

Congiuntiviti, cheratiti e cherato-congiuntiviti infettive nel gatto

Parte 2: herpesvirus felino



L'herpesvirus felino è l'agente patogeno che più comunemente causa alterazioni respiratorie e oculari nel gatto. Il virus è ubiquitario, ha un'elevata morbilità e diventa latente dopo l'infezione acuta, riacutizzandosi in esito a stress o a terapie immunosoppressive. L'infezione virale può causare una cherato-congiuntivite con erosioni/ulcere corneali. Si distinguono quattro forme cliniche di malattia oculare che sono: l'ophthalmia neonatorum nei gattini appena nati; l'infezione acuta nei cuccioli e giovani adulti; l'infezione recrudescente dovuta alla riattivazione del virus dopo una fase di latenza; la cheratite stromale che rappresenta la forma cronica della malattia. La diagnosi dell'herpesvirosi è relativamente semplice nella fase acuta, ma più complessa nelle altre forme. La terapia deve essere modulata in base alla forma clinica della malattia oculare. Lo scopo di questa review è quello di descrivere l'eziologia, la patogenesi, i segni clinici oftalmici, le opzioni diagnostiche e terapeutiche della malattia virale erpetica nel gatto.



Alberto Crotti*
Med Vet, Oculistica Veterinaria Genova



Giovanni Barsotti
Med Vet, PhD, SPCAA-oculistica,
Prof Assoc Dipartimento Scienze Veterinarie
Università di Pisa

INTRODUZIONE

L'herpesvirus felino tipo 1 (FHV-1) è il più comune patogeno che causa alterazioni oculari nel gatto. Inoltre, esso rappresenta nella specie felina una causa frequente di malattia delle prime vie respiratorie e talvolta anche cutanea. L'herpesvirosi è una patologia complessa da un punto di vista clinico, diagnostico e terapeutico.

L'FHV-1, dopo l'infezione iniziale e la guarigione clinica della malattia, si comporta come tutti i virus appartenenti a questa famiglia, ovvero va incontro a una fase di latenza, principalmente a livello del ganglio del trigemino e da esso l'infezione può riacutizzarsi, in particolare in esito a fenomeni stressanti di varia natura. La diagnosi della malattia rappresenta una vera sfida per il

clinico in quanto i test di laboratorio a disposizione hanno numerosi svantaggi legati al comportamento biologico del virus, alla sua ubiquarietà, alla reazione crociata con il virus vaccinale e alla sua presenza anche in soggetti asintomatici. I farmaci antivirali a disposizione sono tutti virostatici per cui è necessario che il loro utilizzo avvenga, sia nella fase acuta della malattia sia nelle forme croniche come la cheratite stromale, con somministrazioni giornaliere molto frequenti. La profilassi vac-

L'herpesvirus felino tipo 1 è il patogeno che più frequentemente causa alterazioni oculari nel gatto.

*Corresponding Author (albertocrotti57@gmail.com)

Ricevuto: 28/01/2024 - Accettato: 23/04/2024

cinale attraverso l'uso di vaccini inattivati o attenuati non sempre previene l'infezione da FHV-1 ma sembra ridurre la gravità della sintomatologia clinica della malattia. Questa review ha lo scopo di descrivere l'eziologia, la patogenesi, i segni clinici oftalmici, la diagnosi e il trattamento dell'herpesvirus, malattia estremamente diffusa nella specie felina e di comune riscontro nella pratica oftalmologica quotidiana.

EZIOLOGIA

L'FHV-1 è stato isolato per la prima volta nel 1958¹. Si tratta di un virus a DNA specie specifico, ritenuto ubiquitario in tutto il mondo, tassonomicamente classificato nella famiglia dell'Herpesviridae, subfamiglia Alphaherpesvirinae; ne è stato riconosciuto un solo sierotipo sebbene la sua virulenza possa differire notevolmente tra i vari ceppi e ciò spiegherebbe la variabilità dei segni clinici nei soggetti colpiti². L'FHV-1 è un virus labile e può resistere solo 18 ore in ambiente umido e ancor meno in ambiente secco³. È inattivato in 3 ore alla temperatura di 37° C, in 5 minuti a 56 °C mentre a 4°C il virus può rimanere infettivo fino a 5 mesi e a 25° C circa 1 mese⁴.

EPIDEMIOLOGIA

Il gatto domestico rappresenta l'ospite "elettivo" del FHV-1 e, al momento, non esistono evidenze scientifiche sulla possibilità di infezione crociata con le altre specie compresa quella umana o sulla presenza di altre specie serbatoio o ospiti alternativi. Si ritiene, prendendo in considerazione sia il virus "wild-type" sia quello vaccinale, che una percentuale variabile dal 75 al 97% della popolazione mondiale di gatti sia sieropositiva e che FHV-1 sia responsabile di circa il 45% di tutte le infezioni dell'apparato respiratorio nel gatto^{5,6}. L'herpesvirus è caratterizzata da un'alta morbilità ma da una bassa mortalità, ad eccezione dei cuccioli dove può raggiungere anche il 60%⁷. È stato osservato che gatti infettati sperimentalmente con il virus dell'immunodeficienza felina (FIV), ma asintomatici per la malattia, sviluppano una forma clinica più grave di FHV-1 rispetto a gatti FIV negativi⁸. La frequenza di coinfezioni con Calicivirus, *Chlamydia* spp., *Bordetella* spp. o *Mycoplasma* spp. è estremamente variabile^{2,9,10}.

L'herpesvirus felino tipo 1 è molto diffuso nella popolazione felina mondiale ed è causa comune di patologie respiratorie e oftalmiche.

PATOGENESI

L'FHV-1 determina la malattia attraverso due principali meccanismi molto differenti tra loro. Esiste, infatti, una

fase citolitica, che è caratterizzata dalla replicazione virale attiva ed è spesso a carattere ulcerativo e una fase immunomediata o immunologica rappresentata dalla risposta infiammatoria dell'animale infettato nei confronti di antigeni virali o autoantigeni che persistono^{2,11}. È possibile che nel gatto, come accade nella specie umana, esista anche un terzo meccanismo patogenetico, la fase metaerpetica, che verrà descritta in seguito nella sessione dedicata alla cherato-congiuntivite secca associata all'infezione da FHV-1.

La modalità di trasmissione dell'infezione è solitamente per via aerogena attraverso il contatto diretto delle mucose orali, nasali e congiuntivali dei soggetti sani con goccioline contenenti il virus immesse nell'aria attraverso lo starnuto dei gatti infetti. Il normale atto respiratorio non determinerebbe, al contrario, alcuna forma di trasmissione della malattia. Dopo l'esposizione al virus, il periodo dell'incubazione varia dai 2 ai 10 giorni. La sua durata e la successiva gravità della sintomatologia è comunque dipendente dalla virulenza e dalla dose di contatto dell'agente infettante. Dopo 24 ore dal contagio e per 1-3 settimane FHV-1 viene diffuso dalle secrezioni nasali, orali e nasali e può essere presente, seppure in modo discontinuo, per tutta la vita nei soggetti portatori^{2,11}. Nella fase acuta della malattia la replicazione virale avviene principalmente a livello delle mucose delle prime vie respiratorie (setto nasale, turbinati, nasofaringe e trachea). Possono essere coinvolti anche i linfonodi mandibolari, tonsille e tessuto congiuntivale, mentre la cornea rappresenterebbe meno frequentemente sito di replicazione virale¹¹⁻¹³, può essere presente raramente coinvolgimento polmonare¹⁴. La viremia è stata riportata in modo sporadico, sia nella fase acuta sia in quella della recrudescenza della malattia^{12,15}, mentre una forma di infezione generalizzata è stata evidenziata esclusivamente in neonati o soggetti debilitati¹⁶⁻¹⁸. In seguito all'infezione a livello respiratorio si assiste alla comparsa di necrosi multifocali epiteliali con infiltrazione di neutrofili^{2,19}. Nonostante la malattia sia indipendente dalla presenza di concomitanti infezioni batteriche²⁰, non deve essere sottovalutato il ruolo di queste infezioni soprattutto sulla gravità e sulla progressione delle lesioni ulcerative corneali. Le infezioni batteriche possono, inoltre, determinare l'insorgenza di sinusiti, riniti e polmoniti, peggiorando il quadro respiratorio².

La possibilità di contagio virale attraverso le vie transvaginale e transplacentale è stata dimostrata sperimentalmente, mentre il parto e il successivo allattamento indurrebbero stress nella madre che, se infetta in modo latente, può avere una riattivazione dell'infezione e trasmettere la malattia ai cuccioli molto precocemente. L'evoluzione della malattia nei cuccioli dipende dal loro livello anticorpale acquisito dalla madre: se alto possono sviluppare la malattia a livello subclinico e poi la fase

Il parto e la lattazione sono fattori stressanti per la gatta che può subire un fenomeno di recrudescenza della forma virale e trasmetterla ai cuccioli subito dopo la nascita.

di latenza; se basso, invece, i segni clinici saranno più evidenti e il grado di malattia più grave²¹.

La possibilità del contagio indiretto tramite oggetti o manipolazioni è rara e può manifestarsi con maggiore frequenza in gattini o allevamenti. I rischi di trasmissione iatrogena durante una visita oculistica sono estremamente ridotti²².

