

L'HERPÈSVIROSE CANINE

CANINE HERPESVIRUS DISEASE

Par Alain FONTBONNE⁽¹⁾

(Communication présentée le 3 novembre 2011)

RÉSUMÉ

L'herpèsvirose canine est une maladie infectieuse et contagieuse due à un alphaherpèsvirus qui entraîne des troubles de la reproduction. Ce virus peut être également évoqué dans le syndrome de la « toux de chenil ». Après contamination, l'animal subit une séroconversion et devient séropositif. Ensuite, si les défenses immunitaires du chien contaminé sont suffisantes pour contrôler l'infection, le virus s'intègre à l'ADN cellulaire et le chien devient séronégatif. Le virus rentre en « latence » dans différents organes et peut se réactiver à tout moment à la faveur d'un « stress » ou d'une immunodépression. La prévalence de ce virus au niveau mondial semble élevée, bien que les études de séroprévalence soient peu indicatives, étant donné le fort taux d'animaux séronégatifs porteurs du virus au moment des prélèvements sanguins (phénomène de latence fréquent). Il se réactiverait davantage dans les grands effectifs canins, du fait du stress et du manque d'hygiène. Le diagnostic sérologique est délicat à interpréter et est davantage utile pour connaître le statut d'un élevage que pour un dépistage individuel. De nos jours, la mise en évidence de l'ADN viral par amplification génique (PCR) est sans doute la méthode de choix. En ce qui concerne la prévention, l'hygiène des élevages joue un rôle clé. Une vaccination existe dans certains pays mais une séroprévention peut être envisagée dans les élevages à risque.

Mots-clés : herpèsvirose canine, pathogénie, épidémiologie, diagnostic, prophylaxie.

SUMMARY

Canine herpesvirus is an alphaherpesvirus responsible for an infectious and contagious disease associated with reproductive disorders. This virus may also be involved in the "kennel cough" syndrome. After contamination, the infected animal undergoes a seroconversion and becomes seropositive. Then, if its immunity is strong enough to control the infection, the virus becomes integrated to the cell DNA and the dog becomes seronegative. The virus becomes latent in various organs and may be reactivated at any moment under conditions of stress or immunodepression. This virus seems highly prevalent worldwide, although seroprevalence studies are not very reliable as many infected animals are seronegative at the time of blood sampling (frequent latency). Reactivation appears to be more frequent in large kennels due to stress and poor hygiene. Serological diagnosis is difficult to interpret and is more useful to characterise the overall status of a kennel rather than for individual diagnosis. Identification of viral DNA by PCR is currently the best method. Hygiene is a key factor in prevention. A vaccine is available in some countries, and seroprevention may be used in kennels at risk.

Key words: canine herpesvirus disease, pathogenesis, epidemiology, diagnosis, prophylaxis.

(1) DMV, Dipl. ECAR, Maître de Conférences en Reproduction Animale, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
Courriel : afontbonne@vet-alfort.fr

COMMUNICATION

L'herpèsvirose canine est une maladie infectieuse et contagieuse due à un alphaherpèsvirus, le *Canine Herpes Virus* (CHV), qui entraîne des troubles de la reproduction, principalement des pertes de chiots de moins de trois semaines et peut-être, bien que ce soit controversé, de l'infertilité, des avortements et/ou de la mortinatalité. Ce virus peut être également impliqué dans le syndrome « toux de chenil ».

Le premier cas d'infection par CHV a été décrit dans une portée de chiots nouveau-nés, aux États-Unis en 1964, par Carmichael qui a d'abord cru à une atteinte par des mycoplasmes. Puis le virus a été isolé par Spertzel *et al.* (1965), Stewart *et al.* (1965) et en France, par de Ratuld & Werner (1965), chez un chien Beagle importé d'Angleterre et atteint de rhinite et de bronchopneumonie.

Depuis les années 1990, cette maladie a été identifiée dans la plupart des pays du monde et la double affinité du virus pour les appareils génital et respiratoire a été mise en évidence. Elle représente une réelle préoccupation des vétérinaires et des éleveurs.

Au cours de ces dernières années, un certain nombre de travaux ont été consacrés à cette maladie. Cet article a vocation à en dresser une synthèse pratique à destination des vétérinaires.

ÉTIOLOGIE

Le virus herpétique des canidés, du chien principalement, appartient au genre *Varicellovirus*, dans la sous-famille des *alphaherpesvirinae*, tout comme l'herpèsvirus équin 1 et le virus de la varicelle et du zona (VZV). Si 16 souches d'herpèsvirus canin ont bien été isolées dans le monde, il n'a jamais été possible d'identifier des virus différents. La comparaison antigénique des différentes souches isolées semble montrer que ce virus est monotypique (Decaro *et al.* 2008). Le CHV est donc aussi dénommé CHV-1 ou CaHV-1.

Le virion du CHV-1, d'un diamètre de 115 à 175 nm, se compose d'un double brin d'ADN entouré d'une nucléocapside, un tégment et une enveloppe. La capsid possède la symétrie icosaédrique typique des herpèsvirus. Le tégment qui l'entoure est protéique et l'enveloppe comporte une membrane lipidique portant à sa surface des glycoprotéines impliquées dans la réponse immunitaire, les protéines de surface Gp 145/112, Gp 80, Gp 41 étant des antigènes majeurs. Les composants lipidiques de l'enveloppe expliquent sa sensibilité pour les solvants lipidiques (chloroforme, éther) et les désinfectants courants (chloramine, formaldéhyde dérivés phénolés, ammoniums quaternaires).

Résistant à au froid, le virus est stable à -70°C, mais son pouvoir infectieux commence à diminuer 24 heures après avoir été maintenu à 4°C et cinq jours après son exposition à -20°C. Il est thermosensible avec une inactivation quasi immédiate à 56°C. La multiplication virale est optimale entre 35 et 36 °C, mais son maintien à 37°C pendant cinq heures réduit son pouvoir infectieux de 10.000 fois.

Inactivé à pH acide, il reste stable pour des pH compris entre 6,5 et 7,6. En fait, il est peu résistant dans le milieu extérieur.

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 bovin 1, l'herpès simplex 1, le VZV et le virus de la maladie d'Aujeszky (revue dans Ronsse *et al.* 2003).

