

Patologija pseće herpesviroze



M. Prišlin*, Š. Naletilić, M. Hohšteter, V. Kunić, N. Krešić, N. Turk, I. Lojkić, L. Jemeršić i D. Brnić

Sažetak

Pseća je herpesviroza globalno prisutna virusna zarazna bolest prouzročena psećim herpesvirusom 1 (*Canid alphaherpesvirus-1*; CHV). Infekcija ovim virusom ima dvije faze: litičku i latentnu. Sam ishod infekcije uvelike ovisi o dobi i razvijenosti imunološkog sustava psa. Najznačajnija patološka posljedica pseće herpesviroze je liza endotelne stanice i epitelnih stanica više organskih sustava koja se pojavljuje u imunodeficientnih štenaca. Zbog pantropizma CHV-a, posljedica infekcije je nekrohemoragična upala mnogobrojnih organa zbog koje štenci nerijetko i ugibaju. U imunokompetentnih starijih pasa, iako često asimptomatska, litička infekcija može biti i smrtonosna. Klinički simptomi uključuju infekcije dišnog i spolnog sustava i očiju. Najčešće prisutna lezija očiju je konjunktivitis, ali mogu se pojaviti i ulceracije, petehijalna krvarenja i eksudativni blefaritis s krustama i alopecijom. Utjecaj CHV-a na respiratorni sustav rezultira blagim rinitisom, faringitisom

i traheobronhitisom, iznimno pneumonijom. CHV se često povezuje i sa zaraznim traheobronhitisom u pasa, tzv. "kašaljem štenare". Infekcija spolnog sustava ograničena je na hiperemiju vagine ili prepucija s hiperplastičnim limfoidnim folikulima te papulovezikularnim lezijama, ali se smatra najvažnijim izvorom infekcije za štenad pri porođaju. Prestankom kliničkih simptoma CHV prelazi u fazu latencije u živčanim ganglijima te se na taj način trajno zadržava u domaćinu. Prilikom stresa i imunosupresije latentni se CHV virus može reaktivirati i uspostaviti litičku fazu. Time se virus ponovno počinje replicirati i izlučivati, a oboljeli pas se mora isključiti iz uzgoja jer predstavlja izvor daljnjeg širenja virusa. Ipak, primjenom cjepiva u gravidnih kuja moguće je zaštititi novorođenu štenad te spriječiti teške posljedice herpesviroze u pasa.

Cljučne riječi: pseća herpesviroza, pseći herpesvirus-1, patologija, virusna infekcija, pas

Uvod

Pseća herpesviroza zarazna je bolest pasa prouzročena psećim herpesvirusom 1 (*Canid alphaherpesvirus-1*; CHV). Od 1965. godine, CHV je prepoznat kao uzročnik letalne hemoragijske bolesti u

štenadi te očnih, respiratornih i reproduktivnih poremećaja u odraslih pasa (Carmichael i sur., 1965.a, Carmichael i sur., 1965.b, Sprezel i sur., 1965.). Bolest je globalno prisutna, a seroprevalencija

Marina PRIŠLIN* (dopisni autor, e-mail: prislin@veinst.hr), dr. med. vet., asistentica, Šimun NALETILIĆ, univ. mag. med. vet., asistent, Valentina KUNIĆ, dr. med. vet., asistentica, dr. sc. Ivana LOJKIĆ, znanstvena savjetnica u trajnom zvanju, dr. sc. Lorena JEMERŠIĆ, dr. med. vet., naslovna izvanredna profesorica, znanstvena savjetnica u trajnom zvanju, dr. sc. Dragan BRNIĆ, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Nina KREŠIĆ, dr. med. vet., znanstvenica, Sciensano, Bruxelles, Belgija; dr. sc. Marko HOHŠTETER, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Nenad TURK, dr. med. vet., redoviti profesor, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

varira između 20 i 80 % (Kawakami i sur., 2010., Krogenæs i sur., 2012.). Posljedice infekcije, dovode do visokog mortaliteta štenaca dok u preživjelih može doći do trajnih morbiditeta poput sljepoće i neplodnosti (Evermann i sur., 2011.). Spomenute posljedice predstavljaju značajni problem u uzgoju pasa. Isto tako, zbog svojstva latencije virusa u živčanim ganglijima te periodičke reaktivacije i izlučivanja povezanih sa stresom i imunosupresijom, jednom inficirana jedinka ostaje doživotno inficirana te ju je potrebno isključiti iz uzgoja (Evermann i sur., 2011.). S ciljem boljeg razumijevanja nastanka i progresije bolesti, ovaj pregledni članak pobliže prikazuje etiologiju, patogenezu, patomorfologiju te kliničke posljedice pseće herpesviroze.

