

Aggiornamenti sulla peritonite infettiva felina*

MARIAN C. HORZINEK E HANS LUTZ¹

Department of Infectious Diseases and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, P.O. Box 80163 TD Utrecht, Olanda

¹Clinical Laboratory, Department of Internal Medicine, University of Zurich, 8957 Zurich, Svizzera

Introduzione

La peritonite infettiva felina (FIP) è un'importante malattia del gatto che i veterinari che si occupano di questi animali devono conoscere per parecchie ragioni. Nella maggior parte dei casi (clinicamente manifesti) questa malattia ha esito fatale, ma la sua biologia è poco conosciuta e la prevenzione è difficile. È anche una malattia enigmatica: una condizione virale sporadica è una contraddizione di termini. Ci si aspetta un'espansione epidemica dalle malattie virali, o almeno un quadro costante di diffusione in una società felina. Un altro carattere che può essere motivo di confusione è il fatto che gli anticorpi - le molecole che associamo all'immunità ed alla protezione - non sono di alcuna utilità per il gatto. Anzi, in certe circostanze, possono persino scatenare la malattia, causando il fenomeno della "morte precoce". L'identificazione degli anticorpi non è di alcuna utilità anche per il veterinario curante, dal momento che i relativi titoli sono privi di significato a fini diagnostici e prognostici nei singoli pazienti. Ciononostante, gli esami sierologici hanno comunque un certo ruolo, che verrà illustrato più oltre. In alcuni Paesi è anche disponibile un vaccino, che si è dimostrato in grado di conferire una certa protezione⁴. Tuttavia, la sua efficacia è oggetto di discussione.

La polisierosite da coronavirus felino, come dovrebbe essere chiamata, è la fatale "punta dell'iceberg" di un'infezione diffusa in questa specie animale e sostenuta da un gruppo di virus ubiquitari. La maggior parte di questi

coronavirus è priva di rischi e perfettamente adattata alla crescita in ambito intestinale. Sono indicati con il nome "coronavirus enterici felini", per distinguerli dai virus letali che si replicano nei macrofagi del gatto. I soggetti sani con infezione persistente svolgono il ruolo epidemiologico più importante nella FIP, ospitando nel proprio intestino e nel sangue i coronavirus felini (FCoV), ed agiscono da costante fonte di infezione. Il virus viene eliminato attraverso le feci, la saliva e, forse, altri fluidi corporei dei gatti infetti. Oltre a questi "patotipi", i coronavirus si distinguono anche in due sierotipi, entrambi in grado di causare la FIP dopo aver subito sottili mutazioni genetiche. È solo per ragioni di comodità che

continuiamo ad utilizzare il termine "virus della FIP" (FIPV) per denominare quei ceppi di FCoV portatori della o delle mutazioni responsabili dell'aumento della virulenza. Tuttavia, la legittimità di questa nomenclatura è discutibile; è come dare nomi differenti ad un virus ed al suo ceppo vaccinale attenuato.

Il punto di vista virologico

I coronavirus (genere Coronavirus, ordine Nidovirales) sono comuni agenti patogeni riscontrati nei mammiferi (dove causano una forma di "raffreddore" nell'uomo, la gastroenterite trasmissibile del suino, la diarrea del bovino ed altre condizioni patologiche) e degli uccelli (dove danno origine alla bronchite infettiva del pollo e alla *bluecomb disease* del tacchino). Sono virus

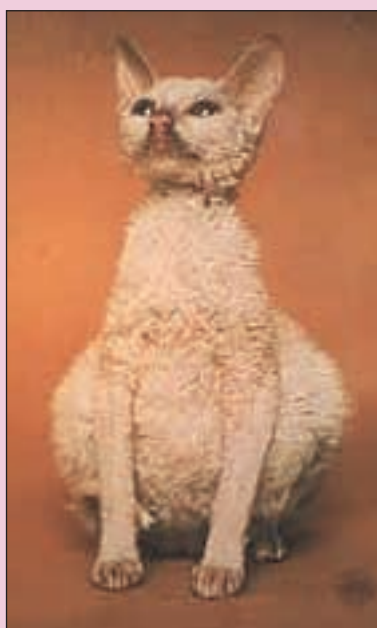


FIGURA 1 - Un accentuato caso della forma essudativa o "umida" di peritonite infettiva felina (FIP). Il gatto appare chiaramente emaciato con una pronunciata dilatazione dell'addome.



FIGURA 2 - Aspetto al microscopio elettronico delle particelle di coronavirus. Il nome di questa famiglia di RNA-virus deriva dall'alone che si osserva intorno al sole durante un'eclissi, la "corona solis". Con questo termine si indica la "frangia" di prominenze a forma di petalo ("peplomeri") che si irradiano dalla membrana del virione. I peplomeri portano gli epitopi, che inducono gli anticorpi neutralizzanti e determinano la protezione dalle malattie da coronavirus, ad esempio nel suino (gastroenterite trasmissibile) e nel pollo (bronchite infettiva), ma sono alla base del fenomeno della "morte precoce" nel gatto.

* Da "Veterinary Sciences Tomorrow - n. 0 - November 2000". Con l'autorizzazione dell'Editore.

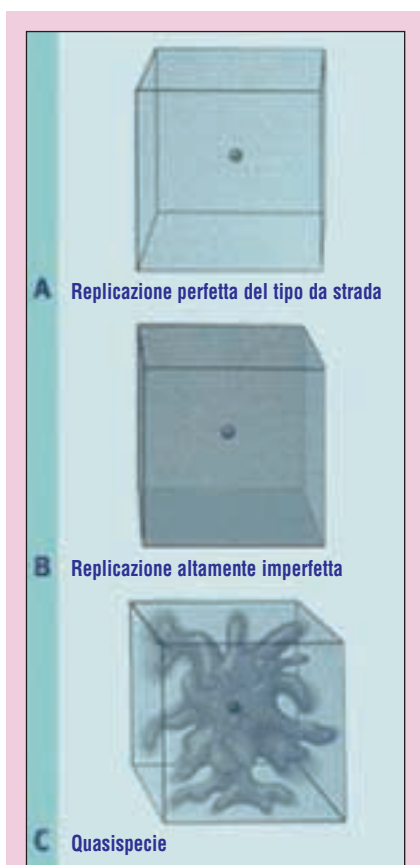


FIGURA 3 - Il concetto di quasispecie nei virus. Lo "spazio di sequenza", rappresentato dal cubo, è costituito dalle variazioni nucleotidiche teoricamente possibili in un genoma in fase di replicazione. Un genoma che si replica fedelmente – come quello di un vertebrato – occupa una nicchia puntiforme in uno spazio di sequenza, mentre un ipotetico genoma virale con gradi illimitati di libertà (per cui tutte le varianti sono consentite ed infettive) lo riempirebbe completamente. Data la loro scarsa fedeltà di replicazione, con 1:10.000 – 1:100.000 sostituzioni di basi per sito, i virus ad RNA occupano una nicchia a nube in uno spazio di sequenza. Questo è l'essenza dell'evoluzione virale: durante la trasmissione il virus va incontro ad un collo di bottiglia di popolazione e si espande verso una nuova "nube di quasispecie" nel nuovo ospite.

