

Herpès virus en pathologie équine : connaissances actuelles et perspectives

Herpes viruses in equine pathology: current knowledges and perspectives

Par Guillaume FORTIER⁽¹⁾, Pierre-Hugues PITEL,
Karine MAILLARD et Stéphane PRONOST
(mémoire présenté le 5 juin 2003)

RÉSUMÉ

Plusieurs Herpèsvirus sont capables de provoquer chez le cheval des maladies plus ou moins graves avec une grande part d'entre elles sévissant de façon sub-clinique. Deux virus distincts (EHV1 et EHV4), sont à eux seuls responsables d'une majorité de troubles observables chez les équidés et ayant de graves répercussions économiques. Le virus de l'exanthème coïtal est courant et sévit par petits foyers qui s'autorégulent la plupart du temps avec des méthodes de lutte simples. Le virus EHV2, à tropisme principalement respiratoire, n'est pas encore reconnu comme un agent pathogène majeur dans la mesure où il induit rarement seul, des manifestations graves chez le cheval. Ses rôles, en tant que co-facteur d'infections de l'appareil respiratoire, reste en cours d'étude mais sa place dans le déclenchement de phénomènes inflammatoires pulmonaires est parfois évoquée et suggérée par certains travaux récents. La situation de la santé équine vis à vis des deux premiers virus cités est très différente puisque nous pourrions les retrouver sur l'ensemble de la planète et toute l'année, impliqués dans les avortements, les maladies respiratoires aiguës ou sub-cliniques (synonyme chez l'adulte de contre-performance), de maladies néonatales ou de formes nerveuses et parfois mortelles dans les foyers sévères de rhinopneumonie. Ces 15 dernières années, l'approche sémiologique et épidémiologique des ces maladies herpétiques ont beaucoup évolué et la mise au point de méthodes de diagnostic telles que l'amplification génique (PCR), les coupes sur organes ou l'amélioration des méthodes sérologiques aura permis aux praticiens de mieux appréhender les foyers en élevage ou à l'entraînement, qui sont de véritables fléaux pour les éleveurs ou entraîneurs. De nombreux progrès restent à accomplir dans le domaine génétique notamment, afin de mieux comprendre les variations de souches sur le terrain et l'apparition de formes nerveuses de ces maladies ainsi que les mécanismes de réactivation virale et les conséquences qu'ils entraînent sur les avortements ou les maladies inflammatoires de l'appareil respiratoire. Enfin, il reste d'énormes avancées à attendre des progrès de la prophylaxie médicale, qui devra proposer des vaccins protecteurs vis à vis de ces trois ou quatre types de virus circulant et de leurs différentes formes d'expression chez l'animal.

Mots-clés : cheval, herpèsvirus, EHV.

Note

(1) Laboratoire Départemental Frank Duncombe, Département Santé Animale- 14053 CAEN cedex 4.
Tel : 02 31 47 19 19 / e.mail : g.fortier@cg14.fr

SUMMARY

In horses, several herpesviruses are responsible for more or less serious conditions, a large number being subclinical. Two distinct viruses (EHV1 and EHV4) account for the majority of observable disorders in this species, and are associated with serious economic repercussions. The virus of coital exanthema is common and occurs in small foci generally self-regulating with simple control methods. EHV2, with a predominantly respiratory tropism, is not yet recognised as a major pathogen as it is rarely responsible on its own for serious signs in horses. Its role as a co-factor in respiratory infections is currently being investigated, and its involvement in triggering inflammatory reactions in the lungs has been suggested in recent studies. The impact of EHV 1 and EHV 4 in equine health is very different, as these viruses are present worldwide and all year round. They are involved in abortions, respiratory conditions, whether acute or subclinical (when they are associated with poor performance), neonatal diseases, and nervous disorders. In severe equine viral rhinopneumonitis, they can be fatal. Over the past 15 years, the semiology and epidemiology approach to these herpes diseases has changed considerably. The development of diagnostic methods, such as genic amplification (PCR), cryo-cutting or improved serological tests, has helped practitioners dealing with these infections, which are a real calamity for horse breeders and trainers alike. Progress has yet to be achieved, particularly in the genetic field, to get a clearer understanding of the variations in field strains, the development of nervous forms, as well as the mechanisms of viral reactivation and their consequences on abortion or respiratory infections. Finally, medical prophylaxis is expected to bring enormous improvement, with the development of vaccines against these three or four types of virus, protecting horses against their different forms of expression.

Key words: horse, equine herpesvirus, EHV.

INTRODUCTION

A ce jour, cinq types d'herpès virus sont classiquement décrits chez le cheval (figure 1). Trois sont potentiellement responsables d'affections respiratoires : les herpesvirus équins de type 1, 2 et 4 (EHV-1, EHV-2 et EHV-4).

Les types 1 et 4 ne furent séparés que récemment à la faveur d'études moléculaires de leur génome (ALLEN et TURTINEN, 1982; CHOWDHURY, 1987; FITZPATRICK et STUDDERT, 1984; JONES, 1984). Le rôle de l'herpès virus de type 2, longtemps controversé dans les affections respiratoires, reste néanmoins à préciser. Les deux autres virus sont ceux de l'exanthème coïtal (EHV3), maladie vénérienne, et un herpesvirus 5 (EHV5) dont le pouvoir pathogène réel demeure encore inconnu (AGIUS, 1994; NORDENGRAHN et al, 2002). D'autres grandes fonctions peuvent aussi être concernées par ces virus, puisque l'EHV1 peut s'exprimer sous sa forme abortive ou nerveuse. Il faut noter par ailleurs que dans l'espèce asine, trois autres herpesviridae (EHV6, EHV7 et EHV8) ont été isolés sporadiquement sans que leur caractère pathogène ait été clairement démontré (ZIENTARA, 1993). Les connaissances actuelles sur ces virus ont été considérablement améliorées par la génétique moléculaire, les réseaux d'épidémiologie et la sensibilisation importante de la profession à ces agents pathogènes sévissant souvent de façon sub-clinique en élevage ou à l'entraînement, et pouvant causer de très lourdes pertes pour les éleveurs. Nous tenterons de rappeler ici l'importance relative de chacun de ces virus ainsi que les principales données relatives à leur dépistage, aux

moyens de lutte et de prévention. Nous compléterons ces informations par quelques données collectées dans notre laboratoire depuis plus de 10 ans, dans le cadre de nos activités de diagnostic et de recherche (FORTIER et al, 2002; FORTIER et al, 2003; PRONOST et al, 2002).

