

FORMATION CONTINUE – ARTICLE DE SYNTHESE

L'herpèsvirose canine

RONSSE V.^{1,3}, POULET H.², VERSTEGEN J.³, THIRY E.¹

¹ Département des Maladies Infectieuses et Parasitaires, Service de Virologie, Epidémiologie et Pathologie des Maladies Virales, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster 20, B43bis, 4000 Liège

² Merial, Rue Bourgelat 17, 69002 Lyon, France

³ Département des Sciences Cliniques, Section Obstétrique et Troubles de la Reproduction, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster 20, B44, 4000 Liège

Correspondance : Prof. Etienne Thiry, Email : etienne.thiry@ulg.ac.be

RESUME : L'herpèsvirus canin est un agent étiologique des troubles de la reproduction et des maladies des voies respiratoires supérieures. Le virus est également responsable de fréquentes infections subcliniques. L'intérêt apporté à ce virus s'est accru ces dernières années, surtout depuis que l'établissement du virus à l'état latent a été démontrée et qu'un nouveau vaccin a été développé. Dans cet article de revue seront abordés successivement les caractéristiques virologiques, l'épidémiologie, la pathogénie, les signes cliniques, le diagnostic ainsi que le traitement et la prévention.

INTRODUCTION

Décrit pour la première fois en 1965 par 3 groupes de scientifiques différents (Carmichael *et al.*, 1965; Spertzel *et al.*, 1965; Stewart *et al.*, 1965), l'herpèsvirus canin (Canine herpesvirus-1, CaHV-1) a été considéré pendant de nombreuses années comme un agent plutôt rare avec une importance clinique et scientifique très modérée. Le virus est présumé être mondialement répandu et des études récentes suggèrent même une séroprévalence élevée dans la population canine (Reading et Field, 1998; Ronsse *et al.*, 2002). Par ailleurs, son importance clinique est suspectée d'avoir été sous-estimée, surtout en ce qui concerne son rôle dans les problèmes de fertilité et de mortalité périnatale. De plus, l'intérêt potentiel du virus comme vecteur de vaccination paraît être prometteur. Des études préliminaires sur l'expression de protéines des agents de la néosporose canine (Nishikawa *et al.*, 2000), de la rage (Xuan *et al.*, 1998) et de la maladie d'Aujeszky ont déjà été réalisées (Nishikawa *et al.*, 1999).

ETIOLOGIE ET CARACTÉRISTIQUES

Dans la sous-famille des *Alpha-herpesvirinae*, le CaHV-1 appartient au genre *Varicellovirus*, tout comme l'herpèsvirus équin 1 et le virus de la varicelle et du zona (VZV) (International Committee on Taxonomy of Viruses, 2000). Caractéristique des alphaherpèsvirus, l'établissement de latence dans les ganglions sensoriels a également été démontré pour le CaHV-1. L'effet cytopathogène (ECP) est caractérisé par un gonflement, un arrondissement et finalement un détachement des cellules en culture. Des corps d'inclusion acidophiles ou basophiles intranucléaires peuvent être observés et sont moins nombreux que chez d'autres herpèsvirus. La formation de syncytia est rare. A ce jour, un seul sérotype du CaHV-1 a pu être identifié, bien que des différences dans les ECP ont été observés (Carmichael et Greene, 1998).

Le virion du CaHV-1 se compose d'un double brin d'ADN entouré d'une nucléocapside, un tégment et une enveloppe. Le diamètre du virion est de 115 à 175 nm (Carmichael *et*

al., 1965) avec une masse moléculaire de 63×10^6 daltons (Lust et Carmichael, 1974). La longueur totale du génome est de 128 kilobases (Remond *et al.*, 1996). Le faible pourcentage (33%) de guanine et cytosine est caractéristique du CaHV-1 (Plummer *et al.*, 1969). Le séquençage de plusieurs gènes exprimant des glycoprotéines (gB, gC, gD, gE, gI) et la thymidine kinase a été réalisé. Par ailleurs, l'intégralité de l'organisation de la région U_S et des parties des régions U_L , IR et TR est également connue (Limbach *et al.*, 1994; Remond *et al.*, 1995; 1996; Tyack *et al.*, 1997; Haanes et Tomlinson, 1998; Nishikawa *et al.*, 1998). La capsid possède une symétrie icosaédrique typique des herpèsvirus. Le tégment qui entoure la capsid est composé de protéines. Il est unique pour les herpèsvirus et apparaît comme une structure amorphe en microscopie électronique. Finalement, l'enveloppe est composée d'une membrane lipidique portant des glycoprotéines à sa surface. Les composants lipidiques de l'enveloppe rendent le virus particulièrement instable dans l'environnement et expliquent sa sensibilité pour les solvants lipidiques

(chloroforme, éther) et les désinfectants courants (chloramine, formaldéhyde, dérivés phénolés, ammoniums quaternaires).

Jusqu'à ce jour le CaHV-1 n'a pu être isolé que d'espèces appartenant aux canidés. Cependant, une étude récente mentionne la détection d'anticorps chez des loutres de rivière (*Lontra canadensis*) en Amérique du Nord (Kimber *et al.*, 2000). Phylogénétiquement, le virus semble surtout être proche de l'herpèsvirus félin 1 et de l'herpèsvirus du phoque 1. On trouve des gènes homologues chez d'autres alphaherpèsvirus, comme l'herpèsvirus équin 1, l'herpèsvirus bovin 1, l'herpès simplex 1, le VZV et le virus de la maladie d'Aujeszky (Manning *et al.*, 1988; Rota et Maes, 1990; Lebach *et al.*, 1994; Tyack *et al.*, 1997; Harder *et al.*, 1998). Un herpèsvirus proche de l'herpèsvirus félin 1 a été isolé de chiens souffrant de diarrhée (Evermann *et al.*, 1982; Rota *et al.*, 1986).

Par ailleurs, le CaHV-1 est thermosensible avec une inactivation quasi immédiate à 56°C. La multiplication virale est optimale entre 35 et 37 °C (Carmichael, 1970). Le virus est stable à -70°C, mais son infectivité commence à diminuer après 24 heures à 4°C et après 5 jours à -20°C. Pour garantir sa stabilité, un pH compris entre 6,5 et 7,6 doit être respecté (Carmichael *et al.*, 1965). Le virus est également caractérisé par un tropisme pour les muqueuses respiratoires supérieures, les muqueuses génitales, le système nerveux central et l'endothélium vasculaire.

EPIDÉMIOLOGIE

Le CaHV-1 a été isolé dans les continents suivants : l'Europe, l'Amérique du Nord, l'Asie et l'Océanie. De plus, les études séro-épidémiologiques les plus récentes d'Europe Occidentale et d'Asie montrent des séroprévalences croissantes chez les chiens d'élevage comme chez les chiens de particuliers (tableau I). Contrairement à ce qui a été observé il y a quelques décennies, la présence d'anticorps n'est plus nécessairement liée aux chiens vivant en meute, mais elle atteint une répartition plus homogène dans la population canine. Les facteurs affectant l'état sérologique d'un individu sont peu documentés. Différentes équipes

Tableau I : Etudes séro-épidémiologiques depuis l'isolement du CaHV-1.