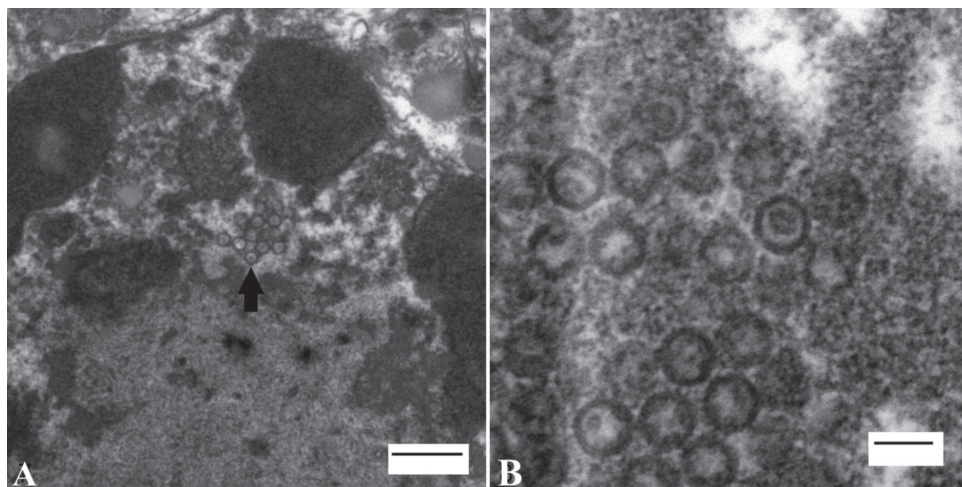
Etiologija

Pseći herpesvirus 1 (lat. *Canid alpha herpesvirus-1*; CHV) pripadnik je porodice *Herpesviridae*, potporodice *Alphaherpesvirinae*, roda *Varicellovirus* (Gatherer i sur., 2021.). CHV je monotipski virus, a analiza sekvenci različitih gena pokazala je manje od 1 % razlike između CHV izolata različitih zemalja (Reubel i sur., 2002.). Genetski je najbliži mačjem herpesvirusu, zatim herpesvirusu tuljana 1 i herpesvirusima kopitara 1 i 4 (Manning i sur., 1988., Decaro i sur., 2008.). Virusna čestica CHV-a građena je od dvostruke deoksiribonukleinske kiseline (dsDNA) koja je okružena nukleokapsidom ikozaedralne simetrije, tegumentom i ovojnicom na čijoj se površini nalaze glikoproteini (Slika 1). Promjer cijelog viriona je 200-280 nm, dok je promjer nukleokapsida 100 nm (Valdivia i sur., 2016.). Genom CHV-a je prosječne duljine 125 kbp i sastoji se od jedinstvene duge sekvence U_L (97,5 kbp) i jedinstvene kratke sekvence U_S (7,7 kbp) s niskim omjerom gvanina i

citozina (31,6 %) te ima 76 otvorenih okvira čitanja (engl. *Open Reading Frame*, ORF) (Papageorgiou i sur., 2016., Lewin i sur., 2020.). Virion CHV-a je termolabilan i razmnožava se na temperaturama nižim od 40 °C, pokazuje osjetljivost na uobičajene dezinficijense te vrlo brzo gubi infektivnost izvan domaćina (Papageorgiou i sur., 2016.). Herpesvirusi su otkriveni u velikom broju kralježnjaka (gmazovi, ptice i sisavci), ali su u svom prirodnom rasponu prijemljivosti domaćina ograničeni, stoga je prijemljivost CHV-a relativno ograničena na domaće i divlje kanide (fam. *Canidae*). Razlog tome jest posjedovanje vrsno specifičnih receptora za glikoprotein B (gB) i/ili gD na staničnoj membrani koji omogućavaju prijemljivost i ulazak virusa u stanicu (Nakamichi i sur., 2000.). Pseća herpesvirusna infekcija ima globalnu distribuciju u populaciji pasa, sa seroprevalencijom koja varira od 21,7 % u Japanu (Kawakami i sur., 2010.), 39 % u Turskoj (Yeşilbağ i sur., 2012.), 50,3 % u sjeverozapadnoj Italiji (Rota i sur., 2020.) te do 80 % u Norveškoj i Finskoj (Dahlbom i sur., 2009., Krogenæs i sur., 2012.). Prevalencija pseće herpesviroze veća je u gravidnih kuja i novorođene štenadi (Greene, 2012., Larsen i sur., 2015.). Primjenom virus-neutralizacijskog testa, u Hrvatskoj je 2014. godine potvrđena seroprevalencija od 12 % (Šimić i sur., 2014.), dok je 2020. godine na pretraženih 206 uzoraka seruma pasa, seroprevalencija iznosila 32,02 % (Gracin, 2020.).

Patogeneza, patomorfologija i klinička slika

Virus pseće herpesviroze može inficirati domaćina preko više ulaznih vrata. Dosad je poznato da ulazi preko respiratorne, genitalne i očne sluznice te placente. U eksperimentalnim istraživanjima



Slika 1. A Transmisijska elektronska mikrofografija stanice unutar lumena bronhiola s brojnim intranuklearnim ikozaedralnim virusnim nukleokapsidama psećeg herpesvirusa veličine od 100 do 110 nm. Strelica pokazuje virusne nukleokapside. Oznaka duljine, 500 nm. **B** Transmisijska elektronska mikrofografija s ikozaedralnim virusnim nukleokapsidama iz MDCK staničnog supernatanta. Oznaka duljine, 100 nm. (Kumar i sur., 2015.).

ulazna vrata infekcije pokazala su se važnim u daljnjem širenju i lokalizaciji virusa u tkivu. Psi inficirani CHV-om samo intranazalno ili i intranazalno i intravenozno, imali su virus u nazalnom sekretu, dok je onima kojima je inokuliran intravaginalno, pronađen u nazalnom i vaginalnom sekretu. Posljedično eutanaziji, genom virusa je utvrđen samo u trigeminalnim ganglijima i retrofaringealnim limfnim čvorovima, bez obzira na put inokulacije (Miyoshi i sur., 1999.). Genom virusa je dokazan i u trigeminalnim i lumbosakralnim ganglijima, tonzilama te medijastinalnim i hipogastričnim limfnim čvorovima u pasa u rekonvalescenciji, dok u monocitima nije utvrđen (Burr i sur., 1996.).

Posljedično ulasku virusa u domaćina, infekcija herpesvirusima ima litičku i latentnu fazu. Litička infekcija uključuje vezanje viriona međudjelovanjem s receptorima na staničnoj površini, nakon čega slijedi ulazak u stanicu. Nakon ulaska, virusna

kapsida dostavlja genom do jezgre, gdje se u odvija replikacija te u konačnici virioni izlaze iz stanice egzocitozom ili širenjem od stanice do stanice (Roizman i Taddeo, 2007.). Alternativa litičkoj infekciji i posljedičnoj staničnoj smrti je latentna infekcija, pri čemu virus ulazi u stanje mirovanja unutar stanične jezgre domaćina, odnosno replikacija virusa je u mirovanju. Dosašnja istraživanja o latenciji herpesvirusa navode kako virus inficira dendrite senzornih ganglija koji inerviraju tkiva na mjestu ulaska, a poslije retrogradnog transporta do tijela živčane stanice, virus se susreće s 'izborom' u izražavanju gena koji diktira sudbinu neurona: litička replikacija ili latentna infekcija. Ukoliko dođe do "izbora" latencije, dolazi do supresije svih litičkih gena u virionu te se latentni genom stabilno zadržava unutar staničnih jezgri osjetljivih neurona do ponovne reaktivacije (Nicoll i sur., 2012.). Točan mehanizam uspostavljanja, održavanja i reaktivacije latencije u herpesvirusa još nije u potpunosti

shvaćen, posebice za CHV. Naša istraživanja dokazuju kako su matične stanice masnog tkiva kod pasa (cASCs) prijemljive za CHV te se virus uspješno replicira u njima (Krešić i sur., 2022.). Daljnja će istraživanja prikazati mogu li cASCs, a i masno tkivo unutar kojega se nalaze, predstavljati potencijalno mjesto latencije CHV-a.

U svrhu boljeg razumijevanja patologije litičke faze pseće herpesviroze koja ima različit ishod ovisno o dobi pasa, patogenesa, patomorfologija i klinička slika su nadalje opisane prateći dob pasa.

