatina e sostituisce il normale disegno nucleare. Il derma, nelle lesioni acute, mostra diffusi aggregati di granulociti neutrofili ed eosinofili da perivascolari a diffusi con successivo accumulo di macrofagi attivati, linfociti e plasmacellule. Nella maggior parte dei casi l'estesa distruzione tissutale, causata dall'infezione virale, e la presenza dell'infiltrato infiammatorio possono ostacolare la visualizzazione dei corpi inclusi<sup>48</sup>.

In caso di infiammazione caratterizzata dalla presenza di numerosi eosinofili, la lista delle diagnosi differenziali deve includere le malattie eosinofiliche (lesioni del complesso del granuloma eosinofilico felino e ipersensibilità alla puntura degli insetti) che possono dare quadri istopatologici sovrapponibili<sup>30,63</sup>. Nella placca eosinofilica istologicamente si riscontrano spongiosi e mucinosi a carico dell'epidermide<sup>64</sup>. Nell'ulcera indolente spesso si rileva intensa degranolazione degli eosinofili. Il quadro istopatologico della dermatite herpetica e dell'ipersensibilità alla puntura degli insetti non sono distinguibili se non si identificano i corpi inclusi intranucleari<sup>48</sup>.

Le diagnosi differenziali, per quanto riguarda le infezioni herpetiche con infiltrato neutrofilico, comprendono le infezioni batteriche croniche e le lesioni da cowpoxvirus. In quest'ultimo caso, il riscontro dei corpi inclusi di tipo A, caratteristici del cowpoxvirus (intracitoplasmatici, eosinofili, di dimensione variabile e spesso multipli), permette di formulare una diagnosi eziologica con l'esame istopatologico morfologico<sup>63</sup>.

Viste le numerose diagnosi differenziali possibili in caso di sospetta lesione cutanea causata da FHV-1, la letteratura corrente consiglia l'esecuzione di campionamenti biotici multipli, sia da aree ulcerate, sia da cute integra<sup>30</sup>.

L'esame istopatologico permette una diagnosi eziologica certa solo con il riscontro di corpi inclusi. Nel caso questi non siano evidenziabili ed il sospetto clinico permanga è necessario ricorrere ad altre tecniche quali l'immunoistochimica per l'identificazione dell'espressione proteica<sup>30,48</sup> e/o la PCR per la ricerca del DNA virale<sup>14,32,33,55,56,57,58</sup>.

## CONCLUSIONI

Le lesioni cutanee associate a FHV-1 hanno carattere erosivo, ulcerativo e necrotico. La sintomatologia è eterogenea e la diagnosi eziologica risulta complessa<sup>14,32,39,49,64,65,66,67,68,69,70</sup>. Una diagnosi corretta è importante per la terapia specifica<sup>49,65,66,67,68</sup>.

Le metodiche diagnostiche a disposizione sono molteplici e la scelta del test deve prendere in con-

siderazione il quadro clinico del soggetto. L'identificazione istopatologica dei corpi inclusi intranucleari è considerata diagnostica, ma questi possono essere difficili da identificare<sup>30,48</sup>. Nei casi in cui il sospetto clinico permanga in mancanza del riscontro istopatologico è necessario ricorrere ad altre metodiche diagnostiche<sup>14,32,50</sup>. Tra queste, la PCR è attualmente considerata il metodo di elezione o "gold standard", per identificare la presenza di FHV-1 nel gatto<sup>14,27,33,49,55,56,66,67,68</sup>. Tuttavia, la presenza di DNA virale non è direttamente correlabile all'attivazione del virus mentre il riscontro di una espressione proteica, come avviene tramite l'immunoistochimica, indica la trascrizione del virus, la sua attivazione ed il probabile ruolo nell'eziologia della lesione.