Année	Référence	Pays	Origine des populations*	Prévalence en %
1969	Lundgren et Clapper, 1969	Etats-Unis	Mélange	12,8
1974	Fulton <i>et al.</i> , 1974	Etats-Unis	Mélange	6
1975	Bibrack et Schaudinn, 1976	Allemagne	Mélange	12
			Elevages à problèmes ^a	39,1
1977	Osterhaus <i>et al.</i> , 1977	Pays-Bas	Particuliers	2,8
			Elevages à problèmes ^a	12
1979	Delisle, 1982	France	Particuliers	0,5
			Elevage	28,4
1980	Engels <i>et al.</i> , 1980	Suisse	Mélange	6,3
1980	Schwiers <i>et al.</i> , 1980	Belgique	Mélange	1
1990	Takumi <i>et al.</i> , 1990	Japon	Mélange	26,2
1989-1991	Poulet et Dubourget, 1993	France	Majorité vivant en élevage	15,9
1994	Seo <i>et al.</i> , 1994	Corée	Particuliers	28
			Elevage	58
1997-1998	Rijsewijk <i>et al.</i> , 1999	Pays-Bas	Mélange	39,3
1998	Reading et Field, 1998	Royaume-Uni	Particuliers	88
1998	Lacheretz et Cognard, 1998	France	Elevages à problèmes ^a	43
2000	Ronsse <i>et al.</i> , 2002	Belgique	Particuliers	46,1
			Elevage	45,7
2000	Guigal <i>et al.</i> , 2002	France	Elevage	30,6
2001	Van Gucht <i>et al.</i> , 2001b	Belgique	Elevage	49,5

* = chiens vivant en élevage, chez des particuliers ou un mélange des origines (élevage, chenil, particuliers);
a = élevages avec des chiens présentant des problèmes de fertilité

ont ainsi observé une séroprévalence croissant avec l'âge (Seo *et al.*, 1994; Guigal *et al.*, 2002). En effet, l'âge de la maturité sexuelle (1-2 ans) et de la première saillie (2-3 ans) sont suggérés être des moments de séroconversion importants (Lacheretz et Cognard, 1998; Van Gucht *et al.*, 2001b). Lacheretz et Cognard (1998) ont par ailleurs observé des séroprévalences croissantes jusqu'à l'âge de 5-6 ans. Une étude suggère que la taille de l'élevage pourrait influencer les taux de séropositivité de façon parallèle (Guigal *et al.*, 2002). Finalement, le virus a été isolé d'animaux atteints de la toux de chenil (Binn *et al.*, 1967). Cependant, le rôle de cette maladie dans l'épidémiologie

du CaHV-1 n'est pas connu. La latence du CaHV-1 a été démontrée par plusieurs auteurs (Burr *et al.*, 1996; Miyoshi *et al.*, 1999). Elle doit être considérée comme une infection à vie (Anvik, 1991). Elle pourrait épidémiologiquement être importante et participer à cette séroprévalence élevée. Des réactivations et ré-excrétions intermittentes sont suspectées chez des animaux affaiblis ou stressés. Des porteurs latents, souvent asymptomatiques, pourraient ainsi entretenir la circulation du virus dans les élevages et figurer comme source d'infection pour les individus sensibles, comme les femelles gestantes et les nouveaux-nés.

La transmission du virus se fait surtout par des contacts directs. Les adultes acquièrent l'infection par des contacts oronasaux ou vénériens (Poste et King, 1971). L'infection oronasale du chiot peut être acquise à la naissance, par les sécrétions vaginales, lors du passage à travers la filière pelvienne. Elle peut également être acquise en *post partum* par les sécrétions oronasales de la mère ou par les sécrétions (larmes, salive) et excréments (expectorations, urine, matières fécales, vomissements) d'autres chiots infectés (Poulet et Dubourget, 1993). Par ailleurs, l'infection transplacentaire pendant les 2 derniers tiers de la gestation a été démontrée (Hashimoto et Hirai, 1986). L'infection pendant le stade embryonnaire de la gestation est suggérée (Poste et King, 1971), mais des études scientifiques manquent encore à cet égard.

Après une primo-infection (par voie oronasale ou génitale) ou après réactivation, le virus est excrété après 3 à 5 jours pour une durée maximale de 2 à 3 semaines (Appel *et al.*, 1969; Carmichael, 1970; Okuda *et al.*, 1993). Une réactivation induite après une inoculation oronasale, peut conduire à une ré-excrétion génitale (Okuda *et al.*, 1993). De la même manière, une infection génitale peut mener à une excrétion oronasale et conjonctivale (Hill et Maré, 1974).

PATHOGÉNIE

L'immunité humorale, mais surtout l'immunité cellulaire est déterminante dans la pathogénie. La sensibilité des chiots à faire des infections généralisées dans les 3 premières semaines de vie serait liée à une thermorégulation inadéquate (Carmichael *et al.*, 1969). L'hypothermie pourrait ainsi favoriser la généralisation de l'infection par le CaHV-1 dont le caractère thermosensible a été démontré *in vitro*. Une bonne immunité maternelle est par conséquent cruciale. Cependant, des titres en anticorps suffisamment élevés peuvent protéger le jeune contre la maladie, mais pas contre l'infection ou un éventuel établissement de latence (Carmichael, 1970; Huxsoll et Hemelt, 1970). La présence d'anticorps peut ainsi être associée à une excrétion virale (Carmichael et Greene, 1998). La présence d'infections concomitantes comme le parvovirus, le coronavirus ou *Clostridium perfringens* peut également influencer la pathogénie.

Chez le nouveau-né avec une immunité passive insuffisante, la multiplication primaire dans la muqueuse nasopharyngée et les amygdales est suivie d'une atteinte des nœuds lymphatiques régionaux (rétropharyngés et bronchiques) (figure 1). La virémie, surtout associée aux cellules mononucléées, est alors suivie d'une

hyperplasie et d'une nécrose lymphoïde de la rate et des nœuds lymphatiques profonds (par exemple médiastinal, hypogastrique, mésentérique). Finalement les organes principaux sont atteints avec l'apparition d'hémorragies et de foyers de nécrose disséminés. Ces lésions semblent principalement être le résultat d'une nécrose vasculaire liée à une infection de l'endothélium vasculaire (Schulze et Baumgärtner, 1998). Simultanément, une thrombocytopénie prononcée, probablement provoquée par une coagulation intravasculaire disséminée, peut être observée (Kakuk et Conner, 1970). Le système nerveux central et périphérique est également atteint. L'invasion se produirait surtout par voie hématogène (Percy *et al.*, 1970), bien qu'une infection par les terminaisons nerveuses sensorielles soit également suggérée (Miyoshi *et al.*, 1999).

Chez les chiots plus âgés et l'adulte, la température corporelle est supérieure à la température de multiplication optimale du virus. Chez un animal immunocompétent, la multiplication virale reste limitée aux voies respiratoires supérieures et aux voies génitales (figure 1).

Après une infection oronasale la multiplication virale est ainsi observée dans le nasopharynx, les amygdales et les nœuds lymphatiques régionaux. Occasionnellement les poumons sont