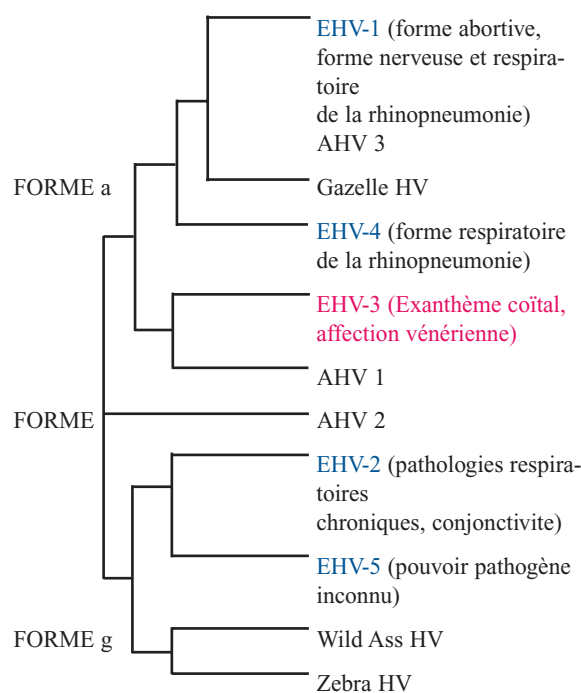


Figure 1 : LES HERPESVIRUS CHEZ LES EQUIDES

LE VIRUS DE L'ÉXANTHÈME COÏTAL (EHV3)

L'exanthème coïtal équin (ECE) est une maladie à transmission essentiellement vénérienne provoquée par l'herpès virus équin de type 3. Ce virus fait partie de la famille des herpes virus a mais est bien distinct des autres herpes virus a (EHV-1 et EHV-4) et également des herpes virus g (EHV-2 et EHV-5) (figure 1). L'ECE est une maladie virale bénigne mais très contagieuse décrite sur tous les continents (DYNON et al, 2001; JACOB et al, 1988; UPPAL et al, 1990).

Signes cliniques

Ils se développent chez les poulinières 4 à 7 jours après la saillie et se manifestent chez les femelles par l'apparition de multiples petites papules de quelques millimètres de diamètre sur la muqueuse vulvaire et sur la peau périnéale. Les lésions progressent jusqu'à devenir des vésicules et des pustules qui s'ulcèrent. Les régions affectées sont douloureuses et, à moins de complications bactériennes sérieuses, les lésions cicatrisent d'elles-mêmes en 2 ou 3 semaines en laissant des plaques dépigmentées. Les ulcères du clitoris sont plus longs à guérir. En cas de surinfection les pustules peuvent devenir coalescentes, l'œdème pouvant s'étendre jusqu'entre les cuisses de la jument atteinte.

Des vésicules évoluant en pustules et ulcères peuvent se développer sur le pénis et le prépuce d'étalons infectés qui, au stade aigu de la maladie, peuvent devenir réticents à saillir. Des œdèmes du prépuce, du scrotum et de la région périnéale s'étendant jusqu'au ventre sont moins souvent trouvés.

Les lésions extra génitales sont rares mais les lèvres et la muqueuse nasale peuvent être affectées. Les signes systémiques consistent uniquement en une asthénie transitoire associée à une hyperthermie variable. La maladie n'est transmissible que pendant le stade aigu (10 à 14 jours). Une fois les ulcères cicatrisés, l'animal n'est plus contagieux.

Immunité

Elle est acquise après l'infection mais il n'est pas rare de constater de nouvelles infections sans apparition de signes cliniques majeurs. Il est probable que le virus reste au niveau de l'appareil génital à l'état latent (BURROWS et GOODRIDGE, 1984). Chez la jument, des lésions peuvent également apparaître à nouveau en fin de gestation ou après le poulinage. L'immunodépression physiologique conférée ou admise pour ces stades pourrait en partie expliquer ces phénomènes.

Diagnostic

Il est généralement réalisé sur la base des commémoratifs et des signes cliniques aussi bien chez l'étalon que chez la jument. La mise en évidence du virus, à partir d'un écouvillon de pus ou du grattage des muqueuses, par des tech-

niques de culture cellulaire ou plus récemment d'amplification génique (PCR), permet de poser un diagnostic de certitude. Cette dernière technique est utilisée en routine au laboratoire depuis plus de trois ans et nous a permis de mettre en évidence trois à cinq foyers chaque année. Les signes cliniques d'appel sont caractéristiques et les analyses sont des éléments de confirmation. Cependant, certaines rhinopneumonies peuvent avoir une forme génitale avec des ulcérations des voies superficielles (données personnelles). Il convient de pouvoir apporter un diagnostic différentiel fiable, car les mesures à prendre et les risques ne sont pas les mêmes.

Traitement

Il nécessite un repos sexuel de 3 semaines pour favoriser la cicatrisation des ulcères et

éviter la transmission de la maladie. L'utilisation de pommade antibiotique est utile pour contrôler les infections bactériennes secondaires et éviter d'éventuelles adhérences post inflammatoires. Il n'a pas été signalé de stade porteur excréteur sain, malgré des phénomènes de latence classique pour ces herpèsvirus.

Il semblerait que les infections à EHV-3 et la présence à répétition de lésions vulvaires chez certaines juments n'affectent pas le taux de fécondité, et n'entraîne pas d'avortements.

Contrôle de la maladie

Le repos sexuel et l'utilisation de matériel à usage unique sont déterminants. Une attention toute particulière doit être apportée par rapport aux risques de contaminations iatrogènes. En effet, lors de la collecte d'un éjaculat, il est recommandé d'éviter tout contact entre le pénis de l'animal atteint et le vagin artificiel (protection en plastique en doigt de gant à l'intérieur de la chambre artificielle).

Dans le transport des semences, EHV-3 doit être recherché au même titre que d'autres virus comme celui de l'artérite virale par exemple (METCALF et al, 2001). Pour ce genre d'investigation, le test PCR est un test bien adapté. Il permet d'obtenir rapidement un résultat avec une très bonne sensibilité et spécificité (JACOB et al, 1988).

L'HERPÈS VIRUS ÉQUIN DE TYPE 2 (EHV-2)

Bien que le rôle de EHV-2 en tant qu'agent pathogène équin reste aujourd'hui incertain, ce virus a été incriminé dans la pathologie respiratoire des voies supérieures, l'hyperthermie, la baisse de prise de nourriture, la lymphadénopathie, l'immunodépression, la baisse de forme et de performance (DUNOWSKA et al, 2002; KRUEWAGEN et al, 2001; RUSZCZYK et al, 2002). Il a aussi été isolé chez des foals présentant une kératoconjunctivite, ce qui en fait un agent causal potentiel de cette pathologie (COLLINSON, 1994).

L'herpèsvirus de type 2 a également été isolé à partir de tissus de chevaux apparemment en bonne santé et la plupart des chevaux adultes sont séropositifs. Récemment des travaux ont suggéré qu'EHV-2 pourrait jouer un rôle en tant que trans-activateur et probablement réactivateur d'autres herpes virus tels que EHV-1 et EHV-4 (WELCH et al, 1992). Les sites de latence de l'EHV-2 ne sont pas connus avec certitude mais comme d'autres herpesvirus g, il a été isolé à partir de leucocytes circulants. Si plusieurs travaux (AGIUS, 1994; WELCH et al, 1992) montrent que les lymphocytes B sont des sites de latence, certains ganglions comme le ganglion ciliaire ne sont pas exclus, en particuliers dans les cas de kératoconjonctivite (DRUMMER, 1996).

Bien qu'EHV-2 soit le plus souvent associé à une population cellulaire, il a pu être isolé à partir de sécrétions nasales et oculaires où il est très certainement sous forme libre (DYNON et al, 2001).

De grandes variations ont pu être montrées parmi les souches d'EHV-2 isolées, que ce soit au niveau antigénique, (ou) génomique ou de la réponse sérologique (BORCHERS, 1997). Cette diversité pourrait expliquer les variations dans l'expression de la pathologie.