## Parole chiave

*Herpesvirus felino, eziopatogenesi, PCR, istologia cutanea.*

## ■ Feline cutaneous herpesvirus: aethio-pathogenesis, clinical lesions and diagnostic methods

## Summary

Cutaneous lesions caused by feline herpesvirus-1 (felid herpesvirus 1, FHV-1) are uncommon, mostly localised on the muzzle and characterized by ulcerative dermatosis. FHV-1 infection typically causes acute and/or chronic ocular and respiratory disease. The virus enters via nasal, oral or conjunctival mucosae. FHV-1 infection is characterized by an acute phase and a subsequent latent period which can be followed by reactivation due to stress. Clinical signs are not specific, however a prompt diagnosis is paramount for specific treatment. Detection of intranuclear viral inclusion bodies by histopathology is considered diagnostic but herpesvirus inclusion bodies are not detected in all cases. When herpesvirus inclusion bodies are not detected, but clinical signs are suggestive of the disease, testing by polymerase chain reaction (PCR), virus isolation, immunofluorescent assay (IFA) and immunohistochemistry (IHC) may be useful. PCR is now the preferred method to detect FHV-1 infection. The objective of this review is to describe the pathogenesis, clinical signs and major diagnostic tests for detection of FHV-1 in skin lesions.

## Key words

*Feline herpesvirus, aethio-pathogenesis, PCR, dermatopathology.*

Nessuno degli Autori ha conflitti di interesse in atto.

## BIBLIOGRAFIA

1. Davison AJ, Seberle R, Hayward GS, et al: Herpesviridae. In: Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, et al (Eds): Virus Taxonomy: Eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Ed. Elsevier, San Diego, 2005, pp. 193-212.
2. Zanella A: Classificazione dei virus animali. In: Giorgio Poli Microbiologia e Immunologia. Ed. UTET, 1991, pp. 372-373.
3. Wildy P: History and classification. In: The Herpesviruses. Ed. AS Kaplan, New York, Ac Press, 1973, p. 1.
4. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) 2007: www.ictvonline.org.
5. Roizman B: Herpesviridae: definition, provisional nomenclature and taxonomy. Intervirology 16: 201-217, 1981.
6. Van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, et al: Virus Taxonomy, Seventh Report of the international Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, New York, 2000.
7. Rota PA, Maes RK: Homology between feline herpesvirus-1 and canine herpesvirus. Arch Virol 115: 139-145, 1990.
8. Willoughby K, Bennett M, Mc Cracken CM, et al: Molecular phylogenetic analysis of felid herpesvirus 1. Vet Microbiol 69: 93-97, 1999.
9. Harder TC, Harder M, Vos H, et al: Characterization of phocid herpesvirus-1 and -2 as putative alpha- and gammaherpesvirus of North American and European pinnipeds. J Gen Vir 77: 27-35, 1996.
10. Lebich M, Harder TC, Frey HR, et al: Comparative immunological characterization of type-specific and conserved B-cell epitopes of pinniped, felid and canid herpesviruses. Arch Virol 136: 335-347, 1994.
11. Gaskell R, Dawson S, Radford A: Feline respiratory disease. In: Infection disease of the dog and cat, Greene C.E. Ed. WB Saunders, Missouri, 2006, pp. 145-154.
12. Pascoe RR, Spradbrow PB, Bagust TJ: An equine genital infection resembling coital exanthema associated with a virus. Aust Vet J 45: 166-170, 1969.
13. Jones TC: Transmission and immunization studies on equine influenza. Am J Vet Res 9: 243-253, 1948.
14. Gaskell R, Dawson S, Radford A, et al: Feline herpesvirus. Vet Res 38 (2): 337-54, 2007.
15. Eleraky NZ, Potgieter LN, Kennedy MA: Virucidal efficacy of four new disinfectants. J Am Anim Hosp Assoc 38: 231-234, 2002.
16. Donaldson AI, Ferris NP: The survival of some air-borne animal viruses in relation to relative humidity. Vet Microbiol 1: 413-420, 1976.
17. Junge RE, Miller RE, Boever WJ, et al: Persistent cutaneous ulcers associated with feline herpesvirus type 1 infection in a cheetah. J Am Vet Med Assoc 198: 1057-1058, 1991.
18. Binns SH, Dawson S, Stilles AJ, et al: A study of feline upper respiratory tract disease with reference to prevalence and risk factors for infection with feline calicivirus and feline herpesvirus. J Fel Med Surg 2: 123-133, 2000.
19. Helps CR, Lait P, Damhuis A, et al: Factors associated with upper respiratory tract disease caused by feline herpesvirus, feline calicivirus, Chlamydia felis and Bordetella bronchiseptica in cats: experience from 218 European catteries. Vet Rec 159 (21): 669-673, 2005.
20. Pedersen NC, Satop JE, Foley AM: Common virus infections in cats, before and after being placed in shelters, with emphasis on Feline enteric Coronavirus. J Fel Med Surg 6: 83-88, 2004.
21. Gaskell RM, Povey RC: Feline viral rhinotracheitis: sites of virus replication and persistence in acutely and persistently infected cats. Res Vet Sci 27: 167-174, 1979.
22. Gaskell RM, Povey RC: Transmission of feline viral rhinotracheitis. Vet Rec 111: 359-62, 1982.
23. Bittle JL, Peckham JA: Genital infection by feline rhinotracheitis virus and effects on newborn kittens. J Am Vet Med Ass 158 (2): 927-928, 1971.
24. Johnson RP, Povey RC: Vaccination against feline viral rhinotracheitis in kittens with maternally derived feline viral rhinotracheitis antibodies. J Am Vet Med Ass 186(2): 149-52, 1985.
25. Pedersen N.C: Feline herpesvirus type 1 (feline rhinotracheitis virus). Virus infections of carnivores. MJ Appel, Ed. Elsevier science publishers 227-237, 1987.
26. Vogtlin A, Fraefel C, Albini S, et al: Quantification of feline herpesvirus 1 DNA in ocular fluid samples of clinically diseased cats by real-time TaqMan PCR. J Clin Microbiol 40(2): 519-523, 2002.