PATHOGÉNIE

La pathogénie a été un peu étudiée juste après la découverte du virus et malheureusement depuis 40 ans, ce virus a été largement ignoré par les études scientifiques (Nauwynck 2010).

Les modes de transmission du CHV-1 sont divers :

- par voie trans-placentaire (le fœtus peut être infecté *in utero*, principalement lors d'une primo-infection de la chienne gestante),
- par voie vénérienne,
- par voie oro-nasale.

Les matières contaminantes sont potentiellement les suivantes, bien que peu d'études l'aient démontré formellement :

- les excréments des chiots malades,
- les sécrétions oro-nasales ou pharyngées (qui sont virulentes jusqu'à 15 jours après l'infection),
- les sécrétions génitales physiologiques (sperme) ou pathologiques (pertes vulvaires pendant les chaleurs, suivant un avortement ou une mise bas),
- les fœtus avortés ou les enveloppes fœtales lors d'avortement ou de mise bas chez une mère contaminée.

Les résultats expérimentaux suggèrent que l'accouplement serait un acte à risque si un des partenaires est infecté ou excréteur du virus par des lésions des muqueuses génitales (papules, vésicules, érosions) (Nauwynck 2010).

Contrairement à l'herpèsvirus porcin 1 (responsable de la maladie d'Aujeszky), à l'herpèsvirus bovin 1 et à l'herpèsvirus félin, qui se répliquent en grande quantité, provoquant rapidement des signes cliniques respiratoires évidents, l'herpèsvirus canin se réplique peu, donnant des signes cliniques difficiles à reconnaître (Nauwynck 2010).

Chez le chien adulte, le virus se développe tout d'abord dans les muqueuses locales (nez, pharynx, amygdales, appareil génital...), puis se propage au reste de l'organisme par voie sanguine (virémie) à tous les organes cibles comme les nœuds lymphatiques, la rate ou les reins. Le virus se localise ensuite dans ces organes ainsi que dans le système nerveux central. L'animal devient séropositif. Si les défenses immunitaires du chien contaminé sont suffisantes pour contrôler l'infection, le virus s'intègre à l'ADN cellulaire. Il entre en latence dans différents organes : système nerveux (ganglions lombo-sacrés et trigémi-

naux notamment), amygdales, nœuds sous-maxillaires et foie. Il peut alors se réactiver à tout moment à la faveur d'un stress ou d'une immunodépression (pro-œstrus, mise-bas, infections, traitements par les immunosuppresseurs et/ou par les corticostéroïdes, immunodépression liée à une autre maladie virale ou bactérienne...). De ce fait, l'infection par le CHV-1 doit être considérée comme une infection à vie. L'herpèsvirose canine fait partie des maladies dites « de collectivités » puisque ce sont les conditions du milieu qui déterminent l'apparition d'une résurgence herpétique, le moment où elle se produit et la gravité des manifestations cliniques.

Par contre, le **chiot nouveau-né** est contaminé soit dans l'utérus juste avant la mise-bas (controversé), soit après la mise bas par contact avec les sécrétions vaginales. La transmission par contact avec des personnes (éleveurs, vétérinaires) ayant manipulé un autre chiot infecté a également été suspectée. Chez le tout jeune animal, l'infection se propage plus rapidement que chez les adultes. Aussi chez les tout jeunes chiots, le virus est-il rapidement excrété par toutes les voies : salive, sécrétions oculaires et nasales, urines et fèces. Tous les chiots d'une même portée sont infectés et beaucoup meurent. Cependant, passé l'âge de deux à trois semaines, la réponse immunitaire des nouveau-nés est meilleure et les chiots deviennent moins sensibles au CHV-1. Pour Carmichael *et al.* (1969), la grande sensibilité des nouveau-nés au virus serait liée à une thermo-régulation imparfaite, le chiot à la naissance ayant une température corporelle interne d'environ 35,5°C. Ce déficit de la thermo-régulation est aggravé par la maturité insuffisante du système immunitaire. Les réponses aux processus inflammatoires et celles de l'immunité cellulaire sont réduites. Les anticorps maternels transmis par le colostrum peuvent assurer une protection efficace, même s'ils n'empêchent pas l'infection des chiots. Cependant, pour produire assez d'anticorps protecteurs, la chienne doit avoir subi une réinfection ou une réactivation du virus dans son organisme avant la mise bas, ou avoir été vaccinée.

L'infection par le CHV-1 d'une **chienne gestante** n'ayant jamais auparavant été en contact avec ce virus, crée un risque supplémentaire. Le virus pourrait atteindre les annexes fœtales et les fœtus et provoquer, selon le stade de la gestation, des résorptions embryonnaires, des résorptions fœtales, des avortements, des mises bas prématurées ou la naissance de chiots mort-nés. Des inoculations expérimentales de virus par voie intraveineuse ont induit des avortements (Hashimoto *et al.* 1982 ; Hashimoto *et al.* 1983) mais en pratique vétérinaire courante, le CHV est rarement isolé lors d'un avortement canin (Nauwynck 2010).

ÉPIDÉMIOLOGIE

Il semble que le CHV-1 infecte très majoritairement le chien. Des anticorps ont cependant été détectés chez le renard roux européen en Allemagne et en Australie et chez des loutres aux USA (Decaro *et al.* 2008). Un virus très voisin a été isolé chez des coyotes américains.

Chez le chien, l'infection est mondialement répandue, d'allure enzootique. Il semble que depuis 20 ans, le taux d'infection se soit accru considérablement, et les taux de séroprévalence publiés dans les années 2000 sont bien plus élevés que ceux du début des années 1990. Suivant les études et les pays, l'incidence actuelle varie de 60 à 80% (Verstegen *et al.* 2008), ce qui indique que la grande majorité des chiens ont été en contact avec le virus herpès canin. Par exemple, une étude récente dans les élevages canins espagnols rapporte une séropositivité de 74,8% (P. Guigal, comm. pers.). En Finlande, 65% des chiens d'élevage séropositifs ne présentent pas de troubles de la reproduction (Dahlbom *et al.* 2009). En France, la séroprévalence établie en 2000, à partir de 84 élevages de taille variable (5 à 75 chiens), est de 30,6% (Guigal *et al.* 2002). Néanmoins, il est difficile de connaître la prévalence exacte du CHV-1 à partir des taux de séropositivité. En effet, lorsqu'un chien est contaminé mais que le virus entre en latence dans son organisme, il devient séro-négatif et n'est donc plus dépisté, bien qu'étant porteur du virus et donc potentiellement vecteur de celui-ci. La prévalence du virus est en réalité bien supérieure aux chiffres de séropositivité publiés.