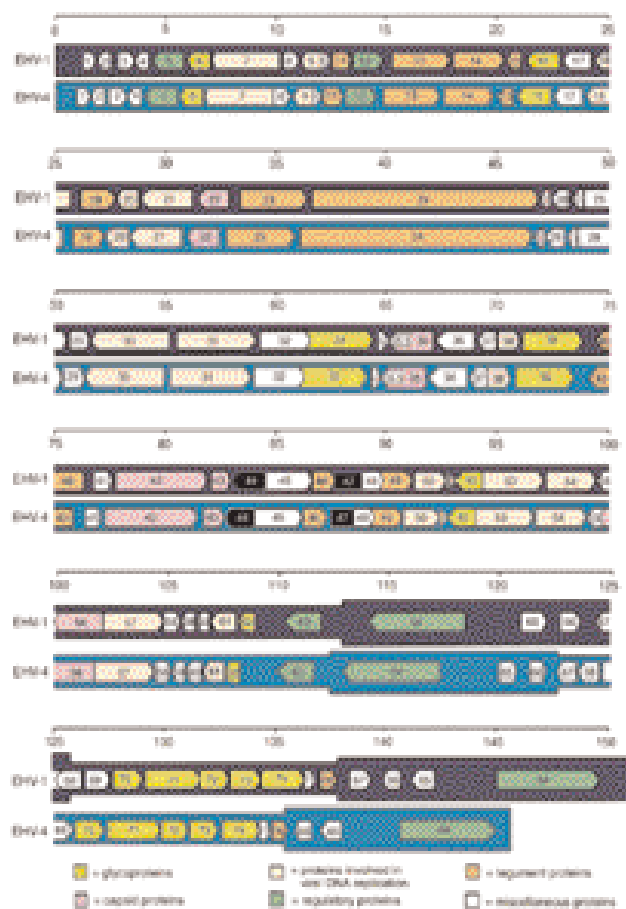


Figure 2 : Différentiation génomique de deux herpes virus (1 et 4)- d'après Allen GP.

Un travail effectué dans notre laboratoire avait consisté à mettre en place un outil de détection d'EHV-2 afin de rechercher rétrospectivement ce virus dans des prélèvements respiratoires qui nous ont été adressés en 1998 (tableau 1) (PRONOST et al, 1998).

EHV-2 a été détecté dans 8% des cas. La plupart des données de la littérature rapportent un taux de l'ordre de 30% mais résultent de recherches par amplification génique (PCR) réalisées sur des leucocytes. De plus, la plupart des études concernaient essentiellement des échantillons prélevés dans des haras rapportant des taux de prévalences par haras et non à l'échelle individuelle (BORCHERS, 1997). Même s'il n'existe que quelques données concernant la prévalence dans les prélèvements respiratoires, il est admis que le taux est inférieur à celui observé dans les leucocytes (REUBEL, 1995).

Sur les 9 cas répertoriés dans notre étude, un seul était associé à la présence d'un autre herpesvirus (EHV-1).

Enfin, la détection de l'herpès virus de type 2 (PRONOST et al, 1998) lors d'une épidémie à caractère respiratoire, sans qu'aucune autre cause bactérienne ou virale n'ait été identifiée, pose clairement le problème du pouvoir pathogène de ce virus. Aujourd'hui, les travaux concernant ce virus sont assez peu répandus mais une valence vaccinale est à l'étude dans certains vaccins Nord-Américains et en Europe.

LES VIRUS DE LA RHINOPNEUMONIE ÉQUINE (EHV1 ET EHV4)

Généralités

Il est effectivement très difficile de séparer ces deux virus tant leur caractères génétiques, épidémiologiques et cliniques sont proches(plus de 90% d'homologie génomique). Ces deux virus représentent aussi les principales causes de maladies virales de l'appareil respiratoire supérieur chez le cheval. A l'âge de deux ans, 90 % des chevaux présentent des anticorps vis à vis de ces virus (ALLEN, 2003; CULLINANE, 1997), même si leurs manifestations dans les haras semblent être majoritairement sub-cliniques. Ces virus circulent dans le monde entier avec des réservoirs permanents générés par les cas de primo-infection chez les jeunes chevaux (sécrétions respiratoires), la réactivation et ré-excrétion virale chez les adultes (avortons, sécrétions respiratoire) assurant donc un « entretien » horizontal et vertical de la plupart des situations endémiques dans les élevages.

La latence virale : une caractéristique majeure des herpesvirus

Les herpesvirus équins 1 et 4 se caractérisent par la présence d'un double brin d'ADN de 150 kb protégé par une capsule icosahédrique et une enveloppe lipidique. Cette dernière comprend une douzaine de glycoprotéines montrant les principales diversités antigéniques entre ces deux virus

qui restent néanmoins assez limitées (ALLEN, 2003). Des études ont montré l'intérêt du suivi moléculaire de ces souches afin de mieux comprendre les mécanismes épidémiologiques de ces maladies. Le « tropisme » neurologique de certaines souches d'EHV1 pourrait s'expliquer de cette façon (BATRA et al, 1982; BENETKA et al, 2002; HASEBE et al, 2002c; IQBAL et al, 2002). Leur génome procure surtout à ces virus la capacité de demeurer intégrés à des fragments de génome cellulaire (lymphocytes ganglionnaires par exemple) sans activité de transcription complète et donc sans réelle réplication et excrétion virale. Cette activité de transcription ne reprend qu'à la faveur de certains mécanismes de « stress », qu'il soit médicamenteux (corticoïdes), physiologiques (gestation) ou environnementaux (transport, entraînement...).

Les sites de latence virale ont été beaucoup étudiés et on sait aujourd'hui que les lymphocytes T ganglionnaires (trigéminal, rétropharyngé, tissus lymphoïdes associés aux bronches...) représentent une majorité des ces sites (FIELD et al, 1992; TAOUJI et al, 2002; WELCH et al, 1992). Ces phénomènes de latence représentent la plus importante des difficultés de contrôle de ces maladies car tout animal infecté une première fois à son plus jeune âge, est porteur latent et potentiellement ré-excréteur toute sa vie. Ces mécanismes sont bien connus chez l'homme (herpès simplex, virus de la varicelle-zona) et chez d'autres espèces animales (virus IBR chez les bovins).

Expressions cliniques et pathogénie

Les formes respiratoires

C'est la forme d'expression la plus classique qui sera plus sévère chez les sujets primo-infectés (comparée aux formes sub-cliniques chez les sujets plus âgés) (STOKES et al, 1991). Elle est attribuable à la destruction de l'épithélium respiratoire cilié des premières voies aériennes. Les infections virales liées à EHV4 semblent être fréquentes chez les foals de trois mois à 1 an avec des manifestations cliniques irrégulières dans leur gravité (ALLEN, 2003). Chez les chevaux plus âgés ou en entraînement, les épisodes cliniques touchant un ou plusieurs animaux semblent souvent associés aux souches d'EHV1. Quelle que soit la souche virale en cause, l'écoulement nasal séreux, l'hyperthermie et l'abattement qui en résultent coïncident avec l'« excrétion » virale et la contamination possible d'autres chevaux par le biais des aérosols produits par les éternuements, toux et sécrétions qui peuvent se propager facilement, d'un box à l'autre notamment. Cette excrétion virale et ces signes cliniques peuvent durer plus de 10 jours (phase contagieuse), avec des complications respiratoires éventuellement inflammatoires et/ou bactériennes (VIEL, 1997). Le drainage local par la voie lymphatique explique en partie la guérison de ces chevaux mais aussi les mécanismes de latence qui en résulte et les épisodes virémiques liés à l'association des particules virales aux lymphocytes T circulants (particulièrement pour l'EHV1) expliquent parfois les

Echantillons positifs après PCR			
	EHV-1	EHV-2	EHV-4
Sur 116 prélèvements	22	9	9
(%)	(19%)	(8%)	(8%)

Tableau 1 : Recherche d'herpesvirus équins par amplification génique sur des prélèvements de liquides respiratoires adressés au laboratoire (d'après Pronost 98).