Pseća herpesviroza u neonatalne štenadi

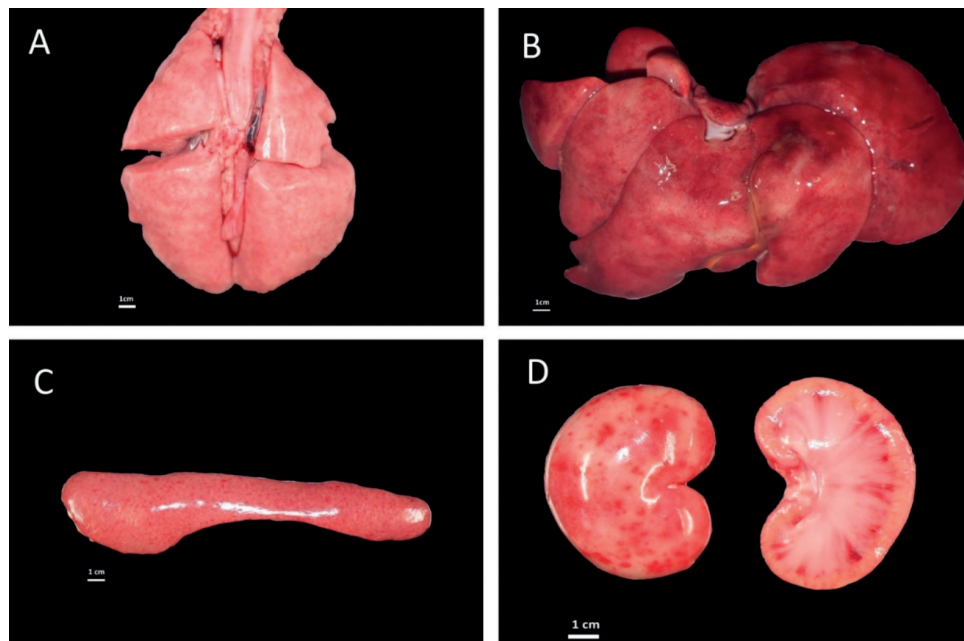
In utero infekcija

Iako je češća pojava CHV infekcije štenadi pri rođenju ili ubrzo nakon rođenja, *in utero* infekcija moguć je način prijenosa, bilo reaktivacijom latentnog CHV-a ili primarnom infekcijom gravidne kuje. Ukoliko dođe do *in utero* prijenosa CHV-a s majke na fetus, dolazi do pobačaja, rađanja mrtvorođenih ili avitalnih štenaca, a mortalitet fetusa iznosi i do 100 %, dok je majka najčešće asimptomatski kliconoša (Evermann i sur., 2011.). Posteljice inficiranih kuja su zahvaćene degenerativnim promjenama i žarišnom nekrozom. Lezije su prisutne i na stijenkama alantoinih krvnih žila gdje nalaz uključuje virusne intranuklearne inkluzije, a inkluzije se pojavljuju i u degenerirajućim stanicama trofoblasta i u stanicama krvnih žila majke i fetusa. Iako neki štenci mogu preživjeti takve *in utero* infekcije i izgledati zdravo nakon porođaja, većinom su inaparentno inficirani i razviju sistemsku infekciju unutar devet dana od rođenja (Hashimoto i sur., 1982.).

Akutna viremija neonatalne štenadi

Najznačajniji oblik pseće herpesviroze je akutna viremija u neonatalne šte-

nadi. Štenci se zaraze oronazalno preko vaginalne sluznice i/ili lizanjem majke tijekom porođaja ili direktnim prijenosom od drugih zaraženih pasa. Hipotermična štenad mlađa od tri tjedna razvija sistemsku, često smrtonosnu infekciju. Dolazi do replikacije virusa na mjestu ulaska; epitelu nosne sluznice, tonzila, ždrijela te područnih limfnih čvorova, zatim slijedi ulazak u makrofage i leukocite te viremija praćena replikacijom virusa u endotelu malih krvnih žila (Osterrieder, 2017.). Viremija dovodi do širenja virusa po tijelu tijekom tri do četiri dana nakon inokulacije. Ukoliko je štenad mlađa od tri tjedna, nema u potpunosti razvijen sustav termoregulacije, upalnog odgovora i razvoja vrućice pa se virus širi brže nego u starije štenadi. U starije štenadi koja ima odgovarajuće razvijenu termoregulaciju i vrućicu, širenje infekcije uglavnom je ograničeno zbog osjetljivosti virusa na temperature više od 40 °C. Stoga se kod njih razvija rinitis i faringitis, a kasnije se mogu javiti i simptomi od strane središnjeg živčanog sustava (sljepoća, gluhoća, ataksija) (Šimić i sur., 2014.). Posljedično dolazi do hiperplazije i nekroze slezene i limfnih čvorova (sredogruđa, donjeg dijela trbušne šupljine i čvorova nabora potrbušnice) te vitalni organi postaju punokrvni i zahvaćeni diseminiranom multifokalnom nekrozom tkiva (Schulze i Baumgärtner, 1998., Gracin, 2020.). Progresivna multifokalna hemoragijska nekroza javlja se u nekoliko organa, a najveće koncentracije virusa nalaze se u nadbubrežnim žlijezdama, bubrežima, plućima, slezeni i jetri (Greene, 2012.). Može doći i do infekcije središnjeg i perifernog živčanog sustava te širenja putem završetaka osjetljivih živaca (Miyoshi i sur., 1999., Gracin, 2020.). Ganglioneuritis trigeminalnog živca česta je lezija u štenaca inficiranih oronazalno. CHV može putovati aksonima do središnjeg živčanog sustava, kao

