

Canid alphaherpesvirus 1 e la patologia neonatale

Annamaria Pratelli

Professore Ordinario di malattie Infettive – Università degli Studi Aldo Moro, Bari

Canid alphaherpesvirus 1 (CHV) è un virus del cane in grado di determinare manifestazioni cliniche di diversa gravità, che vanno dalla mortalità neonatale alle patologie respiratorie e alle lesioni genitali nei cani adulti. La vaccinazione non è effettuata di *routine* e l'infezione si osserva per lo più nei canili e negli allevamenti dove è più facile la circolazione del virus. Il presente articolo svilupperà il tema delle patologie associate all'infezione da CHV fornendo un aggiornamento significativo sulla epidemiologia, sulla patogenesi, sulla sintomatologia e sulla profilassi.

Agente eziologico

CHV è stato descritto per la prima volta nella metà degli anni '60 come agente responsabile di una setticemia fatale nei cuccioli. Il virus, incluso nella sottofamiglia *Alphaherpesvirinae* della famiglia *Herpesviridae*, è un virus a DNA labile nell'ambiente, sensibile ai comuni disinfettanti, ai solventi dei lipidi e rapidamente inattivato a temperature superiori ai 40°C. Da un punto di vista antigenico esiste un unico sierotipo ed è geneticamente correlato ad altri *alphaherpesvirus*. Una caratteristica tipica di CHV è la sua temperatura di replicazione, il cui optimum è di 2-3°C in meno rispetto alla temperatura corporea. Questa peculiarità, come vedremo, influenza la patogenesi e lo sviluppo della malattia nei cuccioli.

Epidemiologia

Solo i membri della famiglia *Canidae* sono sensibili a CHV, anche se anticorpi verso il virus sono stati identificati nei sieri della volpe rossa (*Vulpes vulpes*) in Australia e in Germania, e nei sieri della lontra di fiume del Nord America (*Lontra canadensis*) a New York, mentre un virus *CHV-like* è stato isolato in cuccioli di coyote in cattività. Indagini sierologiche hanno dimostrato che gli anticorpi sono presenti nei sieri di cani di tutto il mondo, tanto dei soggetti che vivono in appartamento tanto di quelli che vivono in allevamento. In Inghilterra è stata osservata una sieroprevalenza dell'88%, in Belgio del 45.8% e in Olanda del 39.3%. Negli USA un'indagine sierologica condotta a Washington ha evidenziato solo il 6% di sieri positivi. In Italia nel 1998 è stato osservato che gli anticorpi verso CHV prevalevano nei sieri dei cani di allevamento (27.9%) rispetto a quelli di appartamento (3.1%). Più recentemente invece, sempre in Italia, non è stata evidenziata alcuna differenza significativa di positività sierologica verso CHV nei cani di allevamento (17.1%) e nei cani di proprietà (13.2%). Va tuttavia sottolineato che queste indagini sulla ricerca degli anticorpi sono puramente indicative sulla diffusione dell'infezione, sia perché il titolo degli anticorpi neutralizzanti cala molto rapidamente dopo l'infezione e la malattia, e sia perché la presenza degli anticorpi nel siero non significa che il cane sia un escretore di virus.

La trasmissione del virus avviene attraverso il contatto diretto con i cani infetti ed escretori. Poiché CHV è piuttosto labile al di fuori dell'ospite e si inattiva rapidamente, l'infezione attraverso l'ambiente contaminato è inverosimile. L'uomo può fungere da vettore del virus solo se, dopo aver avuto contatto con un cane escretore, accudisca una cucciolata neonata senza effettuare preventivamente un'adeguata disinfezione. Le principali fonti di infezione sono i secreti e gli escreti dei cuccioli infetti, le secrezioni respiratorie dei cani adulti infetti, le secrezioni prepuziali dei cani con lesioni da CHV fino a 20 giorni post infezione, le secrezioni oronasali e vaginali delle cagne con lesioni da CHV fino a 16 giorni post infezione, e i feti e gli invogli fetali in caso di aborto.

Patogenesi

CHV ha una particolare predilezione per i cuccioli neonati durante le primissime settimane di età e per le cagne gravide. La caratteristica fondamentale in entrambe queste categorie di animali perché l'infezione si sviluppi, e che li rende altamente sensibili all'infezione, è che siano immunologicamente *naïve* verso CHV, ovvero che non abbiano mai avuto contatto con il virus.