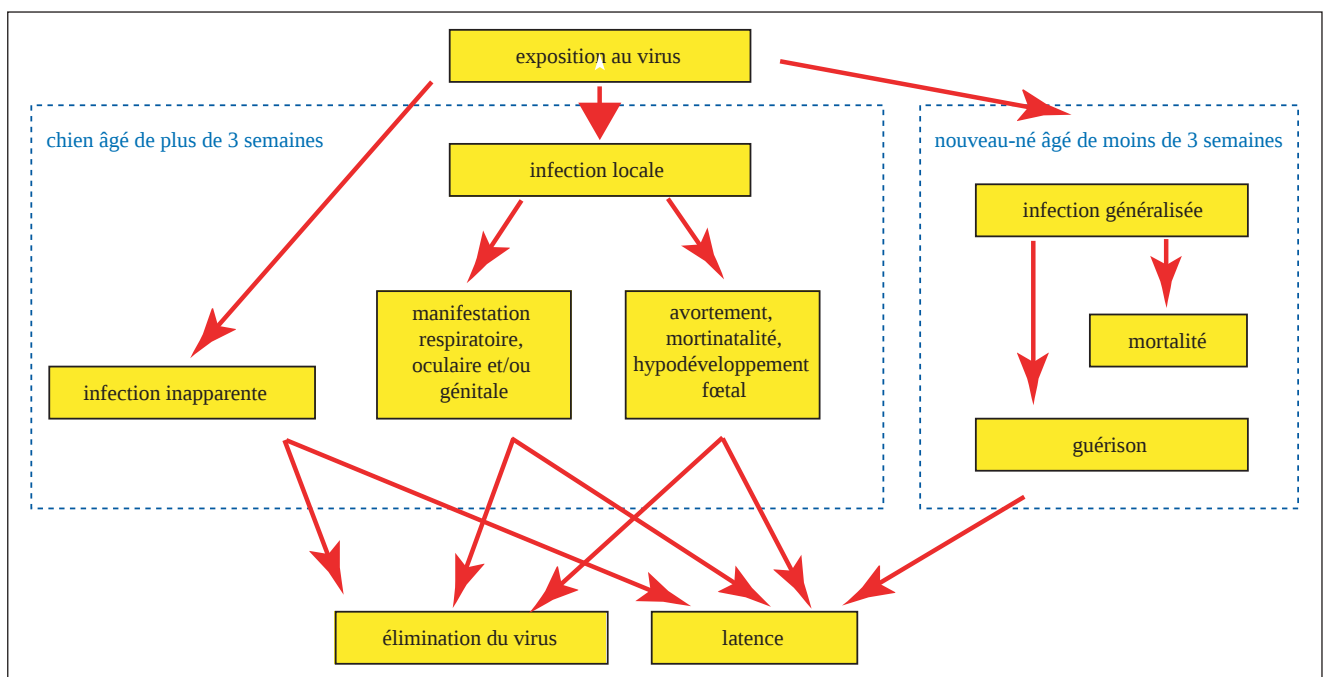


Figure 1: Pathogénie de l'herpèsvirus canin.

atteints (Appel *et al.*, 1969; Carmichael et Greene, 1998). Cependant, dans certains cas, une virémie (associée aux mono- et lymphocytes) peut se manifester. Une atteinte placentaire après une infection oronasale ne peut donc pas être exclue (Appel *et al.*, 1969). Après l'infection locale, le virus est éliminé ou devient latent. Avec l'amplification en chaîne de l'ADN (*polymerase chain reaction*, PCR), la latence a ainsi été démontrée dans le ganglion trijumeau, les amygdales, les glandes salivaires, plusieurs nœuds lymphatiques (sous-mandibulaires, rétropharyngés, pulmonaires et méésentériques), le foie, les reins, la rate et le pédoncule cérébral (Burr *et al.*, 1996; Miyoshi *et al.*, 1999).

Après une infection génitale, le virus se multiplie dans la muqueuse vaginale ou préputiale (Schulze et Baumgärtner, 1998) et pénienne (Hill et Maré, 1974). Il est alors éliminé ou atteint les nœuds lymphatiques régionaux après un drainage lymphatique associé aux lymphocytes. Le virus semble également pouvoir remonter jusqu'au ganglion lombo-sacré par les terminaisons nerveuses sensorielles. Ce ganglion pourrait ainsi héberger du virus latent et jouer un rôle dans la transmission vénérienne (Burr *et al.*, 1996). Après l'inoculation de femelles gestantes pendant les 2 derniers tiers de la gestation, des placentites ont été observées et la transmission transplacentaire a été démontrée. En effet, le virus a pu être isolé du placenta et de plusieurs organes fœtaux (foie, poumons, reins et rate) (Hashimoto *et al.*, 1982; 1983b). Les lésions placentaires sont à nouveau caractérisées par des angéites de nature virale. Elles peuvent être associées à un hypodéveloppement fœtal conduisant à l'avortement ou à la mortinatalité dans les cas d'atteinte placentaire prononcée (Hashimoto *et al.*, 1979; Poulet *et al.*, 2001).

Le mécanisme de réactivation avec induction d'avortement, momification ou mortinatalité doit encore être clarifié (Miyoshi *et al.*, 1999). Des voyages, la participation à des expositions ou l'utilisation de chiens dans des programmes de recherche sont des stimuli de réactivation reconnus. La réactivation après l'administration de prednisolone à dose élevée a également été démontrée (Okuda *et al.*, 1993). Par ailleurs, les chaleurs (pro-

oestrus et oestrus) sont souvent citées comme des moments clés de réactivation avec l'apparition de lésions génitales (Poste et King, 1971). Cependant des données pertinentes manquent encore à ce sujet. De même, les agents de la toux de chenil semblent favoriser l'excrétion du virus (Kraft *et al.*, 1986). Finalement, le virus a pu être isolé d'individus atteints de la maladie de Carré (Motohashi et Tajima, 1966) ainsi que d'un individu avec un lymphome malin (Kakuk *et al.*, 1969).

Même si les problèmes de fertilité et de mortalité périnatale sont surtout décrits lors de primo-infections (Appel, 1987; Carmichael et Greene, 1990), la récurrence des signes cliniques dans certains élevages (Hashimoto *et al.*, 1983a; 1983b) ainsi que la démonstration du virus dans plusieurs ganglions sensoriels suggèrent que la ré-excrétion après réactivation serait plus importante que supposée auparavant.

SIGNES CLINIQUES

Les principales cibles du CaHV-1 sont le chiot nouveau-né et la femelle gestante.

Le nouveau-né âgé de moins de 3 semaines

Chez les chiots infectés à la naissance ou dans les premiers jours de vie, une infection généralisée peut se manifester. L'incubation est de courte durée et les signes cliniques apparaissent 4 à 6 jours après l'infection. La majorité des chiots dans une portée développent l'infection systémique dans les 9 jours après la naissance (Carmichael et Greene, 1998). Les chiots qui meurent dans les tout premiers jours de vie sont suspectés d'être infectés avant la mise-bas. Les signes cliniques suivants peuvent apparaître (Kakuk et Conner, 1970; Albert *et al.*, 1976) :

- de l'apathie;
- des troubles digestifs: anorexie, salivation, vomissements, selles molles gris-jaunâtres;
- des plaintes continues et un abdomen douloureux à la palpation;
- des troubles respiratoires: éternuements, écoulements nasaux muco-purulents ou hémorragiques, dyspnée;

- des signes neurologiques: ataxie, pédalage, opisthotonos;
- des troubles oculaires: amaurose (due à une dysplasie rétinienne), conjonctivite, rétinite, panuvéite, kératite, cataracte et synéchie antérieure périphérique;
- un œdème sous-cutané, des papules ou vésicules sur la région ventrale et inguinale;
- des pétéchies, hémorragies ou vésicules sur les muqueuses buccales et génitales;
- de l'hypothermie.

Généralement les chiots meurent 24 à 48 heures après le début des signes cliniques. Cependant certains chiots meurent sans signes cliniques préalables. Souvent l'infection est tellement aiguë que des signes neurologiques ne se développeront pas. En cas de survie du chiot, les signes neurologiques présents (aveuglement, ataxie et signes cérébello-vestibulaires) persistent à vie (Huxsoll et Hemelt, 1970). La morbidité et la mortalité sont généralement élevées. Les chiots avec une immunité suffisante ne développent pas de signes cliniques mais deviennent vraisemblablement des porteurs latents.