dotati di *envelope*, con un genoma RNA di circa 30 kilobasi di lunghezza, il che ne fa il più grande di tutti i genomi RNA. Generalmente si accetta che si abbia una mutazione su 10000 nucleotidi in ogni ciclo di replicazione del genoma del RNA. Di conseguenza, è possibile aspettarsi miriadi di errori di copiatura. Dal momento che il genoma coronavirale ospita circa 30000 nucleotidi, ognuno dovrebbe differire dal successivo almeno in un punto. Quindi, non esistono due particelle di coronavirus genomicamente identiche - una nozione che ha portato al cosiddetto concetto di "quasispecie".

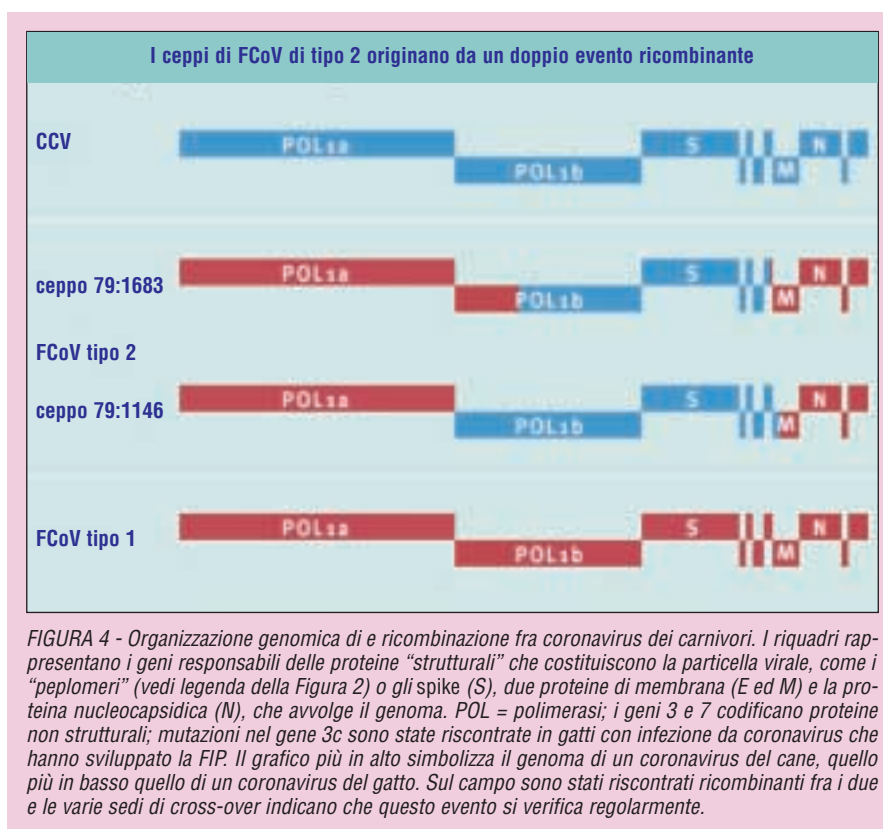


FIGURA 4 - Organizzazione genomica di e ricombinazione fra coronavirus dei carnivori. I riquadri rappresentano i geni responsabili delle proteine "strutturali" che costituiscono la particella virale, come i "peplomeri" (vedi legenda della Figura 2) o gli spike (S), due proteine di membrana (E ed M) e la proteina nucleocapsidica (N), che avvolge il genoma. POL = polimerasi; i geni 3 e 7 codificano proteine non strutturali; mutazioni nel gene 3c sono state riscontrate in gatti con infezione da coronavirus che hanno sviluppato la FIP. Il grafico più in alto simbolizza il genoma di un coronavirus del cane, quello più in basso quello di un coronavirus del gatto. Sul campo sono stati riscontrati ricombinanti fra i due e le varie sedi di cross-over indicano che questo evento si verifica regolarmente.

La virulenza evolve con una velocità più di un milione di volte superiore a quella dei microrganismi cellulari e c'è da chiedersi come questi virus possano mantenere la propria identità come agenti patogeni nell'arco di un qualsiasi periodo di tempo significativo dal punto di vista evolutivo. Come ha esclamato il premio Nobel Manfred Eigen³: "Perché non sono mutati fino ad uscire dal piano dell'esistenza?". La risposta a questa domanda è, naturalmente, che dal punto di vista biologico non contano i singoli virus, ma piuttosto una nube di varianti che si espandono intorno ad una sequenza di "consenso".

Benché generalmente associati ad infezioni acute autolimitanti enteriche e respiratorie, i coronavirus possono anche dare origine ad infezioni persistenti. In vivo, queste sono state studiate soprattutto utilizzando come modello il virus dell'epatite del topo. Roditori lattanti possono sviluppare una malattia demielinizante cronica non diversa dalla sclerosi multipla dell'uomo, con una replicazione virale nel sistema nervoso centrale. Da questi animali è stato isolato il virus a distanza di anche un anno dall'inoculazione. Solo pochi studi hanno preso in considerazione il ruolo della persistenza virale durante l'infezione natu-

rale da coronavirus e la FIP è ora l'esempio più evidente.

I coronavirus felini causano lievi infezioni enteriche in quasi tutti i gattini dell'Europa occidentale e dell'America (per una rassegna, vedi²). I FCoV "enterici" a bassa virulenza ed i FIPV responsabili di malattia sono strettamente correlati da un punto di vista genetico⁶ e si ritiene che questi ultimi siano la variante virulenta dei primi, che si sviluppa in ospiti infettati da FCoV^{12,15}. Ciò significa che non esistono due casi di FIP causati da virus identici e che la trasmissione orizzontale, cioè quella da gatto a gatto, è l'eccezione piuttosto che la regola.