	% de PCR positives sur les liquides respiratoires (1998-2000)	% de PCR positives sur les liquides respiratoires (2001-2002)	% de profils cytologiques compatibles avec une pathologie virale* et PCR +	% de profils ne correspondant pas une virale** et PCR +
Virus EHV 1	48	22	89	14
Virus EHV 4	31	67	78	12
Virus EHV 2	21	11	93	13

* population cellulaire constituée principalement de cellules épithéliales et présentant des lésions des cellules ciliées (cyliocytopathie, cariolyse, carriorexie, perte de ciliature...).

** population cellulaire constitué principalement de cellules de type inflammatoire (lymphocyte, polynucléaire neutrophile).

Tableau 3 : Corrélation des profils cytologiques avec les recherches d'herpèsvirus par amplification génique sur 480 liquides respiratoires de 1998 à 2000 et 780 liquides de 2000 à 2002, confiés au laboratoire. (d'après Fortier et al. dans *Proceeding des journées AVEF 2002-Le Touquet*).

autres symptômes associés (vasculite) ou l'extension de la maladie à d'autres compartiments biologiques (voies génitales, système nerveux). D'autres manifestations respiratoires plus frustrées chez les chevaux plus âgés ou à l'entraînement (maladie inflammatoire des voies respiratoires profondes, baisse de forme, toux ou saignements respiratoires) sont parfois évoquées comme ayant une étiologie virale herpétique possible (CULLINANE, 1997; VIEL, 1997). Les herpèsvirus sont même parfois associés à des mécanismes de déclenchement de maladies respiratoires chroniques et inflammatoires. Il est vrai que certains « profils » cytologiques de liquides respiratoires d'exploration (liquide broncho-alvéolaire ou trans-trachéaux) présentent des populations cellulaires de type ciliées avec des lésions nucléaires et cytoplasmiques (cyliocytophtorie notamment) rencontrées principalement dans les effets cytopathiques induits par les virus et notamment les herpèsvirus (tableau 3). Ces corrélations restent néanmoins à démontrer (FORTIER et al, 2002). La recherche systématique de ces virus dans le cadre d'activité de diagnostic sur les liquides respiratoires au laboratoire, demeure un outil précieux pour le praticien afin d'affiner ses hypothèses cliniques, même si il faut rester prudent quant à l'interprétation des recherches par amplification génique (tableau 1).

ses infectieuses d'avortement . Chaque année, de rares cas d'avortement à EHV4 sont mis en évidence. Ces avortements (type 1 majoritairement) se produisent en général dans le dernier tiers de la gestation et l'invasion virale du placenta ; ils sont consécutifs à la virémie induite par ces souches d'EHV1, qui provoque une ischémie foetale par désunion placentario-endométriale (EDINGTON et al, 1986; ZIENTARA, 1993). La jument ne présente en général aucun signe clinique particuliers et l'avortement peut se produire plusieurs semaine après la ré-excrétion virale de la mère.

Analyse de 303 foetus et annexes
LUDWIG H - Anna Dvorak
1991-2001

- 9.5 % de positifs en EHV1
- Mise en évidence par surplification génique et/ou culture pour la plupart en fonction des conditions d'acheminement)
- première cause virale d'avortement
- parmi les premières causes infectieuses

Figure 4 : Avortements chez les équidés et place du virus de la Rhinopneumonie.

Ces avortements sont rarement épizootiques dans les élevages, ils ne compromettent pas la carrière reproductive de la jument, mais chaque avorton est une source importante de contamination à l'entourage comme les foals ou les autres juments. Les maladies néonatales associées aux herpèsvirus sont toujours graves et d'un pronostic qui doit être d'emblée réservé (TEWARI et al, 1989).

Les atteintes neurologiques

Elles sont plutôt le fait de chevaux adultes en primoinfection ou réactivation virale, les foals semblant développer moins souvent cette forme clinique (CULLINANE, 1997). Les signes cliniques apparaissent souvent 7 à 12 jours après l'exposition au virus sans prodromes particuliers (PUYALTO MOUSSU et al, 2002). L'atteinte du tissu nerveux serait surtout liée à des réplifications virales dans les endothelia vasculaires de ce dernier (LUDWIG et al, 1987; NOSETTO et al, 1985; WHITWELL et BLUNDEN, 1992). Elle peut se faire par voie hématogène (faisant suite à la virémie transitoire) ou par voie rétrograde à partir des sites de latence. Quelques travaux récents semblent montrer que certaines souches virales présenteraient un tropisme nerveux(HASEBE et al, 2002b; HASEBE et al, 2002a; STIERSTORFER et al, 2002). Ces évolutions particulières de la maladie provoquent des vasculites, des foyers de nécrose et une dégénérescence axonale qui produisent chez le cheval, ataxie ou parésie le plus souvent des membres postérieurs, qui évoluent favorablement si l'animal est rapidement médicalisé. L'amélioration lente de l'examen neurologique est souvent d'un mauvais pronostic. Nous avons chaque, année dans le cadre de notre activité de diagnostic

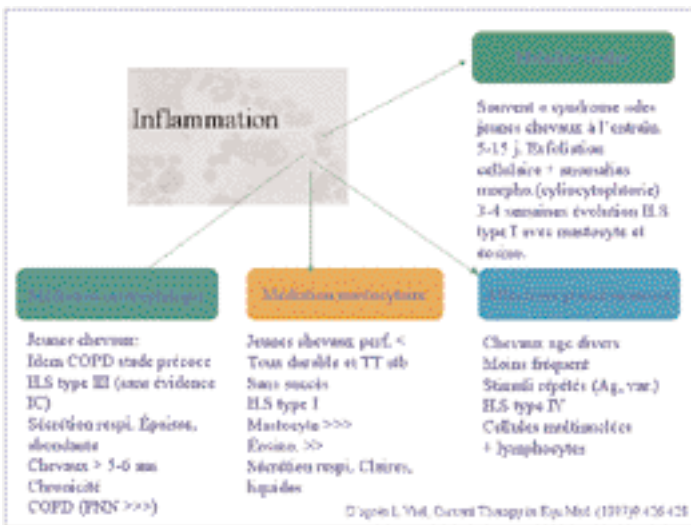


Figure 3 : Place des maladies virales dans l'inflammation de l'appareil respiratoire chez le cheval.

Les avortements

La biologie moléculaire et notamment le suivi génétique systématique des souches circulantes ont considérablement amélioré les connaissances permettant d'associer certains profils moléculaires avec des potentiels particuliers pour développer chez l'animal atteint une maladie sévère et des complications à d'autres organes que l'appareil respiratoire. Ceci est notamment l'apanage des souches circulantes d'EHV1 (PATEL et al, 1982), même si un nombre limité d'avortements sont aussi décrits pour des souches d'EHV4 (RICKETTS et al, 2001). Au laboratoire, depuis 10 années de surveillance systématique, EHV1 arrive en tête des cau-

de routine, l'occasion de mettre en évidence plusieurs foyers de rhinopneumonie de forme nerveuse et ce dans divers zones d'élevage (9 foyers en 2002, dans 5 départements français différents).