FENOMENO DELLA LATENZA

La più importante fonte del virus dal punto di vista del contagio è rappresentata dal soggetto affetto in modo acuto, tuttavia, si ritiene che circa l'80% dei soggetti guariti dal punto di vista clinico possano divenire portatori potenzialmente infettanti (carriers) e possano, occasionalmente, diffondere il virus e contagiare altri soggetti²³. Durante la malattia acuta, nella fase di replicazione a livello delle cellule epiteliali, particelle virali risalgono, attraverso gli assoni sensitivi, verso il ganglio regionale associato del trigemino, dove il genoma virale persiste all'interno dei nuclei cellulari determinando una latenza che può perdurare in modo non infettante anche per tutta la vita dell'animale. Il ganglio del trigemino è considerato il principale sito di latenza del virus, insieme ai gangli cervicale e pterigo-palatino^{24,25}. Nella fase di latenza il virus non è diagnosticabile nei tessuti e nelle secrezioni, suggerendo la possibilità che esso sia completamente integrato nel genoma cellulare. Si ritiene che in circa il 45% dei carriers il virus latente possa riattivarsi in modo spontaneo o, più frequentemente, in conseguenza di periodi di stress quali gravidanza e lattazione, viaggi e cambi di abitazione o dopo somministrazione di corticosteroidi per via sistemica⁷. Il virus, una volta riattivatosi, dai siti di latenza sembra possa raggiungere nuovamente i tessuti epiteliali periferici attraverso gli assoni delle stesse vie sensoriali utilizzati in precedenza per la latenziazione, dando luogo a quella che viene definita "round trip theory", ovvero la teoria del viaggio di andata e ritorno. La riattivazione del virus può portare a differenti gradi di riacutizzazione dei segni clinici definita recrudescenza della malattia e allo stesso tempo il gatto può risultare infettante per altri soggetti. La

Alcuni soggetti possono andare incontro a recrudescenza della malattia erpetica in esito a fenomeni stressanti di varia natura.

"round trip theory" porterebbe a escludere la causa viremica nella patogenesi della riacutizzazione della malattia¹⁵.

PERSISTENZA DELL'INFEZIONE VIRALE

Si tratta di una condizione nella quale l'infezione virale erpetica sembra essere cronica e quindi differente dalla malattia primaria, dallo stato di latenza e dalla malattia recrudescente. Tramite PCR è stato possibile isolare il DNA virale dell'herpes simplex tipo 1 umano in cellule non neuronali (congiuntiva e cute) di topi infettati sperimentalmente che presentavano processi infiammatori cronici delle palpebre e della congiuntiva e della cornea, facendo ipotizzare che un'infezione persistente a tali livelli fosse la causa della manifestazione clinica²⁶.

Un simile meccanismo potrebbe verificarsi anche in corso di infezione da FHV-1 nel gatto²⁴ ed essere alla base di alterazioni oculari e perioculari croniche quali la cheratite stromale, la congiuntivite cronica, la dermatite erpetica e l'uveite anteriore.

SEGNII CLINICI

Nel periodo perinatale, nei gattini può insorgere un'infezione riconducibile all'azione del FHV-1 e batteri definita "ophthalmia neonatorum". Se la malattia si sviluppa prima della naturale apertura delle palpebre a due settimane dalla nascita, si osserva gonfiore cutaneo per accumulo di materiale purulento tra le palpebre e la cornea. Può essere presente scolo mucopurulento che fuoriesce dalla piccola apertura della rima palpebrale a livello del canto nasale. In questi casi la cornea si perfora per l'azione litica del pus prima che i cuccioli riescano ad aprire le palpebre o che quest'ultime vengano aperte forzatamente o chirurgicamente. Se l'ophthalmia neonatorum insorge subito dopo l'apertura delle palpebre, la cherato-congiuntivite si aggrava in modo rapido se non trattata, con sviluppo di ulcere corneali che si perforano facilmente con conseguente endo/pan-ofthalmite²⁷ (Fig. 1).

Nella fase acuta dell'infezione erpetica, la congiuntivite bilaterale è spesso associata alla cheratite ulcerativa con presenza di caratteristiche lesioni corneali dendritiche.

La **fase acuta** della malattia colpisce solitamente gatti giovani (2-8 mesi) ed è caratterizzata da febbre, depressione del sensorio e anoressia, sintomi a carico delle prime vie respiratorie e oculari, questi ultimi si manifestano con erosioni e ulcerazioni delle mucose superficiali, in seguito all'effetto citolitico del virus e alla sua alta affinità per le strutture epiteliali. Starnuti, sco-



Figura 1 - Gatto di 4 settimane, europeo, affetto da alterazioni oculari riconducibili a ophthalmia neonatorum. È presente intenso blefarospasmo associato a marcato scolo oculare. La grave chemosi congiuntivale e la blefarite impediscono l'osservazione della cornea che all'esame clinico è risultata affetta da ulcera stromale profonda bilateralmente. Si noti lo scolo nasale mucopurulento dovuto alla sindrome delle prime vie respiratorie riferibile a erpesvirus.

lo nasale e tosse sono segni comuni e in questa fase gatti molto giovani o estremamente debilitati possono presentare polmonite e raramente segni clinici neurologici^{14,16,17,28} e pancreatite¹⁸. A livello oculare si osserva, di solito bilateralmente, iperemia e chemosi congiuntivale associata a scolo sieroso o siero ematico che diviene purulento in caso di sovra-infezione batterica secondaria (Fig. 2). Possono essere presenti anche crostosità a livello palpebrale, che si estendono anche alle narici. A causa dell'azione epitelio litica del virus possono essere os-

servate lesioni ulcerative a livello congiuntivale e lesioni corneali dendritiche, oppure ulcere superficiali puntiformi o "a carta geografica". Le lesioni dendritiche coinvolgono solo l'epitelio corneale e hanno un tipico aspetto lineare o ramificato (Fig. 3). Le ulcere puntiformi, invece, possono essere singole o multiple e appaiono come aree più o meno ampie di disepitelizzazione con più raro coinvolgimento dello stroma. Entrambe le lesioni descritte possono essere facilmente evidenziate durante la visita oftalmologica tramite coloranti vitali come la fluoresceina ma soprattutto il rosa bengala o il verde di lissamina²⁹. Le lesioni corneali sono spesso associate ai segni del dolore oculare quali fotofobia, epifora, blefarospasmo, enoftalmo e procidenza della terza palpebra.

Dopo la fase acuta della malattia alcuni soggetti possono manifestare forme croniche³⁰, sequele e/o complicazioni oculari, tra cui congiuntivite cronica, ulcere corneali progressive fino alla perforazione (Fig. 4), sviluppo di aderenze delle congiuntive bulbari, palpebrali e della terza palpebra tra loro o con la superficie corneale (symblepharon) (Fig. 5). Tali aderenze possono esitare in lagofthalmo e/o difetti di mobilità della terza palpebra, epifora cronica e opacità corneale di grado variabile, fino anche alla perdita della funzione visiva dell'occhio coinvolto³¹. Dopo la fase acuta, inoltre, molti gatti sviluppano la forma di latenza con possibile recrudescenza della malattia oculare in esito a fattori predisponenti quali lo stress o terapie farmacologiche che alterino il normale assetto immunitario del soggetto. **L'infezione recrudescente** da FHV-1 colpisce i soggetti adulti, con

L'infezione recrudescente oculare da herpesvirus è nella maggior parte dei casi monolaterale con moderato interessamento congiuntivale; prevale l'interessamento corneale con presenza di erosioni/ulcere.

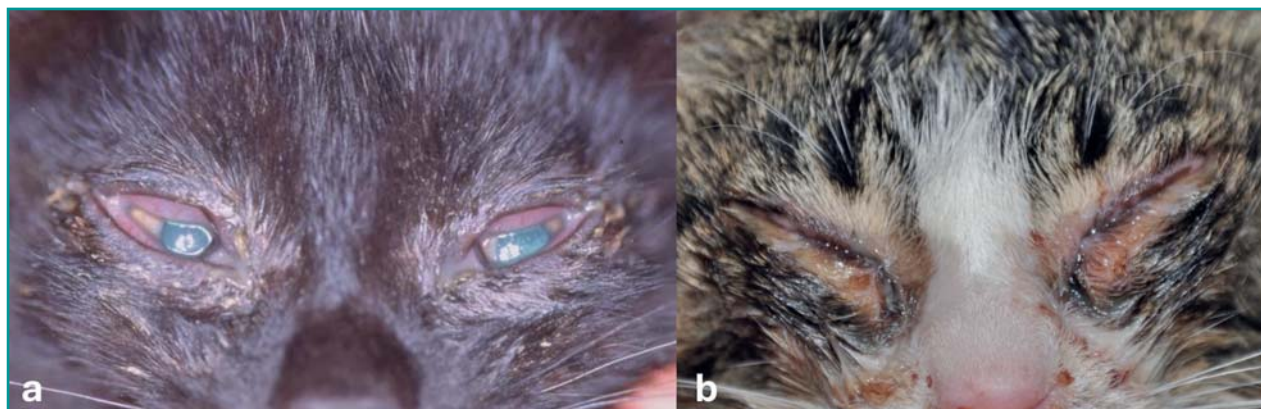


Figura 2 - a) Gatto di 4 mesi, europeo, affetto da cherato-congiuntivite acuta riconducibile a infezione da herpesvirus. È possibile osservare bilateralmente blefarospasmo, procidenza della terza palpebra, scolo mucoso, iperemia e chemosi congiuntivale. La cornea appare opaca in quanto affetta da cheratite; b) gatto di 6 mesi, europeo con cherato-congiuntivite acuta riconducibile a infezione da herpesvirus; in questo caso il disagio oculare era talmente grave da impedire l'apertura palpebrale.