Le jeune chien

Des études expérimentales ont démontré que des chiens infectés à l'âge de 3-12 semaines sont généralement plus résistants et ne présentent aucun signe apparent d'infection ou développent des signes cliniques moins graves comme des rhinites, pharyngites ou conjonctivites (Appel *et al.*, 1969; Cornwell et Wright, 1969; Kakuk et Conner, 1970; Wright et Cornwell, 1970; Thompson *et al.*, 1972). Cependant, quelques cas de développement de la maladie aiguë avec l'apparition d'anorexie, vomissements, abatement, décharge oculaire, hépatomégalie et mort subite sont décrits chez des chiots de coyotes de 8 à 10 semaines (Evermann *et al.*, 1984).

L'adulte

Troubles de la reproduction et lésions génitales

Une infection intra-utérine dans les 2 derniers tiers de la gestation peut conduire à un avortement, des momifications, mortinatalités et la nais-

sance de chiots affaiblis ou de développement insuffisant (Hashimoto *et al.*, 1982; 1983b; Poulet *et al.*, 2001). Le virus est également suspecté de pouvoir induire des résorptions embryonnaires avec des chiennes qui restent vides après la saillie ou qui mettent bas de petites portées (Poste et King, 1971), mais des études scientifiques manquent encore à cet égard. Dans toutes ces pathologies du système reproducteur, la femelle gestante ne présente aucun signe d'atteinte générale. Des troubles respiratoires peuvent cependant apparaître simultanément. Les lactations sont normales.

L'infection peut donc passer inaperçue ou des lésions génitales peuvent se manifester. Ces lésions sont non prurigineuses mais une légère sensibilité au toucher peut être remarquée. Chez la femelle, des papules, vésicules, pustules et des nodules lymphoïdes hyperplasiques ont été décrites sur la muqueuse vaginale ainsi que sur la jonction cutanéomuqueuse de la vulve. Généralement ces lésions mesurent 2-3 mm en diamètre (Hashimoto *et al.*, 1983a). Elles sembleraient surtout se manifester pendant le pro-œstrus (Poste et King, 1971) pour régresser après quelques semaines ou dans l'anœstrus. La présence d'une vaginite, caractérisée par des pétéchies et des hémorragies sous-muqueuses, peut également être observée (Hill et Maré, 1974). Aucune décharge vaginale n'est cependant remarquée. Chez le mâle, des nodules peuvent se manifester sur la muqueuse pénienne, sur la base de la muqueuse préputiale ainsi que sur la réflexion préputiale. Elles sont plus petites et moins nombreuses que chez la chienne. La muqueuse pénienne devient rougeâtre et plus rugueuse. L'apparition de pétéchies et une décharge purulente peuvent également être observées (Hill et Maré, 1974).

Troubles respiratoires et oculaires

Il a été démontré que le CaHV-1 peut intervenir dans les troubles des voies respiratoires supérieures (Binn *et al.*, 1967). Une équipe (Karpas *et al.*, 1968) a pu induire la toux de chenil après l'inoculation du CaHV-1, mais en général le virus n'est pas considéré comme un agent pathogène primaire dans cette problématique. Des lésions oculaires chez l'adulte se limitent généralement à des conjonctivites.

Elles peuvent être observées parallèlement à des troubles respiratoires ou des lésions génitales (Hill et Maré, 1974; Carmichael et Greene, 1998).

DIAGNOSTIC

L'isolement viral ou la mise en évidence d'ADN ou d'antigènes viraux sont les seuls résultats concluants d'une infection par le CaHV-1. Cependant, dans un certain nombre de cas, le diagnostic clinique en combinaison avec l'image typique sur autopsie et histopathologie chez les nouveau-nés et la sérologie des adultes peut également être suggestif.

Diagnostic clinique

A partir de l'historique de l'élevage (avortements, mortalités, mortalités néonatales), des signes cliniques observés (lésions génitales chez les adultes, signes cliniques chez les nouveau-nés, troubles respiratoires) et de l'examen général, une infection avec le CaHV-1 peut être suspectée. Le bilan sanguin chez les nouveau-nés est non-spécifique, à part la description de valeurs augmentées en alanine aminotransférase (Carmichael et Greene, 1998) et l'observation constante d'une thrombocytopénie prononcée (Kakuk et Conner, 1970).

Diagnostic de laboratoire

Diagnostic virologique

L'isolement viral est difficile à réaliser et exige des conditions de culture et une conservation du matériel échantillonné optimales. En effet, le virus ne se multiplie que dans des cellules d'origine canine (généralement des cellules rénales, éventuellement testiculaires) ou dans des cellules pulmonaires de vison (Peterson et Goyal, 1988; Reading et Field, 1999). Bien que la PCR soit encore surtout utilisée à des fins scientifiques, plusieurs laboratoires (France, Etats-Unis, Canada) offrent maintenant la possibilité d'utiliser cette technique pour le diagnostic de cas cliniques. Vu l'instabilité du virus dans l'environnement, la mise en évidence directe de l'ADN (par PCR ou hybridation *in situ*) ou de l'antigène viral (par l'immunofluorescence sur cryo-coupes histologiques) est plus fiable que l'isolement viral. Le désavantage de

la PCR par rapport à l'hybridation *in situ* est qu'il est impossible de démontrer de quel type de cellule (épithéliale, mésenchymale, lymphocytaire) du tissu analysé l'ADN viral est extrait. Cependant, cette première technique est nettement plus sensible et permet également de démontrer du virus latent.

Les échantillons à analyser doivent être gardés réfrigérés à 4°C (ou congelés à -20°C) dans des conditions stériles et parvenir au laboratoire dans les 24 heures. À -70°C les échantillons peuvent être stockés pour une durée indéterminée. L'isolement viral chez les nouveau-nés est de préférence tentée sur les reins, le foie, les poumons, la rate, les nœuds lymphatiques et les glandes surrénales (Carmichael et Greene, 1998). Après un avortement, les fœtus et les enveloppes sont prélevés. Chez l'adulte, l'isolement viral peut être réalisé à partir d'écouvillons nasaux, vaginaux ou préputiaux (dans du milieu de transport virologique) et à partir de sang total (sur tube EDTA).

L'immunofluorescence sur cryo-coupes est réalisée à partir des poumons, des reins et du foie des nouveau-nés (Van Gucht *et al.*, 2001a). La microscopie électronique peut également être utilisée pour mettre en évidence des particules virales dans des tissus infectés, mais cette technique est assez longue.

Autopsie et histopathologie

L'autopsie du nouveau-né est caractérisée par de multiples pétéchies ou ecchymoses hémorragiques (infections aiguës) et des foyers de nécrose disséminés (infections subaiguës). Ces lésions sont le plus fréquemment observées au niveau des reins (figures 2, 3 et 4), du foie et des poumons (figure 5), mais elles peuvent également apparaître dans la rate, le cerveau, le cœur, le thymus, les glandes surrénales et l'intestin (Poulet *et al.*, 1993; Schulze et Baumgärtner, 1998). Sur coupe, les hémorragies rénales ont une forme triangulaire typique, rayonnant vers l'extérieur. Ces lésions sont dues à une nécrose fibrinoïde des artères interlobulaires (Yamamura, *et al.*, 1992). Par ailleurs, une splénomégalie et une lymphadénomégalie généralisée sont des observations constantes. Les poumons sont généralement œdémateux et fermes avec une hyperémie prononcée. Des effusions pleurales et péritonéales

séreuses ou séro-hémorragiques sont souvent présentes. La présence d'ictère est rare (Durham et Poole, 1979). Une congestion des méninges peut également être remarquée.