Diagnostic

Cette étape est cruciale en élevage pour le vétérinaire, car en l'absence de traitements antiviraux spécifiques disponibles ou éprouvés, même si certains essais expérimentaux ont donné quelques résultats probants (GERWECK et al, 1992; ROLLINSON, 1987), aucune symptomatologie n'est réellement caractéristique des herpèsvirus. Il faut donc apporter un diagnostic en ayant recours à la confirmation du laboratoire pour prendre les mesures nécessaires afin d'éviter ou de limiter les complications chez le ou les sujets atteints et pour limiter l'extension du foyer au sein du même de l'élevage. Le recours au laboratoire est donc une étape complémentaire et indispensable de l'examen clinique. Le **tableau 2** reprend les principaux outils disponibles en France en fonction des situations pratiques rencontrées dans ces maladies. La biologie moléculaire a beaucoup apporté au diagnostic de terrain (BORCHERS, 1997; KIRISAWA, 1993; SHARMA et al, 1992; VAN DEVANTER, 1996), mais les outils tels que l'amplification génique (PCR) comportent quelques inconvénients pour les herpèsvirus du fait des phénomènes de latence qui caractérisent ces virus. En effet, l'amplification dans un échantillon biologique d'un fragment de séquence génomique virale pourra aussi être le fait d'animaux « latents » n'étant pas en phase de réexcrétion virale. Les méthodes de quantification génomique telle que la PCR quantitative déjà utilisée en médecine humaine pour certains virus (cytomégalovirus humain, virus de l'hépatite B, virus du SIDA...) devraient permettre d'aborder différemment ces diagnostics différentiels de latence-réactivation-réexcrétion virale dans les échantillons biologiques. Nous travaillons au laboratoire depuis plus de 5 ans sur la définition de profils cytologiques fiables et représentatifs de phénomènes d'invasion viraux de l'appareil respiratoire

chez les chevaux de courses contre-performants, en les rapprochant de résultats de PCR systématiquement pratiquées sur ces échantillons confiés dans le cadre d'examens de routine. Les résultats obtenus avec des outils PCR classiques (non quantitatifs) sur un nombre significatif de liquides (**tableau 1 et 3**) semblent aller dans le sens de ce que certains travaux étrangers évoquent (VIEL, 1997). Les pathologies virales sub-cliniques (qui sont principalement des herpèsvirus) pourraient être à l'origine de certaines maladies inflammatoires de l'appareil respiratoire et des contre-performances sportives constatées. Il resterait à préciser ces hypothèses et pour les laboratoires, à mettre au point des outils fiables de quantification génomique, particulièrement adaptés aux herpèsvirus.

Les méthodes de culture cellulaire ou de coupes de tissus congelés puis marqués à l'aide d'anticorps monoclonaux demeurent de très bonnes méthodes de confirmation, assez aisées à mettre en place dans des laboratoires spécialisés (GIMENO et al, 1987; GUNN, 1991; TEWARI et PRASAD, 1983; WHITWELL et al, 1992)

Méthodes de prévention

La vaccination

Elle devra avoir pour objectifs principaux d'éviter la primo-infection chez le jeune et de limiter la maladie chez l'adulte (STUDDERT, 2002).

Il existe de très nombreux vaccins disponibles sur le marché avec des présentation sous forme uniquement de virus inactivé en France et sous des formes atténuées (vaccins à virus vivant) et inactivées aux Etat-Unis (ALLEN, 2003). Les adjuvants, les souches vaccinales et le mode de présentation des antigènes aux cellules de l'immunité ont beaucoup évolué ces dernières années, grâce notamment aux études de terrain ayant permis de caractériser la virulence des souches (GUO et al, 1989; HELDENS et al, 2001; NEELY et HAWKINS, 1978; PATEL et al, 2003). Le recours systématique à la vaccination fait aujourd'hui l'unanimité de la communauté scientifique avec comme principe de base, l'idée d'éviter dans les élevages dès le plus jeune âge, la première contamination des chevaux et ce, afin de limiter les risques de portage chronique et de réactivation lors de stress naturels ou artificiels. Il est donc recommandé de vacciner tôt les jeunes poulains et de renouveler ces vaccinations chez les adultes tous les 6 mois en moyenne. On sait en effet, que l'immunité induite à l'heure actuelle par ces vaccins n'est pas de très longue durée (ALLEN, 2003). L'immunité naturelle acquise après infection n'est pas très bonne non plus. Elle pourrait ne pas excéder trois mois selon certains travaux. On sait aussi qu'il n'existe pas de corrélation fiable entre le taux d'anticorps circulants (fixant le complément et séroneutralisant) et la protection acquise, pas plus qu'entre le taux de séroconversion post vaccinal et la qualité de la protection induite par le vaccin. L'immunité cellulaire et les mécanismes individuels de l'immunité non spécifique sont en effet primordiaux dans ce type de patho-

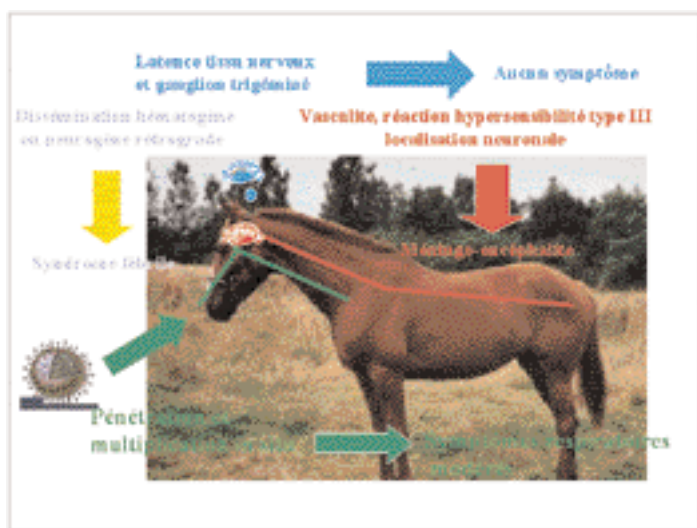


Figure 5 : Physiopathologie de la forme nerveuse de la Rhinopneumonie équine.