Sulla base dei test di neutralizzazione in vitro, i FCoV possono essere assegnati ad uno dei due sierotipi precedentemente citati. Il tipo 1 è prevalente in Europa, si riscontra nella maggior parte dei casi di FIP ad esito fatale, ma è quello maggiormente riluttante a crescere in coltura. I FCoV di tipo 2 sono più comuni in altre parti del mondo (ad es., Giappone) e rappresentano un campionario dell'evoluzione virale. Originano dagli eventi di ricombinazione dell'RNA durante i quali informazioni genetiche derivanti dai coronavirus del cane vengono incorporate nei genomi dei FCoV di tipo 1^{9,15}.

Lo stato di portatore di FCoV

Studi epidemiologici suggeriscono che i FCoV possono causare infezioni persistenti, che esiste uno stato di portatore e che molte infezioni non vengono eliminate dal sistema immunitario del gatto - o vengono eliminate solo dopo un lungo periodo di tempo. È nozione comune che gatti sani con anticorpi anti-coronavirus possono indurre la sierconversione entro 2-10 settimane negli animali con i quali vengono a contatto. L'infezione viene diffusa presumibilmente per via oro-fecale ed alcuni degli animali a contatto con quelli infetti soccombono in seguito alla FIP¹. La prima valida prova dell'esistenza di uno stato di portatore derivò da un esperimento in cui alcuni gatti vennero infettati con una dose subletale di coltura tissutale ottenuta dalla crescita di FIPV e mantenuta in isolamento. Per indurre la FIP, i gatti vennero sottoposti a superinfezione con virus della leucemia felina, noto per essere fortemente immunosoppressore delle cellule T. Da questo lavoro è emerso che FIPV può persistere negli ospiti sperimentalmente infetti per almeno 4 mesi¹¹.

Per identificare i portatori asintomatici di FCoV e monitorare la diffusione del virus, un gruppo di ricercatori di Utrecht ha sviluppato un test di *nested RT-PCR* mirato ad una regione altamente conservata (invariante) del genoma di FCoV. Utilizzando questo test, l'RNA virale è stato precedentemente rilevato nelle feci, nei tessuti e nei fluidi corporei dei gatti con FIP^{2,9}. È interessante notare, tuttavia, che nelle feci ed occasionalmente nel siero di gatti perfettamente sani è stato individuato anche l'RNA di FCoV. Sono state quindi studiate la persistenza e l'evoluzione del virus in una struttura chiusa di gatti da riproduzione di Hannover (Germania) con un'infezione endemica da FCoV di tipo 1. L'RNA virale è stato identificato nelle feci e/o nel plasma dell'85% dei gatti esaminati. Di 5 soggetti identificati come eliminatori di FCoV durante l'indagine iniziale, 4 presentavano RNA virale nelle feci quando vennero sottoposti al test a distanza di quasi 4 mesi. Ciò potrebbe essere dovuto sia a ripetute reinfezioni che alla persistenza del virus nell'organismo del gatto. Per distinguere fra queste possibilità, due soggetti vennero posti in totale

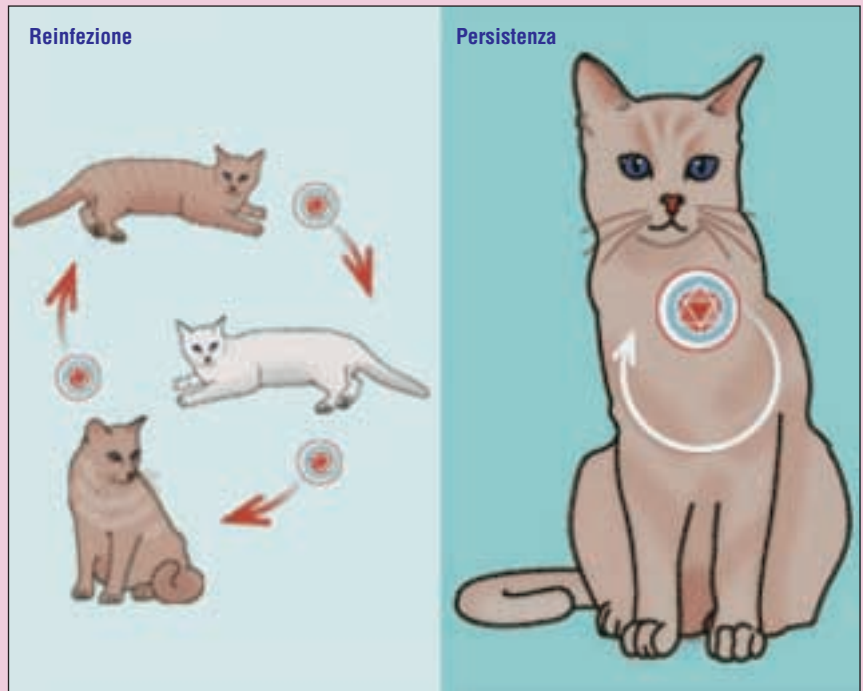


FIGURA 5 - La differenza fra infezione ricorrente e persistente. I virus possono essere mantenuti in una popolazione sia mediante il trasferimento da animale ad animale che con la prolungata presenza nell'organismo di un singolo soggetto. Con il progredire nelle nostre conoscenze su questi agenti patogeni, sembra che l'infezione persistente debba essere considerata la regola piuttosto che l'eccezione; ciò vale anche per i coronavirus felini.

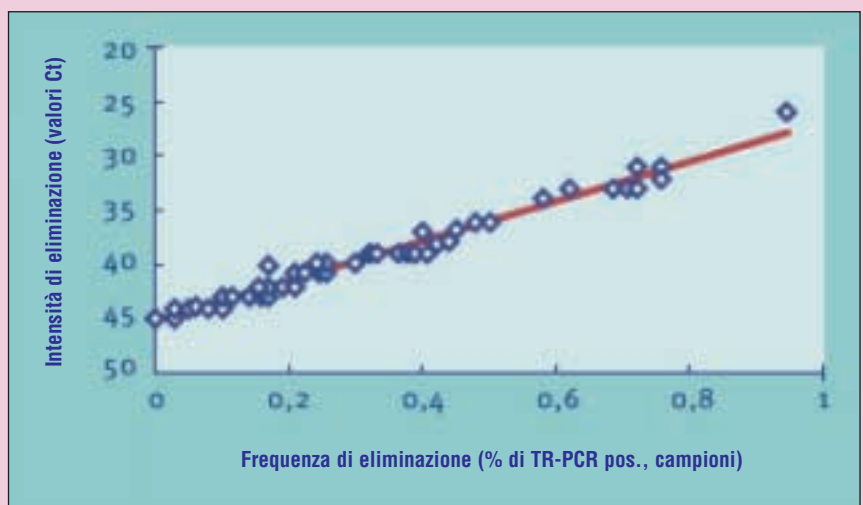


FIGURA 6 - Correlazione fra frequenza ed intensità di eliminazione virale in 77 gatti seguiti per 24 settimane. È apparso chiaro che quando la frequenza è più elevata la quantità eliminata è significativamente aumentata ($r = 0,9895$, $p < 0,0001$). La quantità di FCoV eliminata in 1 g di feci con un valore di Ct di 30 corrisponde a 10^7 particelle virali. La frequenza di eliminazione in questi gatti è risultata bassa (< 30% della totalità dei campioni positivi), intermedia (fra il 30% ed il 90% della totalità dei campioni positivi) ed elevata (< 90% della totalità dei campioni positivi), rispettivamente, nel 78%, nel 21% e nell'1% dei casi.