# il controllo dell'iperadrenocorticismo (Cushing) del cane

SEMPLICE

RAPIDO

CON EFFETTO REVERSIBILE

NESSUN EFFETTO CITOTOSSICO

new

Ora disponibile la nuova confezione da 10 mg



323.MA08

MARCHIO REGISTRATO

Milano

Via Michelangelo Buonarroti, 23  
20093 • Cologno Monzese  
Tel. 0225101 • Fax 022510500

27. Weigler BJ, Babineau CA, Sherry B, et al: High sensitivity polymerase chain reaction assay for active and latent feline herpesvirus-1 infections in domestic cats. *Vet Rec* 140: 335-338, 1997.
28. Hargis AM, Ginn PE: Feline herpesvirus 1- associated facial and nasal dermatitis and stomatitis in domestic cats. *Vet Clin North Am Sm Anim Pract* 29: 1281-1290, 1999.
29. Nasisse MP, Guy JS, Davidson MG, et al: Experimental ocular herpesvirus infection in the cat. Sites of virus replication, clinical features and effects of corticosteroid administration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30 (8): 1758-1768, 1989.
30. Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK: Ulcerative and crusting disease of the epidermis. In: Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK eds. *Skin diseases of the dog and cat. Clinical and histopathologic diagnosis*. Ed. Blackwell Science. 2005; pp. 116-135.
31. Stiles J: Feline herpesvirus. *Clin Tech Sm Anim Pract* 18, 3: 178-185, 2003.
32. Maggs DJ: Update on pathogenesis, diagnosis and treatment of feline herpesvirus type 1. *Clin Tech Sm Anim Pract* 20: 94-101, 2005.
33. Holland JL, Outerbridge CA, Affolter VK: Detection of feline herpesvirus 1 DNA in skin biopsy specimens from cats with or without dermatitis. *J Am Vet Med Ass* 9: 1442-1446, 2006.
34. Hoover EA, Rohovsky MW, Griesemer RA: Experimental feline viral rhinotracheitis in the germfree cat. *Am J Pathol* 58: 269-282, 1970.
35. Johnson LR, Maggs DJ: Feline herpesvirus type-1 transcription is associated with increased nasal cytokine gene transcription in cats. *Vet Microbiol* 108: 225-233, 2005.
36. Johnson LR, Foley JE, De Cock HE, et al: Assessment of infectious organism associated with chronic rhinosinusitis in cats. *J Am Vet Med Ass* 15: 227: 579-585, 2005.
37. Bodle JE: Feline herpesvirus infection. *Surv Ophthalmol* 21: 209-215, 1976.
38. Bistner SI, Shively JN, Scott FW: Ocular manifestations of feline herpesvirus infection. *J Am Vet Med Ass* 159: (10): 1223- 1237, 1971.
39. Andrew SE: Ocular manifestations of feline herpesvirus. *J Fel Med Surg* 3: 9-16, 2001.
40. Allgoewer I, Schaffer EH, Stockaus C, et al: Feline eosinophilic conjunctivitis. *Vet Ophthalmol* 4: 69-74, 2001.
41. Nasisse MP, Glover TL, Moore CP, et al: Detection of feline herpesvirus 1 DNA in corneas of cats with eosinophilic keratitis or corneal sequestration. *Am J Vet Res* 59: 856-858, 1998.
42. Cullen CL, Wadowska DV, Singh A, et al: Ultrastructural findings in feline corneal sequestra. *Vet Ophthalmol*. 8: 295-303, 2005.
43. Maggs DJ, Lapin MR, Nasisse MP: Detection of feline herpesvirus-specific antibody and DNA in aqueous humor from cats with or without uveitis. *Am J Vet Res* 60: 932-936, 1999.
44. Hargis AM, Ginn PE, Mansell JE: Ulcerative facial and nasal dermatitis and stomatitis in cats associated with feline herpesvirus 1. *Vet Dermatol* 10: 267-274, 1999.
45. Coutts AJ, Dawson S, Willoughby K, et al: Isolation of feline respiratory viruses from clinically healthy cats at UK cat shows. *Vet Rec* 135 (23): 555-556, 1994.