Situations cliniques	Echantillons biologiques	Méthodes utilisables	avantages	inconvénients
Avortement	• Organes du fœtus (foie, rein, poumon)	- Coupe sur organes congelé et immunofluorescence - Culture cellulaire épidémiologie à partir de la souche isolée - PCR sur organes	- Rapidité, - Spécificité, - Rapidité, spécificité, sensibilité, possibilité de travailler sur organes autolysés	- Difficulté de lecture, sensibilité - Exigence quant aux conditions d'acheminement, attente des résultats - Absence d'enseignement épidémiologique quant à la souche
	• Sang de la mère	- Fixation du complément - Séroneutralisation	- Réactions croisées entre EHV1 et EHV4, rapidité de la méthode. - Bonne rémanence des anticorps concernés, palie en partie aux expulsions fœtales tardives	- Peu fiable sur expulsion fœtale tardives, interférence avec anticorps vaccinaux - Interférence avec anticorps vaccinaux, méthode longue, spécificité de la réponse à la souche utilisée dans la méthode (EHV1 en routine en France).
Forme respiratoire cliniques	• Ecouvillons voies respiratoires supérieures	- Culture cellulaire - PCR	- Spécificité, épidémiologie à partir de la souche isolée, très sensible si animal en hyperthermie. - Rapidité, spécificité, sensibilité.	- Exigence quant aux conditions d'acheminement, attente des résultats. Phase d'excrétion virale souvent courte. Perte de sensibilité si animal en phase d'écoulement épais et purulent ou en l'absence d'hyperthermie. - Absence d'enseignement épidémiologique quant à la souche.
	• Sang total	- Culture	- Spécificité, épidémiologie à partir de la souche isolée	- significatif lors de la phase fugace de la virémie pour EHV1.
	• Sérum	- Fixation du complément ou séroneutralisation.	- intéressant sur sérums couplés en cinétique d'anticorps (14 à 20 J.)	- réactions croisées avec les vaccins, longueur de la méthode.
Forme respiratoire sub-cliniques	• Sérum (sur plusieurs chevaux del 'effectif si possible)	- Fixation du complément ou séroneutralisation.	- Intéressant sur sérums couplés en cinétique d'anticorps (14 à 20 J.)	- Réactions croisées avec les vaccins, longueur de la méthode.
	• Liquide respiratoire (LBA ou ATT)	- Cytologie et PCR	- Profils cytologiques très fiables et bien standardisés chez le cheval, sensibilité de la PCR	- La PCR ne différencie pas la latence de la réactivation (méthode quantitative) La cytologie n'est pas obligatoirement univoque
Forme nerveuse				
• Animal vivant	Sérum (à effectuer en même temps que le LCR si possible).	Fixation du complément ou séroneutralisation.	Peu invasif, cinétique nécessaire. Comparaison des résultats obtenus avec le sérum.	Pas toujours fiable dans les formes nerveuses, interactions vaccinales.
	liquide céphalorachidien.	- Fixation du complément ou séroneutralisation. - PCR ou culture du virus.	Très fiable. Méthode de référence, réponse univoque si positif.	Méthode d'obtention du liquide invasive. Conditions d'acheminement, faux négatifs.
• Animal mort	Tissus nerveux (moelle, encéphale).	Histologie (en plus des analyses ci-dessus).	Confirmation univoque si positif.	Technicité du prélèvement et de son interprétation.

Tableau 2 : Diagnostic de laboratoire des affections herpétiques liées aux virus EHV1 et EHV4.

logie. Néanmoins, la vaccination régulière des effectifs, permet de limiter la durée et la gravité des symptômes, les temps d'arrêt d'entraînement ou les complications. Des travaux relatifs aux nouvelles voies d'administration ou au mode de présentation de l'antigène de ces vaccins ont jusqu'à présent donné des résultats irréguliers mais encourageants pour l'avenir (BABIUK et al, 2002; COOK et al, 1990).

Les méthodes de dépistage sérologique restent limitées par une séroprévalence très importante et par leurs réactions croisées avec les vaccinations couramment pratiquées. Elles restent applicables lors de dépistage de groupe (tableau 2), lors d'introduction d'animaux au statut immunitaire inconnu ou en pratiquant des analyses couplées à 15 jours d'intervalle pour réaliser des cinétiques d'anticorps (CULLINANE, 1997; MATSUMURA et al, 1986; SINCLAIR et al, 1989).

Mesures zootechniques et sanitaires

Elles consistent principalement à contrôler les effectifs entrants (examen sérologique d'entrée au haras, quarantaine) et à juguler et circonscrire rapidement tout début de foyer. Il faut rappeler à ce sujet que les avortons consécutifs à une rhinopneumonie constituent de véritables « bombes » infectieuses dans les élevages et qu'il faudra prendre des mesures très strictes vis à vis des locaux (box de poulinage), du matériel et du personnel et pratiquer rapidement un isolement de plusieurs jours (1 à 2 semaines) de la mère ayant avorté. Les entrées de chevaux dont le statut sanitaire n'est pas toujours bien connu (retour d'entraînement par exemple) représente aussi une source majeure de contamination. Les animaux provenant d'autre pays sont aussi de remarquables causes de variation de souches virales présentes dans les haras, pas forcément en adéquation avec les vaccins utilisés localement. Un certain nombre de haras pratiquent d'ailleurs, des examens sérologiques réguliers pour mieux appréhender les épisodes subcliniques (voir tableau 2) de maladies virales (notamment herpétiques), de façon à prendre des mesures d'anticipation pour les chevaux les plus sensibles (jument gestante, jeunes poulains). Le transport et le regroupement de chevaux sur un même site (centre d'entraînement, réunion hippique, concours...) sont des maillons importants du cycle épidémiologique de ces affections et ils expliquent probablement la répartition mondiale

de ces maladies et leur persistance annuelle sans réelle « éclipse ». Ce sont aussi les deux maillons sur lesquels la maîtrise sanitaire est la plus compliquée.

CONCLUSION

L'espèce équine est une des espèces les plus exposée aux virus de la famille des Herpèsviridae. Ne serait-ce qu'en termes économiques, les deux virus EHV1 et EHV4 ont une importance considérable pour l'élevage et ce, tant par le nombre de foyers déclenchés dans les élevages que par les maladies ou complications qu'ils induisent sous leur expression la plus fréquente, la forme sub-clinique. Ce sévère constat n'est pas encore démontré pour EHV2, mais il est probable que ce virus joue lui aussi un rôle assez néfaste chez le cheval, même si ceci reste à prouver par des études plus systématiques.

Les formes sub-cliniques engendrées par ces virus, sont, le plus souvent, le fait de la latence et des phénomènes de réactivation - excrétion virale, caractéristique de ces virus et de leur biologie. La biologie moléculaire et les connaissances améliorées en immunologie équine, ont pu faire considérablement progresser les chercheurs et les industriels ces dix dernières années. S'il est peu probable que des thérapeutiques antivirales spécifiques voient le jour rapidement en raison du coût induit notamment et des effets irréguliers dans les essais pratiqués, il semble raisonnable de penser que les vaccins et les protocoles d'immunisation chez les chevaux seront assez vite améliorés dans cette espèce (présentation de l'antigène et voie d'administration). La biologie moléculaire et les progrès accomplis depuis les premières méthodes d'amplification génique pour dépister ces virus, ont permis d'affiner le diagnostic de terrain de ces maladies, d'améliorer la rapidité d'intervention du vétérinaire dans les haras, mais aussi de mieux comprendre par la voie génomique, la virulence, le tropisme tissulaire et la variabilité des souches auxquelles les chevaux sont confrontés au cours de leur vie. Ces connaissances rejoignent et complètent celles du monde industriel des vaccins pour lequel l'efficacité vaccinale vis à vis des herpèsvirus, demeure un défi scientifique et technique remarquable. Au-delà même du cheval, bien d'autres espèces animales d'importance économique et l'espèce humaine par la même occasion, pourraient bénéficier de ce savoir-faire.

REMERCIEMENTS

A tous les vétérinaires, éleveurs, propriétaires et entraîneurs qui nous confient les analyses sans lesquels nous ne pourrions recueillir ces informations.

A l'ensemble des techniciens du département « Santé Animale » du laboratoire Frank Duncombe, pour leur travail, leur sérieux et leur passion.

Au Professeur F.Freytmuth (directeur du laboratoire de virologie du CHU de Caen) pour son aide, son expérience et l'intérêt qu'il porte à nos travaux.

