

Exposé zur Studie

## **„Vorkommen von CHV-1 bei Hunden mit Konjunktivitis, Keratitis und normalen Augenbefunden“**

Lisa Jordan, J. Corinna Eule

Klinik für kleine Haustiere, Freie Universität Berlin

### **Einleitung**

Das Canine Herpesvirus 1 (CHV-1) gehört zu den Alphaherpesviren und wird dem Genus des Varicellovirus zugeordnet [1, 2, 3]. Das Virus kommt weltweit bei den domestizierten und wilden Hunden vor [4, 2, 5]. Die Seroprävalenz wird in vielen Quellen als hoch beschrieben [6-12] und abhängig von der jeweiligen Hundepopulationen sind 39 - 93% der Tiere latent infiziert [12-19]. Nach den deutschen Impfleitlinien liegt die Seroprävalenz einer caninen Herpesvirusinfektion in Deutschland bei 20-30% [20].

Der Verlauf der Infektion mit der Schwere der Symptome ist abhängig vom Alter der Patienten. Eine primäre Infektion mit CHV-1 von Föten oder Neonaten führt zu einer schweren systemischen Erkrankung mit hämorrhagischen Nekrosen der Organe und Meningoenzephalitis, welche häufig zum Tod der Tiere führt [21, 22]. Eine primäre Infektion von adulten Tieren zeigt häufig einen subklinischen Verlauf bzw. ist lokal auf den Respirationstrakt, den Genitaltrakt oder die Mukosa begrenzt [4, 9, 23, 24]. Am Auge wurde bei natürlichen und experimentell induzierten CHV-1 Infektionen bei erwachsenen, domestizierten Hunden Konjunktivitis, Ulzeration der Konjunktiven, dendritische und geografische ulzerative Keratitis und nicht-ulzerative Keratitis als Hauptsymptome identifiziert [4,8,21,25-29]. Die dendritischen Läsionen sind pathognomonisch assoziiert mit einer Alphaherpesviren Infektion [8, 36] und entstehen durch die virale Replikation in der Basalzellschicht des Hornhautepithels [8, 37]. Weitere unspezifische Symptome der Infektion können Epiphora, mukoider bis purulenter Augenausfluss, Blepharospasmus, Blepharitis und Photophobie sein [4, 8, 21,25-27]. Die auftretenden Läsionen können sowohl uni-, als auch bilateral sein [4, 8, 21, 26,28]. Der Nachweis der Läsionen kann mittels Fluoreszein-, Rose Bengal- oder Lissamingrün-Farbstofftest erfolgen [4, 8, 26,30].

Das Canine Herpesvirus 1 ist antigenetisch und biologisch mit anderen Alphaherpesviren einschließlich des Herpes Simplex Virus-1 und dem Felinen Herpesvirus-1 verwandt [4, 38-40, 41]. Von Herpesviren ist bekannt, dass sie die Eigenschaft haben eine lebenslange Latenz in ihren Wirten zu bilden, in dem sie sich in die regionalen Lymphknoten oder sensorischen Neuronen zurückziehen [8, 15, 31,32-34].

### **Ziel der Studie**

Das Ziel der Studie ist es, Hunde in ganz Deutschland mit Symptomen wie Konjunktivitis und/oder Keratitis, sowie gesunde Hund zu beproben und auf das Canine Herpesvirus-1 zu testen.

## **Material und Methode**

Prospektiv werden Deutschlandweit Proben von Hunden entnommen und auf das Vorkommen von CHV-1 getestet.

Es werden drei Gruppen gebildet werden:

- Gruppe 1** gesunde Tiere  
(z.B. vorgestellt zur Impfung oder DOK-Zuchtuntersuchung)
- Gruppe 2** Hunde mit Konjunktivitis  
(aber STT > 15 mm/Min, da nicht KCS-Patienten beprobt werden sollen)
- Gruppe 3** Hunde Keratitis  
(z.B. ulzerative und/oder nicht ulzerative Keratitis, uni- oder bilateral, ohne eindeutig Traumaanamnese, keine KCS)

Finanziell ermöglicht wird die Studie durch eine Förderung der Fortbildungsgemeinschaft Veterinär Ophthalmologie (FVO) und Frau Dr. Müller (Laboklin, Bad Kissingen). Es können 40 Tiere je Gruppe untersucht werden.