La séroprévalence peut même atteindre 100% dans les élevages contaminés présentant ou non des troubles de la reproduction (Dahlbom *et al.* 2009). Le virus se réactive davantage au sein des grands effectifs où le taux de chiens séropositifs

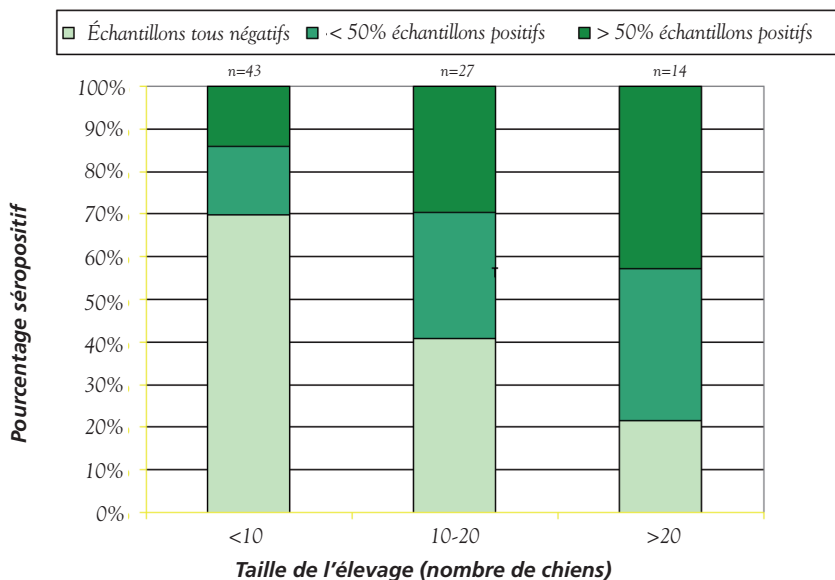


Figure 1 : Influence de la taille de l'élevage sur le pourcentage de chiens séropositifs. Cette étude montre que le virus circule beaucoup plus dans les élevages de plus de 20 chiens. Dans ces élevages, le virus est moins souvent en latence que chez des particuliers ne possédant que quelques chiennes (Guigal *et al.* 2002).

COMMUNICATION

est nettement plus élevé (Guigal *et al.* 2002) (**figure 1**). Ronsse *et al.* (2004) ont bien mis en évidence l'effet de la conduite des élevages, de leur taille, du stress et de l'hygiène quotidienne sur la circulation du virus. Tous les regroupements de chiens, notamment les élevages ou les expositions canines, sont des milieux potentiellement favorables à l'excrétion virale.

Au bilan, ce virus est probablement très répandu : sa prévalence, élevée dans l'ensemble de la population canine, est vraisemblablement liée à la diffusion facile du virus par la voie respiratoire qui constitue sans doute la principale voie de contamination. Même les chiens vivant seuls dans une famille sont en grande partie séropositifs, alors que le virus a moins de chance d'échapper à son état de latence, du fait des meilleures conditions de vie et particulièrement des conditions moindres de stress : ainsi, sur un échantillon de 325 chiens vivant dans une famille en Grande Bretagne, 88% d'entre eux ont été détectés positifs (Reading & Field, 1998).

SYMPTÔMES

Chez le chiot nouveau-né

Les chiots de moins de trois semaines présentent la forme clinique la plus grave. Cependant, les conséquences de l'infection par le CHV-1 varient selon l'âge et l'état physiologique du chiot atteint. En réalité, la gravité des symptômes est inversement proportionnelle au taux d'anticorps transmis par le colostrum maternel.

Après contamination, les chiots ne montrent pas de signes cliniques lors des deux à trois premiers jours de leur vie car la période d'incubation dure de quatre à six jours. Lorsqu'un chiot meurt dans les trois jours suivant sa naissance, la cause n'en est probablement pas l'herpèsvirus (Nauwynck 2010). Puis les nouveau-nés deviennent anorexiques et incapables de téter. Des troubles digestifs apparaissent rapidement : modification de selles peu abondantes, nausées, douleur abdominale, vomissements (Carmichael 2004, Bassu & Marsello, 2004). Les chiots crient et gémissent sans raison apparente. Ils peuvent trembler, chanceler ou dans les cas graves, présenter des raideurs, une hyper-extension des membres et du rachis (opisthotonos) ou au contraire des mouvements de pédalage : une incoordination des mouvements traduit une encéphalomyélite. En fin d'évolution, leur température corporelle chute sévèrement (34 °C), et ils sont rejetés par leur mère. On observe rarement des pétéchies sur la peau de l'abdomen ou sur les muqueuses de la bouche ou du pharynx. Les chiots perdent du poids et, sans traitement, meurent en quatre à cinq jours. Les rares qui en réchappent présentent souvent des séquelles graves (ataxie, amaurose, déficits de l'appareil cérébello-vestibulaire) et restent porteurs du virus. En l'absence de vaccination de la mère, le pronostic vital du chiot nouveau-né est donc engagé ; le pronostic est meilleur dès que le chiot a dépassé l'âge de trois semaines.

Chez des chiots de plus de deux à trois semaines au moment de la contamination, l'infection par le CHV-1 est en général asymptomatique, bien que des signes nerveux centraux, notamment une surdité ou une cécité, aient été décrits (Decaro *et al.* 2008).

Chez l'adulte

La plupart des infections passent inaperçues cliniquement chez l'adulte. Le virus circule silencieusement dans un effectif canin et persiste à l'état latent chez tous les animaux infectés. De ce fait, il est rare que des symptômes soient observés.

Atteinte respiratoire

Chez l'adulte jeune ou immunodéprimé, le CHV-1 peut engendrer une rhinite, une pharyngite et/ou une conjonctivite, sans hyperthermie, d'une durée de quatre à huit jours, qui peut se compliquer d'une atteinte bactérienne secondaire.