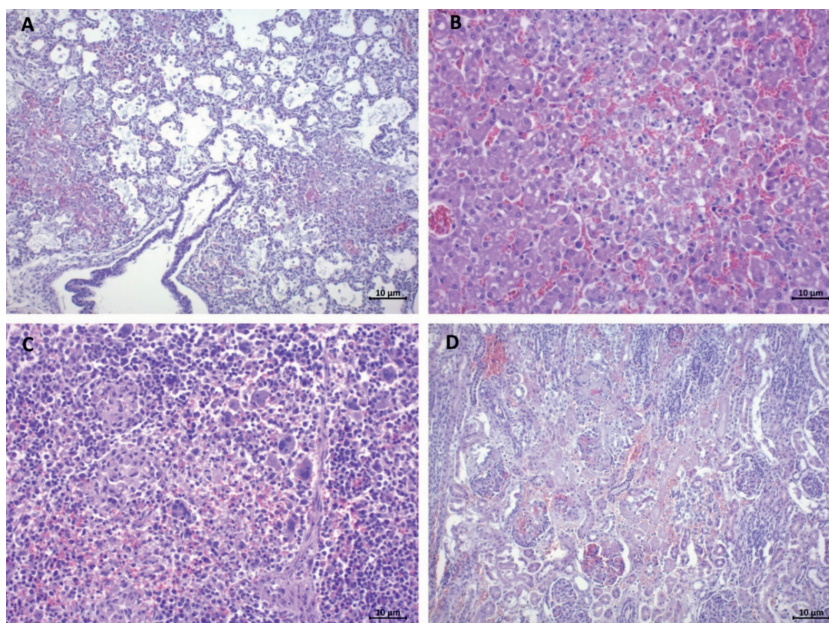


Slika 2. Makroskopske lezije na parenhimskim organima štenadi uginulih od herpesviroze. **A** Multifokalna nekrohemoragična pneumonija i edem pluća (multifokalna točkasta krvarenja u parenhimu pluća i edem pluća). **B** Multifokalni nekrohemoragični hepatitis (multifokalna točkasta krvarenja u parenhimu jetre). **C** Multifokalni nekrohemoragični splenitis (splenomegalija i multifokalna točkasta krvarenja u parenhimu i kapsuli). **D** Multifokalni nekrohemoragični nefritis (multifokalna krvarenja u kori i srži bubrega, s multiplim akutnim infarktima). Izvor: Arhiva Laboratorija za opću patologiju, Hrvatskog veterinarskog instituta.

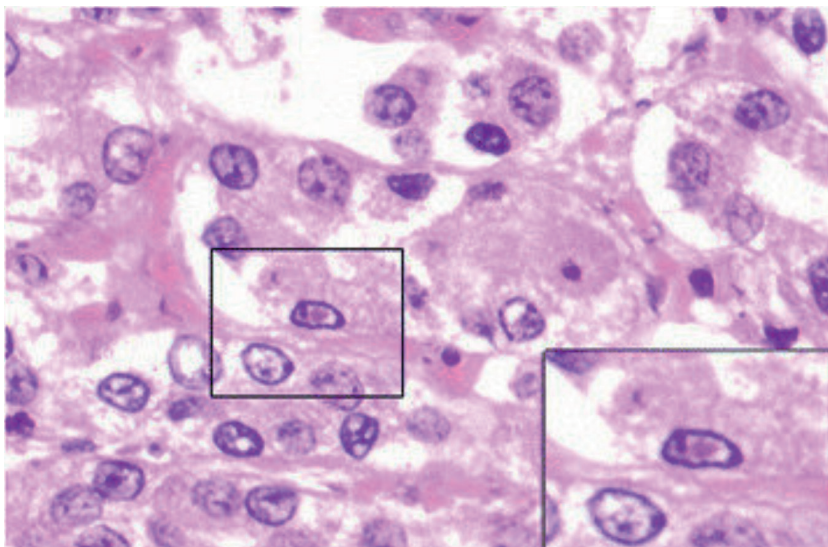
što to čini herpes simplex virus u ljudi. Prilikom oronazalne infekcije može se razviti meningoencefalitis, no neurološki simptomi nisu uvijek vidljivi. Vrlo često štenci uginu od sistemske infekcije prije nego li se pojave neurološki znaci (Greene, 2012.).

Makroskopskim pregledom lešine može se utvrditi karakteristična multifokalna ekhimozična krvarenja na bubrezima i gastrointestinalnom traktu oboljelih štenaca (Slika 2). Mikroskopskom pretragom mogu se ustanoviti multifokalne nekroze s krvarenjima u parenhimatoznim organima (Slika 3) te virusne intranuklearne inkluzije (Slika 4).

Hematogeno širenje virusa može rezultirati i CHV infekcijom intraokularnih tkiva. Očna infekcija je tipično bilateralna i postaje vidljiva unutar kratkog razdoblja nakon razvoja sistemske bolesti; dolazi do panuveitisa, retinitisa i neuritisa vidnog živca, a histopatološkim nalazom uočavaju se neutrofilni infiltrati i intranuklearne virusne inkluzije, edem, krvarenje i nekroza unutar šarenice, cilijarnog tijela, žilnice, mrežnice i vidnog živca. Budući da se palpebralne fisure u pasa otvaraju tek 10 do 14 dana nakon porođaja, očne promjene često izvana nisu vidljive. Posljedica u pasa koji su preboljeli CHV infekciju mogu biti djelomična



Slika 3. Mikroskopske lezije parenhimskih organa u šteneta oboljelog od herpesviroze. **A** Pluća: multifokalna nekrotizirajuća pneumonija (10x). **B** Jetra: fokalni nekrotizirajući hepatitis (20x). **C** Slezena: multifokalni nekrotični splenitis (20x). **D** Bubrež: multifokalni nekrotični nefritis (promjene zahvaćaju glomerule i tubule) (20x); bojanje H&E. Izvor: Arhiva Laboratorija za opću patologiju, Hrvatskog veterinarskog instituta.



Slika 4. Eozinofilne virusne intranuklearne inkluzije: nekrotizirajući nefritis, štene, bojanje H&E. (Larsen i sur., 2015.).

ili apsolutna sljepoća (Evermann i sur., 2011.). Ako štene preživi akutnu litičku infekciju, ostaje doživotno inficirano te dolazi do nastupa latentne faze infekcije karakteristične za herpesvirose.

Pseća herpesviroza u starije štenadi i odraslih pasa

Pseća je herpesviroza u odraslih pasa blaže ili asimptomatske manifestacije. Javljaju se klinički simptomi infekcije dišnog i spolnog sustava te očiju, često su sva tri sustava istodobno zahvaćena infekcijom. Iako rijetko, pseća herpesviroza može dovesti do sistemske infekcije i uginuća u pasa ovih dobnih kategorija (Kumar i sur., 2015.). U tom slučaju glavne lezije su multifokalna područja nekroza s intranuklearnim inkluzijskim tjelešcima u jetri, nadbubrežnoj žlijezdi i tankom crijevu, slično uočenim lezijama u štenaca zaraženih s CHV-om (Gadsden i sur., 2012.). Najučestalije su asimptomatske infekcije nakon kojih životinja ostaje doživotno latentno zaražena virusom, a može doći do povremene reaktivacije čime započinje novi litički ciklus infekcije.