interessamento spesso solo monolaterale. Oltre alle alterazioni congiuntivali sono evidenti lesioni corneali, in particolare lesioni epiteliali dendritiche che tendono a confluire e ad acquisire un aspetto detto “a carta geografica” (Fig. 6). Le erosioni epiteliali corneali causano dolore che si presenta con fotofobia, epifora, blefarospasmo, procidenza della terza palpebra, enoftalmo e raro coinvolgimento dello stato generale (abbattimento, anoressia)³². In seguito a fasi ripetute di recrudescenza dell'infezione si può sviluppare la **cheratite stromale** cronica che rappresenterebbe la fase immunomediata della malattia erpetica a livello corneale (il virus è “sequestrato” nello spessore corneale) con infiltrazione infiammatoria a livello dello stroma corneale. Si manifesta con neovascolarizzazione diffusa, edema, fibrosi e pigmentazione corneale; più raramente si osserva degenerazione corneale con mineralizzazione (Fig. 7). La patologia può determinare una perdita più o meno grave della trasparenza corneale fino a compromettere la funzione visiva³³.

PATOLOGIE ASSOCIATE ALL'FHV-1

Oltre alle manifestazioni respiratorie e oculari precedentemente descritte, un possibile ruolo eziologico di FHV-1 è stato ipotizzato in altre patologie oculari quali la cherato-congiuntivite eosinofila, il sequestro corneale, l'uveite e la cherato-congiuntivite secca, in alcune forme di dermatite e nella stomato-gingivite felina.

Cherato-congiuntivite eosinofila

Da un punto di vista clinico si manifesta con la presenza, a livello più frequentemente monolaterale, di placche di colore bianco rosaceo sulla superficie congiuntivale e corneale, associate a neovascolarizzazione corneale e congiuntivite^{34,35} (Fig. 8). Ad oggi il reale ruolo di FHV-1 nell'eziopatogenesi di questa patologia non è stato chiarito dal momento che gli studi scientifici effettuati riportano risultati estremamente discordanti; il virus, infatti, è stato evidenziato in una percentuale estremamente variabile di gatti con cherato-congiuntivite eosinofila; tale percentuale varia dal 33 fino all'85%³⁶.

Sequestro corneale

Si manifesta con la presenza, mono o più raramente bilateralmente, di una area focale di degenerazione dello stroma corneale di colore variabile dal marrone al nero associata o meno a vascolarizzazione³⁷ (Fig. 9). Il sequestro risulta spesso associato a lesioni corneali o cheratiti croniche anche se la predisposizione in alcune razze quali il Persiano e l'Himalayano può far sospettare una malattia stromale primaria. Anche in questa patologia, come nella cherato-congiuntivite eosinofila, i tentativi di isolamento di FHV-1 nei gatti affetti ha fornito risultati estremamente variabili^{35,38-40}. Tale osservazione fa sospetta-



Figura 3 - Gatto di 13 mesi, europeo, con lesioni corneali dendritiche sottili, tortuose, ad aspetto arborizzato a carico dell'occhio sinistro (freccia bianca). Sono presenti anche procidenza della terza palpebra, epifora, scolo mucoso e neovascolarizzazione corneale dorsale. Il gatto era affetto da cherato-congiuntivite bilaterale e sindrome delle prime vie respiratorie riferibili a erpesvirosi.

Le patologie oftalmiche che più comunemente sono associate all'infezione da herpesvirus felino sono la cherato-congiuntivite eosinofila e il sequestro corneale.



Figura 4 - Gatto di 1 anno, meticcio persiano-europeo, che manifesta un'ampia perforazione corneale associata a prollasso irideo nell'occhio destro, a seguito di cherato-congiuntivite erpetica complicata da infezione batterica. Si osservano iperemia e chemosi congiuntivale associata a intensa neovascolarizzazione profonda ed edema corneale. È presente concomitante scolo oculare siero mucoso.

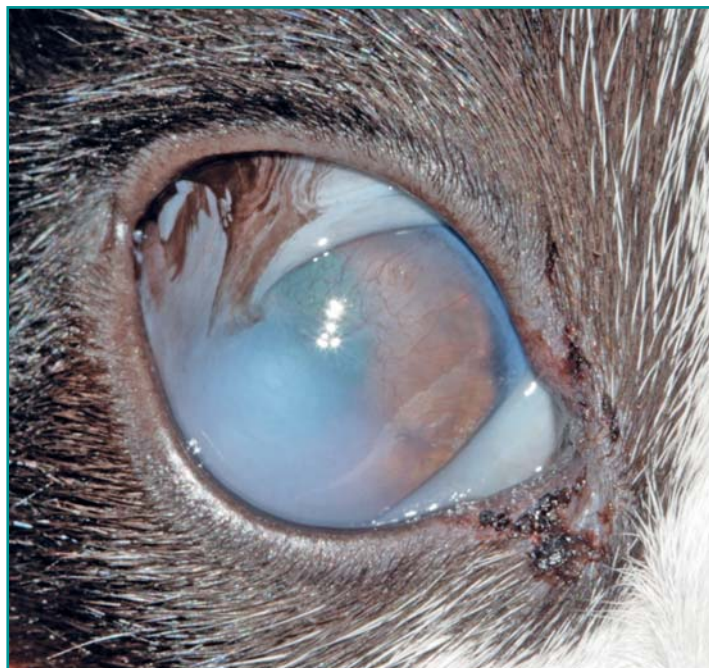


Figura 5 - Gatto di 3 anni, europeo, con aderenza corneo-congiuntivale (symblepharon) dorso-temporale dell'occhio destro. Sono presenti, inoltre, sclerosi e neovascolarizzazione corneale. Le lesioni corneali sono gli esiti del fenomeno riparativo di un'ampia ulcera corneale stromale dovuta a ophthalmia neonatorum.

re che FHV-1 possa essere considerato una delle cause di una patologia multifattoriale o essere solo un fattore predisponente.

Uveite anteriore

Nell'uomo l'herpesvirus è una causa riconosciuta di uveite anteriore⁴¹ ma nel gatto la correlazione tra herpesvirus felino e uveite non è ancora stata chiarita. È stato iso-



Figura 6 - Gatto di 18 mesi, europeo che a causa di un cambiamento d'ambiente ha sviluppato una cherato-congiuntivite monolaterale dell'occhio sinistro riferibile a riattivazione di un'infezione erpetica. Si possono notare l'epifora, la procidenza della terza palpebra, l'iperemia e la chemosi congiuntivale e la positività alla fluoresceina di un'erosione corneale. Il gatto da cucciolo aveva manifestato segni oculari e respiratori riferibili a erpesviroosi.

lato DNA di FHV-1 sia nell'umor acqueo che nel sangue di gatti affetti da uveite⁴², ma in un altro studio è stato evidenziato DNA virale anche nell'umor acqueo di soggetti clinicamente sani⁴³.

Cherato-congiuntivite secca

La malattia sarebbe conseguenza sia di un deficit quantitativo che di un deficit qualitativo del film lacrimale⁴⁴. Il deficit quantitativo sarebbe patogeneticamente riconducibile all'ostruzione dei duttuli lacrimali in conseguenza della congiuntivite o del danno diretto sulla