Il est évoqué dans le syndrome de la « toux de chénil » ou trachéobronchite infectieuse canine. Mais ce syndrome est dû à plusieurs virus et bactéries dont l'adénovirus type-2, le virus para influenza et la bactérie *Bordetella bronchiseptica* qui sont les agents pathogènes les fréquemment détectés. Dans ce syndrome, l'infection par le CHV-1 interviendrait plus tardivement que les autres infections virales et se manifesterait par des atteintes respiratoires plus sévères (Decaro *et al.* 2008). Cependant, c'est souvent après un épisode de « toux de chénil » que le virus se répand au sein d'une collectivité canine et qu'apparaissent des troubles affectant la reproduction. Aussi est-il essentiel que les chiens d'élevage soient vaccinés contre la toux de chénil.

Atteinte des organes génitaux

Le CHV-1 peut provoquer une inflammation des muqueuses génitales externes (prépuce ou vestibule du vagin) qui deviennent érythémateuses ; le processus inflammatoire est parfois accompagnée d'une réaction lympho-folliculaire locale, visible à l'examen direct des muqueuses ou lors d'un examen vaginoscopique chez la chienne. Chez le mâle comme chez la femelle, des vésicules peuvent affecter ces muqueuses, évoluant en une à deux semaines vers l'ulcération et la guérison. Elles peuvent réapparaître ultérieurement à la suite d'un stress ou d'un épisode de toux de chénil, conséquence de la réactivation du virus latent. Cette atteinte localisée serait plus fréquente chez les chiens primo-infectés (Decaro *et al.* 2008). Cependant, nous n'avons observé ce type de vésicules qu'assez rarement.

Troubles de la gestation

Le CHV-1 peut entraîner des troubles à tous les stades de la gestation. Ronsse *et al.* (2005) rapportent que dans les conditions de la pratique en Belgique, 46% des femelles nouvellement contaminées souffrent d'infertilité, de résorption fœtale et/ou de momification fœtale *in utero*. Du fait que les arrêts de gestation avant les 45 – 50^e jours passent le plus souvent inaperçus, le CHV-1 devrait être systématiquement recherché lors d'infertilité.

En général, après un ou deux épisodes cliniques, l'apparition d'anticorps faiblement protecteurs chez la femelle interrompt l'infertilité, sauf si de très mauvais facteurs d'élevage abaissent son taux d'immunité. Mais comme pour toutes les autres infections virales, ce n'est pas parce qu'une chienne a déjà subi des troubles de la reproduction liés au CHV-1 qu'elle sera ensuite immunisée. Il vaut toujours mieux la vacciner pour assurer sa protection lors des gestations ultérieures (cf. prophylaxie).

Autres symptômes

Certains auteurs ont décrit des formes oculaires (conjonctivite, kératite, rétinite...) ou digestives pures (diarrhées) (Thiry 2006, Carter 2006).

LÉSIONS

L'autopsie est un examen déterminant pour le diagnostic. Chez le chiot nouveau-né mort, le diagnostic d'herpèsvirose est presque souvent posé à l'examen nécropsique : présence fréquente d'une décoloration des principaux organes (foie, rate, poumons, reins) et surtout présence de plusieurs foyers de nécrose et de nombreuses hémorragies multifocales en tête d'épingle, bien visibles sur de nombreux organes (rate, foie, poumons, intestins, thymus, cerveau, estomac, myocarde, pancréas, surrénales...) et notamment, sur les reins (*figure 2*). On peut retrouver également une hémorragie dans les cavités thoracique et abdominale, ainsi que dans les organes lymphatiques.

De nombreux foyers de nécrose sont révélés dans les tissus par l'examen histologique avec parfois la présence, en périphérie,

de cellules montrant des corps viraux intranucléaires ou plus rarement intracytoplasmiques. Lors d'avortement, ces lésions sont également observées dans le placenta et chez les avortons en bon état de conservation où elles sont semblables à celles observées chez des chiots atteints de la forme néo-natale. Toutefois, il est possible de n'observer aucune lésion chez l'avorton, lorsque seul le placenta a été infecté.

DIAGNOSTIC

Diagnostic épidémiologique

La coexistence, dans un élevage, d'une mortalité importante des chiots de moins de trois semaines, de troubles de la reproduction (avortements, infertilité...) et de symptômes respiratoires est évocatrice d'une atteinte par le virus herpétique. Cette suspicion est amplifiée si des vésicules sont visibles sur les muqueuses génitales de certains animaux, ce qui est cependant rarement le cas car cette forme clinique est assez peu fréquente.

Diagnostic de laboratoire

Diagnostic histologique

Les tissus doivent être en parfait état de conservation. Aussi, l'autopsie rapide des chiots ou fœtus avortés et la fixation immédiate dans du formol de divers prélèvements de placenta ou d'organes sont-elles hautement recommandés. Bien que les lésions soient typiques, la suspicion doit être confirmée par la technique d'amplification génique par réaction de polymérisation en chaîne (PCR).

Diagnostic sérologique

La séroneutralisation a été progressivement remplacée en routine par la technique de dosage immuno-enzymatique sur support solide (technique ELISA) ou d'immunofluorescence indirecte (IFI).

Le dépistage sérologique pose un réel problème. Le CHV-1 est faiblement immunogène et les anticorps induits par l'infection ne sont décelables que pendant environ une centaine de jours (Verstegen *et al.* 2008).

Aussi lorsque le virus entre en latence dans un organisme, les anticorps ne persistent-ils pas très longtemps : il en résulte qu'un animal contaminé depuis longtemps peut très bien héberger le virus et être séronégatif. La présence de chiens séronégatifs porteurs du virus est vraisemblablement très fréquente. Un résultat