L'età dei cuccioli al momento dell'infezione è determinante per l'esito della malattia. Cuccioli di meno di 1 settimana di età sono i soggetti più a rischio per lo sviluppo di una forma necrotizzante ed emorragica generalizzata a esito letale, mentre i cuccioli di età superiore alle 3 settimane sono relativamente resistenti alla malattia, quindi non presenteranno sintomi clinici anche se possono comunque infettarsi. Le modalità d'infezione più comuni dei cuccioli neonati sono l'esposizione peri-natale, durante il passaggio attraverso il canale del parto, e l'esposizione post-natale, attraverso le secrezioni oronasali della madre infetta o dei cani escretori.

Nei cuccioli di meno di una settimana al momento dell'infezione, CHV replica nella mucosa nasale, nel faringe e nelle tonsille prima di raggiungere per via ematica all'interno dei macrofagi, il fegato, i reni, i tessuti linfatici e il SNC. La elevata sensibilità dei cuccioli neonati all'infezione acuta letale da CHV è correlata alla fisiologica ipotermia (35-36°C) degli stessi nei primissimi giorni di vita che consente al virus di replicare attivamente e di indurre un'infezione letale nella maggior parte dei casi.

Cuccioli di età superiore alle 3 settimane o cani adulti *naïve* si infettano anch'essi per via oronasale e il virus replica nel tratto respiratorio superiore, in particolare nelle tonsille, nel nasofaringe e nei linfonodi retrofaringei e bronchiali. La localizzazione respiratoria assume un aspetto fondamentale per l'ecologia del virus. CHV è stato anche identificato nei tamponi corneali di cani adulti con lesioni corneali.

I cani adulti possono infettarsi anche attraverso la via venerea, cui segue la comparsa di vulvovaginiti e balanopostititi (infiammazione del glande e del prepuzio). Sporadicamente, e in presenza di condizioni eccezionali, CHV è anche in grado di superare la barriera placentare nei cani che si sono infettati per via oronasale. A seconda dell'epoca di gestazione in cui si verifica l'infezione, i possibili eventi sono: i) riassorbimento fetale, quando l'infezione si sviluppa nelle primissime fasi della gestazione; ii) aborto, quando l'infezione è successiva all'ossificazione fetale; iii) natimortalità o nascita di cuccioli deboli e disvitali, quando l'infezione si sviluppa a metà gestazione o nell'ultimo mese. In quest'ultimo caso i cuccioli possono anche apparire normali al momento del parto ma subito manifesteranno ipotermia, turbe neurologiche e morte entro 2-4 giorni. La percentuale di mortalità dei cuccioli neonati è in questo caso del 100%, mentre per le cagne non si osservano altre manifestazioni cliniche oltre all'aborto.

Va sottolineato che condizione fondamentale perché i cuccioli neonati si infettino alla nascita è che la cagna durante il parto sia escrettrice del virus per la presenza delle vescicole a livello vaginale. Similmente, la trasmissione dell'infezione attraverso le secrezioni oronasali della madre infetta o di cani infetti è limitata alla fase di escrezione del virus, ovvero nelle prime due settimane post infezione. Infatti, superata la fase acuta della malattia i cani sviluppano un'immunità protettiva verso CHV, e il virus, sotto la pressione selettiva degli anticorpi neutralizzanti prodotti in risposta all'infezione, va a latenzare al livello dei gangli nervosi. Le cagne quindi, dopo una prima infezione da CHV, guariscono e sviluppano una immunità protettiva che proteggerà le eventuali cucciolate successive. Tutte le patologie correlate all'infezione da CHV non si manifesteranno nelle cucciolate successive perché l'immunità colostrale trasmessa dalle madri ai cuccioli, li proteggerà durante le primissime settimane di età, quando maggiore è la loro sensibilità. L'immunità passiva trasmessa dalla madre ai cuccioli con il colostro è di importanza fondamentale per la sopravvivenza della cucciolata. Cuccioli nati da una cagna CHV sieronegativa generalmente sviluppano una forma multisistemica letale, mentre i cuccioli che assumono il colostro da una madre con anticorpi verso CHV, non manifesteranno i sintomi clinici della malattia, anche se si infettano e il virus viene eliminato dalla regione orofaringea. È accertato che cagne con infezione naturale che hanno dato vita ad una cucciolata infetta, partoriranno cuccioli sani nel corso delle gravidanze successive.

Latenza

Dopo un'infezione sintomatica o asintomatica, il virus, sotto la pressione immunitaria, andrà a latenzare nei gangli nervosi dove rimarrà nascosto e quiescente, anche per tutta la vita del cane, senza determinare alcuna sintomatologia clinica. Un virus latente può tuttavia riattivarsi ed essere nuovamente eliminato dal cane, a intervalli di tempo imprevedibili. La riattivazione del virus in condizioni naturali è determinata da fattori stressanti ambientali (sovraffollamento, mancanza di igiene, trasporti, ecc.) o, sperimentalmente, da agenti immunosoppressori come i corticosteroidi, o dal siero antilinfocitario. Le sedi di latenza del virus sono prevalentemente i gangli del trigemino, ma sono possibili anche altre localizzazioni quali i gangli lombosacrali, le tonsille e la parotide.