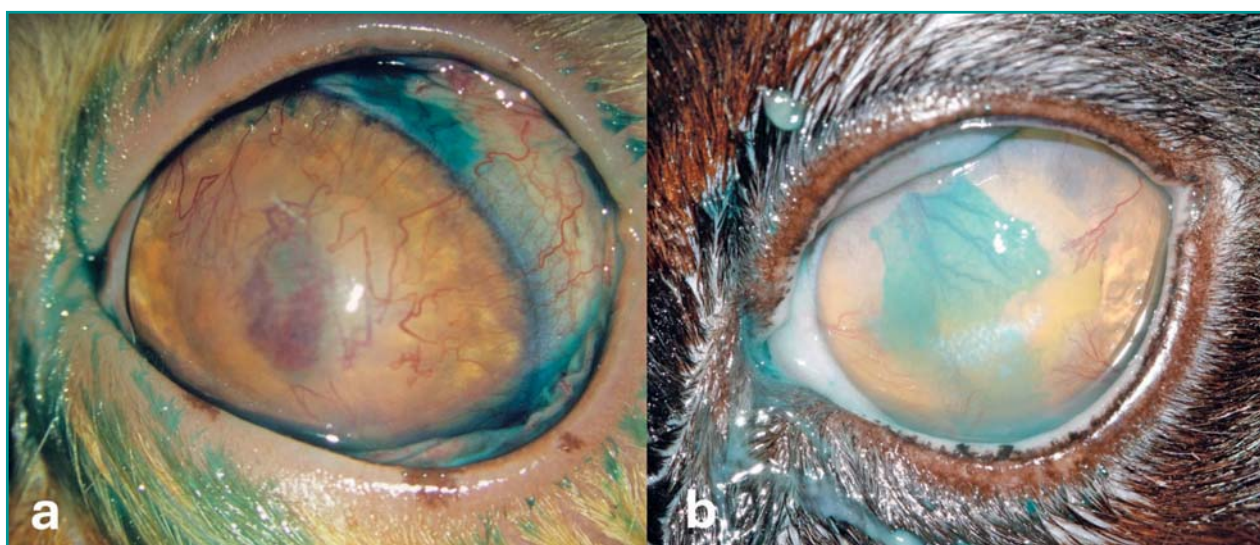


Figura 7 - a) Gatto di 6 anni, persiano, affetto da cheratite stromale cronica bilaterale, nell'immagine è osservabile il particolare dell'occhio sinistro. Si noti la fibrosi/edema corneale con neovascolarizzazione; b) Gatto di 4 anni, europeo, affetto da cheratite stromale cronica dell'occhio sinistro, presentato però per una fase di riattivazione della forma erpetica. Si osservano, infatti, oltre ai segni della cheratite cronica (fibrosi/edema corneale, neovascolarizzazione profonda e degenerazione corneale con mineralizzazione) anche epifora, scolo oculare mucoso, chemosi congiuntivale ed erosione corneale a carta geografica positiva alla colorazione con verde di lissamina.

componente secretoria ghiandolare a causa dell'adenite virale. Il deficit qualitativo si manifesterebbe, invece, a seguito di una riduzione delle cellule mucipare caliciformi congiuntivali e conseguentemente della componente mucinica del film lacrimale^{45,46}. Il deficit qualitativo del film lacrimale rappresenta l'espressione metaerpetica dell'infezione da FHV-1, cioè della malattia che si sviluppa in seguito a danni strutturali dei tessuti caratterizzati da cambiamenti anatomici permanenti o semipermanenti dovuti all'azione citolitica o immunopatologica del virus. Altra evidenza di malattia metaerpetica sarebbe rappresentata dalla cherato-congiuntivite secca su base neurogena in seguito alla distruzione assonale del nervo trigemino da parte del virus con riduzione o assenza della sensibilità corneale e congiuntivale e conseguente mancanza dello stimolo alla lacrimazione riflessa^{47,48}.

Dermatite perioculare

Data l'elevata affinità di FHV-1 per gli epiteli, il virus viene considerato potenziale causa, anche se non frequentemente, di patologia a livello cutaneo. La malattia si manifesta con la presenza di vescicole, croste e ulcere in area perioculare e nasale (Fig. 10). Le modalità di infezione possono essere rappresentate da inoculazione diretta del virus sulla cute, passaggio del virus da naso, bocca e occhi attraverso secrezione o leccamento o disseminazione centrifuga assonale nella fase recrudescenza della malattia. Il DNA virale è stato isolato in gatti affetti anche se non si può escludere che tale isolamento possa essere dovuto al virus vaccinale^{49,50}. Da un punto di vista istologico la dermatite erpetica si manifesta con una dermatite necrotizzante e ulcerativa associata a quadro infiammatorio⁵¹. La diagnosi istologica si basa sull'osservazione di corpi inclusi intranucleari e in caso di loro assenza l'immunoistochimica (IHC) risulta più sensibile rispetto alla polimerasi chain reaction (PCR) che può fornire risultati falsi positivi a causa della reazione crociata con il virus vaccinale⁵⁰.

Stomato-gengiviti

Il ruolo del FHV-1 è stato anche ipotizzato dal punto di vista eziologico in corso di stomato-gengiviti felina dato l'alto tasso di isolamento virale nei soggetti affetti; tuttavia, sono molti gli studi che concordano sulla maggiore responsabilità del Calicivirus quale causa della patologia orale⁵²⁻⁵⁴.

DIAGNOSI

Su base clinica la forma erpetica oculare può essere fortemente sospettata quando coesistono i segni clinici della malattia respiratoria associati a lesioni congiuntivali e soprattutto corneali. La valutazione dell'evoluzione clinica dopo terapia può permettere di formulare una dia-

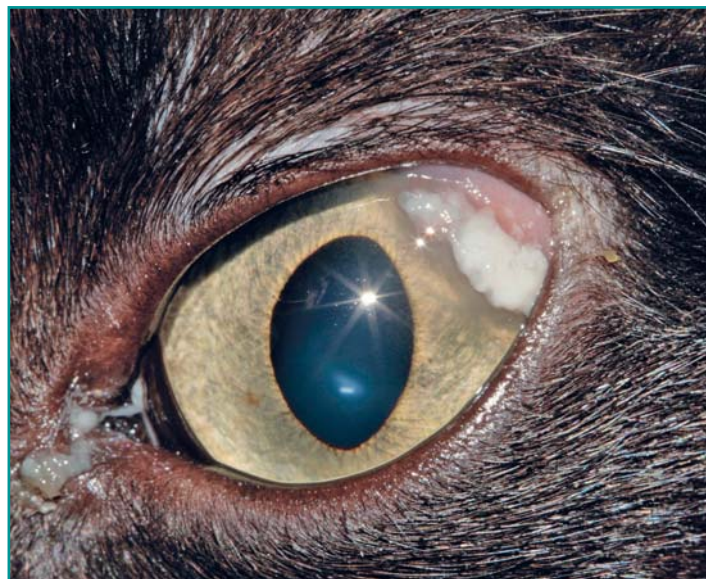


Figura 8 - Gatto di 4 anni, europeo, che presenta nell'occhio sinistro, in posizione dorso-laterale, iperemia della congiuntiva bulbare e una lesione a placca biancastra la cui periferia è circondata da edema corneale. È presente concomitante scolo mucoso. La lesione è riferibile a cherato-congiuntivite eosinofila.

Nel formulare la diagnosi di malattia oculare da herpesvirus è essenziale valutare attentamente il quadro clinico poiché i test di laboratorio possono fornire sia risultati falsi positivi sia falsi negativi.



Figura 9 - Gatto di 2 anni, persiano, affetto da sequestro corneale dell'occhio sinistro, caratterizzato da lesione a placca di colorito bruno nerastro a contorni irregolari associato a edema corneale. Sulla cornea è presente una vascolarizzazione superficiale e profonda.

gnosi *ex invariantibus* della malattia. Dal punto di vista delle indagini di laboratorio l'herpesvirus presenta, però, un paradosso diagnostico⁵. Infatti, mentre nel corso del-



Figura 10 - Gatto di 5 anni, europeo, che manifesta lesioni cutanee multiple erosivo-ulcerative da herpesvirus sul lato destro, localizzate nella regione perioculare mediale e nella zona nasale. Lesioni simili erano presenti anche a livello controlaterale.

l'infezione acuta primaria il gatto elimina grandi quantità di particelle virali cosa che permetterebbe la diagnosi in modo semplice indipendentemente dal test utilizzato, la caratteristica sintomatologia rende l'utilizzo degli esami di laboratorio non sempre necessario. Al contrario, nelle fasi croniche e nelle patologie associate a FHV-1, quando la conferma diagnostica sarebbe essenziale, la diagnosi di laboratorio spesso fornisce risultati difficilmente interpretabili. Il test di laboratorio più comunemente usato è la PCR mentre l'isolamento virale, la sieroprevalenza e l'immunofluorescenza anticorpale sono stati progressivamente abbandonati per la loro ridotta sensibilità^{5,55}.

PCR

Il test della PCR è in grado di identificare FHV-1 amplificando la sequenza del DNA virale. Per la diagnosi possono essere usate la PCR convenzionale, la real-time PCR oppure la nested PCR; quest'ultima, però, essendo estremamente sensibile, presenta un più alto rischio di contaminazione con possibilità di fornire risultati falsamente positivi^{28,56}. Il campione da analizzare viene prelevato dalla cornea o dalla congiuntiva attraverso uno swab asciutto, che poi non necessita di terreno di trasporto per essere inviato al laboratorio. Nelle forme della malattia con concomitante forma respiratoria è utile prelevare un campione anche a livello faringeo. Poiché nell'uomo è stato dimostrato che l'utilizzo di anestetici topici e del colorante fluoresceina prima del prelievo del campione può influenzare la sensibilità della real-time PCR, sarebbe preferibile anche nella specie felina effettuare il campionamento prima di utilizzare coloranti e/o anestetici di superficie. Sebbene il test del-

la PCR sia altamente specifico e sensibile per l'herpesvirus felino, l'interpretazione dei risultati non è sempre semplice. Infatti, in soggetti affetti da segni clinici compatibili con l'infezione un test negativo non esclude FHV-1 come potenziale agente patogeno, mentre un test positivo può essere indicativo di patologia virale in atto, ma non necessariamente. È importante, infatti, sottolineare che FHV-1 è stato identificato tramite PCR anche da tamponi congiuntivali di gatti clinicamente sani^{10,39,40,44,45,55,57-69}.