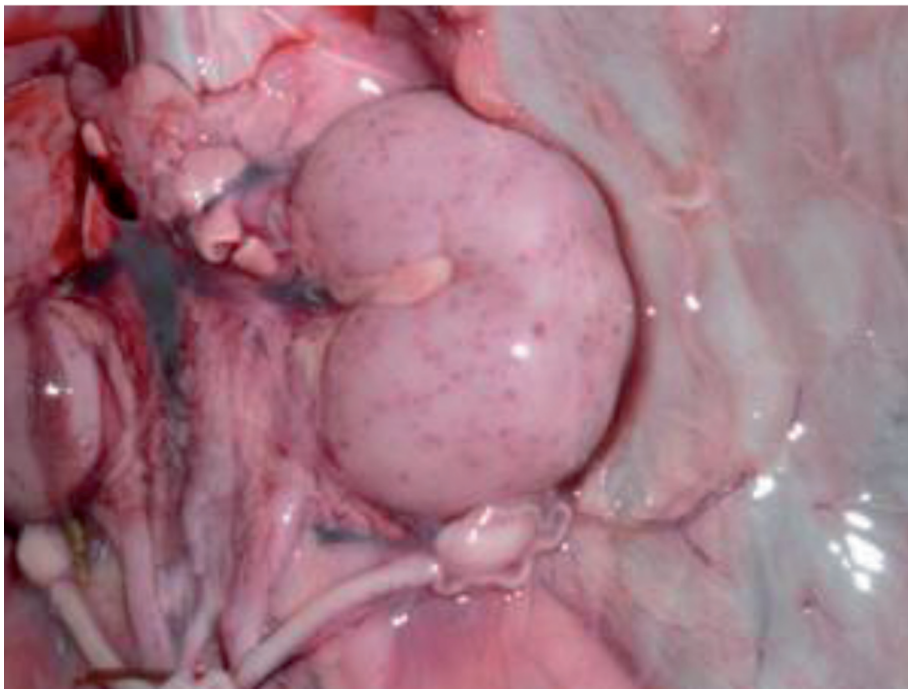


Figure 2: Lors de l'examen nécropsique, les lésions de pétéchies sont presque systématiquement retrouvées sur les reins de nouveau-nés, morts d'herpèsvirose (crédit photo UMES).

COMMUNICATION

sérologique positif indique donc une contamination récente ou la réactivation d'un virus latent. Aussi, l'examen sérologique individuel présente-t-il peu d'intérêt pour le dépistage du CHV-1 (Grandchamp 1998). Les techniques sérologiques présentent par contre un intérêt indéniable pour juger de la circulation du virus dans un effectif canin.

Face à un élevage canin qui souffre de troubles de la reproduction et/ou de mortalité néonatale, l'interprétation d'un dépistage sérologique est toujours délicate. Ronsse *et al.* (2004) montrent l'absence de différence significative entre le statut sérologique d'élevages présentant des troubles de la reproduction et celui d'élevages indemnes de tels troubles, même s'il est noté une légère corrélation entre le taux d'avortements et la séropositivité. En d'autres termes, le virus circule dans l'élevage mais ce sont des facteurs de stress propres à l'élevage lui-même qui font que des troubles se développent ou non. Selon ces auteurs, l'hygiène de l'élevage est un facteur déterminant. Par exemple, nous avons connu un élevage de 24 chiens Labradors ne présentant aucun trouble de la reproduction ni de mortalité néonatale, alors que l'élevage était contaminé. Or cet élevage était d'une propreté irréprochable (A. Fontbonne, observations personnelles). À l'inverse, un résultat sérologique négatif n'a que peu de signification si ce n'est que l'animal n'excrète sans doute pas de virus et n'est pas contaminant le jour de l'examen.

Une étude rapporte le cas d'une chienne ayant montré un fort titre en anticorps pendant l'œstrus, sans doute du fait d'une réactivation du virus ou d'une contamination récente, titre qui chute au début de la gestation (en dioestrus). Cette chienne a subi une résorption embryonnaire partielle, diagnostiquée par l'échographie (Ronsse *et al.* 2005). On peut penser que la chute du taux d'anticorps neutralisants en début de gestation n'a pas permis de protéger l'utérus gestant d'une contamination par le CHV-1. On ne peut bien entendu se baser sur cette constatation pour dépister les chiennes potentiellement à risque, mais il semble que le taux d'anticorps en dioestrus tende à être plus faible chez les chiennes présentant des troubles de la reproduction (Ronsse *et al.* 2005).

Il est inutile d'évaluer le taux d'anticorps chez le chiot et encore moins chez les nouveau-nés car aucun chiot n'est séropositif avant l'âge de six mois (Ronsse *et al.* 2005).

Un diagnostic d'élevage, effectué à partir de plusieurs animaux à une période où le virus a plus de chance de sortir de sa latence (stress, œstrus, gestation) éclairera sans doute mieux sur le statut du cheptel.

Au bilan, le diagnostic sérologique de l'herpèsvirose est finalement relativement insatisfaisant, surtout de nos jours où le virus est très répandu dans la population canine et où une séropositivité n'a pas grande signification.

Mise en évidence du virus ou de son ADN

Elle est réalisée à partir d'échantillons d'organes conservés au froid mais non congelés, d'écouvillonnages de la muqueuse nasale ou pharyngée ou de vésicules herpétiques parfois présentes

sur la muqueuse vaginale ou préputiale. (Nauwynck 2010). L'écouvillon est placé dans une solution de sérum physiologique en présence d'antibiotiques pour éviter les contaminations bactériennes et le matériel va servir soit à l'isolement du virus, soit à sa recherche par amplification de son ADN (PCR)

L'isolement du virus constitue la méthode de choix et de certitude, elle est délicate à mettre en œuvre (fragilité du virus) et lourde à effectuer. Le matériel est mis en contact avec des cellules de rein de chiot, mises en culture et maintenues à la température optimale de 34 ou 35°C. La présence du virus est révélée par son effet cytopathogène.

Les techniques d'amplification génique par PCR, plus récentes, ont permis de développer des tests de diagnostic consistant à détecter et à amplifier l'ADN viral, même s'il est intégré au génome du chien, donc même si le virus est en latence. Ce diagnostic, lorsqu'il est positif, signe sans ambiguïté la présence de l'ADN de l'herpèsvirus dans l'organisme mais ne signifie pas que le virus ait été actif dans l'organisme, sauf si l'ADN a été identifié dans les organes internes d'un chiot mort. Chez l'adulte, il peut être utile, pour étayer une suspicion d'infection herpétique, de faire analyser un prélèvement vaginal par écouvillon, réalisé chez la mère, en plus de ceux provenant des organes de chiots morts. Si plusieurs chiots sont morts et qu'on souhaite faire analyser plusieurs organes différents, on prendra soin de demander au laboratoire de mélanger les échantillons prélevés pour faire ce qu'on appelle une PCR « de mélange », ce qui évite des analyses trop coûteuses, le laboratoire ne facturant dans ce cas qu'une seule analyse PCR.