Infekcija dišnog sustava

Mnoge eksperimentalne CHV infekcije u pasa starijih od pet tjedana rezultirale su blagim rinitisom, faringitisom i traheobronhitisom te je virus dokazan u sluznici gornjih dišnih puteva. No, imunosupresija i imunodeficijencija mogu dovesti do težeg kliničkog oblika. U takvim slučajevima nalaz uključuje nekrotizirajući rinitis, bronhointersticijsku pneumoniju i multifokalnu alveolarnu nekrozu s tipičnim intranuklearnim inkluzijama virusa (Evermann i sur., 2011.). Virus CHV se često povezuje sa zaraznim traheobronhitisom u pasa, tzv. "kašalj štenare" karakteriziran akutnim nastupom zarazne respiratorne bolesti u pasa (Karpas i sur.,

1968., Erles i sur., 2004.). Uloga virusa se u tom sindromu još uvijek istražuje i nije u potpunosti poznato dolazi li do primarne infekcije ili reaktivacije latentne infekcije, s obzirom da je virus slab imunogen pa se u latentno zaraženih životinja često ne mogu dokazati protutijela (Evermann i sur., 2011.).

Infekcija spolnog sustava

Do infekcije spolnih organa može doći nakon ulaska virusa putem genitalne sluznice ili kao posljedica viremije. Virus se umnaža na mjestu ulaska, a infekcija je uobičajeno asimptomatska ili ograničena na hiperemiju vagine ili prepucija s hiperplastičnim limfoidnim folikulima te papulovezikularnim lezijama. Genitalna lokalizacija virusa kod kuja može biti način spolnog prijenosa virusa, ali je najvažnija kao izvor infekcije za mladunce pri porođaju (Greene, 2012.). Virus CHV dolazi i do lumbosakralnih ganglija, gdje uspostavlja latenciju. Dokazana je postojanost virusa u lumbosakralnom gangliju tijekom latencije, a reaktivacijom dolazi do ponovne replikacije u sluznici spolnog sustava i izlučivanja virusa (Burr i sur., 1996., Miyoshi i sur., 1999.).

Očna infekcija

Očne manifestacije pseće herpesviroze mogu se razviti tijekom primarne i reaktivirane latentne infekcije, a ovisе o dobi i imunološkom statusu domaćina. U imunokompetentnih odraslih pasa obično se pojavljuje subklinička infekcija, dok su kod imunosuprimiranih očne lezije često veće, teže, traju dulje i teže se liječe (Evermann i sur., 2011.). Kod primarne očne infekcije, virus se prenosi senzornim živcima retrogradnim aksonskim transportom te uspostavlja latenciju u očnim senzornim ganglijima i trigeminalnom gangliju. Nakon reaktivacije latentnog virusa unutar ganglija dolazi do anterogradnog neuronskog transporta virusa

natrag do perifernih tkiva gdje se virus replicira i izlučuje na površini oka. To je omogućeno specifičnom anatomijom oka. Naime, iz trigeminalnog živca proizlaze vlakna oftalmičkog živca, a oftalmički živac opskrbljuje senzorna vlakna oka (rožnicu i konjunktivu) te okolnu kožu (Ledbetter, 2013.). Kao posljedice, pojavljuju se lezije ograničene na površinu oka – rožnici, konjunktivi i kapku (Hornbuckle i sur., 2009., Ledbetter i sur., 2009.a, Ledbetter i sur., 2009.b, Ledbetter i sur., 2009.c). Najčešće prisutna lezija je konjunktivitis te se manifestira kao hiperemija konjunktive, kemoza s eksudacijom, a može doći i do ulceracija te mogu biti prisutna petehijalna krvarenja. Blefaritis je povremeno prisutan, a može se pojaviti i kao žarišni ili generalizirani eritem, edem, s eksudacijom i krustama, a može biti prisutna i alopecija. Infekcija CHV-om može prouzročiti i ulcerozni ili neulcerozni keratitis, s karakterističnim dendritičnim izgledom ulceracije rožnice (Kim i sur., 2009., Ledbetter i sur., 2009.a, Ledbetter i sur., 2009.b).

Latentna infekcija i reaktivacija pseće herpesviroze

Nakon primarne infekcije, ukoliko nije došlo do uginuća životinje, herpesvirusi ulaze u fazu latencije neovisno o dobi pasa (Cohen, 2020.). Latencija CHV-a dokazana je u trigeminalnim ganglijima, lumbo-sakralnim živčanim završetcima, tonzilama, žlijezdama slinovnicama, limfnim čvorovima (submandibularnim, faringealnim, plućnim i mezenteričnim), jetri, bubrezima, slezeni i mozgu (Burr i sur., 1996., Miyoshi i sur., 1999., Gracin, 2020.). Međutim, faza latencije može biti prekinuta i herpesvirusi se mogu reaktivirati i ponovno izazvati litičku infekciju u stanjima imunodeficijencije i imunosu-

presije, što je dokazano primjenom kortikosteroida u pasa prirodno ili eksperimentalno zaraženih CHV-om (Okuda i sur., 1993., Ledbetter i sur., 2009.). Virus je otkriven u nazalnom, oralnom, vaginalnom i očnom sekretu od 5. do 21. dana nakon početka liječenja prednizolonom, kao i u tkivu nosne sluznice i tonzila (Okuda i sur., 1993.). Nedavnim istraživanjem uočeno je da se virus može izlučivati i do 36. dana nakon infekcije štenadi putem nazalnog i oćnog sekreta (Losurdo i sur., 2018.). Isto tako, reaktivacija CHV-a izazvana kortikosteroidima, čini se važnom kod rekurentnih očnih infekcija (Ledbetter i sur., 2009.a, Ledbetter i sur., 2009.b, Ledbetter i sur., 2009.c). U ovih se pasa, virusna reaktivacija može dogoditi subklinički ili u kombinaciji s nekom drugom očnom bolesti. Slična situacija dokazana je i u pasa s prirodno stećenim recidivom CHV infekcije, u kojoj je opisana prisutnost egzogeno primijenjenih kortikosteroida ili stresne situacije potencijalno povezane s povišenjem razina endogenih kortikosteroida (Gervais i sur., 2012.).