Au Conseil Général du Calvados pour son soutien permanent à la filière équine

BIBLIOGRAPHIE

- AGIUS CT (1994) Equine herpesviruses 2 and 5: comparaison with other members of the subfamily gammaherpesvirinae. *Adv. Virus Res.*, 44, 357-379.
- ALLEN GP (2003) Respiratory infections by Equine herpesvirus types 1 and 4. In: *Equine respiratory diseases*, Lequeux Ed. IVIS. org
- ALLEN GP, TURTINEN LW (1982) Assessment of the base sequence homology between the two subtypes of equine herpesvirus 1. *Journal of Virology*, 44, 249-255.
- BABIUK LA (2002) Vaccination: a management tool in veterinary medicine [Review]. *Veterinary Journal*, 164, 188-201.
- BATRA SK, JAIN NC, TIWARI SC (1982) Isolation and characterization of 'EHV-1' herpesvirus associated with paralysis in equines. *Indian Journal of Animal Sciences*, 52, 671-677.
- BENETKA VV, BRANDSTATTER M, HOGLER S, MOSTL K. (2002) EHV4 induced abortion in an Austrian stud farm with respiratory and neurological symptoms [German]. *Tierärztliche Umschau*, 57, 464-472.
- BORCHERS K (1997) Distribution and relevance of equine herpesvirus type 2 (EHV-2) infections. *Archives of Virology*, 142, 917-928.
- BURROWS R, GOODRIDGE D (1984) Studies of persistent and latent equid herpesvirus 1 and herpesvirus 3 infections in the Pirbright pony herd. Latent herpesvirus infections in veterinary medicine. In: *Current topics in veterinary medicine and animal science 1984*, 307-319.
- CHOWDHURY SI (1987) The equine herpesviruses: a contribution to the classification and molecular biology, their genomic relationship to other herpesviruses, and the genomic termini of equine herpesvirus type 1 (EHV-1) with special emphasis on their role in variability and replication. *Fachbereich Veterinarmedizin, Freie Universität, Berlin, German Federal Republic*. 248pp
- COLLINSON PN (1994) Isolation of equine herpesvirus type 2 (equine gamma herpesvirus 2) from foals with keratoconjunctivitis. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 205, 329-331.
- COOK RF, O'NEILL T, STRACHAN E, SUNDQUIST B, MUMFORD JA (1990) Protection against lethal equine herpes virus type 1 (subtype 1) infection in hamsters by immune stimulating complexes (ISCOMs) containing the major viral glycoproteins. *Vaccine*, 8, 491-496.
- CULLINANE A (1997) Current therapy in equine medicine. *Viral respiratory disease*. 4 th. Ed., 443-448.
- DRUMMER HE (1996) Equine gammaherpesvirus 2 (EHV2) is latent in B lymphocytes. *Archives of Virology*, 141, 495-504.
- DUNOWSKA M, WILKS CR, STUDDERT MJ, MEERS J (2002) Equine respiratory viruses in foals in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 50, 140-147.
- DYNON K, VARRASSO A, FICORILLI N, HOLLOWAY SA (2001) Identification of equine herpesvirus 3 (equine coital exanthema virus), equine gammaherpesviruses 2 and 5, equine adenoviruses 1 and 2, equine arteritis virus and equine rhinitis A virus by polymerase chain reaction. *Australian Veterinary Journal*, 79, 695-702.
- EDINGTON N, BRIDGES CG, PATEL JR (1986) Endothelial cell infection and thrombosis in paralysis caused by equid herpesvirus-1: equine stroke. *Archives of Virology*, 90, 111-124.
- FIELD HJ, AWAN AR, FUENTE RR, DE-LA-FUENTE R (1992) Reinfection and reactivation of equine herpesvirus-1 in the mouse. *Archives of Virology*, 123, 409-419.
- FITZPATRICK DR, STUDDERT MJ (1984) Immunologic relationships between equine herpesvirus type 1 (equine abortion virus) and type 4 (equine rhinopneumonitis virus). *American Journal of Veterinary Research*, 45, 1947-1952.
- FORTIER G, ANRIOUD D, HARY C, PRONOST S (2002) Cytologie et microbiologie des liquides respiratoires. In : *Comptes rendus des journées AVEF. Le Touquet*. 101-111.
- FORTIER G, PRONOST S, PITEL PH, MOUSSU C, ZIENTARA S (2003) Equine Rhinopneumonia and Influenza in France: Diagnosis protocols and situation. In: *Proceedings of the Russian national congress of veterinarian practitioners*. 125-128.
- GERWECK U, DAMMER H, LINDNER F (1992) Treatment of herpesviral encephalitis in six horses with the antiviral agent "Zovirax" (aciclovir). *Pferdeheilkunde*, 8, 5-8.
- GIMENO EJ, NOSETTO EO, MARTIN AA, GALOSI CM, ANDO Y, ETCHEVERRIGARAY ME (1987) Demonstration of equine herpes virus 1 (EHV-1) in histological sections and tissue cultures by the peroxidase-antiperoxidase (PAP) technique. *Journal of Veterinary Medicine, B Infectious Diseases, Immunology, Food Hygiene, Veterinary Public Health*, 34, 740-742.
- GUNN HM (1991) A direct fluorescent antibody technique to diagnose abortion caused by equine herpesvirus. *Irish Veterinary Journal*, 44, 37-40.
- GUO P, GOEBEL S, DAVIS S, PERKUS ME, LANGUET B, DESMETTRE P, ALLEN G, PAOLETTI E (1989) Expression in recombinant vaccinia virus of the equine herpesvirus 1 gene encoding glycoprotein gp13 and protection of immunized animals. *Journal of Virology*, 63, 4189-4198.
- HASEBE R, KIMURA T, NAKAMURA K, OKAZAKI K, OCHIAI K, WADA R, UMEMURA, T. (2002a) Passage of equine herpesvirus-1 in suckling mouse brain enhances extraneural virus growth and subsequent hematogenous neuroinvasion. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64, 907-912.
- HASEBE R, KIMURA T, SATO E, OKAZAKI K, OCHIAI K, WADA R, UMEMURA T (2002b) Equine herpesvirus-1-induced encephalomyelitis in mice: a comparative study of neuroadapted virus and its parental strain. *Journal of Comparative Pathology*, 127, 118-125.
- HELDENS JGM, KERSTEN AJ, WESTSTRATE MW, VAN DEN HR. (2001) Duration of immunity induced by an adjuvanted and inactivated equine

influenza, tetanus and equine herpesvirus 1 and 4 combination vaccine. *Veterinary Quarterly*, 23, 210-217.

- IQBAL J, EDINGTON N. (2002) Equid herpesvirus 1 is neurotropic in mice, but latency from which infectious virus can be reactivated does not occur. *Acta Veterinaria Hungarica*, 50, 117-129.

- JACOB RJ, COHEN D, BOUCHEY D, DAVIS T, BORCHELT J (1988) Molecular pathogenesis of equine coital exanthema: identification of a new equine herpesvirus isolated from lesions reminiscent of coital exanthema in a donkey. *Equine Infectious Diseases V*. In Proceedings of the fifth International Conference.

- JONES WE (1984) EHV-1 subtypes. *Equine Veterinary Data*, 5, 52-55.

- KIRISAWA R (1993) Detection and identification of equine herpesvirus-1 and 4 by polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*, 36, 57-67.