isolamento e sottoposti al monitoraggio dell'eliminazione del virus nelle feci ogni 2-4 giorni. In uno di essi, l'eliminazione continuò per 7 mesi. L'altro animale venne sacrificato dopo 3 mesi di eliminazione continua, perché volevamo individuare le sedi della re-

plicazione virale. L'RNA genomico virale è stato riscontrato in quasi tutti i tessuti esaminati, ma quello messaggero (che viene sintetizzato soltanto dove un virus si moltiplica) è stato identificato esclusivamente in ileo, colon e retto; in queste parti del tratto dige-

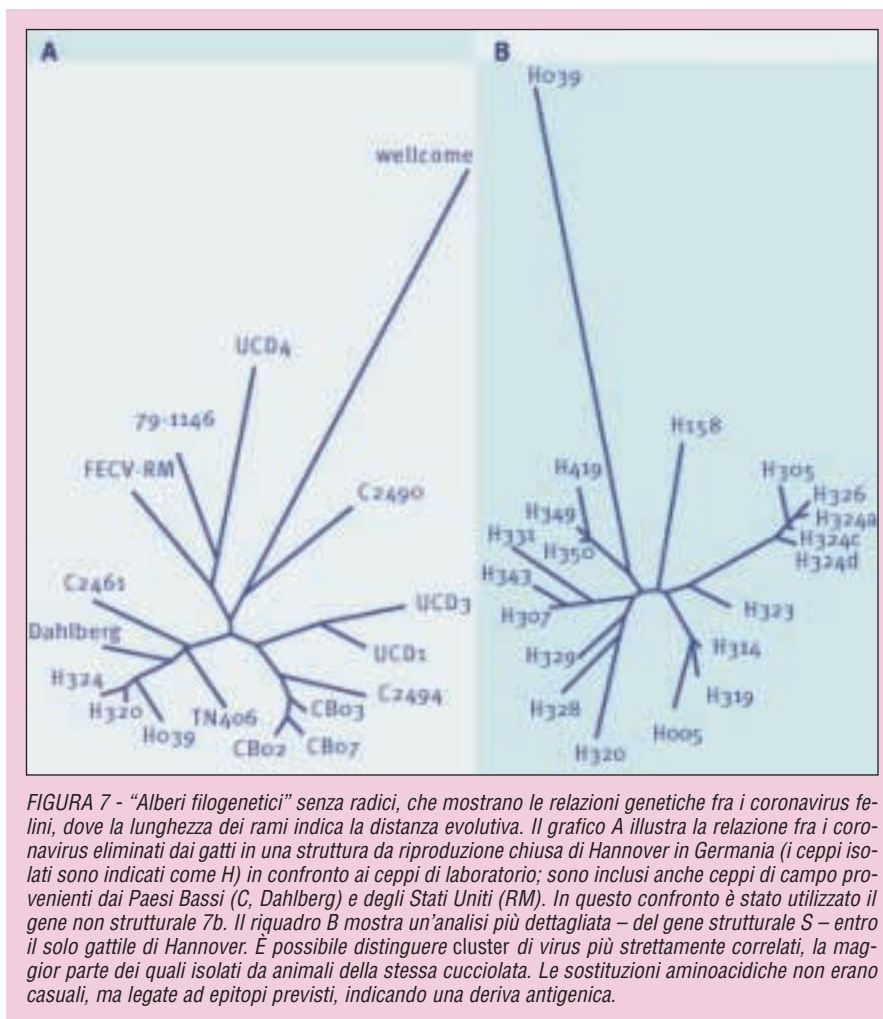


FIGURA 7 - "Alberi filogenetici" senza radici, che mostrano le relazioni genetiche fra i coronavirus felini, dove la lunghezza dei rami indica la distanza evolutiva. Il grafico A illustra la relazione fra i coronavirus eliminati dai gatti in una struttura da riproduzione chiusa di Hannover in Germania (i ceppi isolati sono indicati come H) in confronto ai ceppi di laboratorio; sono inclusi anche ceppi di campo provenienti dai Paesi Bassi (C, Dahlberg) e degli Stati Uniti (RM). In questo confronto è stato utilizzato il gene non strutturale 7b. Il riquadro B mostra un'analisi più dettagliata - del gene strutturale S - entro il solo gattile di Hannover. È possibile distinguere cluster di virus più strettamente correlati, la maggior parte dei quali isolati da animali della stessa cucciolata. Le sostituzioni aminoacidiche non erano casuali, ma legate ad epitopi previsti, indicando una deriva antigenica.

rente, con tecniche immunostochimiche è stato possibile accertare anche la presenza di piccole zone di singole cellule infette da FCoV (cioè, non di grandi porzioni di tessuto infetto). Questi riscontri costituiscono la prima prova formale del fatto che FCoV è causa di infezioni croniche¹⁰.

Recentemente, è stata introdotta una modificazione della procedura RT-PCR convenzionale, la cosiddetta tecnica TaqMan. Questa consente di esaminare molti campioni entro un breve periodo di tempo ed inoltre permette di quantificare in modo affidabile i genomi di FCoV in un campione, ad es. in tamponi rettali ottenuti da singoli gatti⁷ (per ulteriori dettagli sulla tecnica TaqMan si veda la sezione strumenti di questo numero di VetSciTe⁷). Utilizzando questa metodica, sono stati determinati i quadri di eliminazione dei coronavirus nell'arco di un periodo di 24 settimane in 77 gatti mantenuti in situazioni di nucleo familiare in cui vivevano più animali di questa specie. Abbiamo ri-

scontrato una correlazione altamente significativa fra la quantità di FCoV eliminato nelle feci e la frequenza dell'eliminazione¹³.