Dijagnostika, liječenje i prevencija

Za infekciju ne postoji specifičan antivirusni lijek, no odgovarajućom se prevencijom mogu umanjiti posljedice. S obzirom na termolabilnost CHV-a moguće ga je inaktivirati i prevenirati odgovarajućom temperaturom (>37 °C), zagrijavanjem štenadi i obitavajuće okoline, uz primjenu simptomatske terapije i održavanjem higijene prostora. Trenutno je u Europi odobreno subjedinično cjepivo za kuje (Eurican Herpes 205), koje ispravnom primjenom može osigurati zaštitu neonatalne štenadi. Prvo cjepivo daje se prilikom tjeranja ili 7-10 dana nakon datuma parenja; drugo se cjepivo daje 1-2

tjedna prije očekivanog datuma okota. Kuju treba na isti način docijepiti tijekom svake gravidnosti, ali je potrebno osigurati da svako štene popije dovoljnu količinu kolostruma. Prirodna pasivna imunitet može biti važna u zaštiti i preživljavanju zaraženih mladunaca (Poulet i sur., 2001., Evermann i Wills 2011.). Istraživanja je pokazalo da su kuje cijepjene protiv pseće herpesviroze 10. dan i 42. dan graviditeta koje su eksperimentalno bile inficirane CHV-om, serokonvertirale, a imale su i visok titar protutijela. Niti jedno štene cijepljenih kuja nije uginulo od CHV infekcije. U kontrolnoj skupini kuja koje nisu bile cijepjene, mortalitet je u prosjeku iznosio 62 % po leglu. Rezultati istraživanja su potvrđeni u kuja u uzgajalištima, u kojima je rizik oboljenja od pseće herpesviroze bio visok, a cijepljenjem kuja statistički je značajno smanjen mortalitet štenaca (Poulet i sur., 2001.). U svrhu prevencije u gravidnih kuja, potrebno je umanjiti stres u okolini te izbjegavati susrete s drugim životinjama koje mogu biti prenosioci infekcije 3-4 tjedna prije i poslije okota.

U svrhu dijagnostike pseće herpesviroze provode se molekularne dijagnostičke pretrage lančanom reakcijom polimerazom u stvarnom vremenu. Na dijagnostičku pretragu dostavlja se uginulo/pobačeno štene ili organi šteneta (bubrezi, jetra, pluća, slezena, želudac, crijeva, mozak), dok se u odraslih jedinki dostavlja bris s mjesta infekcije (oko, vagina, prepucij ili ždrijelo) ili uzorak krvi s antikoagulansom (Decaro i sur., 2008.).

Zaključak

Pseća herpesviroza je bolest koja može biti smrtonosna i koja može prouzročiti multisistemske lezije u štenadi, a i u odraslih pasa. Mnogo je nepoznanica u patologiji ovog virusa, posebice u samoj

patogenezi, jer do sada još nije u potpunosti utvrđeno kako točno CHV zaobilazi zaštitne mehanizme sluznice i dolazi do epitela te koje su molekule uključene u kaskadu širenja virusa krvnožilnim sustavom. Potrebno je istražiti i mehanizme i ulogu citokina koji dovode do lize stanica, infarkta tkiva i diseminirane intravaskularne koagulopatije, ali uloga površinskih glikoproteina viriona CHV-a u vezanju na receptore ciljnih stanica nije jasno definirana. U ovom trenutku specifičan lijek za pseću herpesvirozu nije dostupan, a terapija je potporna i simptomatska. Infekciju se može prevenirati držanjem pasa u adekvatnim higijenskim uvjetima i izbjegavanju kontakata gradivne kuje s mogućim prijenosnicima zaraze. U Europi je dostupno i cjepivo za kuje koje ispravnom primjenom može osigurati zaštitu neonatalne štenadi i spriječiti teške posljedice ove virusne infekcije.

Ipak, seroprevalencija pseće herpesviroze u Republici Hrvatskoj od 2014. do 2020. je godine porasla s 12 % na 32 %, što indicira da je trećina pasa zaražena. Stoga su potrebna daljnja istraživanja ovog virusa koja će omogućiti bolju prevenciju i uspješnije liječenje herpesviroze u pasa.

Zahvala

Zahvaljujemo Hrvatskoj zakladi za znanost na potpori u istraživanju literature te spremi ovog preglednog članka u okviru uspostavnog istraživačkog projekta (UIP-2019-04-2178) „Istraživanje transkriptoma i sekretoma mezenhimskih matičnih stanica“-SECRET.

Literatura

1. BURR, P. D., M. E. M. CAMPBELL, L. NICOLSON and D. E. ONIONS (1996): Detection of Canine Herpesvirus 1 in a wide range of tissues using the polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol.* 53, 227-237. 10.1016/S0378-1135(96)01227-8
2. CARMICHAEL, L. E. (1970): Herpesvirus canis: aspects of pathogenesis and immune response. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 156, 1714-1721.