L'image histologique chez le nouveau-né est caractérisée par des foyers de nécrose périvasculaire avec une infiltration modérée de macrophages et lymphocytes. La nécrose est en général une nécrose de coagulation avec perte des structures du parenchyme (Poulet *et al.*, 1993). L'infiltration cellulaire est plus prononcée dans les cas d'infections subaiguës que dans les cas d'infections aiguës (Schulze et Baumgärtner, 1998). Les lésions les plus sévères sont observées dans les poumons, les reins, le foie, la rate, le duodénum et le cerveau. Des lésions moins sévères peuvent être observées dans le pancréas, les glandes surrénales, la rétine et le myocarde. Dans la rate et les nœuds lymphatiques une hyperplasie des cellules phagocytaires mononu-

cléées est remarquée. Cependant, dans les cas sévères, c'est plutôt une déplétion lymphocytaire qui est observée. Au niveau du système nerveux une méningo-encéphalite multifocale granulomateuse et des ganglioneurites (surtout du ganglion trijumeau) peut être observée (Percy *et al.*, 1970). La méningo-encéphalite est caractérisée par une prolifération cellulaire périvasculaire accrue. On la retrouve surtout au niveau du tronc cérébral et du cervelet. Une dysplasie cérébelleuse et rétinienne est fréquemment retrouvée (Percy *et al.*, 1971). Des inclusions (surtout intranucléaires) peuvent être observées dans la périphérie des foyers nécrotiques. Elles sont plus nombreuses dans les infections subaiguës que dans les infections aiguës. On les retrouve surtout dans les cellules épithéliales nasales et rénales (Carmichael et Greene, 1998). Elles ont également été retrouvées dans les cellules épithéliales des poumons et du foie. Plus rarement, on les retrouve

dans les cellules mésenchymateuses, comme les cellules endothéliales et les myocytes cardiaques.

Dans les cas d'infections intra-utérines, des placentas hypodéveloppés avec de multiples foyers de nécrose dans le labyrinthe placentaire, peuvent être observés. La majorité de ces lésions est retrouvée près des hématomas marginaux (Hashimoto *et al.*, 1982).

Les lésions papulo-vésiculeuses muqueuses et cutanées observées chez l'adulte, sont provoquées par une dégénérescence profonde des cellules épithéliales résultant en une acantholyse prononcée. D'autres types de lésions avec un aspect nodulaire lymphoïde ont également été décrits (Hill et Maré, 1974).

Sérologie

Plusieurs tests (séroneutralisation (SN), immunofluorescence indirecte, inhibition de l'hémagglutination et ELISA) ont été développés pour



Figure 2 : Reins de chiot infecté par l'herpèsvirus canin au stade aigu de lésions hémorragiques d'herpèsvirose néonatale.

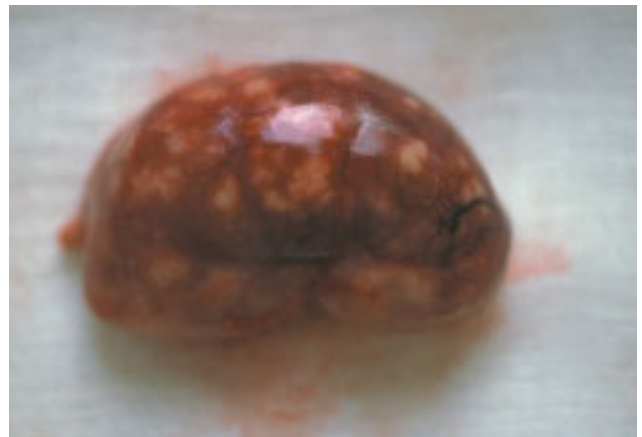


Figure 3 : Rein de chiot infecté par l'herpèsvirus canin au stade de lésions chroniques d'herpèsvirose néonatale (fibroses).



Figure 4 : Coupe de rein de chiot infecté par l'herpèsvirus canin, lésions chroniques d'herpèsvirose au niveau cortical (fibroses).



Figure 5 : Poumons de chiot infecté par l'herpèsvirus canin au stade d'atteinte généralisée (lésions hémorragiques).

détecter les anticorps anti-CaHV-1 (Nemoto *et al.*, 1990; Takumi *et al.*, 1990; Xuan *et al.*, 1992). La SN et l'ELISA ont été plus particulièrement utilisés ces dernières années. Le test de SN est caractérisé par sa grande spécificité tandis que l'ELISA est connu pour sa grande sensibilité, sa simplicité d'utilisation et le fait que la procédure est automatisable. Grâce à l'ajout de complément, la sensibilité des tests de SN a pu être améliorée (Carmichael, 1970; Van Gucht *et al.*, 2001a). Cependant les nouveaux tests de SN sans ajout de complément semblent avoir une sensibilité équivalente aux tests avec l'ajout de complément (Ronsse *et al.*, 2002).

Quelques études suggèrent une relation entre la présence d'animaux séropositifs et des problèmes de mortalités néonatales dans les élevages (Engels *et al.*, 1980; Van Gucht *et al.*, 2001b). Le CaHV-1 est connu pour être faiblement immunogène, induisant des taux d'anticorps qui ne persistent à des taux élevés que jusqu'à 2 mois après l'infection. En fonction du test utilisé, des taux d'anticorps faibles peuvent cependant être détectés jusqu'à 2 ans après l'infection (Carmichael et Greene, 1998). Le résultat sérologique doit donc être interprété avec prudence puisque la présence d'anticorps n'est pas toujours associée à une infection active. Inversement, un animal infecté latent peut être séronégatif. Un résultat positif lors de la manifestation de troubles de la fertilité ou de mortalités néonatales peut être significatif, certainement si l'adulte concerné était négatif lors d'analyses préalables. La sérologie peut également informer sur le degré de circulation du virus dans l'élevage. L'évaluation de la sérologie chez les nouveau-nés n'est pas utile, puisqu'ils n'ont généralement pas le temps de séroconvertir avant de mourir (Poulet et Dubourget, 1993). Une excrétion virale locale (nasale ou génitale) n'est pas toujours associée à une séroconversion (Hill et Maré, 1974).

DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL

Dans la problématique de l'infertilité et des mortalités périnatales, une infection avec le CaHV-1 doit être différenciée d'autres infections d'origine virale (coronavirose, parvovirose, hépatite contagieuse et maladie

de Carré), bactérienne (*E. coli*, *Streptococcus sp.*, *Mycoplasma sp.*, *Ureaplasma sp.*, *Campylobacter sp.*, *Brucella canis*, *Leptospira sp.*) et parasitaire (toxoplasmose, néosporose, infestation au *Toxocara canis* ou *Ankylostoma caninum*). Il faut par ailleurs noter que ces pathogènes peuvent également agir ensemble et promouvoir la manifestation du CaHV-1. Des problèmes de management, des troubles hormonaux, des intoxications, des naissances prématurées de même que l'effet de la consanguinité peuvent également ressembler à ceux associés au CaHV-1.

TRAITEMENT ET PRÉVENTION

Tenant compte de la pathogénie, il est important de réaliser que le traitement et la prévention permettent de prévenir les signes cliniques ou de limiter leur développement et éventuellement de réduire la pression d'infection en diminuant l'excrétion virale. Cependant, l'infection elle-même, avec un éventuel établissement de latence, ne pourra pas être contrôlée.

Pour tenter d'éviter une infection ou la réactivation du virus, la femelle doit être écartée du reste de l'élevage pendant le dernier tiers de la gestation. Elle doit être abritée dans un environnement calme jusqu'à 3 semaines après la mise-bas (Evermann, 1989). Une hygiène correcte est indispensable et tout facteur potentiellement stressant doit être évité. Le virus est inactivé par la grande majorité des désinfectants.