Citologia

La citologia congiuntivale può essere un ausilio diagnostico in corso di congiuntiviti e cherato-congiuntiviti del gatto e soprattutto può essere utile dal punto di vista della diagnosi differenziale. Nella congiuntivite da FHV-1, il quadro citologico è aspecifico con presenza di un'inflammatione prettamente neutrofilica che vede poi, con la cronicizzazione dell'infezione, la comparsa di linfociti e plasmacellule e rara presenza di eosinofili e mastociti. Talvolta sono presenti cellule epiteliali multinucleate. È possibile repertare corpi inclusi intranucleari durante la fase acuta della malattia^{9,40,58}.

Gli antivirali topici sono virostatici e sono efficaci se utilizzati con un'elevata frequenza di somministrazione e per periodi di tempo prolungati.

TERAPIA

Il trattamento terapeutico della forma erpetica necessita di alcune importanti premesse:

- FHV-1 è sensibile alla quasi totalità dei farmaci antivirali, ma nel gatto esistono profonde differenze riguardanti la tossicità e l'efficacia di questi principi attivi se confrontati con le altre specie animali e l'uomo; questo limita l'applicazione nell'uso topico e soprattutto nella somministrazione sistemica di molti farmaci;
- gli agenti antivirali a disposizione attualmente hanno azione virostatica e necessitano pertanto di una somministrazione frequente e prolungata nel tempo sia per uso orale sia topico: quindi la collaborazione da parte del proprietario e dell'animale sono essenziali;
- il trattamento "aggressivo" (elevata frequenza di somministrazione) e precoce (nella fase acuta) della malattia ne limita la progressione e minimizza la frequenza e la gravità delle recidive;
- in Italia non esistono farmaci veterinari registrati per la terapia dell'erpesviroosi felina e pochissimi sono i prodotti a uso oftalmico prescrivibili per l'uomo;
- il trattamento medico più indicato delle alterazioni oculari da FHV-1 è quello con antivirali topici e/o sistemici,

associati ad antibatterici in caso di infezioni secondarie o ad antinfiammatori/immunomodulatori nella fase di cronicizzazione della malattia (cheratite stromale).

La terapia per le alterazioni oculari da herpesvirus felino deve includere: farmaci antivirali topici e talvolta farmaci antivirali per uso orale, se necessari antibatterici topici, e la riduzione dello stress.

Antivirali

I farmaci antivirali disponibili per uso oftalmico in Italia sono ad oggi solo l'aciclovir e il ganciclovir, mentre tra i prodotti per uso orale ritenuti più sicuri nella specie felina è disponibile il famciclovir. Molecole quali la idoxuridina e la trifluridina, fino a qualche anno fa disponibili sul mercato italiano e ritenute efficaci, ad oggi non sono più commercializzate nel nostro paese. Per completezza, questi principi attivi saranno comunque brevemente trattati in seguito insieme ad altri antivirali che sono stati testati nel gatto in altri paesi europei ed extraeuropei⁷⁰.

Aciclovir: attualmente presente sul mercato del farmaco nazionale sotto forma di unguento oftalmico al 3%. In vitro questo farmaco è risultato poco efficace nei confronti di FHV-1^{71,72}. Tuttavia, la somministrazione topica in pomata 5 volte al giorno in gatti con infezione naturale ha dato un tempo medio di risoluzione dei segni clinici riferibili a erpesvirus di 10 giorni, probabilmente in seguito all'alta concentrazione che il principio attivo raggiunge a livello topico⁷³. Aciclovir, se dato per via orale, risulta essere tossico per il gatto causando mielosoppressione.

Ganciclovir: attualmente commercializzato in Italia in preparazione gel oftalmico allo 0.15%. Sembra avere un'azione 10 volte più efficace contro FHV-1 rispetto all'aciclovir⁷². È ben tollerato in applicazione topica ed efficace in vitro nei confronti del virus⁷⁴. Studi recenti, in gatti sperimentalmente infettati, hanno dimostrato come l'applicazione topica in formulazione gel allo 0.15% 3 volte al giorno sia ben tollerata e mostri un'efficacia simile al trattamento due volte al giorno con famciclovir orale⁷⁵. Un altro studio su soggetti affetti da infezione naturale e trattati con applicazione topica del prodotto in soluzione allo 0.15% due volte al giorno per 8 giorni, ha dimostrato un generale miglioramento dei segni clinici oftalmici ma non significativo rispetto a un gruppo di controllo trattato con un placebo, ma in questo caso il prodotto è stato utilizzato con una bassa frequenza di somministrazione e per un periodo breve⁷⁶. *Idoxuridina*: può essere utilizzato in soluzione oftalmica allo 0.1% o in pomata allo 0.5%, è ben tollerato a livello

locale e ha una buona efficacia. Non è più presente sul mercato italiano ma può essere formulato in modo galenico. In letteratura viene riportata una posologia di somministrazione ogni 4-6 ore⁷⁷.

Cidofovir: alcuni studi hanno evidenziato la sua efficacia nei confronti del FHV-1 sia in vivo che in vitro^{72,79-80}. L'applicazione topica 2 volte al giorno riduce la diffusione virale e la gravità dei segni clinici in soggetti infettati sia naturalmente⁷⁶ che sperimentalmente⁷⁹. Può essere formulato in preparazione galenica. Nell'uomo è stata riportata la possibile insorgenza di stenosi delle vie nasolacrimali come possibile effetto collaterale⁸¹. Il principio attivo è stabile per lungo tempo allo 0.5% in diverse condizioni di conservazione⁸².

Vidarabina: può essere utilizzato per via topica in pomata oftalmica allo 3% ma non è presente in commercio in Italia. Uno studio retrospettivo su 3 gatti trattati con la pomata al 3% riporta efficacia terapeutica in un solo soggetto⁷⁷.

Trifluridina: è commercializzata, non più in Italia, in soluzione oftalmica 1% e può essere somministrata ogni 4-8 ore. È ritenuta attiva nella cheratite da HSV-1 dell'uomo e ha un'ottima penetrazione a livello dell'epitelio corneale⁸³. Non esistono trial clinici che dimostrino la sua reale efficacia nella specie felina⁷⁷.

Valacyclovir: è un farmaco impiegato per via orale che però nel gatto è tossico in quanto causa necrosi epatica, renale e mielosoppressione senza diminuire la disseminazione virale e la gravità dei segni clinici⁸⁴.

Famciclovir: si tratta di un profarmaco utilizzato per via orale che, dopo assorbimento intestinale, viene metabolizzato a livello epatico in penciclovir ed escreto a livello renale. Per tale motivo è necessaria un'attenta valutazione della funzionalità epatorenale prima della sua somministrazione.⁸⁵

Nel gatto la posologia di somministrazione del farmaco suggerita è diversa in base agli studi effettuati. Uno studio nel quale è stato utilizzata una dose di 90 mg/kg 3 volte al giorno per 3 settimane ha evidenziato riduzione della disseminazione virale e miglioramento dei segni clinici presenti (oftalmici e/o respiratori e/o cutanei) in gatti affetti da FHV-1³⁰. Un altro studio retrospettivo ha confrontato l'azione del principio attivo a due differenti dosaggi di 40 e 90 mg/kg 3 volte al giorno per 3 settimane su soggetti presumibilmente infetti dimostrando come la durata della terapia alla dose minore determini miglioramenti più lenti e debba essere maggiormente prolungata nel tempo⁸⁶. Recentemente famciclovir somministrato a un dosaggio di 90 mg/kg 2 volte al giorno per 8 giorni ha dimostrato un generale miglioramento dei segni clinici oftalmici ma non significativo rispetto a un gruppo di controllo trattato con un placebo, ma in questo caso la valutazione dell'efficacia è stata fatta dopo un

periodo breve di somministrazione⁷⁶.

Interferone: nonostante gli studi in vitro abbiano suggerito una possibile efficacia dell'interferone ricombinante omega felino e di quello alfa ricombinante umano su FHV-1, gli studi clinici sono limitati e sembrano dimostrare fino ad oggi che gli "interferoni" sia topici sia sistemici non sono efficaci nel trattamento delle alterazioni oculari causate dall'infezione da herpesvirus nel gatto^{87,88}.

Lisina: nonostante sia stata a lungo studiata, i risultati sull'efficacia della lisina nei confronti del FHV-1 sono estremamente contraddittori. La sua azione sarebbe legata alla competizione con l'arginina, aminoacido essenziale per la replicazione del virus erpetico. Alcuni studi nel gatto dimostrano il miglioramento dei segni clinici o la riduzione della disseminazione virale grazie alla somministrazione con la dieta di lisina^{89,90}, mentre altre pubblicazioni hanno dimostrato che la lisina non è efficace o addirittura può causare un'esacerbazione dei segni clinici della malattia erpetica⁹¹⁻⁹³. La posologia suggerita è di 500 mg/gatto una o due volte al giorno.