3. CARMICHAEL, L. E., J. D. STRANDBERG, F. D. BARNES and J. A. BAKER (1965a): Identification of a Cytopathogenic Agent Infectious for Puppies as a Canine Herpesvirus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 120, 644-650. 10.3181/00379727-120-30614
4. CARMICHAEL, L. E., R. A. SQUIRE and L. KROOK (1965b): Clinical and pathologic features of a fatal viral disease of newborn pups. *Am. J. Vet. Res.* 26, 803-814.
5. COHEN, J. I. (2020): Herpesvirus latency. *J. Clin. Invest.* 130, 3361-3369. 10.1172/JCI136225
6. DAHLBOM, M., M. JOHNSSON, V. MYLLYS, J. TAPONEN and M. ANDERSSON (2009): Seroprevalence of canine herpesvirus-1 and *Brucella canis* in Finnish breeding kennels with and without reproductive problems. *Reprod. Domest. Anim.* 44, 128-131. 10.1111/j.1439-0531.2007.01008.x
7. DECARO, N., V. MARTELLA and C. BUONAVOGLIA (2008): Canine Adenoviruses and Herpesvirus. *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.* 38, 799-814. 10.1016/j.cvsm.2008.02.006
8. ERLES, K., E. J. DUBOVI, H. W. BROOKS and J. BROWNIE (2004): Longitudinal study of viruses associated with canine infectious respiratory disease. *J. Clin. Microbiol.* 42, 4524-4529. 10.1128/JCM.42.10.4524-4529.2004
9. EVERMANN, J. F. and T. B. WILLS (2011): Immunologic development and immunization. S. 88-100 In: M. E. Peterson & M. A. Kutzler (Hrsg.), *Small Anim. Pediatr.* St. Louis, Missouri. 10.1016/B978-1-4160-4889-3.00014-0
10. EVERMANN, J. F., E. C. LEDBETTER and R. K. MAES (2011): Canine Reproductive, Respiratory, and Ocular Diseases due to Canine Herpesvirus. *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.* 41, 1097-1120. 10.1016/j.cvsm.2011.08.007
11. GADSDEN, B. J., R. K. MAES, A. G. WISE, M. KIUPEL and I. M. LANGOHR (2012): Fatal Canid herpesvirus 1 infection in an adult dog. *J. Vet. Diagnostic Investig.* 24, 604-607. 10.1177/1040638712440994
12. GATHERER, D., D. P. DEPLEDGE, C. A. HARTLEY et al. (2021): ICTV virus taxonomy profile: Herpesviridae 2021. *J. Gen. Virol.* 102, 1-2. 10.1099/jgv.0.001673
13. GERVAIS, K. J., C. G. PIRIE, E. C. LEDBETTER and S. PIZZIRANI (2012): Acute primary canine herpesvirus-1 dendritic ulcerative keratitis in an adult dog. *Vet. Ophthalmol.* 15, 133-138. 10.1111/j.1463-5224.2011.00952.x
14. GRACIN, K. (2020): Dijagnostika herpesvirusne infekcije u pasa u Republici Hrvatskoj i njezin utjecaj na poremećaje reprodukcije. *Disertacija.* Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
15. GREENE, C. E. (2012): Canine Herpesvirus Infection. S. 48-54 In: C. E. Greene (Hrsg.), *Infect. Dis. dog cat.* St. Louis, Missouri: Elsevier Inc.
16. HASHIMOTO, A., K. HIRAI, T. YAMAGUCHI and Y. FUJIMOTO (1982): Experimental transplacental infection of pregnant dogs with canine herpesvirus. *Am. J. Vet. Res.* 43, 844-850.
17. KARPAS, A., F. G. GARCIA F. CALVO and R. E. CROSS (1968): Experimental production of canine tracheobronchitis (kennel cough) with canine herpesvirus isolated from naturally infected dogs. *Am. J. Vet. Res.* 29, 1251-1257.
18. KAWAKAMI, K., H. OGAWA, K. MAEDA, A. IMAI, E. OHASHI, S. MATSUNAGA, Y. TOHYA, T. OHSHIMA and M. MOCHIZUKI (2010): Nosocomial outbreak of serious canine infectious tracheobronchitis (kennel cough) caused by canine herpesvirus infection. *J. Clin. Microbiol.* 48, 1176-1181. 10.1128/JCM.02128-09
19. KREŠIĆ, N., M. PRIŠLIN, I. LJOLJE, Š. NALETILIĆ, P. KOSTEŠIĆ, D. VLAHOVIĆ, Ž. MIHALJEVIĆ, D. BRNIĆ, N. TURK and B. HABRUN (2022): Canine Adipose Derived Mesenchymal Stem Cells Support Canid Alphaherpesvirus 1 Infection In Vitro. *ESV2022 Abstract Book*, Ghent, Belgium, p. 157.
20. KROGENÆS, A., V. ROOTWELT, S. LARSEN, E. K. SJØBERG, B. AKSELSEN, T. M. SKÅR, S. S. MYHRE, L. H. M. RENSTRÖM, B. KLINGEBORN and A. LUND (2012): A serologic study of canine herpes virus-1 infection in the Norwegian adult dog population. *Theriogenology* 78, 153-158. 10.1016/j.theriogenology.2012.01.031
21. KUMAR, S., E. A. DRISKELL, A. J. COOLEY, K. JIA, S. BLACKMON, X. F. WAN, E. W. UHL, J. T. SALIKI, S. SANCHEZ, P. M. KRIMER and R. J. HOGAN (2015): Fatal Canid Herpesvirus 1 Respiratory Infections in 4 Clinically Healthy Adult Dogs. *Vet. Pathol.* 52, 681-687. 10.1177/0300985814556190
22. LARSEN, R. W., M. KIUPEL, H. J. BALZER and J. S. AGERHOLM (2015): Prevalence of canid herpesvirus-1 infection in stillborn and dead neonatal puppies in Denmark. *Acta Vet. Scand.* 57, 1-7. 10.1186/s13028-014-0092-9
23. LEDBETTER, E. C., S. G. KIM and E. J. DUBOVI (2009c): Outbreak of ocular disease associated with naturally-acquired canine herpesvirus-1 infection in a closed domestic dog colony. *Vet. Ophthalmol.* 12, 242-247. 10.1111/j.1463-5224.2009.00709.x
24. LEDBETTER, E. C., W. E. HORNBUCKLE and E. J. DUBOVI (2009b): Virologic survey of dogs with naturally acquired idiopathic conjunctivitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 235, 954-959. 10.2460/javma.235.8.954
25. LEDBETTER, E. C. (2013): Canine herpesvirus-1 ocular diseases of mature dogs. *N. Z. Vet. J.* 61, 193-201. 10.1080/00480169.2013.768151
26. LEDBETTER, E. C., S. G. KIM, E. J. DUBOVI and R. C. BICALHO (2009a): Experimental reactivation of latent canine herpesvirus-1 and induction of recurrent ocular disease in adult dogs. *Vet. Microbiol.* 138, 98-105. 10.1016/j.vetmic.2009.03.013
27. LEWIN, A. C., L. M. COGHILL, M. MIRONOVICH, C. C. LIU, R. T. CARTER and E. C. LEDBETTER (2020): Phylogenomic analysis of global isolates of canid alphaherpesvirus 1. *Viruses* 12, 1421. 10.3390/v12121421
28. LOSURDO, M., G. DOWGIER, M. S. LUCENTE, M. CINONE, M. CAMERO, M. L. COLAIANNI,