Pour le dépistage des reproducteurs, il peut être proposé de mettre en évidence le virus aux points où il se multiplie après son entrée dans l'organisme (amygdales, cellules conjonctivales, vagin, prépuce) ou dans le sperme, même chez des animaux séronégatifs. Cependant, il semble utile de multiplier les prélèvements chez un même animal, avec des écouvillons différents, à partir de la gorge, des culs de sac conjonctivaux, du vagin. Un dépistage été ainsi réalisé chez 58 reproducteurs (dont 42 chiennes) provenant de 17 élevages. Chez 50% des animaux, CVH-1 a été détecté par PCR dans au moins un des échantillons analysés, mais rarement dans tous les échantillons (Scanelis, comm. pers). L'analyse par PCR a révélé des échantillons positifs chez cinq chiens séronégatifs. CHV-1 a été également mis en évidence par PCR dans un seul des deux prélèvements, vaginal ou oro-pharyngé, réalisés chez cinq des chiennes séropositives. Ceci souligne bien l'intérêt de réaliser plusieurs prélèvements chez un même animal, afin d'augmenter la fiabilité du résultat. Il semble en outre qu'il faille préférer, pour réaliser les prélèvements, l'emploi de cytobrosses plutôt que d'écouvillons stériles classiques à bout en coton. (Scanelis, document technique d'information).

De nos jours, plusieurs laboratoires proposent d'utiliser la technique de PCR quantitative, qui permet d'évaluer la charge virale. Ainsi, au sein des organes de chiots décédés, il est possible de dire s'ils sont morts de la maladie ou s'ils étaient simplement

porteurs sains, lorsque leur mère, par exemple, était vaccinée. Il est à noter que les charges virales les plus élevées sont toujours observées chez des chiots présentant à l'autopsie des lésions caractéristiques (pétéchies sur tous les organes).

Choix des prélèvements et des techniques

Le vétérinaire confronté à une suspicion d'infection par le CHV doit en pratique choisir au mieux les prélèvements à effectuer et le type d'analyse demandé. Le **tableau 1** résume les types de prélèvements à effectuer en fonction de l'animal, des symptômes recueillis et le **tableau 2**, les moyens de diagnostic de l'herpèsvirose canine en pratique vétérinaire quotidienne.



Figure 3: Le réchauffement des portées, ici par une lampe infra-rouge, est un élément essentiel des soins à apporter après la naissance pour prévenir la maladie (crédit photo: UMES).

TRAITEMENT

Traitement médical

Les antiviraux (vidarabine, acyclovir) ont été préconisés dans les formes locales chez l'homme (vésicules), mais on manque d'informations sur leur intérêt dans les infections par le CHV.

Soins

Le traitement le plus efficace de l'herpèsvirose néonatale consiste à réchauffer les chiots, sous une lampe infra-rouge le plus souvent. Une couveuse pédiatrique représente la meilleure solution (**figure 3**) en maintenant la température interne des chiots au dessus 38°C, afin de limiter la multiplication virale maximale entre 35 et 36°C, température interne des nouveau-nés.

Pour prévenir les risques d'apparition d'une herpèsvirose clinique chez des chiots plus âgés, la température de la maternité est maintenue à 33°C pendant la première semaine de vie des chiots, pour être progressivement abaissée à 23°C en fin de la deuxième semaine. Il faut maintenir l'hygrométrie des locaux de façon à éviter la déshydratation des chiots, principalement lorsque la température de l'environnement est élevée. Il n'est cependant pas à exclure que les chiots qui survivent grâce à cette méthode de soins puissent présenter ultérieurement des lésions neurologiques irréversibles (Carmichael *et al.* 1969). Il vaut mieux, dans un milieu à risque, envisager la vaccination.

PROPHYLAXIE

Prophylaxie sanitaire

L'éradication du CHV-1 dans le cheptel canin est devenue impossible, étant donné sa très large diffusion. Il faut donc apprendre à vivre avec l'herpèsvirus canine. Il convient :

- de bien désinfecter les locaux : le virus est fragile et des locaux sains évitent la multiplication de bactéries qui peuvent immuno-déprimer les chiens et favoriser le développement du CHV (Ronsse *et al.* 2004 ; Thébaud 2004). Il est sensible aux rayons ultra-violet, aux solvants des lipides (chloroforme, éther...) et à de nombreux désinfectants (ammoniums quaternaires, formol, dérivés phénolés...). Cette sensibilité facilite la désinfection des locaux et matériels d'élevage canin ;
- de protéger les animaux en isolant les femelles dans les semaines qui précèdent ou suivent la mise-bas (période d'excrétion virale maximale) ;
- et, peut-être, d'éviter l'accouplement naturel. L'intérêt de l'insémination artificielle n'est pas avéré, la voie aérienne semblant la voie principale de transmission du virus. Néanmoins, elle peut contribuer à minimiser les risques de contamination. La pratique d'une césarienne systématique n'est plus recommandée depuis que la possibilité d'une contamination dans l'utérus a été mise en évidence ; en outre, elle n'empêche pas les contaminations après la mise bas, sauf si on sépare les chiots de leur mère.

Dans un petit élevage canin où tous les chiens sont séronégatifs, il faut éviter d'introduire un nouveau chien suspect et l'utiliser trop rapidement pour la reproduction. Il est recommandé de ne pas le mettre d'emblée en contact avec des femelles gestantes. Dans les premiers mois suivant son arrivée, il sera utilisé pour l'insémination artificielle, en contrôlant régulièrement, par la technique de PCR, que le sperme et les prélèvements réalisés par un écouvillonnage du fourreau sont indemnes de virus. On évitera aussi la saillie des chiennes par des mâles extérieurs à l'élevage, qui favorise la circulation du virus et entraîne une augmentation des chiens séropositifs dans l'élevage (Ronsse *et al.* 2004).

COMMUNICATION

Indications	Circonstances de l'analyse	Écouvillonnage oro-pharyngé (amygdales)	Écouvillonnage conjonctival	Écouvillonnage vaginal	Sperme (min 1 mL)	Organes (non formolés)
Dépistage des reproducteurs	Chienne : pendant les chaleurs, pendant la gestation, après un avortement ou après la mise bas	X (indispensable)	X	X (indispensable)		
Dépistage des reproducteurs	Chien mâle	X (indispensable)	X (indispensable)		X (insémination artificielle)	
Diagnostic d'infection chez le chiot nouveau-né	Troubles nerveux ou oculo-respiratoires	X (indispensable)	X			
Diagnostic d'infection chez le chiot nouveau-né	Post-mortem					X (poumons, foie, rein, rate, ganglions...)