Terapia antinfiammatoria

La terapia antinfiammatoria e immunomodulatrice a base di corticosteroidi, antinfiammatori non steroidei (FANS) o ciclosporina nei confronti del FHV-1 è a tutt'oggi ancora molto dibattuta⁹⁴. Nella fase citolitica acuta della malattia, corrispondente alla fase di replicazione del virus, la terapia antinfiammatoria o immunomodulatrice è controindicata. Al contrario nelle patologie caratterizzate dalla fase immunologica l'uso di tale terapia potrebbe essere potenzialmente utile. È comunque dimostrato come l'utilizzo dei corticosteroidi favorisca la riattivazione del virus dal suo stadio di latenza⁷, così come determini un aggravamento della congiuntivite primaria acuta e favorisca l'insorgenza di cheratite erpetica cronica⁴⁴. L'utilizzo di FANS topico o ciclosporina topica 0,2% associati ad antivirale topico sembrano, invece, avere una buona efficacia nelle forme croniche della malattia, come la cheratite stromale, con basso rischio di riattivazione acuta virale. Questo tipo di trattamento dà risultati molto lentamente e spesso deve essere protratto per molto tempo⁹⁵.

Vaccinazione

Le linee guida per la prevenzione e gestione dell'herpesvirus stabiliscono che le vaccinazioni sia con virus attenuati che inattivati, pur non prevenendo l'infezione, possono ridurre la gravità dei segni clinici, la diffusione

ne virale e le conseguenze della recrudescenza della malattia. L'immunità materna determina un certo grado di protezione fino alle 8 settimane per cui viene consigliata la prima inoculazione a 9 settimane con il richiamo dopo 2-4 settimane. Viene poi suggerito un richiamo annuale in soggetti potenzialmente esposti e ogni 3 anni in gatti a basso rischio di contagio. Il ruolo del vaccino nella terapia dell'infezione già in atto appare, al contrario, ancora oggi molto controverso⁹⁶.

L'antibioticoterapia topica nell'infezione oculare erpetica è indicata nei gattini con ophthalmia neonatorum e nelle altre forme cliniche quando è presente un'ulcera corneale stromale.

Antibatterici

Gli antibiotici sistemici ad ampio spettro sono consigliati nel protocollo terapeutico di quei gatti affetti da gravi forme respiratorie erpetiche⁹⁷. L'utilizzo di antibiotici topici è raccomandato, invece, in tutti i gattini con ophthalmia neonatorum nella quale, oltre all'infezione virale, sono spesso presenti *Chlamydia felis* e altri batteri tra cui *Staphylococcus* spp. o Gram-negativi di origine fecale³². Nelle altre forme oculari erpetiche, l'antibatterico topico è indicato quando è presente una lesione ulcerativa che coinvolge lo stroma⁹⁵.

CONCLUSIONI

L'herpesvirus è una malattia estremamente diffusa nella specie felina e le sue manifestazioni cliniche più frequenti ed evidenti sono quelle oculari. La letteratura veterinaria sull'argomento è estremamente vasta, ma nonostante ciò alcuni aspetti della patologia sono ancora oggi da chiarire e sviluppare, soprattutto nell'ambito terapeutico e diagnostico. Dal punto di vista terapeutico, i farmaci più efficaci nelle forme oftalmiche sembrano essere gli antivirali topici che sul mercato farmacologico nazionale sono registrati solo per uso umano. Il limite maggiore dei colliri antivirali è quello di essere virostatici e quindi necessitare di un'elevata frequenza di somministrazione e una durata del trattamento lunga, minando spesso la compliance dell'animale affetto e del proprietario.

Per ciò che concerne l'aspetto diagnostico, non esiste ad oggi un test "gold standard" e per tale motivo la diagnosi eziologica della malattia non può essere sempre formulata. È auspicabile che in futuro, grazie a una più approfondita conoscenza dei meccanismi patogenetici, soprattutto riguardanti la fase di latenza del virus, i test di laboratorio possano essere migliorati in modo da consentire un migliore approccio diagnostico e, di conseguenza, anche migliorare la gestione terapeutica degli animali affetti da FHV-1.

Il vaccino nei confronti dell'herpesvirus non previene l'infezione ma sembra ridurre la gravità dei segni clinici, la diffusione virale e gli effetti della recrudescenza.

PUNTI CHIAVE

- L'herpesvirus felino è la causa più frequente di alterazioni della superficie oculare nel gatto.
- La concomitante presenza di una forma respiratoria acuta associata a sintomatologia oculare caratterizzata da cherato-congiuntivite è fortemente suggestiva di malattia erpetica felina.
- Oltre alle forme cliniche riferibili all'infezione erpetica a livello oculare, ovvero ophthalmia neonatorum, malattia acuta, infezione recrudescente e cheratite stromale cronica, altre patologie oculari feline sono state associate all'herpesvirus anche se il suo reale ruolo causale non è stato dimostrato per nessuna di esse.
- Il protocollo diagnostico e la gestione terapeutica del gatto affetto da una sospetta forma erpetica rappresentano due elementi frustranti e controversi sia per il veterinario che per il proprietario dell'animale affetto.
- Nella diagnosi clinica delle forme erpetiche oculari si deve tenere conto delle altre possibili cause infettive e non infettive di congiuntivite e cherato-congiuntivite felina; nella diagnosi di laboratorio, anche quella attraverso PCR, l'interpretazione dei risultati non è sempre semplice.
- I farmaci antivirali utilizzati per il trattamento dell'herpesvirus felino sono ad uso umano; non esistono principi attivi registrati in ambito veterinario. Gli antivirali topici sembrano essere efficaci e sicuri mentre per quelli sistemici, alcuni sono tossici nel gatto, altri sono ritenuti sicuri ma l'effettivo dosaggio terapeutico non è stato ancora stabilito.
- I fattori critici per il successo della terapia dell'herpesvirus felino sono: la difficoltà nel formulare una diagnosi eziologica certa, il costo del trattamento farmacologico, l'elevata frequenza di somministrazione nel caso i farmaci siano somministrati per via topica, la scarsa compliance da parte dell'animale e talvolta del proprietario.

Infectious conjunctivitis, keratitis and kerato-conjunctivitis in cats

Part 1: feline herpesvirus

Summary

Feline herpesvirus stands out as the pathogen most commonly responsible for respiratory and ocular abnormalities in cats. The virus is ubiquitous, has high morbidity, and becomes latent after acute infection, often reactivating during stress or immunosuppression. The viral infection may cause keratoconjunctivitis with corneal erosions/ulcers. The ocular disease occurs in four clinical forms: ophthalmia neonatorum in newborn kittens, acute infection in juveniles and young adults, recurrent infection due to reactivation of the virus after latency, and stromal keratitis which represents the chronic manifestation of the disease. While the diagnosis is relatively simple during the acute phase of the disease, it becomes challenging in the other cases. It is essential to modulate therapy based on the specific clinical form of the ocular disease. This review aims to comprehensively outline the etiology, pathogenesis, ophthalmic clinical signs, and diagnostic and therapeutic options of herpesvirus infection in cats.

BIBLIOGRAFIA

1. Crandell RA, Maurer FD. Isolation of a feline virus associated with intranuclear inclusion bodies. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 97:487-490, 1958.
2. Gaskell RM, Radford AD, Dawson S. Feline infectious respiratory disease, in Chandler EA, Gaskell CJ, Gaskell RM editors, Feline medicine and therapeutics. Blackwell Publishing, Oxford 2004, pp 577-595.
3. Donaldson AI, Ferris NP. The survival of some air-borne animal viruses in relation to relative humidity. Veterinary Microbiology 1:413-420, 1976.
4. Pedersen NC. Feline herpesvirus type 1 (feline rhino-tracheitis virus). In: Appel MJ editor, Virus infections of carnivores. Elsevier, Amsterdam: 1987, pp 227-237.
5. Maggs DJ, Lappin MR, Reif JS, *et al.* Evaluation of serologic and viral detection methods for diagnosing feline herpesvirus-1 infection in cats with acute respiratory tract or chronic ocular disease. Journal of the American Veterinary Medical Association 214(4):502-507, 1999.
6. Studdert MJ, Martin MC. Virus diseases of the respiratory tract of cats: 1. Isolation of feline rhinotracheitis virus. Australian Veterinary Journal 46(3):99-104, 1970.
7. Hickman MA, Reubel GH, Hoffman DE, *et al.* An epizootic of feline herpesvirus type 1 in a large specific-pathogen-free cat colony and attempts to eradicate the infection by identification and culling of carriers. Lab Animal 28(4):320-329, 1994.
8. Reubel GH, George JW, Barlough JE, *et al.* Interaction of acute feline herpesvirus-1 and chronic feline immunodeficiency virus infections in experimentally infected specific pathogen-free cats. Veterinary Immunology and Immunopathology 35(1-2):95-119, 1992.
9. Nasissé MP, Guy JS, Stevens JB, *et al.* Clinical and laboratory findings in chronic conjunctivitis in cats: 91 cases (1983-1991). Journal of the American Veterinary Medical Association 203(6):834-837, 1993.
10. von Bornhard W, Polkinghorne A, Lu ZH, *et al.* Detection of novel chlamydiae in cats with ocular disease. American Journal of Veterinary Research 64(11):1421-1428, 2003.