- G. PASSANTINO, G. VENTRIGLIA, D. BUONAVOGLIA and N. DECARO (2018): Long-term shedding of Canine alphaherpesvirus 1 in naturally infected newborn pups. *Res. Vet. Sci.* 119, 244-246. 10.1016/j.rvsc.2018.07.001
29. MANNING, A., A. BUCHAN, G. R. SKINNER, J. DURHAM and H. THOMPSON (1988): The immunological relationship between canine herpesvirus and four other herpesviruses. *J. Gen. Virol.* 69, 1601-1608. 10.1099/0022-1317-69-7-1601
30. MIYOSHI, M., Y. ISHII, M. TAKIGUCHI, A. TAKADA, J. YASUDA, A. HASHIMOTO, K. OKAZAKI and H. KIDA (1999): Detection of Canine Herpesvirus DNA in the Ganglionic Neurons and the Lymph Node Lymphocytes of Latently Infected Dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 61, 375-379. 10.1292/jvms.61.375
31. NAKAMICHI, K., K. OHARA, Y. MATSUMOTO and H. OTSUKA (2000): Attachment and Penetration of Canine Herpesvirus 1 in Non-Permissive Cells. *J. Vet. Med. Sci.* 62, 965-970. 10.1292/jvms.62.965
32. NICOLL, M. P., J. T. PROENÇA and S. EFSTATHIOU (2012): The molecular basis of herpes simplex virus latency. *FEMS Microbiol. Rev.* 36, 684-705. 10.1111/j.1574-6976.2011.00320.x
33. OKUDA, Y., K. ISHIDA, A. HASHIMOTO T. YAMAGUCHI, H. FUKUSHI, K. HIRAI and L. E. CARMICHAEL (1993): Virus reactivation in bitches with a medical history of herpesvirus infection. *Am. J. Vet. Res.* 54, 551-554.
34. OSTERRIEDER, K. (2017): Herpesvirales. S. 189-216. In: N. J. MacLachlan & E. J. Dubovi, *Fenner's Veterinary Virology*, Elsevier Inc., Netherlands, 189-216. 10.1016/B978-0-12-800946-8.00009-X
35. PAPAGEORGIOU, K. V., N. M. SUÁREZ, G. S. WILKIE, M. MCDONALD, E. M. GRAHAM and A. J. DAVIDSON (2016): Genome sequence of canine herpesvirus. *PLoS One* 11, 1-11. 10.1371/journal.pone.0156015
36. POULET, H., P. M. GUIGAL, M. SOULIER, V. LEROY, G. FAYET, J. MINKE and G. CHAPPUIS MIERAL (2001): Protection of puppies against canine herpesvirus by vaccination of the dams. *Vet. Rec.* 148, 691-695. 10.1136/vr.148.22.691
37. REUBEL, G. H., J. PEKIN, K. WEBB-WAGG and C. M. HARDY (2002): Nucleotide Sequence of Glycoprotein Genes B, C, D, G, H and I, the Thymidine Kinase and Protein Kinase Genes and Gene Homologue UL24 of an Australian Isolate of Canine Herpesvirus. *Virus Genes* 25, 195-200. 10.1023/A:1020118003743
38. ROIZMAN, B. and B. TADDEO (2007): Chapter 13 The strategy of herpes simplex virus replication and takeover of the host cell. In: Arvin, A., Campadelli-Fiume, G., Mocarski, E., et al., Editors. *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis*. Cambridge University Press, Cambridge. 10.1017/CBO9780511545313.014
39. ROTA, A., A. DOGLIERO, T. BIOSA, M. MESSINA, P. PREGEL and L. MASOERO (2020): Seroprevalence of canine herpesvirus-1 in breeding dogs with or without vaccination in Northwest Italy. *Animals* 10, 1-8. 10.3390/ani10071116
40. SCHULZE, C. and W. BAUMGÄRTNER (1998): Nested polymerase chain reaction and in situ hybridization for diagnosis of canine herpesvirus infection in puppies. *Vet. Pathol.* 35, 209-217. 10.1177/030098589803500306
41. ŠIMIĆ, I., I. LOJKIĆ, N. KREŠIĆ i T. BEDEKOVIĆ (2014): Herpesvirusna infekcija pasa. *Vet. stn.* 45, 377-448.
42. VALDIVIA LARA, E. G., B. L. B. ROMERO, L. C. MARÍN, J. I. Á. SOLIS, S. G. GALLARDO, C. C. VERDE, J. A. M. CRESPO and G. V. ANDA (2016): Pathology Isolation and Identification of Canine Herpesvirus (CHV-1) in Mexico. *Open J. Pathol.* 6, 111-121. 10.4236/ojpathology.2016.63014
43. YEŞILBAÇ, K., E. YALÇIN, P. TUNCER and Z. YILMAZ (2012): Seroprevalence of canine herpesvirus-1 in Turkish dog population. *Res. Vet. Sci.* 92, 36-39. 10.1016/j.rvsc.2010.10.016

Pathology of canine herpesvirus infection

Marina PRIŠLIN, DVM, Research Assistant, Šimun NALETILIĆ, DVM, Research Assistant, Valentina KUNIĆ, DVM, Research Assistant, Ivana LOJKIĆ, Prof. Biol., PhD, Scientific Advisor with Tenure, Lorena JEMERŠIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Scientific Advisor with Tenure, Dragan BRNIĆ, DVM, PhD, Senior Scientific Associate, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia; Nina KREŠIĆ, DVM, PhD, Scientist, Sciensano, Bruxelles, Belgium; Marko HOHŠTETER, DVM, PhD, Associate Professor, Nenad TURK, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

Canine alphaherpesvirus-1 (CHV) is a globally present virus causing infectious disease in dogs. The outcome of CHV infection depends significantly on the age and immune system development of the dog and occurs in two phases: lytic and latent. Due to the pantropism of CHV, lysis occurs in the endothelium and epithelium of various organ systems, causing necrohaemorrhagic inflammation and frequently death in immunodeficient puppies. Lytic infection produces reduced or silent symptoms in older, immunocompetent dogs, although it can occasionally be fatal. Clinical signs of infection appear in the ocular, reproductive, and respiratory systems. The most typical eye lesion is conjunctivitis, though other conditions such as ulcers, petechial haemorrhages, exudative blepharitis with crusts, and alopecia can also occur. When CHV affects the respiratory system, it can cause mild rhinitis, pharyngitis, and tracheobronchitis, as well as severe pneumonia. The virus is also frequently linked to infectious tracheobronchitis in dogs, or “kennel

cough.” Although infection of the reproductive system is restricted to hyperaemia of the vagina or prepuce with hyperplastic lymphoid follicles and papulovesicular lesions, it is thought to be the most significant source of infection for puppies after birth. After the onset of clinical symptoms, CHV enters the latency phase in the nerve ganglia, where it remains in the host indefinitely. During times of stress and immunosuppression in dogs, the latent CHV virus can occasionally reactivate and establish a lytic phase, at which point it resumes replication and shedding. These CHV latency effects are a significant problem since the affected dog is permanently infected, cannot be bred, and is always a source of possible virus outbreak. Although death ensuing from CHV infection is the worst conceivable consequence, immunisation of pregnant females can protect newborn puppies and breeders from this outcome.

Key words: *canine herpesvirus; canid alphaherpesvirus-1; pathology; viral infection; dog*