Per studiare l'evoluzione virale durante l'infezione cronica, è stata effettuata la caratterizzazione dei FCoV prelevati da singoli gatti. I confronti filogenetici delle sequenze ottenute da ceppi isolati indipendentemente in Europa ed in America hanno permesso di stabilire che i virus nella struttura da riproduzione formano un *clade* (un *cluster* strettamente correlato) ed hanno probabilmente avuto origine da una singola infezione capostipite. Ciascun gatto ospitava distinte quasi-specie di FCoV con selezione immunitaria (deriva antigenica) che si verificava durante l'infezione cronica.

Questi dati sostengono l'ipotesi di un modello in cui i portatori cronici mantengono le infezioni endemiche nelle popolazioni feline. Praticamente tutti i gattini nati in una struttura da riproduzione contraggono l'infezione, probabilmente dalle loro madri¹, non

appena la protezione di origine materna svanisce. Una volta infetti, i gatti sembrano resistere alla superinfezione da parte di FCoV strettamente correlati ed ogni soggetto sembra essere portatore di una serie personale di varianti non pericolose.

In occasione del Congresso WSAVA/BSAVA di Birmingham, nel 1997, i ricercatori della Bristol University presentarono per la prima volta dati che confermavano questo concetto epidemiologico utilizzando un approccio differente. Questi autori furono in effetti in grado di coltivare FCoV dal sangue di gatti sani provenienti da gattili sieropositivi. Vennero esaminati campioni di sangue ottenuti da gatti sani di 9 differenti razze provenienti da 9 gattili distinti e nella maggior parte dei casi, alcuni dei quali negativi al test di ricerca degli anticorpi anti-FCoV, si ottenne la crescita di FCoV, dimostrabile mediante PCR. Anche in questo caso, si giunse alla conclusione che la maggior parte dei gatti sani che vive nei gattili con un'anamnesi remota di FIP è persistentemente infetta da FCoV⁶. Il riscontro importante di questa analisi biologicamente significativa è stato che i virus isolati erano del sottotipo 1, "non coltivabile".

Dallo stato di portatore di FCoV alla FIP

Che cosa porta dall'infezione alla malattia, cioè dallo stato di portatore cronico di FCoV alla FIP? Questa è la domanda che si sarà posto chiunque abbia udito la classica anamnesi di un gattino acquistato presso un allevatore in buona fede, tenuto isolato da altri gatti e poi deceduto a causa della FIP alcune settimane dopo.

L'evento patogenetico chiave della FIP è l'infezione dei monociti e dei macrofagi. In precedenza, si riteneva che i ceppi avirulenti di FCoV restassero confinati al tratto digerente e non si diffondessero oltre l'epitelio intestinale ed i linfonodi regionali, mentre i ceppi virulenti si disseminano ad altri organi attraverso i monociti veicolati dal sangue. Questa idea non è più sostenibile, alla luce dei risultati della PCR in gatti sani precedentemente citati - la differenza deve piuttosto essere di tipo quantitativo. In vitro, la vi-

rulenza dei ceppi FCoV era in effetti correlata alla loro capacità di infettare macrofagi peritoneali in coltura. Tuttavia, quando è stato effettuato il confronto dei ceppi, quelli avirulenti infettavano meno macrofagi e producevano titoli virali più bassi di quelli virulenti. Inoltre, i ceppi avirulenti erano meno capaci di mantenere nel tempo la replicazione virale e di diffondere ad altri macrofagi. Il fenomeno non è caratterizzato da una netta divisione fra bianco e nero, quanto piuttosto da una graduale transizione, dal momento che il decorso della FIP non è uniforme.

Esistono ampie prove di un coinvolgimento del sistema immunitario nella patogenesi della FIP. L'immunità umorale risulta chiaramente non protettiva. I gatti FCoV-positivi che vengono sperimentalmente infettati da FIPV spesso sviluppano una malattia a decorso accelerato e fulminante, che conduce al fenomeno della "morte precoce" precedentemente citato. In confronto ai gatti sieronegativi, i segni clinici e le lesioni si sviluppano più precocemente ed il tempo di sopravvivenza medio risulta drasticamente ridotto. Prove dirette del coinvolgimento degli anticorpi sono state ottenute attraverso la trasfusione di IgG purificate di gatti FCoV-antisieri in gatti che in effetti hanno sviluppato una FIP accelerata in seguito all'infezione sperimentale. È anche noto che gli anticorpi sono i responsabili della morte degli animali: quando i gatti sono stati immunizzati con virus vaccinali ricombinanti che esprimono singoli prodotti genici, "la morte precoce" si è avuta soltanto nel gruppo che era già venuto in contatto con la proteina spike (S).

La maggior parte degli autori considera immunomediata le lesioni vascolari e perivascolari della FIP, ma esiste un'incertezza circa l'effettivo meccanismo patogenetico. Almeno una parte del danno vascolare può essere attribuita alla lisi immunomediata delle cellule infette: leucociti infettati da FIPV sono stati identificati nel lume, nell'intima e nelle pareti delle vene ed in sedi perivascolari. Inoltre, i mediatori dell'infiammazione come le citochine, i leucotrieni e le prostaglandine che vengono rilasciate dai macrofagi infetti possono svolgere un ruolo nello sviluppo dei piogranulomi perivascolari. Questi prodotti possono indurre modificazioni della permeabi-