Parce que l'infection généralisée chez le nouveau-né progresse très rapidement, une intervention immédiate est nécessaire. Une fois des signes cliniques développés, le traitement sera souvent inopérant. Pour tenter de diminuer la multiplication virale, une lampe chauffante (température ambiante de 38-39°C) doit être installée au-dessus de la nichée jusqu'à ce que les chiots atteignent l'âge de 3 semaines. Chez les nouveau-nés très affaiblis, une antibiothérapie et une fluidothérapie sont instaurés et le nourrissage par sonde peut s'avérer nécessaire. L'utilisation de produits antiviraux s'est généralement avérée être inefficace. Seule la vidarabine, administrée avant le développement de signes cliniques, pourrait être bénéfique. Néanmoins l'observation

de lésions résiduelles du système nerveux central et du cœur rend l'utilisation de ce produit risquée (Carmichael, 1999). Par contre, un nouveau vaccin inactivé sous-unitaire (contenant des glycoprotéines de la souche F-205) semble être très prometteur. Lors de la vaccination de chiennes reproductrices au moment de l'œstrus et 52 jours après la saillie, une protection totale contre la forme aiguë néonatale a été observée chez des chiots infectés 3 jours après la mise-bas. Un effet bénéfique sur le poids de naissance a également été observé. Par ailleurs, chez des chiennes vaccinées, les taux de gestations avaient tendance à être plus élevés (Poulet *et al.*, 2001). La faible immunogénicité du CaHV-1 exige une vaccination des femelles à chaque cycle reproducteur. L'effet de l'interféron omega n'a pas encore été validé.

Un suivi de l'état général, et plus particulièrement du système respiratoire et génital, pendant les chaleurs et avant la saillie est fortement recommandé. En cas de lésions suspectes, un écouvillon pour culture virale ou PCR et/ou un échantillon sanguin pour évaluation de l'état sérologique, doivent être prélevés. Il faut cependant rester prudent en ce qui concerne l'interprétation des résultats et notamment tenir compte de la date des prélèvements et des techniques de laboratoires utilisées. Un intervalle trop long entre l'échantillonnage et la saillie peut conduire à des conclusions incorrectes, puisque l'état virologique et sérologique peut avoir évolué. Des contrôles réguliers doivent donc être réalisés. En ce qui concerne la sérologie, la sensibilité du test utilisé est à prendre en considération. L'utilisation d'animaux séropositifs pour la reproduction est controversée. Il est en effet connu qu'une femelle ayant présenté des problèmes de fertilité peut encore avoir des nichées normales par après (Sheahan *et al.*, 1978). Lors d'un diagnostic virologique positif, il est préférable de ne pas utiliser l'animal pour la reproduction à ce moment mais de le retester lors des prochaines chaleurs (Poulet *et al.*, 1993). L'utilisation de l'insémination artificielle (IA) n'est pas justifiée, sauf lors de la reproduction de mâles sains avec des femelles infectées appartenant à un autre élevage et présentant des troubles reproducteurs récidivants. Éviter les contacts directs

pourrait ainsi détourner la transmission génitale d'une souche potentiellement pathogène. Dans un même élevage l'utilisation de l'IA n'est probablement pas utile puisque les animaux se sont vraisemblablement déjà infectés antérieurement (Anvik, 1991). La réalisation d'une césarienne n'est pas indiquée puisque les fœtus peuvent déjà être infectés dans le milieu intra-utérin.

Le traitement des pathologies respiratoires et oculaires est surtout symptomatique. Avec un traitement de support et une couverture par antibiotiques, l'objectif reste de limiter les lésions. Aucun traitement spécifique n'existe pour les lésions génitales. L'utilisation de produits chimiothérapeutiques antiviraux utilisés en médecine humaine (comme l'acyclovir) n'est pas documentée (Anvik, 1991).

CONCLUSION

Puisqu'aucun traitement adéquat n'existe à ce jour, il convient de maîtriser les signes cliniques causés par le CaHV-1. Des diagnostics ponctuels, un management correct et une attitude prudente envers les animaux manifestant des signes cliniques sont cruciaux dans la lutte contre ce pathogène. Par ailleurs, la vaccination des femelles reproductrices apportera vraisemblablement une arme nouvelle pour le contrôle de cette maladie. Finalement, une bonne collaboration entre éleveurs, vétérinaires et laboratoires permettra une intervention rapide, apte à limiter les pertes économiques souvent considérables.

Canine herpesvirus-1 infection

SUMMARY

Canine herpesvirus is known to be a causal agent of reproduction disorders and diseases of the upper respiratory system. Subclinical infections are also frequently observed. The interest for the virus has risen in recent years especially since latency has been demonstrated and a new vaccine has been developed. In this review article we will successively deal with virus characteristics, epidemiology, pathogenesis, clinical signs, diagnosis as well as therapy and prevention.

BIBLIOGRAPHIE

- ALBERT D.M., LAHAV M., CARMICHAEL L.E., PERCY D.H. Canine herpesvirus induced retinal dysplasia and associated ocular anomalies. *Invest. Ophthalmol.*, 1976, **15**, 267-278.
- ANVIK J.O. Clinical considerations of canine herpesvirus infection. *Vet. Med.*, 1991, **4**, 394-403.
- APPEL M.J.G., MENEGUS M., PARSONSON I.M., CARMICHAEL L.E. Pathogenesis of canine herpesvirus in specific-pathogen-free dogs : 5- to 12-week-old pups. *Am. J. Vet. Res.*, 1969, **30**, 2067-2073.
- BIBRACK B., SCHAUDINN W. Untersuchungen über das vorkommen von herpesinfektionen bei hunden in der Bundesrepublik Deutschland mit hilfe eines neutralisations-schnelltests. *Zentralbl. Veterinarmedizin Reihe B*, 1976, **23**, 384-390.
- BINN L.N., EDDY G.A., LAZAR E.C., HELMS J., MURNANE T. Viruses recovered from laboratory dogs with respiratory disease. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1967, **126**, 140-145.
- BURR P.D., CAMPBELL M.E.M., NICOLSON L., ONIONS D.E. Detection of Canine Herpesvirus 1 in a wide range of tissues using the polymerase chain reaction. *Vet. Microbiol.*, 1996, **53**, 227-237.
- CARMICHAEL L.E., STRANDBERG J.D., BARNES F.D. Identification of a cytopathogenic agent infectious for puppies as a canine herpesvirus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1965, **120**, 644-650.
- CARMICHAEL L.E., BARNES F.D., PERCY D.H. Temperature as a factor in resistance of young puppies to canine herpesvirus. *J. Infect. Dis.*, 1969, **120**, 669-678.
- CARMICHAEL L.E. Herpesvirus canis : aspects of pathogenesis and immune response. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1970, **156**, 1714-1721.
- CARMICHAEL L.E., GREENE C.E. Canine Herpesvirus infection. In: Greene C.E. (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. 2nd ed. WB Saunders : London, 1998, 28-32.
- CARMICHAEL L.E. Neonatal pup diseases. Current status of canine herpesvirus (CHV) and minute virus of canines (MVC, canine parvovirus-type 1, CPV-1). In : Carmichael L.E. (Ed.), *Recent advances in canine infectious diseases*. International Veterinary Information Service : Ithaca [en ligne] (1999) Adresse URL : http://www.ivis.org/advances/Infect_Dis_Carmichael/carmichael/chapter_frm.asp?LA=1 Consulté le 08/11/02.
- CORNWELL H.J.C., WRIGHT N.G. Neonatal canine herpesvirus infection : a review of present knowledge. *Vet. Rec.*, 1969, **84**, 2-6.
- DELISLE F. L'herpèsvirose canine. *Rec. Méd. Vet.*, 1982, **158**, 669-676.
- DURHAM P.J.K., POOLE W.S.H. Experimental canine herpesvirus infection in newborn puppies, using a New Zealand isolate. *N. Z. Vet. J.*, 1979, **27**, 14-16.
- ENGELS M., MAYR-BIBRACK B., RUCKSTUHL B., METZLER A., WYLER R. Seroepizootiology of canine herpes virus in Switzerland and preliminary trials of a vaccine. *Zentralbl. Veterinarmedizin Reihe B*, 1980, **27**, 257-267.
- EVERMANN J.F., LEACASTER B.R., McELWAIN T.F., POTTER K.A., McKEIRNAN A.J. Green J.S. Natural