Tableau 1 : Modalités de gestion des prélèvements en vue de la recherche de CHV par la technique PCR (Sanelis – Document technique d'information).

Sujet	Période	Prélèvement	Méthode de diagnostic
Chiot nouveau-né	Post-mortem	Reins, rate, foie, poumons	PCR
Chien mâle	Avant un accouplement	Sperme * Sang *	PCR Sérologie
Chienne	Avant un accouplement	Sang Écouvillon oro-pharyngé et vaginal ** (de préférence à la fin des chaleurs)	Sérologie PCR
Chienne	Après un arrêt de gestation constaté à l'échographie (résorption) ou un avortement	Sang Placenta	Deux analyses sérologiques à 3 semaines d'intervalle PCR
Chienne	Après la perte d'une portée	Sang Écouvillon vaginal	Deux analyses sérologiques à 3 semaines d'intervalle PCR

Tableau 2 : Tableau récapitulatif des moyens de diagnostic de l'herpèsvirose canine en pratique vétérinaire quotidienne (Legault 2007).

* : Chien mâle : seule la PCR positive dans le sperme indique que le chien est contaminant. La sérologie positive indique que le chien est porteur du virus, mais rien n'indique qu'il soit excréteur au moment où le prélèvement a été effectué.

** : Chienne en chaleurs : le virus risquant de sortir de latence au moment des chaleurs (période à risque), il est préférable d'attendre la fin des chaleurs ou tout au moins une semaine pour pouvoir éventuellement le retrouver dans les voies génitales ou les amygdales.

Prophylaxie médicale

Un vaccin (Eurican Herpes®) destiné à protéger les nouveau-nés contre l'herpèsvirose néonatale existe en Europe. Produit à partir d'éléments de la capsid virale, il présente une innocuité parfaite pour les fœtus. Même administré de façon répétée à des doses supérieures à celles recommandées, il n'a montré aucun effet indésirable sur le taux de gestation, son déroulement ou sur la survie des chiots avant le sevrage.

Il doit être administré à la chienne gestante, afin d'augmenter de façon importante le taux d'anticorps neutralisants dans son colostrum. La vaccination s'effectue en deux injections à un mois d'intervalle. La première est effectuée au moment des chaleurs ou dans les sept jours qui suivent la fin de celles-ci, la seconde environ de 15 à 10 jours avant la date présumée du terme. Ce protocole permet de conférer une protection complète des chiots de la portée vis-à-vis de l'herpèsvirus. Lors d'une épreuve virulente, Poulet *et al.* (2001) rapportent la mort de 62% des chiots de mères non vaccinées, alors que tous les chiots issus du groupe de mères vaccinées sont restés en vie et qu'aucun n'a montré de signes cliniques, à l'exception d'un écoulement nasal modéré. Des résultats du même ordre ont été obtenus plus récemment (Pravieux *et al.* 2007).

Par contre, l'immunité conférée étant de courte durée (Schultz 2006), il est indispensable de vacciner les mères à chaque gestation en milieu potentiellement contaminé, lorsque de nombreux chiens séropositifs sont présents dans un élevage.

Les essais cliniques ont également montré une amélioration de la fertilité dans les élevages vaccinés, ce qui semble indiquer un effet protecteur du vaccin même pendant la gestation. La fertilité a ainsi été suivie avant et après vaccination dans sept élevages contaminés par le CHV-1 et souffrant de troubles de la reproduction (Poulet *et al.* 2001). Dans chacun des élevages, des chiennes ont été vaccinées et d'autres non, selon un choix aléatoire. Pour l'ensemble des élevages, les résultats du groupe vacciné (n=61) ont été comparés à ceux du groupe témoin (n=28): les taux de gestation ont été respectivement de 82% et de 67,9 % et la prolificité moyenne, de 5,06 contre 3,86 chiots, avec une tendance à l'amélioration des taux de fertilité et de la prolificité (p=0,11). Le taux de mortalité entre la naissance et le sevrage est significativement plus bas (p<0,01) dans le groupe vacciné (11,4%) que dans le groupe témoin (27,7%). L'organisme des tous jeunes chiots, ayant moins souffert de l'atteinte herpétique, se défendrait mieux contre les autres infections virales et/ou bactériennes.

En outre, dans une même race, le poids des chiots à la naissance issus de mères vaccinées est plus important, ce qui contribuerait à augmenter leurs chances de survie. Ainsi, dans un effectif de chiots Yorkshire, ceux nés de mères vaccinées (n=22) ont montré un poids moyen à la naissance significativement plus élevé (p=0,02) de 124 ± 53 grammes contre 85 ± 36 grammes

pour ceux nés de mères non vaccinées (n=14) (Poulet *et al.* 2001). Il est vraisemblable que, chez les chiennes gestantes vaccinées, le placenta, protégé de l'infection virale, se développe et permet la croissance des fœtus jusqu'à un poids normal à la naissance.

Afin de minimiser d'éventuels phénomènes inflammatoires ou allergiques, des précautions sont prises par le fabricant à l'occasion de toutes les étapes de l'élaboration du vaccin:

- la culture virale est réalisée sur des milieux dépourvus de substances d'origine animale, ce qui minimise les réactions allergiques ou toxiques associées ;
- le virus est inactivé ;
- les protéines non spécifiques sont séparées du contenu antigénique par purification, ce qui diminue notamment les risques de phénomènes allergiques ;
- l'adjuvant a montré une parfaite tolérance.

Pour les portées très à risque et/ou dans les pays où la vaccination n'est pas possible, la sérothérapie à l'aide de sérums recueillis chez des chiennes présentant un haut titre en anticorps est une alternative intéressante (Nauwynck 2010). L'administration en une seule fois par voie sous-cutanée d'un à quatre millilitres de sérum ou par voie intra-péritonéale d'un à deux millilitres, suivant la taille de la race, serait suffisante pour protéger les nouveau-nés pendant les trois premières semaines de vie. Aucune banque de sérums n'existe cependant à ce jour à notre connaissance.

CONCLUSION

L'herpèsvirose canine est une maladie extrêmement répandue chez les chiens dans le monde entier, que ce soit en élevage ou chez les particuliers. Son pouvoir pathogène est reconnu. Pourtant, elle est encore trop souvent méconnue par les vétérinaires européens, alors que son diagnostic est désormais plus facile et que sa prévention peut être réalisée simplement grâce à des mesures d'hygiène de bon sens et grâce à la vaccination des chiennes gestantes.