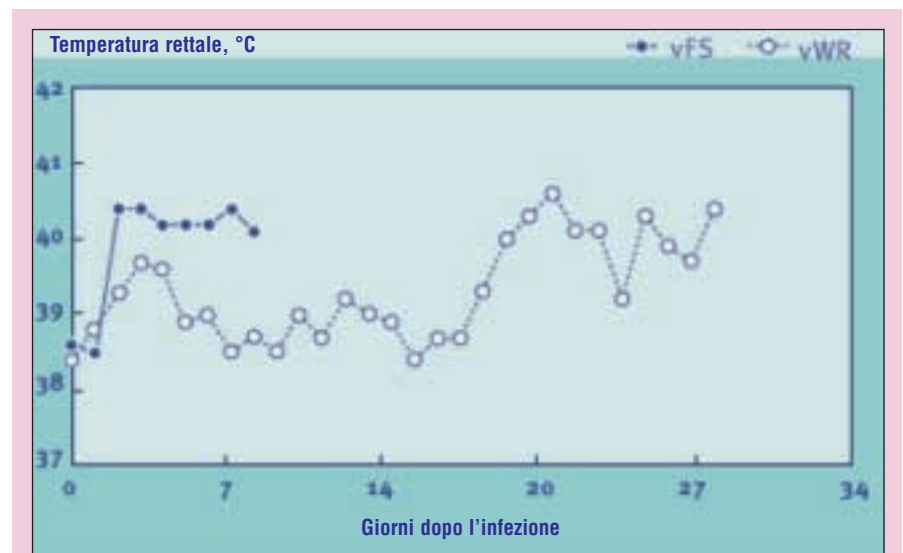


FIGURA 8 - Il fenomeno della "morte precoce" osservato in gatti immunizzati con la proteina S del coronavirus felino espressa da un virus vaccinale ricombinante; l'animale di controllo è stato vaccinato con il vettore "vuoto" del virus vaccinale. Dopo infezione sperimentale con un coronavirus FIP-produttore, questi gatti mostrano il tipico andamento bifasico della temperatura, con aumento ed esito fatale; il decorso della malattia ha richiesto più di due settimane, mentre gli animali con anticorpi anti-S sono morti entro una settimana.

lità vasale ed esercitare un ulteriore stimolo chemiotattico per neutrofili e monociti. In risposta all'infiammazione, le cellule attratte possono liberare ulteriori mediatori e sostanze citotossiche; i monociti potrebbero anche fungere da nuovi bersagli di FIPV. Il risultato finale sarebbe l'accentuazione della produzione locale di virus e l'aumento del danno tissutale.

Altre osservazioni suggeriscono una patogenesi da immunocomplesso (IC). Si ritiene che la deposizione di IC e la conseguente attivazione del complemento causino un'intensa risposta infiammatoria che si può estendere attraverso le pareti dei vasi sanguigni. Il danno vascolare che ne deriva consente la fuoriuscita di fluido nello spazio intercellulare ed infine conduce all'accumulo dell'essudato toracico ed addominale. Le caratteristiche morfologiche delle lesioni vascolari (necrosi, infiltrazione di elementi polimorfonucleati associati a piccole vene e venule) sono fortemente indicative di una reazione di tipo Arthus. Le lesioni contengono depositi focali di virus, IgG e C3. Inoltre, in gatti con FIP terminale sono state dimostrate la deplezione del complemento e la presenza di IC circolanti. In uno studio orizzontale su gatti sperimentalmente infetti, i primi segni clinici erano accompagnati da un aumento delle concentrazioni di C3 nel plasma; in seguito, i titoli anticorpali e

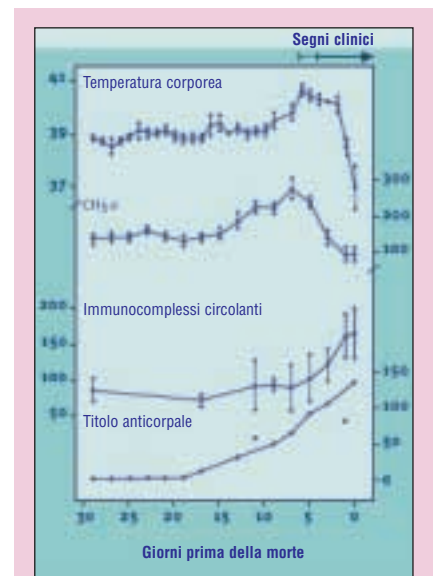


FIGURA 9 - Relazione fra il decorso clinico della FIP, rappresentato dalla temperatura corporea (curva superiore), livelli di complemento (al centro) e concentrazioni di anticorpi ed immunocomplessi (curve in basso) nel plasma. Mentre questi ultimi due parametri sono costantemente aumentati, i livelli di C3 sono precipitati prima della morte, indicando un'attivazione del complemento.

gli IC circolanti aumentarono con un concomitante calo delle concentrazioni di complemento. Al momento della morte, vennero misurate concentrazioni massime di IC e minime di C3.

Anche se i virus della FIP non infettano le cellule T, negli organi linfoidi dei gatti infetti sono state osservate deplezione e morte cellulare program-

mata (apoptosi). Quest'ultima era mediata dagli IC presenti nel siero e nel liquido ascitico dei gatti malati e interessava soltanto le cellule T attivate, come quelle dei linfonodi, ma non quelle non stimulate. Questo meccanismo finora non riconosciuto della soppressione delle cellule T può operare non solo nell'infezione da FIPV, ma anche in altre malattie da immunocomplessi⁵.

Lo scenario fatale può quindi essere il seguente: un gattino nasce, assume il latte della madre sieropositiva e viene protetto dall'infezione dagli anticorpi colostrali durante le primissime settimane di vita. Man mano che gli anticorpi materni svaniscono, la protezione della mucosa si attenua e durante un episodio di eliminazione di virus FCoV da parte della madre il gattino contrae l'infezione. Le uniche manifestazioni riscontrabili possono essere un episodio di diarrea ed occasionali starnuti. A questo punto, l'animale sviluppa un'immunità attiva, ma nella maggior parte dei casi non sterilizzante. Virus ed anticorpi continuano a coesistere nell'organismo del gattino e un'efficiente immunità cellulomediata mantiene sotto controllo i macrofagi ed i monociti infetti. In una piccola comunità di gatti socialmente stabile questo animale può vivere felicemente per molto tempo.

I problemi insorgono quando il nostro gattino va incontro ad una qualsiasi situazione di stress, che possiamo far corrispondere ad un'immunodepressione. L'infezione da parte del virus della leucemia felina o dell'immunodeficienza felina sarebbe il più chiaro degli eventi immunosoppressori, ma stanno diventando sempre più importanti - alla luce del declino della prevalenza delle infezioni da retrovirus - la densità di popolazione (numero di gatti per unità di superficie), i mutamenti geografici (spostamento in un nuovo ambiente) ed altri fattori territoriali (ad es., variazioni della gerarchia di gruppo e della dominanza). Il venir meno della sorveglianza immunitaria consente alle nubi di mutanti di quasispecie di coronavirus di espandersi, ed in questo processo stocastico emergono più mutanti con un tropismo per i macrofagi. Fra questi, alcuni raggiungono titoli elevati e sovrappassano quelli moderati. È a questo punto che si ha l'avvio della patogenesi su base immunitaria.

Esami di laboratorio - sono utili?