- infection of captive coyote pups with a herpesvirus antigenically related to canine herpesvirus. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1984, **185**, 1288-1290.
- EVERMANN J.F. Diagnosis of canine herpetic infections. In: Kirk R.W. (Ed.), *Current veterinary therapy : small animal practice*. 10th ed. W.B. Saunders : London, 1989, 515-520.
- EVERMANN J.F., McKEIRNAN A.J., OTT R.L., REED L.A. Diarrheal condition in dogs associated with viruses antigenically related to feline herpesvirus. *Cornell Vet.*, 1982, **72**, 285-291.
- FULTON R.W., OTT R.L., DUENWALD J.C., GORHAM J.R. Serum antibodies against canine respiratory viruses : prevalence among dogs of eastern Washington. *Am. J. Vet. Res.*, 1974, **35**, 853-855.
- GUIGAL P.M., FONTBONNE A., BUFF S., VINCETTI M., THÉVENET F., PAVLOWIEZ S., GUIOT A.L., GRANDJEAN D., POULET H. Prevalence of antibodies against Canine Herpes Virus in French breeding kennels. In: Verstegen J., Onclin K., Linde-Forsberg C. (eds), *Proceedings of the third EVSSAR European Congress on Reproduction in Companion, Exotic and Laboratory Animals*, Liège, May 2002. Presses de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège : Liège, 2002, 132.
- HAANES E.J., TOMLINSON C.C. Genomic organization of the canine herpesvirus US region. *Virus Res.*, 1998, **53**, 151-162.
- HARDER T.C., HARDER M., DE SWART R.I., OSTERHAUS A.D., LIESS B. Major immunogenic proteins of phocid herpes-viruses and their relationship to proteins of canine and feline herpesviruses. *Vet. Q.*, 1998, **20**, 50-55.
- HASHIMOTO A., HIRAI K., OKADA K., FUJIMOTO Y. Pathology of the placenta and newborn pups with suspected intrauterine infection of canine herpesvirus. *Am. J. Vet. Res.*, 1979, **40**, 1236-1240.
- HASHIMOTO A., HIRAI K., YAMAGUCHI T., FUJIMOTO Y. Experimental transplacental infection of pregnant dogs with canine herpesvirus. *Am. J. Vet. Res.*, 1982, **43**, 844-850.
- HASHIMOTO A., HIRAI K., FUKUSHI H., FUJIMOTO Y. The vaginal lesions of a bitch with a history of canine herpesvirus infection. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 1983a, **45**, 123-126.
- HASHIMOTO A., HIRAI K., SUZUKI Y., FUJIMOTO Y. Experimental transplacental transmission of canine herpesvirus in pregnant bitches during the second trimester of gestation. *Am. J. Vet. Res.*, 1983b, **44**, 610-614.
- HASHIMOTO A., HIRAI K. Canine herpesvirus infection. In : Morrow D.A. (ed), *Current therapy in theriogenology: diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in small and large animals*. 2nd ed. W.B. Saunders : London, 1986, 516-520.
- HILL H., MARÉ C.J. Genital disease in dogs caused by canine herpesvirus. *Am. J. Vet. Res.*, 1974, **35**, 669-673.
- HUXSOLL D.L., HEMELT I.E. Clinical observations of canine herpesvirus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1970, **156**, 1706-1713.
- INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses: seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press : San Diego, 2000, 1024 p.
- KAKUK T.J., CONNER G.H., LANGHAM R.F., MOORE J.A., MITCHELL J.R. Isolation of a canine herpesvirus from a dog with malignant lymphoma. *Am. J. Vet. Res.*, 1969, **30**, 1951-1960.
- KAKUK T.J., CONNER G.H. Experimental canine herpesvirus in the gnotobiotic dog. *Lab. Anim. Care*, 1970, **20**, 69-79.
- KARPAS A., GARCIA F.G., CALVO F., CROSS R.E. Experimental production of canine tracheobronchitis (kennel cough) with canine herpesvirus isolated from naturally infected dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 1968, **29**, 1251-1257.
- KIMBER K.R., KOLLIAS G.V., DUBOVI E.J. Serologic survey of selected viral agents in recently captured American river otters (*Lontra canadensis*). *J. Zoo Wildl. Med.*, 2000, **31**, 168-175.
- KING D.H. Advances in antiviral chemotherapy. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1984, **10**, 1115-1117.
- KRAFT S., EVERMANN J.F., McKEIRNAN A.J., RIGGS M. The role of neonatal canine herpesvirus infection in mixed infections in older dogs. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.*, 1986, **8**, 688-696.
- LAGHERETZ A., COGNARD S. Epidémiologie et diagnostic sérologique de l'herpèsvirose canine. *Rev. Méd. Vét.*, 1998, **149**, 853-856.
- LEBICH M., HARDER T.C., FREY H.R., VISSER I.K., OSTERHAUS A.D., LIESS B. Comparative immunological characterization of type-specific and conserved B-cell epitopes of pinniped, felid and canid herpesviruses. *Arch. Virol.*, 1994, **136**, 335-347.
- LIMBACH K.J., LIMBACH M.P., CONTE D., PAOLETTI E. Nucleotide sequence of the genes encoding the canine herpesvirus gB, gC, gD homologues. *J. Gen. Virol.*, 1994, **75**, 2029-2039.
- LUNDGREN D.L., CLAPPER W.E. Neutralization of canine herpesvirus by dog and human serums : a survey. *Am. J. Vet. Res.*, 1969, **30**, 479-482.
- LUST G., CARMICHAEL L.E. Properties of canine herpesvirus DNA. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1974, **146**, 213-217.
- MANNING A., BUCHAN A., SKINNER G.R.B., DURHAM J., THOMPSON H. The immunological relationship between canine herpesvirus and four other herpesviruses. *J. Gen. Virol.*, 1988, **69**, 1601-1608.
- MOTOHASHI T., TAJIMA M. Isolation of a canine herpes virus from a diseased adult dog in Japan. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 1966, **28**, 307-314.
- MIYOSHI M., ISHII Y., TAKIGUCHI M., TAKADA A., YASUDA J., HASHIMOTO A., OKAZAKI K., KIDA H. Detection of canine herpesvirus DNA in the ganglionic neurons and the lymph node lymphocytes of latently infected dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, 1999, **61**, 375-379.