11. Gaskell RM, Povey RC. Feline viral rhinotracheitis: sites of virus replication and persistence in acutely and persistently infected cats. *Research in Veterinary Science* 27(2):167-174, 1979.
12. Hoover EA, Rohovsky MW, Griesemer RA. Experimental feline viral rhinotracheitis in the germfree cat. *American Journal of Pathology* 58(2):269-282, 1970.
13. Li Y, Van Cleemput J, Qiu Y, *et al.* Ex vivo modeling of feline herpesvirus replication in ocular and respiratory mucosae, the primary targets of infection. *Virus Research* 210:227-231, 2015.
14. Love DN. Feline herpesvirus associated with interstitial pneumonia in a kitten. *Veterinary Record* 89(7):178-181, 1971.
15. Westermeyer HD, Thomasy SM, Maggs DJ. Assessment of viremia associated with experimental primary feline herpesvirus infection or presumed herpetic recrudescence in cats. *Journal of Veterinary Research* 70(1):99-104, 2009.
16. Shields RP, Gaskin JM. Fatal generalized feline viral rhinotracheitis in a young adult cat. *Journal of American Veterinary Medical Association* 170(4):439-441, 1977.
17. Spradbrow PB, Carlisle C, Watt DA. The association of a herpesvirus with generalized disease in a kitten. *Veterinary Record* 89(20):542-544, 1971.
18. Van Pelt CS, Crandell RA. Pancreatitis associated with a feline herpesvirus infection. *Companion Animal Practice* 1:7, 1987.
19. Povey RC. A review of feline viral rhinotracheitis (feline herpesvirus 1 infection). *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Disease* 2(2-3):373-387, 1979.
20. Hoover EA, Rohovsky MW, Griesemer RA. Experimental feline viral rhinotracheitis in the germfree cat. *American Journal of Pathology* 58(2):269-282, 1970.
21. Gaskell RM, Povey RC. Transmission of feline viral rhinotracheitis. *Veterinary Record* 111(16):359-362, 1982.
22. Storey ES, Gerding PA, Scherba G, *et al.* Survival of equine herpesvirus-4, feline herpesvirus-1, and feline calicivirus in multidose ophthalmic solutions. *Veterinary Ophthalmology* 5(4):263-267, 2002.
23. Gaskell RM, Povey RC. Experimental induction of feline viral rhinotracheitis virus re-excretion in FVR-recovered cats. *Veterinary Record* 100(7):128-33, 1977.
24. Townsend WM, Stiles J, Guptill-Yoran L, *et al.* Development of a reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay to detect feline herpesvirus-1 latency-associated transcripts in the trigeminal ganglia and corneas of cats that did not have clinical signs of ocular disease. *American Journal of Veterinary Research* 65(3):314-319, 2004.
25. Townsend WM, Jacobi S, Tai SH, *et al.* Ocular and neural distribution of feline herpesvirus-1 during active and latent experimental infection in cats. *BMC Veterinary Research* 9:185, 2013.
26. Maggs DJ, Chang E, Nasisse MP. Persistence of herpes simplex virus type 1 DNA in chronic conjunctival and eyelid lesions of mice. *Journal of Virology* 72(11):9166-9172, 1998.
27. Crispin S. In: Petersen-Jones S, Crispin S editors, *BSAVA Manual of Small Animal ophthalmology*. 2nd ed. British Small Animal Veterinary Association, Gloucester 2002, p 130.
28. Gaskell RM, Wardley RC. Feline viral respiratory disease: a review with reference to its epizootiology and control. *Journal of Small Animal Practice* 19(1):1-16, 1978.
29. Stiles J. Feline herpesvirus. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 30(5):1001-1014, 2000.
30. Thomasy SM, Lim CC, Reilly CM, *et al.* Evaluation of orally administered famciclovir in cats experimentally infected with feline herpesvirus type-1. *American Journal of Veterinary Research* 72(1):85-95, 2011.
31. Gould D. Feline herpesvirus-1 Ocular manifestations, diagnosis and treatment options. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 13(5):333-346, 2011.
32. Glaze MB, Maggs DJ, Plummer CE. Feline ophthalmology. In: Gelatt KN editor, *Veterinary Ophthalmology*. 6th ed. John Wiley & Sons, Hoboken 2021, pp 1665-1840.
33. Nasisse MP, English RV, Tompkins MB, *et al.* Immunologic, histologic, and virologic features of herpesvirus-induced stromal keratitis in cats. *American Journal of Veterinary Research* 56(1):51-55, 1995.
34. Paulsen M, Lavach J, Severin G, *et al.* Feline eosinophilic keratitis: a retrospective study of 15 clinical cases. *Journal of the American Animal Hospital Association* 23(1):63-66, 1987.
35. Dean E, Meunier V. Feline eosinophilic keratoconjunctivitis: A retrospective study of 45 cases (56 eyes). *Journal of Feline Medicine and Surgery* 15(8):661-666, 2013.
36. Labelle A, Labelle P. Eosinophilic Keratoconjunctivitis in Cats. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 53(2):353-365, 2023.
37. Morgan R. Feline corneal sequestration: a retrospective study of 42 cases (1987-1991). *Journal of the American Animal Hospital Association* 30(1):24-30, 1994.
38. Nasisse MP, Glover TL, Moore CP, *et al.* Detection of feline herpesvirus 1 DNA in corneas of cats with eosinophilic keratitis or corneal sequestration. *American Journal of Veterinary Research* 59(7):856-858, 1989.
39. Stiles J, McDermott M, Bigsby D, *et al.* Use of nested polymerase chain reaction to identify feline herpesvirus in ocular tissue from clinically normal cats and cats with corneal sequestra or conjunctivitis. *American Journal of Veterinary Research* 58(4):338-342, 1997.
40. 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. *Veterinary Ophthalmology* 8(1):25-32, 2005.
41. De la Torre A, Valdes-Camacho J, Foster SC. Bilateral herpes simplex uveitis: review of the literature and own reports. *Ocular Immunology and Inflammation* 25(4):497-502, 2017.
42. Powell CC, McInnis CL, Fontenelle JP, *et al.* Bartonella species, feline herpesvirus-1, and Toxoplasma gondii PCR assay results from blood and aqueous humor samples from 104 cats with naturally occurring endogenous uveitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 12(12):923-928, 2010.
43. Maggs DJ, Lappin MR, Nasisse MP. Detection of feline herpesvirus-specific antibodies and DNA in aqueous humor from cats with or without uveitis. *American journal of veterinary research* 60(8):932-936, 1999.
44. 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. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 30(8):1758-1768, 1998.
45. Lim CC, Cullen CL. Schirmer tear test values and tear film break-up times in cats with conjunctivitis. *Veterinary Ophthalmology* 8(5):305-310, 2005.
46. Lim CC, Reilly CM, Thomasy SM, *et al.* Effects of feline herpesvirus type 1 on tear film break-up time, Schirmer tear test results, and conjunctival goblet cell density in experimentally infected cats. *American Journal of Veterinary Research*. 70(3):394-403, 2009.
47. Sebbag L, Pesavento PA, Carrasco SE, *et al.* Feline dry eye syndrome of presumed neurogenic origin: a case report. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports* 4(1):2055116917746786, 2018.
48. Sebbag L, Thomasy SL, Leland A, *et al.* Altered Corneal Innervation and Ocular Surface Homeostasis in FHV-1-Exposed Cats: A Preliminary Study Suggesting Metaherpetic Disease. *Frontiers in Veterinary Science* 26:7580414, 2021.
49. Holland JL, Outerbridge CA, Affolter VK, *et al.* Detection of feline herpesvirus 1 DNA in skin biopsy specimens from cats with or without dermatitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 229(9):1442-1446, 2006.
50. Persico P, Roccabianca P, Corona A, *et al.* Detection of feline herpes virus 1 via polymerase chain reaction and immunohistochemistry in cats with ulcerative facial dermatitis, eosinophilic granuloma complex reaction patterns and mosquito bite hypersensitivity. *Veterinary Dermatology* 22(6):521-527, 2011.
51. Hargis AM, Ginn PE. Feline herpesvirus 1-associated facial and nasal dermatitis and stomatitis in domestic cats. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 29(6):1281-1290, 1999.
52. Lommer MJ, Verstraete FJ. Concurrent oral shedding of feline calicivirus and feline herpesvirus 1 in cats with chronic gingivostomatitis. *Oral Microbiology and Immunology* 18(2):131-134, 2003.
53. Reubel GH, Hoffmann DE, Pedersen NC. Acute and chronic faucitis of domestic cats: a feline calicivirus induced disease. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 22(6):1347-1360, 1992.
54. Waters L, Hopper CD, Gruffydd-Jones TJ, *et al.* Chronic gingivitis in a colony of cats infected with feline immunodeficiency virus and feline calicivirus. *Veterinary Record* 132(14):340-342, 1993.
55. Stiles J, Pogranichny R. Detection of virulent feline herpesvirus-1 in the corneas of clinically normal cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 10(2):154-159, 2008.
56. 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. *Journal Clinical Microbiology* 40 (2):519-523, 2002.