La diagnosi della FIP è stata discussa in molti trattati ed articoli; dal nostro punto di vista, l'algoritmo sviluppato dal laboratorio di Zurigo è ancora la migliore linea guida su base clinica¹⁰. Anche se include i titoli nell'albero delle decisioni, questi costituiscono soltanto un fattore di minore entità. La negatività degli esiti sierologici non invalida la diagnosi basata su dati clinici ed ematochimici.

In assenza di segni clinici, la sierologia non è di alcuna utilità per la prognosi nei singoli gatti. In effetti, esiste una correlazione statistica fra i titoli anticorpali e la conferma postmortem della FIP tre mesi dopo l'esecuzione del test. Tuttavia, il 40% circa degli

animali con titoli <300 può sviluppare la FIP, mentre tra quelli il cui titolo supera 1000 solo metà muoiono; in altre parole circa metà degli animali testati che rimane sano mostra lo stesso alto titolo dei gatti che sono a rischio.

Qual è l'altra faccia di questa moneta? Il 12% circa dei gatti con titoli <100 ha ancora sviluppato la FIP nel periodo di osservazione. Sulla base di questi dati, un proprietario su 8 sarebbe stato rimandato a casa con l'erronea informazione che al suo gatto non sarebbe successo nulla. La sierologia non permette di distinguere fra i ceppi mutanti di FCoV non pericolosi e quelli che inducono la FIP; infatti, si limita ad evidenziare un'infezione pregressa - ed in molti casi ancora in atto. Qualsiasi gatto sieropositivo può soccombere alla FIP, indipendente-

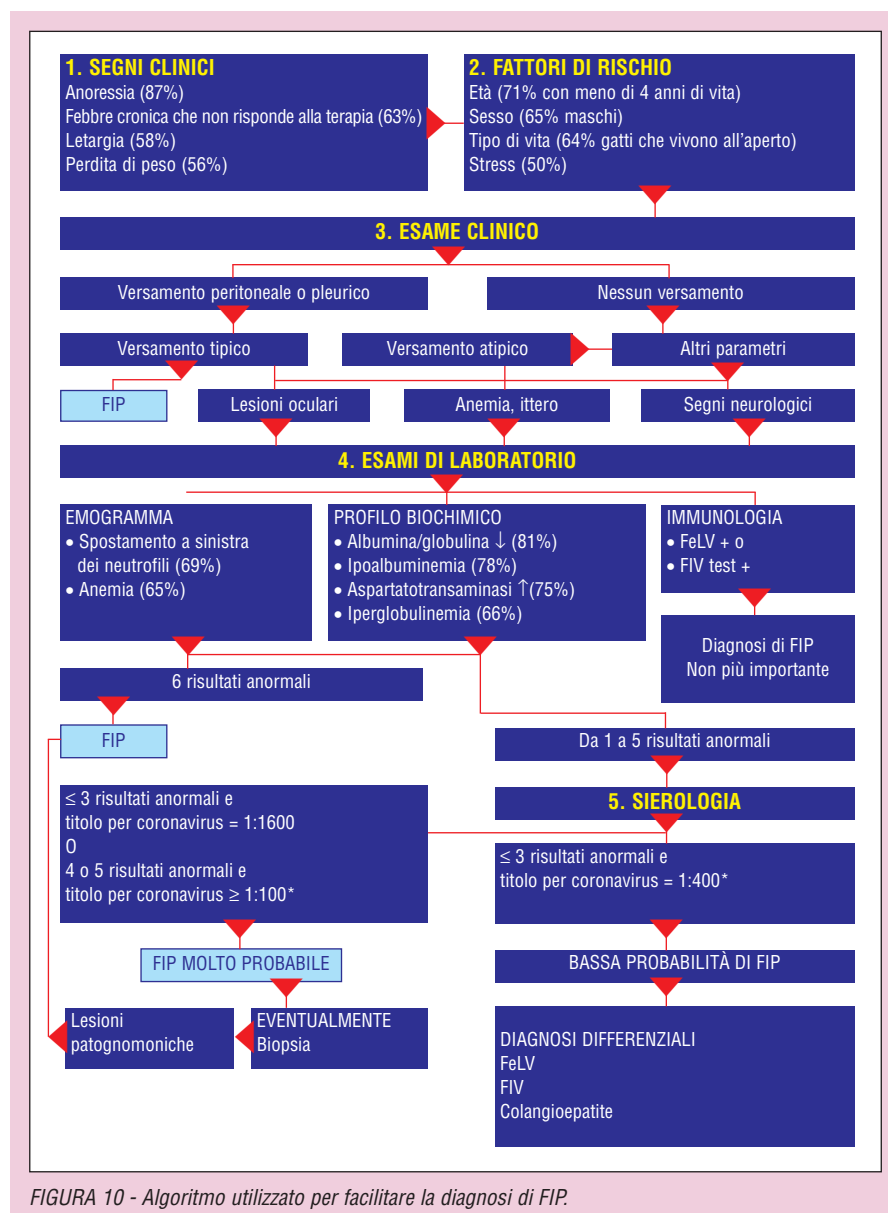


FIGURA 10 - Algoritmo utilizzato per facilitare la diagnosi di FIP.

mente dal titolo. Oggi, possiamo spiegare questa correlazione statistica fra titoli elevati e prognosi sfavorevole: l'espansione delle nubi di quasispecie di coronavirus ovviamente non apporta soltanto molto materiale genomico con un' aumentata probabilità di comparsa di mutanti induttori di FIP, ma garantisce anche l'elevata massa antigenica per indurre alti livelli di anticorpi. Tuttavia, è sempre possibile, sebbene con probabilità minore, la comparsa di mutanti FIP-induttori, anche a livelli di replicazione bassi (con ridotta produzione anticorpale).

D'altra parte, un gatto non infetto - che non è sinonimo di sieronegativo - non evolve in un caso di FIP. Questa può sembrare una cosa ovvia. Ciononostante, merita una certa considerazione. Nello studio sul gattile di Hannover, un ridotto numero di gattini sieronegativi eliminava FCoV nelle feci e nel plasma, alcuni soltanto nelle feci ed altri soltanto nel plasma. In concreto: l'86% degli animali positivi è stato identificato utilizzando la PCR, mentre l'indagine sierologica ha evidenziato solo il 71% di positivi. Tuttavia, neppure un animale sieropositivo è risultato PCR-negativo¹⁰. Ci si deve chiedere se vi sia spazio per i test di laboratorio finalizzati alla diagnosi ed alla prognosi della FIP. Attualmente, non è disponibile alcun saggio diagnostico - né di tipo ambulatoriale né da utilizzare presso i laboratori di ricerca - che risulti in grado di differenziare le varianti di FCoV virulente (FIPV) da quelle avirulente. Anche la "nuova" tecnica della PCR propagandata da alcune aziende non mantiene questa promessa, indipendentemente da ciò che viene affermato. Si ha motivo di credere che saggi discriminatori basati sulle proprietà molecolari delle varianti non siano fattibili, e forse nemmeno possibili. Esistono prospettive future per i test basati sulla dimostrazione delle modificazioni immunologiche in un animale che sviluppa la FIP.