- NEMOTO K., HORIMOTO T., XUAN X., KUSANAGI K., TAKUMI A., TOHYA Y., AZETAKA M., TAKAHASHI E., MIKAMI T. Demonstration of canine herpesvirus-specific haemagglutination. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 1990, **52**, 395-398.
- NISHIKAWA Y., XUAN X., OTSUKA H. Identification and characterization of the glycoprotein E and I genes of canine herpesvirus. *Virus Res.*, 1998, **56**, 77-92.
- NISHIKAWA Y., XUAN X., KIMURA M., OTSUKA H. Characterization of pseudorabies virus glycoprotein B expressed by canine herpesvirus. *J. Vet. Med. Sci.*, 1999, **61**, 1113-1117.
- NISHIKAWA Y., IKEDA H., FUKUMOTO S., XUAN X., NASAGAWA H., OTSUKA H., MIKAMI T. Immunization of dogs with a canine herpesvirus vector expressing Neospora caninum surface protein, NcSRS2. *Int. J. Parasitol.*, 2000, **30**, 1167-1171.
- OKUDA Y., HASHIMOTO A., YAMAGUCHI T., FUKUSHI H., MORI S., TANI M., HIRAI K., CARMICHAEL L. E. Repeated Canine Herpesvirus (CHV) reactivation in dogs by an immunosuppressive drug. *Cornell Vet.*, 1993, **83**, 291-302.
- OSTERHAUS A., BERGHUIS-DE VRIES J., STEUR K. Antiviral antibodies in dogs in the Netherlands. *Zentralbl. Veterinärmedizin Reihe B*, 1977, **24**, 123-133.
- PERCY D.H., MUNNEL J.F., OLANDER H.J., CARMICHAEL L.E. Pathogenesis of canine herpesvirus encephalitis. *Am. J. Vet. Res.*, 1970, **31**, 145-156.
- PERCY D.H., CARMICHAEL L.E., ALBERT D.M., KING J.M., JONAS A.M. Lesions in puppies surviving infection with canine herpesvirus. *Vet. Pathol.*, 1971, **8**, 37-53.
- PETERSON R.B., GOYAL S.M. Propagation and quantitation of animal herpesviruses in eight cell culture systems. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1988, **11**, 93-98.
- PLUMMER G., GOODHEART C., HENSON D., BOWLING C. A comparative study of the DNA density and behavior in tissue cultures of fourteen different herpesviruses. *Virology*, 1969, **39**, 134-137.
- POSTE G., KING N. Isolation of a herpesvirus from the canine genital tract: association with infertility, abortion and stillbirths. *Vet. Rec.*, 1971, **88**, 229-233.
- POULET H., DUBOURGET P. L'herpès-virose canine. *Point Vét.*, 1993, **25**, 69-75.
- POULET H., GUIGAL P.M., SOULIER M., LEROY V., FAYET G., MINKE J., CHAPPUIS G. Protection of puppies against canine herpesvirus by vaccination of the dams. *Vet. Rec.*, 2001, **148**, 691-695.
- READING M.J., FIELD H.J. A serological study of canine herpes virus-1 infection in the English dog population. *Arch. Virol.*, 1998, **143**, 1477-1488.
- READING M.J., FIELD H.J. Detection of high levels of canine herpes virus-1 neutralising antibody in kennel dogs using a novel serum neutralization test. *Res. Vet. Sci.*, 1999, **66**, 273-275.
- REMOND M., SHELDRIK P., LEBRETON F., FOULON T. Sequence of the canine herpesvirus thymidine kinase gene : taxon-preferred amino acid residues in the alpha-herpesviral thymidine kinase. *Virus Res.*, 1995, **30**, 341-354.
- REMOND M., SHELDRIK P., LEBRETON F., NARDEUX P., FOULON T. Gene organization in the UL region and inverted repeats of the canine herpesvirus genome. *J. Gen. Virol.*, 1996, **77**, 37-48.
- RIJSEWIJK F.A.M., LUITEN E.J., DAUS F.J., VAN DER HEIJDEN R.W., VAN OIRSCHOT J.T. Prevalence of antibodies against canine herpesvirus 1 in dogs in the Netherlands in 1997-1998. *Vet. Microbiol.*, 1999, **65**, 1-7.
- RONSE V., VERSTEGEN J., ONCLIN K., GUIOT A.L., AEBERLE C., NAUWYNCK H.J., POULET H. Seroprevalence of Canine Herpesvirus-1 in the Belgian dog population in 2000. *Reprod. Domest. Anim.*, 2002, **37**, 299-304.
- ROTA P.A., MAES R.K., EVERMANN J.F. Biochemical and antigenical characterization of feline herpesvirus-1-like isolates from dogs. *Arch. Virol.*, 1986, **89**, 57-68.
- ROTA P.A., MAES R.K. Homology between feline herpesvirus-1 and canine herpesvirus : brief report. *Arch. Virol.*, 1990, **115**, 139-145.
- SCHULZE C., BAUMGÄRTNER W. Nested polymerase chain reaction and *in situ* hybridization for diagnosis of canine herpesvirus infection in puppies. *Vet. Pathol.*, 1998, **35**, 209-217.
- SCHWERS A., PASTORET P.P., AGUILAR-SETIEN A. Fréquence de l'infection par le virus herpétique canin (canine herpesvirus 1) en Belgique. *Ann. Méd. Vét.*, 1980, **124**, 353-359.
- SHEAHAN B.J., TIMONEY P.J., MC HENRY D.F. Canine herpesvirus infections in a litter of greyhound pups. *Ir. Vet. J.*, 1978, **32**, 153-156.
- SEO I.B., SEONG W.W., LIM C.H. Survey on the seroepidemiology of canine herpesvirus infection in Korea. *Korean J. Vet. Res.*, 1994, **34**, 647-652.
- SPERTZEL R.O., HUXSOLL D.L., MCCONNELL S.J., BINN L.N., YAGER R.H. Recovery and characterization of a herpes-like virus from dog kidney cell cultures. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1965, **120**, 651-655.
- STEWART S.E., DAVID-FERREIRA J., LOVELACE E., LANDON J. Herpes-like virus isolated from neonatal and fetal dogs. *Science*, 1965, **148**, 1341-1343.
- TAKUMI A., KUSANAGI K., TUCHIYA K., XUAN X., AZETAKA M., TAKAHASHI E. Serodiagnosis of canine herpesvirus infection-development of an enzyme-linked immunosorbent assay and its comparison with two improved methods of serum neutralization test. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 1990, **52**, 241-250.
- THOMPSON H., WRIGHT N.G., CORNWELL H.J.C. Canine herpesvirus respiratory infection. *Res. Vet. Sci.*, 1972, **13**, 123-126.
- TYACK S.G., STUDDERT M.J., JOHNSON M.A. Nucleotide sequence of canine herpesvirus homologues of herpes simplex virus type 1 US2, US3, glycoproteins I and E, US8.5 and US9 genes. *DNA Seq.*, 1997, **7**, 365-368.

- VAN GUCHT S., NAUWYNCK H., PENSAERT M.
Canine herpesvirus infecties. *Vlaam. Diergeneeskd. Tijdschr.*, 2001a, **70**, 197-203.
- VAN GUCHT S., NAUWYNCK H., PENSAERT M.
Prevalence of canine herpesvirus in kennels and the possible association with fertility problems and neonatal death. *Vlaam. Diergeneeskd. Tijdschr.*, 2001b, **70**, 204-211.
- WRIGHT N.G., CORNWELL H.J.C. Further studies on experimental canine herpesvirus infection in young puppies. *Res. Vet. Sci.*, 1970, **11**, 221-226.
- XUAN X., HORIMOTO T., LIMCUMPAO J.A., TOHYA Y., TAKAHASHI E., MIKAMI T. Glycoprotein-specific immune response in canine herpesvirus infection : Brief report. *Arch. Virol.*, 1992, **122**, 359-365.
- XUAN X., TUCHIYA K., NISHIKAWA Y., ONODERAZ Y., TAKASHIMA Y., YAMAMOTO A., KATSUMATA A., IWATA A., UEDA S., MIKAMI T., OTSUKA H. Biological and immunogenic properties of rabies virus glycoprotein expressed by canine herpesvirus vector. *Vaccine*, 1998, **16**, 969-976.
- YAMAMURA T., MINATO Y., KOJIMAA., OKANIWAA.
Electron microscopy of renal arterial lesions in a pup infected with canine herpesvirus. *J. Vet. Med. Sci.*, 1992, **54**, 779-780.