Sintomatologia

Il periodo di incubazione è approssimativamente di 1-4 giorni e i cuccioli neonati muoiono in un arco di tempo variabile da pochi giorni a una settimana. È anche possibile che i cuccioli muoiano improvvisamente senza presentare alcuna sintomatologia. Come già osservato, l'infezione è generalmente letale, raggiungendo picchi del 100%, nei neonati sprovvisti di immunità colostrale. Mentre le madri appaiono apparentemente sane e la produzione di latte non è modificata, i segni clinici dei cuccioli sono rappresentati da anoressia, dispnea, incoordinazione, dolore addominale, gemiti, ed emissione di feci molli. La temperatura rettale generalmente non è aumentata. Alcuni cuccioli presentano scolo nasale sieroso o emorragico e petecchie emorragiche sulla mucose (**Foto 1**). È possibile anche osservare edema sottocutaneo e aree eritematose sulla pelle della regione inguinale. Poco prima di morire i cuccioli diventano estremamente deboli, ansimanti e ipotermici.



Foto 1 - Cucciolo neonato con sospetta infezione da CHV

Nei soggetti di età superiore alle 3 settimane, il virus replica nel tratto respiratorio superiore causando necrosi delle cellule di rivestimento della mucosa nasale. Gli unici sintomi apprezzabili sono lieve rinite e faringite, tosse secca ("tosse dei canili") e scolo nasale. L'infezione tuttavia è generalmente asintomatica, sebbene siano state segnalate cheratiti ulcerative, congiuntiviti dendritiche e sintomi neurologici, quali cecità e sordità. Un'infezione generalizzata da CHV può svilupparsi anche in cani anziani con sistema immunitario compromesso, in cani con infezione concomitante da *Canine Distemper Virus* (CDV) o con linfosarcoma.

Nei cani adulti, in seguito ad infezione primaria attraverso la via genitale si osserva la comparsa di vulvovaginiti nelle femmine e balanopostiti nei maschi, caratterizzati da marcata iperemia e dalla presenza di vescicole sulla mucosa vulvare (**Foto 2**) e sul pene. Queste lesioni potranno infettare i cuccioli alla nascita al momento del passaggio attraverso il canale del parto.

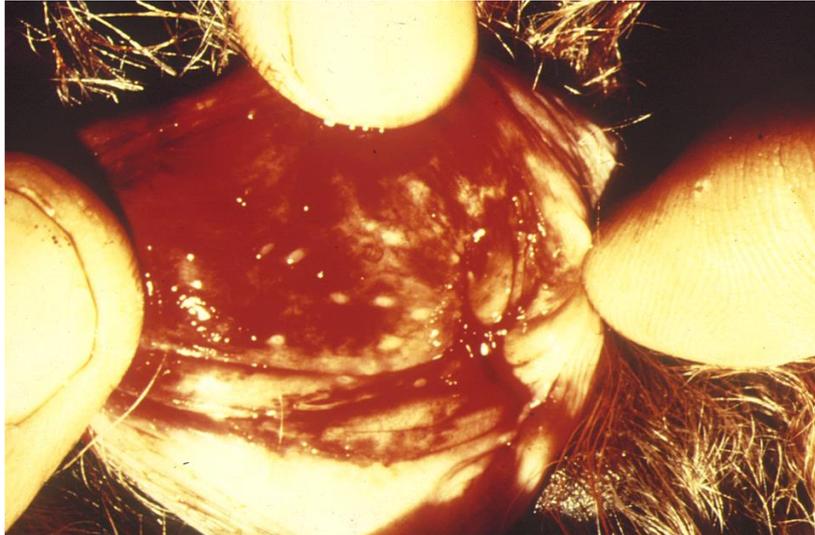


Foto 2 - Lesioni vaginali vescicolari tipiche di CHV

Lesioni anatomopatologiche

Aree necrotiche ed emorragiche multifocali si osservano in diversi organi, tra cui il fegato, i polmoni, il cervello, l'intestino, la milza e i reni. Quest'ultimi sono i parenchimi più colpiti e presentano un aspetto maculato per la presenza di aree emorragiche e necrotiche circoscritte su una cortecchia di colore grigio pallido. I linfonodi e la milza appaiono aumentati di volume. Frequentemente si osserva una meningoencefalite. La placenta delle cagne che hanno abortito presenta aree necrotiche, mentre le lesioni dei feti abortiti sono simili a quelle osservate nei cuccioli neonati infetti.