57. Maggs DJ, Clarke H. Relative sensitivity of polymerase chain reaction assays used for detection of feline herpesvirus type 1 DNA in clinical samples and commercial vaccines. *American Journal of Research* 66(9):1550-1555, 2005.
58. Hillstrom A, Tvedten H, Kallberg M, *et al.* Evaluation of cytologic findings in feline conjunctivitis. *Veterinary Clinical Pathology* 41(2):283-290, 2012.
59. Burgess KM, Hotaling S, Schiebel, *et al.* Comparison of PCR, virus isolation, and indirect fluorescent antibody staining in the detection of naturally occurring feline herpesvirus infections *Journal Veterinary Diagnostic Investigation* 11(2):122-126, 1999.
60. Hara M, Fukuyama M, Suzuki Y, *et al.* Detection of feline herpesvirus 1 DNA by the nested polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*, 48(3-4):345-352, 1996.
61. Fernandez M, Manzanilla E G, Lloret A, *et al.* Prevalence of feline herpesvirus-1, feline calicivirus, *Chlamydia felis* and *Mycoplasma felis* DNA and associated risk factors in cats in Spain with upper respiratory tract disease, conjunctivitis and/or gingivostomatitis *Journal of Feline Medicine and Surgery* 19(4):461-469, 2017.
62. Gerriets W, Joy N, Huebner-Guthardt J, *et al.* Feline calicivirus: A neglected cause of feline ocular surface infections? *Veterinary Ophthalmology* 15(3):172-179, 2012.
63. Polak KC, Levy JK, Crawford PC, *et al.* Infectious diseases in large-scale cat hoarding investigations. *Veterinary Journal* 201(2):189-195, 2014.
64. Rampazzo A, Appino S, Pregel P, *et al.* Prevalence of *Chlamydia felis* and feline herpesvirus in cats with conjunctivitis in northern Italy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 17(6):799-807, 2003.
65. Walter J, Foley P, Yason C, *et al.* Prevalence of feline herpesvirus-1, feline calicivirus, *Chlamydia felis*, and *Bordetella bronchiseptica* in a population of shelter cats on Prince Edward Island *Canadian Journal of Veterinary research* 84(3):181-188, 2020.
66. Schulz C, Hartmann K, Mueller RS *et al.* Sampling sites for detection of feline herpesvirus-1, feline calicivirus and *Chlamydia felis* in cats with feline upper respiratory tract disease *Journal of Feline Medicine and Surgery* 17(12):1012-1019, 2015.
67. Burns RE, Vagner DC, Leutenegger CM, *et al.* Histologic and molecular correlation in shelter cats with acute upper respiratory infection *Journal of Clinical Microbiology* 49(7):2454-2460, 2011.
68. Zirotsky D, Rekers W, Powell C, *et al.* Feline Herpesvirus 1 and *Mycoplasma* spp. Conventional PCR assay results from conjunctival samples from cats in shelters with suspected acute ocular infections. *Topics in Companion Animal Medicine* 33(2):45-48, 2018.
69. Low HC, Powell CC, Veir JK, *et al.* Prevalence of feline herpesvirus 1, *Chlamydia felis*, and *Mycoplasma* spp. DNA in conjunctival cells collected from cats with and without conjunctivitis. *American Journal of Veterinary Research*, 68(6):643-648, 2007.
70. Thomasy SM, Maggs DJ. A review of antiviral drugs and other compounds with activity against feline herpesvirus type 1. *Veterinary ophthalmology* 19(Suppl 1):119-130, 2016.
71. Nasisse MP, Guy JS, Davidson MG, *et al.* In vitro susceptibility of feline herpesvirus-1 to vidarabine, idoxuridine, trifluridine, acyclovir, or bromovinyldeoxyuridine. *American Journal of Veterinary Research*. 50(1):158-160, 1989.
72. Maggs DJ, Clarke HE. In vitro efficacy of ganciclovir, cidofovir, penciclovir, foscarnet, idoxuridine, and acyclovir against feline herpesvirus type-1. *American Journal of Veterinary Research* 65(4):399-403, 2004.
73. Williams DL, Robinson JC, Lay E, *et al.* Efficacy of topical aciclovir for the treatment of feline herpetic keratitis: results of a prospective clinical trial and data from in vitro investigations. *Veterinary Record* 157(9):254-257, 2005.
74. Lewin AC, Liu CC, Alling C, *et al.* In vitro efficacy of ganciclovir against feline herpesvirus type 1 and assessment of ocular tolerability in healthy cats *Journal of Feline Medicine and Surgery* 23(4):400-404, 2021.
75. Ledbetter EC, Badanes ZI, Chan RX, *et al.* Comparative efficacy of topical ophthalmic Ganciclovir and oral Famciclovir in cats with experimental ocular feline herpesvirus-1 epithelial infection. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapy* 38(5):339-347, 2022.
76. Mironovich MA, Yoon A, Marino E, *et al.* Evaluation of compounded cidofovir, famciclovir, and ganciclovir for the treatment of feline herpesvirus ocular surface disease in shelter-housed cats *Veterinary ophthalmology* 26(Suppl 1):143-153, 2023.
77. Stiles J. Treatment of cats with ocular disease attributable to herpesvirus infection: 17 cases (1983-1993). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 207(5):599-603, 1995.
78. Sandmeyer LS, Keller CB, Bienzle D. Effects of cidofovir on cell death and replication of feline herpesvirus-1 in cultured feline corneal epithelial cells. *American Journal of Veterinary Research*. 66(2):217-222, 2005.
79. Fontenelle JP, Powell CC, Veir JK, *et al.* Effect of topical ophthalmic application of cidofovir on experimentally induced primary ocular feline herpesvirus-1 infection in cats. *American Journal of Veterinary Research* 69(2):289-293, 2008.
80. Ledbetter EC, Spertus CB, Pennington MR, *et al.* In Vitro and In Vivo Evaluation of Cidofovir as a Topical Ophthalmic Antiviral for Ocular Canine Herpesvirus-1 Infections in Dogs. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapy* 31(10):642-649, 2015.
81. Sherman MD, Feldman KA, Farahmand SM, *et al.* Treatment of conjunctival squamous cell carcinoma with topical cidofovir. *American Journal of Ophthalmology* 134(3):432-433, 2002.
82. Stiles J, Gwin W, Pogranichny R. Stability of 0.5% cidofovir stored under various conditions for up to 6 months. *Veterinary Ophthalmology* 13(4):275-277, 2010.
83. O'Brien WJ, Edelhauser HF. The corneal penetration of trifluorothymidine, adenine arabinoside, and idoxuridine: A comparative study. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 16(12):1093-1103, 1977.
84. Nasisse MP, Dorman DC, Jamison KC, *et al.* Effects of valacyclovir in cats infected with feline herpesvirus 1. *American Journal of Veterinary Research* 58(10):1141-1144, 1997.
85. Groth AD, Contreras MT, Kado-Fon HK, *et al.* In vitro cytotoxicity and antiviral efficacy against feline herpesvirus type 1 of famciclovir and its metabolites. *Veterinary Ophthalmology* 17(4):268-274, 2014.
86. Thomasy SM, Shull Q, Outerbridge CA, *et al.* Oral administration of famciclovir for treatment of spontaneous ocular, respiratory, or dermatologic disease attributed to feline herpesvirus type 1: 59 cases (2006-2013). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 249(5):526-538, 2016.
87. Slack JM, Stiles J, Leutenegger M, *et al.* Effects of topical ocular administration of high doses of human recombinant interferon alpha-2b and feline recombinant interferon omega on naturally occurring viral keratoconjunctivitis in cats. *Journal of Veterinary Research* 74(2):281-289, 2013.
88. Haid C, Kaps S, Gonczi E, *et al.* Pretreatment with feline interferon omega and the course of subsequent infection with feline herpesvirus in cats. *Veterinary Ophthalmology* 10(5):278-284, 2007.
89. Maggs DJ, Nasisse MP, Kass PH. Efficacy of oral supplementation with L-lysine in cats latently infected with feline herpesvirus. *American Journal of Veterinary Research* 64(1):37-42, 2003.
90. Stiles J, Townsend WM, Rogers QR, *et al.* Effect of oral administration of L-lysine on conjunctivitis caused by feline herpesvirus in cats. *American Journal of Veterinary Research* 63(1):99-103, 2002.
91. Maggs DJ, Sykes JE, Clarke HE, *et al.* Effects of dietary lysine supplementation in cats with enzootic upper respiratory disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 9(2):97-108, 2007.
92. Drazenovich TL, Fascetti AJ, Westermeyer HD, *et al.* Effects of dietary lysine supplementation on upper respiratory and ocular disease and detection of infectious organisms in cats within an animal shelter. *American Journal Veterinary Research* 70(11):1391-1400, 2009.
93. Rees TM, Lubinski JL. Oral supplementation with L-lysine did not prevent upper respiratory infection in a shelter population of cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 10(5):510-513, 2008.
94. Nasisse MP. Issues in Ophthalmology: Anti-Inflammatory Therapy in Herpesvirus Keratoconjunctivitis. *Progress in Veterinary and Comparative Ophthalmology* 1(1):63-65, 1990.
95. Stiles J. Ocular manifestations of feline viral diseases. *Veterinary Journal* 201(2):166-173, 2014.
96. Thiry E, Addie D, Belak S, *et al.* Feline herpesvirus infection. ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 11(7):547-555, 2009.
97. Gaskell R, Dawson S, Radford A, *et al.* Feline Herpesvirus. *Veterinary Research* 38(2):337-354, 2007.