Sur le plan de l'élevage, tout laisse à penser que très peu d'élevages canins, grands ou petits, sont indemnes de CHV-1. Si tel est le cas, lorsque par exemple tous les animaux sont séronégatifs, il sera utile de vacciner les chiennes gestantes. Si tous les chiens sont séropositifs, l'utilité de la vaccination est controversée car les chiennes transmettront à leurs chiots un fort taux d'anticorps neutralisants protecteurs. Lorsque des animaux séropositifs côtoient des animaux séronégatifs dans le même élevage, la situation devient « explosive » : il est alors utile de vacciner les chiennes séronégatives pour éviter une activation du virus latent au cours de la gestation et une infection néonatale de la portée (Nauwynck 2010).

BIBLIOGRAPHIE

- Bassu, G. & Marseloo, N. 2004. Observation clinique : herpès-virose et mortalité néonatale chez une chienne. *Le nouveau praticien vétérinaire* 135 : 47-49.
- Carmichael, L. 2004. Neonatal viral infections of pups: canine herpesvirus and minute virus of canines. In *Recent advances in canine infectious diseases*. www.ivis.org.
- Carmichael, L.E., Barnes, F.D., Percy, D.H. 1969. Temperature as a factor of resistance of young puppies to canine herpesvirus. *J Infect Dis*. 120: 669-678.
- Carter G.R., Wise D.J., Flores E.F. 2006. Herpesviridae. In *A concise review of veterinary virology*. www.ivis.org.
- Dahlbom, M., Johnsson, M., Myllys, V., Taponen, J., Andersson, M. 2009. Seroprevalence of canine herpesvirus-1 and *Brucella canis* in Finnish breeding kennels with and without reproductive problems. *Reprod Dom Anim*. 44: 128-131.
- Decaro, N., Martella, V., Buonavoglia, C. 2008. Canine adenoviruses and Herpesvirus. *Vet Clin Small Anim*. 38: 799-814.
- De Ratuld, Y. & Werner, G.H. 1965. Isolement d'un agent infectieux de nature virale à partir de culture "in vitro" de cellules rénales de chien. Caractéristiques biologiques et pouvoir pathogène pour le chien. *Proc Acad Sciences Paris* 261: 5725-5728.
- Grandchamp, G. 1998. *Diagnostic de l'herpès-virose en élevage canin*. Thèse Méd. Vét., Lyon; 101 pages.
- Guigal, P.M., Fontbonne, A., Buff, S., Vincetti, M., Thévenet, F., Pavlowicz, S., Malandain, E., Guiot, A.L., Grandjean, D., Poulet, H. 2002. Prevalence of antibodies against Canine Herpes Virus in French breeding kennels. In *Proceedings of the Congress of the European Veterinary Society for Small Animal Reproduction*. p.132. Liège, Belgium.
- Hashimoto, A., Hirai, K., Yamaguchi, T., Fujimoto, Y. 1982. Experimental transplacental infection of pregnant dogs with canine herpesvirus. *Am J Vet Res*. 43: 844-850.
- Hashimoto, A., Hirai, K., Yamaguchi, T., Fujimoto, Y. 1983. Experimental transplacental transmission of canine herpesvirus in pregnant bitches during the second trimester of gestation. *Am J Vet Res*. 44: 610-614.
- Legault, P. 2007. *Le diagnostic de l'herpès-virose canine en élevage : sérologie ou PCR ? Bilan des données de bibliographie dans les différentes espèces*. Thèse Méd. Vét. Alfort ; 72 pages.
- Nauwynck, H. 2010. Canine herpesvirus 1-infections in dogs: truth and lies. In *Proceedings of the Congress of the European Veterinary Society for Small Animal Reproduction*. pp. 47-49. Louvain la Neuve, Belgium.
- Poulet, H., Guigal, P.M., Soulier, M., Leroy, V., Fayet, G., Minke, J., Chappuis, G. 2001. Protection of puppies against canine herpesvirus by vaccination of the dams. *Vet Rec*. 148: 691-695.
- Pravieux, J.J., Poulet, H., Charreyre, C. Juillard, V. 2007. Protection of newborn animals through maternal immunization. *J Comp Path*. 137: S32-S34.
- Reading, M.J. & Field, H.J. 1998. A serological study of canine herpesvirus 1-infection in the English dog population. *Arch Virol*. 143: 1477-1488.
- Ronsse, V., Poulet, H., Versteegen, J., Thiry, E. 2003. L'herpès-virose canine. *Ann Méd Vét.*, 147 : 65-76
- Ronsse, V., Versteegen, J., Onclin, K., Farnir, F., Poulet, H. 2004. Risk factors and reproductive disorders associated with canine Herpesvirus-1 (CHV-1). *Theriogenology* 61: 619-636.
- Ronsse, V., Versteegen, J., Thiry, E., Onclin, K., Aeberlé, C., Brunet, S., Poulet, H. 2005. Canine Herpesvirus-1 (CHV-1): clinical, serological and virological patterns in breeding colonies. *Theriogenology* ; 64 : 61-74.
- Schultz, R.D. 2006. Duration of immunity for canine and feline vaccines: a review. *Vet Microbiol*. 117: 75-79.
- Spertzel, R.O., Huxsoll, D.L., McConnell, S.J., Binn, L.N., Yager, R.H. 1965. Recovery and characterization of a herpes-like virus from dog kidney cell cultures. *Proc Soc Exp Biol Med*. 120 : 651-655.
- Stewart, S.E., Ferreira, D., Lovelace, J. Landon, J. 1965. Herpes-like virus isolated from neonatal and fetal dogs. *Science* 148, 1341-1343.
- Thébault, A. 2004. Prophylaxie de l'herpès-virose en élevage canin. *Le Point Vétérinaire*. 245 : 18-23 (mai 2004).
- Thiry E. 2006. Canine Herpesvirus infection. In *Clinical Virology of the dog and cat*. pp. 49-56. Le Point Vétérinaire.
- Versteegen, J., Dhaliwal, G., Versteegen-Onclin, K. 2008. Canine and feline pregnancy loss due to viral and non-infectious causes: a review. *Theriogenology* 70: 304-319.