- KRUEWAGEN EM, BALZER HJ, KELLNER SJ. (2001) Prevalence of EHV2-and EHV5-DNA in horses showing keratoconjunctivitis or conjunctivitis - comparing test results obtained by cytology and nested polymerase chain reaction (nPCR) [German]. *Pferdeheilkunde*, 17, 444-447.

- LUDWIG H, RUDOLPH R, CHOWDHURY SI, BOSSCHE GG, WINTZER HJ, KRAUSER K, VAN-DEN-BOSSCHE G (1987) Equine herpesvirus 1 infection: neurological signs of acute, fatal infection in a warm blooded mare. Molecular characterization of the brain isolate and pathological correlations. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, 100, 147-152.

- MATSUMURA T, KOMANO M, SUGIURA T, KAMADA M, FUKUNAGA Y (1986) Sero-epizootiological studies on viral diseases in horses on a breeding farm in Japan during a period from 1981 to 1985. *Bulletin of Equine Research Institute*, 23, 28-34.

- METCALF ES. (2001) The role of international transport of equine semen on disease transmission. *Animal Reproduction Science*, 68, 229-237.

- NEELY DP, HAWKINS DL (1978) A two-year study of the clinical and serologic responses of horses to a modified live-virus equine rhinopneumonitis vaccine. *Journal of Equine Medicine and Surgery*, 2, 532-540.

- NORDENGRAHN A, MERZA M, ROS C, LINDHOLM A, PALFI V, HANNANT D, BELAK, S. (2002) Prevalence of equine herpesvirus types 2 and 5 in horse populations by using type-specific PCR assays. *Veterinary Research*, 33, 251-259.

- NOSETTO EO, MONINA MI, BASCHAR H, GALLO GG, GALOSI CM, IDIART JR, GIMENO EJ (1985) Neurological syndrome associated with equine herpesvirus 1. *Medicina Veterinaria*, 2, 583-584.

- PATEL JR, EDINGTON N, MUMFORD JA (1982) Variation of cellular tropism between isolates of equine herpesvirus-1 in foals. *Archives of Virology*, 74, 41-51.

- PATEL JR, FOLDI J, BATEMAN H, WILLIAMS J, DIDLICK S, STARK R. (2003) Equid herpesvirus (EHV-1) live vaccine strain C147: efficacy against respiratory diseases following EHV types 1 and 4 challenges. *Veterinary Microbiology*, 92, 1-17.

- PRONOST S, ZIENTARA S, TAOUJI S, LECLERC R, FINES M, FREYMUTH F, GOUARIN S, FORTIER G (2002) Biologie moléculaire et diagnostic en pathologie infectieuse équine: que peut en attendre le praticien ? In : Comptes rendus des journées AVEF, Le Touquet. 314.

- PUYALTO MOUSSU C, PITEL PH, SAISON A, FORTIER G, TAOUJI S (2002) Ataxies et parésies induites par l'Herpèsvirus équin de type 1 (Rhinopneumonie). *Pratique Vétérinaire Equine*, 34, 9-15.

- REUBEL GH (1995) Diagnosis of equine gammaherpesviruses 2 and 5 by polymerase chain reaction. *Archives of Virology*, 140, 1049-1060.

- RICKETTS SW, BARRELET A, WHITWELL KE, SIDNEY.R.(2001) A review of the causes of abortion in UK mares and means of diagnosis used in an equine studfarm practice in Newmarket. *Pferdeheilkunde*, 17, 589-592.

- ROLLINSON EA (1987) Comparative efficacy of three-2'-fluoropyrimidine nucleosides and 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanine (BW B759U) against pseudorabies and equine rhinopneumonitis virus infection in vitro and in laboratory animals. *Antiviral Research*, 7, 25-33.

- RUSZCZYK A, DZIECIATKOWSKI T, BANBURA M. (2002) Role of equine herpes virus type 2 (EHV-2) in the patho-

genesis of infectious diseases in horses [Review] [Polish]. *Medycyna Weterynaryjna*, 58, 760-763.

- SHARMA PC, CULLINANE AA, ONIONS DE, NICOLSON L (1992) Diagnosis of equid herpesviruses-1 and -4 by polymerase chain reaction. *Equine Veterinary Journal*, 24, 20-25.

- SINCLAIR R, COOK RF, MUMFORD JA (1989) The characterization of neutralizing and non-neutralizing monoclonal antibodies against equid herpesvirus type 1. *Journal of General Virology*, 70, 455-459.

- STIERSTORFER B, EICHHORN W, SCHMAHL W, BRANDMULLER C, KAADEN OR, NEUBAUER A. (2002) Equine herpesvirus type 1 (EHV-1) myeloencephalopathy: a case report. *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 49, 37-41.

- STOKES A, CORTEYN AH, MURRAY PK (1991) Clinical signs and humoral immune response in horses following equine herpesvirus type-1 infection and their susceptibility to equine herpesvirus type-4 challenge. *Research in Veterinary Science*, 51, 141-148.

- STUDDERT MJ.(2002) Vaccination of foals and pregnant mares with Duvaxyn EHV1,4 vaccine. *Vaccine*, 20, 992-995.

- TAOUJI S, COLLOBERT C, GICQUEL B, SAILLEAU C, BRISSEAU N, MOUSSU C, BREUIL MF, PRONOST S, BORCHERS K, ZIENTARA S. (2002) Detection and isolation of equine herpesviruses 1 and 4 from horses in Normandy: An autopsy study of tissue distribution in relation to vaccination status. *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 49, 394-399.

- TEWARI SC, PRASAD S (1983) Comparative diagnostic value of the gel diffusion test virus isolation in cell culture for detecting equine herpesvirus type 1 (EHV-1). *Revue Scientifique et Technique, Office International des Epizooties*, 2, 1067-1074.

- TEWARI SC, SHARMA PC, PRASAD S, KAURA YK (1989) Equine herpesvirus 1 and neonatal foal mortality in northern India. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties*, 8, 103-110.

- UPPAL PK, YADAV MP, SINGH BK (1990) Comparison of the nucleic acid of an Indian isolate of equine herpes virus type 1 with standard strains using restriction endonucleases. *Virus Information Exchange Newsletter for South East Asia and the Western Pacific*, 7, 16-21.

- VAN DEVANTER DR (1996) Detection and analysis of diverse herpesviral species by consensus primer PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 34, 1666-1671.
- VIEL L (1997) Current therapy in equine medicine-Lower airway inflammation in young performance horses. 4th Ed., 426-428.
- WELCH HM, BRIDGES CG, LYON AM, GRIFFITHS L, EDINGTON N (1992) Latent equid herpesviruses 1 and 4: detection and distinction using the polymerase chain reaction and co-cultivation from lymphoid tissues. *Journal of General Virology*, 73, 261-268.
- WHITWELL KE, BLUNDEN AS (1992) Pathological findings in horses dying during an outbreak of the paralytic form of equid herpesvirus type 1 (EHV-1) infection. *Equine Veterinary Journal*, 24, 13-19.
- WHITWELL KE, GOWER SM, SMITH KC (1992) An immunoperoxidase method applied to the diagnosis of equine herpesvirus abortion, using conventional and rapid microwave techniques. *Equine Veterinary Journal*, 24, 10-12.
- ZIENTARA S (1993) La Rhinopneumonie équine: épidémiologie moléculaire, diagnostic et prophylaxie. *Le Point Vétérinaire*, 24, 737-742.