Diagnosi

Una diagnosi presuntiva di infezione da CHV può essere formulata sulla base della storia anamnestica e della osservazione dei sintomi clinici e/o anatomopatologici. Tuttavia, la conferma dell'infezione richiede necessariamente il ricorso al laboratorio anche perché i sintomi clinici sono sovrapponibili a quelli osservati in caso di infezione da *Canine Minute Virus* (CnMV). In laboratorio è possibile ricorrere tanto alle tecniche tradizionali, quali l'isolamento su linee cellulari sensibili, quanto a tecniche di biologia molecolare, quali la PCR e la Real Time PCR. CHV cresce su cellule primarie o secondarie di rene o di testicolo di cane e su linee cellulari continua. La crescita ottimale del virus richiede una temperatura di 34°-35°C, mentre a temperature superiori ai 36°C si osserva un netto calo del titolo virale. Le tecniche biomolecolari hanno permesso di aumentare significativamente l'affidabilità della diagnosi e la sensibilità.

La diagnosi sierologica, attraverso la ricerca degli anticorpi neutralizzanti è uno strumento utile per valutare la epidemiologia di CHV nei canili e negli allevamenti. Tuttavia, se è pur vero che il titolo degli anticorpi aumenta rapidamente entro 4-8 settimane dall'infezione, gli stessi declinano molto rapidamente. Ciò significa che un quadro preciso della situazione epidemiologica di un allevamento richiederebbe campionamenti ripetuti nell'arco di un determinato periodo di osservazione. Va sottolineato anche che la presenza degli anticorpi nei sieri dei cani è espressione di protezione immunitaria, e quindi questi anticorpi garantiscono la protezione della eventuale cucciolata nata da una cagna provvista di anticorpi.

Diagnosi differenziale

L'infezione da CnMV, virus appartenente alla famiglia delle *Parvoviridae*, genere *Bocavirus*, è responsabile di una patologia neonata assolutamente sovrapponibile a quella causata da CHV. Nei cuccioli neonati di 1-3 settimane di età determina una sintomatologia a carico dell'apparato respiratorio, caratterizzata da bronchite e polmonite interstiziale, e/o enterite. La percentuale di mortalità è particolarmente elevata fino a raggiungere picchi del 100%. Inoltre, analogamente ai parvovirus che infettano altre specie animali, CnMV

può anche determinare un'infezione transplacentare con conseguente riassorbimento embrionale, morte degli embrioni o dei feti, e mortalità neonatale.

Trattamento e Profilassi

Poiché la temperatura ottimale di replicazione di CHV è 36°C, sono state effettuate prove di infezione sperimentale per cercare di influenzare l'evoluzione della malattia indotta dal virus. Cuccioli neonati infettati sperimentalmente con CHV e allevati a temperature di 38.5-39.5°C, sono sopravvissuti all'infezione, benché abbiano presentato danni neurologici permanenti. Gli stessi danni neurologici sono stati osservati in cani infetti trattati con antivirali, quali la vidarabine. Di conseguenza né l'aumento della temperatura, né la vidarabine possono essere utilizzati per la terapia dell'infezione da CHV.

La profilassi diretta richiede controlli periodici finalizzati all'individuazione delle lesioni vaginali e prepuziali causate da CHV nei portatori destinati alla riproduzione, attraverso l'esecuzione della PCR, in laboratori specializzati, a partire da tamponi vaginali e/o prepuziali. Inoltre, l'allevatore deve avere una cura scrupolosa delle condizioni ambientali della sala parto e dei vari ambienti in cui sono allevati i cuccioli, anche predisponendo una cassa parto con pedana scaldante in modo da mantenere la temperatura dei cuccioli neonati sui 38°C.

Dal 2001 è disponibile in commercio in Europa, un vaccino inattivato a subunità per l'immunizzazione delle cagne gravide al fine di indurre nei cuccioli un'immunità colostrale protettiva. Una prima dose dovrebbe essere inoculata alle cagne durante il calore o entro i primi 10 giorni dall'accoppiamento e il richiamo una o due settimane prima della data presunta del parto. Gli eventuali richiami dovrebbero essere effettuati a ogni gravidanza seguendo lo stesso schema vaccinale. Non è ancora del tutto chiaro se la vaccinazione sia in grado di prevenire l'infezione da CHV e l'eliminazione del virus attraverso le secrezioni.

Una mutante termosensibile di CHV attenuata attraverso passaggi seriali in coltura cellulare è stata proposta come vaccino vivo modificato, ma la sua efficacia e la sua innocuità non sono state determinate. Attualmente questo vaccino non è in commercio.