Sia le tecniche sierologiche che la PCR risultano in grado, con differenziate sensibilità, di rilevare i gatti infetti e sono di valore inestimabile per la gestione dei gattili. Possono essere utilizzate per il monitoraggio del successo dei programmi di quarantena e di

"svezzamento precoce", per il controllo della condizione di SPF (*specific pathogen-free*) e dello status di indenne da coronavirus. Soprattutto la PCR potrebbe essere utile per il monitoraggio dei singoli animali da introdurre in gattili indenni da FCoV.

Un approccio promettente al controllo della FIP - basato sull'isolamento delle cucciolate dopo svezzamento precoce - è stato sviluppato dal gruppo di Glasgow¹, - ma è laborioso, richiede la collaborazione accurata dei proprietari dei gatti e non presenta alcuna attrattiva dal punto di vista veterinario. Incidentalmente, altri studi condotti in condizioni simili hanno fatto riscontrare soltanto effetti marginali⁷. Un'altra possibilità è l'eliminazione da una popolazione costituita da più gatti dei cosiddetti forti eliminatori del virus. Questi possono oggi essere riconosciuti utilizzando la tecnica TaqMan: per una caratterizzazione affidabile dei quadri di eliminazione virale è sufficiente effettuare il test di 4 campioni di feci prelevati ad intervalli di una settimana. I forti eliminatori possono essere identificati in condizioni di campo e separati dal gruppo, riducendo così la pressione di infezione per i restanti gatti. Rimane da dimostrare se questo approccio funzioni. Tuttavia, il buonsenso suggerisce che, in associazione con altre misure (tenere i gatti in piccoli gruppi, senza contatto fra di essi, pulire frequentemente le cassette delle deiezioni, introdurre nuovi soggetti solo dopo un periodo di quarantena ed un test mediante PCR, ecc...), questa misura possa risultare utile.

I gattili sieronegativi che siano stati identificati attraverso un qualsiasi programma di controllo devono naturalmente essere protetti dalla reintroduzione; a questo scopo potrebbe essere utile il vaccino a virus vivo termosensibile, che però ha indotto la formazione di anticorpi, compromettendo così un programma di identificazione e successivo isolamento dei soggetti sieropositivi. Inoltre, è necessario studiare la persistenza e la recrudescenza del virus vaccinale. Resta quindi ancora molto da apprendere sulla peritonite infettiva felina, che costituisce un'infezione estremamente enigmatica della medicina veterinaria.

Bibliografia

1. Addie, D. D. and Jarrett, J. O. (1992). A study of naturally occurring feline coronavirus infections in kittens. *Vet. Rec.* 130, 133-137.
2. Egberink, H. F., Herrewegh, A. P. M., Schuurman, N. M. P., van der Linde-Sipman, J. S., Horzinek, M. C., and de Groot, R. J. (1995). FIP, easy to diagnose? *Vet. Quart.* 17, 24-25.
3. Eigen, M. (1993) Viral quasispecies. *Scientific American*, July ;269(1):42-49
4. Fehr D., Holznagel E., Bolla S., Hauser B., Herrewegh A.A., Horzinek M.C., Lutz H. (1997) Placebo-controlled evaluation of a modified life virus vaccine against feline infectious peritonitis: safety and efficacy under field conditions. *Vaccine.* 15:1101-1109.
5. Groot, R.J. de and Horzinek, M.C. (1995) Feline infectious peritonitis. In: *The Coronaviridae* (Siddell, S.G. ed.) pp. 293-309. Plenum Press, New York.
6. Gunn-Moore D.A., Gruffydd-Jones T.J., Harbour D.A. (1998) Detection of feline coronaviruses by culture and reverse transcriptase-polymerase chain reaction of blood samples from healthy cats and cats with clinical feline infectious peritonitis. *Vet. Microbiol.* 62:193-205.
7. Gut M., Leutenegger C, Huder J., Pedersen N., Lutz H. (1999) One-tube fluorogenic reverse transcription-polymerase chain reaction for the quantitation of feline coronavirus. *J. Virol. Methods* 77, 37-46
8. Haagmans, B.L., Egberink, H., Schijns V.E.C.J. and Horzinek, M.C. (1996) Apoptosis and T-cell depletion during feline infectious peritonitis. *J. Virol.* 70, 789-793.
9. Herrewegh, A.A.P.M., de Groot, R.J., Cepica, A., Egberink, H.F., Horzinek, M.C., and Rottier, P.J.M. (1995) Detection of feline coronavirus RNA in feces, tissue, and body fluids of naturally infected cats by reverse transcriptase PCR. *J. Clin. Microbiol.* 33, 684-689.
10. Herrewegh, A.A.P.M., Mähler M., Hedrich, H.J., Haagmans, B.L. Egberink, H., Horzinek, M.C., Rottier, P.J.M. and de Groot, R.J. (1997). Persistence and evolution of feline coronavirus in a closed cat breeding colony. *Virology* 234, 349-363
11. Pedersen, N. C. (1987). Virologic and immunologic aspects of feline infectious peritonitis virus infection. *Adv. Exp. Med. Biol.* 218, 529-550.
12. Poland, A.M., Vennema, H., Foley, J.E. and Pedersen, N.C. (1996) Two related strains of feline peritonitis virus (FIPV) isolated from immunocompromised cats infected with a feline enteric coronavirus (FECV). *J. Clin. Microbiol.* 35, 258-262.
13. Rohner, M. (1999) Bestimmung der Ausscheidungskinetik von feline Coronaviren unter Feldbedingungen. Inaugural-Dissertation Vet. Med., Zürich (1999).
14. Rohrer, C., Suter, P.F. and Lutz, H. (1993) Die Diagnostik der feline infektiösen Peritonitis (FIP): retrospektive und prospektive Untersuchungen. *Kleintierpraxis* 6, 379-381.
15. Vennema, H., Poland, A., Floyd Hawkins, K., and Pedersen, N. C. (1995) A comparison of the genomes of FECVs and FIPVs and what they tell us about the relationships between feline coronaviruses and their evolution. *Feline Pract.* 23, 40-44.