46. Johnson RP, Sabine M: The isolation of herpesvirus from skin ulcers in domestic cats. *Vet Rec* 89: 360-362, 1971.
47. Flecknell PA, Orr CM, Wright AL, et al: Skin ulceration associated with herpesvirus infection in cats. *Vet Rec*. 104: 313-315, 1979.
48. Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK: Feline herpesvirus ulcerative dermatitis. In: Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK eds. *Skin diseases of the dog and cat. Clinical and histopathologic diagnosis*. Ed. Blackwell Science. 2005; pp. 124-126.
49. Westermeyer HD, Thomas SM, Kado-Fong H, et al: Assessment of viremia associated with experimental primary feline herpesvirus infection or presumed herpetic recrudescence in cats. *Am J Vet Res* 70 (1): 99-104, 2009.
50. Helps C, Reeves N, Egan K, et al: Detection of Chlamydia felis and feline herpesvirus time PCR analysis. *J Clin Microbiol* 41 (6): 2734-2736, 2003.
51. Hara M, Fukuyama M, Suzuki Y, et al: Detection of feline herpesvirus 1 DNA by the nested polymerase chain reaction. *Vet Microbiol* 48 (3-4): 345-352, 1996.
52. Marsilio F, Di Martino B, Aguzzi I, et al: Duplex polymerase chain reaction assay to screen for feline Herpesvirus-1 and Chlamydia spp in mucosal swabs from cats. *Vet Res Commun* 28(1): 295-298, 2004.
53. Nasisse MP, Weigler BJ: The diagnosis of ocular herpes virus infection. *Vet Comp Ophthalmol* 7: 44-51, 1997.
54. Sykes JE, Allen JL, Studdert VP, et al: Detection of feline calicivirus, feline herpesvirus 1 and Chlamydia psittaci mucosal swabs by multiplex RT-PCR/PCR. *Vet Microbiol* 81 (2): 95-108, 2001.
55. Reubel GH, Ramos RA, Hickman MA, et al: Detection of active and latent feline herpesvirus 1 infection using polymerase chain reaction. *Arch Virol* 132 (3-4): 409-20, 1993.
56. Burgesser KM, Hotaling S, Schiebel A, et al: Comparison of PCR, virus isolation, and indirect fluorescent antibody, staining in the detection of naturally occurring feline herpesvirus infections. *J Vet Diag Invest* 11: 122-126, 1999.
57. Suchy A, Baudes B, Gelbmann W, et al: Diagnosis of feline herpesvirus infection by immunohistochemistry, polymerase chain reaction, and in situ hybridization. *J Vet Diag Invest* 12: 186-191, 2000.
58. Maggs DJ, Heather E, Clarke BS: In vitro efficacy of ganciclovir, cidofovir, penciclovir, foscarnet, idoxuridine, and acyclovir against feline herpesvirus type-1. *Am J Vet Res* 65(4): 339-403, 2004.
59. Veir JK, Lappin MR, Foley JE, et al: Feline inflammatory polyyps: historical, clinical and PCR findings for feline calicivirus and feline herpesvirus-1 in 28 cases. *J Fel Med Surg* 4: 195-199, 2002.
60. Nasisse MP, Guy JS, Stevens RV, et al: Clinical and laboratory findings in chronic conjunctivitis in cats: 91 cases (1983-1991). *J Am Vet Med Ass* 203: 834-837, 1993.
61. Dawson DA, Carman J, Collins J, et al: Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of feline herpesvirus 1 IgG in serum, aqueous humor, and cerebrospinal fluid. *J Vet Diag Invest* 10: 315-319, 1998.
62. Volovich S, Benetka V, Schwendenwein I, et al: Cytologic findings, and feline herpesvirus DNA and Chlamydia felis antigen detection rates in normal cats and cats with conjunctival and corneal lesions. *Vet Ophthalmol* 8, 1: 25-32, 2005.
63. Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK: Feline cowpox virus infection. In: Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK eds. *Skin diseases of the dog and cat. Clinical and histopathologic diagnosis*. Ed. Blackwell Science. 2005; pp. 127-128.
64. Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK: Feline eosinophilic plaque. In: Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK eds. *Skin diseases of the dog and cat. Clinical and histopathologic diagnosis*. Ed. Blackwell Science. 2005; p.353.
65. Malik R, Lessels SN, Webb S, et al: Treatment of feline herpesvirus-1 associated disease in cats with famciclovir and related drugs. *J Fel Med Surg* 11: 40-48, 2009.
66. Haid C, Kaps S, Gönczi E, et al: Pretreatment with feline interferon omega and the course of subsequent infection with feline herpesvirus in cats. *Vet Ophthalmol* 10 (5): 278-284, 2007.
67. Gutzwiller ME, Brachelente C, Taglinger K, et al: Feline herpes dermatitis treated with interferon omega. *Vet Dermatol* 18 (1): 50-54, 2007.
68. Hussein IT, Miguel RN, Tiley LS, et al: Substrate specificity and molecular modelling of the feline herpesvirus-1 thymidine kinase. *Arch Virol* 153 (3): 495-505, 2008.
69. Andrew SE: Immune-mediated canine and feline keratitis. *Vet Clin North Am Sml Anim Pract* 38 (2): 269-290, 2008.
70. Quimby JM, Elston T, Hawley J, et al: Evaluation of the association of Bartonella species, feline herpesvirus-1, feline calicivirus, feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus with chronic feline gingivostomatitis. *J Fel Med Surg* 10 (1): 55-72, 2008.
71. Marques AR, Straus SE: Herpes Simplex. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolfe K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI eds. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. Sixth Edition. Ed. Mc Graw Hill. 2003; vol. 2, pp. 2059-2070.
72. Maggs DJ, Chang Ed, Nasisse MP et al: Persistence of Herpes Simplex virus type 1 DNA in Chronic and eyelid Lesion of mice. *J Virol* 72 (11): 9166-9172, 1998.
73. Doymaz MZ, Rouse BT: Immunopathology of herpes simplex virus infections. *Curr Top Microbiol Immunol* 179: 121-136, 1992.
74. Lafferty WE: Recurrences after oral and genital herpes simplex virus infection. Influence of site of infection and viral type. *N Engl J Med* 316: 1444, 1987.
75. Hutfield DC: History of herpes genitalis. *Br J Vener Dis* 42: 263, 1966.
76. Appel MJ, Menegus M, Parsonson IM, et al: Pathogenesis of canine herpesvirus in specific-pathogen-free dogs: 5- to 12-week-old pups. *Am J Vet Res* 30: 2067-2073, 1969.
77. Appel M, Binn LN: Canine infectious tracheobronchitis. Short review: kennel cough in: Appel MJ (ED) *Virus infections of carnivores*, Elsevier Science Publisher, Amsterdam, 201-211, 1987.
78. Carmichael LE, Squire RA, Krook L: Clinical and pathologic features of a fatal viral disease of newborn pups. *Am J Vet Res* 26: 803-814, 1965.
79. Carmichael LE, Greene CE: Canine herpesvirus infection in: Greene CE (Ed), *Infection diseases of the dog and cat*, W.B Saunders Co, Philadelphia, 1998, pp. 28-32.
80. Burr PD, Campbell ME, Nicolson L, et al: Detection of canine herpesvirus 1 in a wide range of tissues using the polymerase chain reaction. *Vet Microbiol* 53: 227-237, 1996.
81. Dimock WW: The diagnosis of virus abortion in mares. *J Am Vet Med Ass* 96: 665-666, 1940.
82. Jones TC, Maurer FD: The pathology of equine influenza. *Am J Vet Res* 4: 15-31, 1943.