### **Einschlusskriterien**

- Hunde bis 10 Jahre
- Schirmer-Tränentest >15mm/min
- Hund muss seit mindestens einem halben Jahr in Deutschland leben
- Hund darf geringgradige systemische Erkrankungen haben; diese sollten gut kontrolliert bzw. therapiert sein

### **Ausschlusskriterien**

- Hunde älter als 10 Jahre
- Schirmer-Tränentest <15mm/min
- Hund lebt noch kein halbes Jahr in Deutschland
- Hund ist hochgradig, akut systemisch erkrankt
- aus dem gleichen Haushalt wurden bereits 2 Hunde beprobt

## **Untersuchungsgang**

### **a) Anamnese**

Zuerst erfolgt die Aufnahme von Informationen über den Patienten durch eine ausführliche Befragung der Patientenbesitzer. Die für unsere Studie benötigten Informationen werden mittels eines Anamnesebogens erhoben. Diesen Anamnesebogen finden Sie im Anhang.

### **b) Adspektion**

Die Patienten werden optisch begutachtet. Hierbei wird auf Augenausfluss und Symmetrie der Augen geachtet, sowie eventuell auftretende Rötungen, Schwellungen und/oder Verletzungen notiert.

### **c) Reflexe**

Es werden die Drohantwort, der Blendreflex, sowie der direkte und indirekte Pupillarreflex getestet und bewertet.

### **d) Schirmer-Tränentest**

Der Schirmer Tränentest ist ein nicht-invasives Verfahren diagnostischer Art und wird zur semi-quantitativen Bestimmung der von den Tränendrüsen produzierten Menge an Tränenflüssigkeit eingesetzt [35]. Dazu wird ein genormter Teststreifen in das untere Augenlid zwischen Bindegewebe und Hornhaut eingehängt und die davon aufgesogene Tränenmenge (in mm) nach 60 Sekunden abgelesen.

### **e) Probenentnahme**

Die Probenentnahme für eine bakteriologische Untersuchung erfolgt ohne lokale Anästhesie an beiden Augen aus dem Konjunktivalsack unter Verwendung je eines handelsüblichen BU-Tupfers. Der Tupfer kann trocken oder mit steriler physiologischer Kochsalzlösung angefeuchtet verwendet werden und wird nach Entnahme in ein reguläres Transportmedium verbracht und versandt.

Die Probenentnahme für die Herpesvirus PCR erfolgt unter lokaler Anästhesie (z.B. Conjuncaïn® oder Novesine®) an einem oder beiden Augen aus dem Konjunktivalsack jeweils mit einem „Cytobrush“ (z.B. Abstrichbürste „Cytobrush“ Henry Schein). Dieser wird in einem trockenen verpackungssterilen Röhrchen ohne Medium versandt.

Bei *gesunden Tieren (Gruppe 1)* werden beide Augen beprobt und beide Cytobrushes gemeinsam in einem Röhrchen (gepooled) versandt und untersucht.

Bei den *erkrankten Tieren (Gruppe 2 oder 3)* wird ein Auge beprobt, wenn das Tier einseitig erkrankt ist bzw. beide Augen beprobt, wenn das Tier bilateral erkrankt ist. In diesem Falle werden die Proben NICHT gepooled (jede Probe wird in einem separaten Röhrchen versandt.).

Das zu verwendende Antragsformular liegt als separates pdf zum Ausdruck vor.

Der Probenversand sollte zeitnah per Kurier (soweit ein regulärer Abholservice besteht) oder Postweg erfolgen. Eine spezielle Kühlung der Proben ist nicht notwendig.

### **f) Spaltlampenuntersuchung/ Untersuchungslampe**

Die Spaltlampenbiomikroskopie bzw. die Untersuchung mit der Untersuchungslampe gehört zu den Standardverfahren bei der Untersuchung der vorderen Augenabschnitte. Diese Untersuchungsmethoden ermöglichen eine direkte Betrachtung und Detektion von Läsionen an Augenlidern, Bindehäuten, Sklera, Hornhaut, vorderen Augenkammer, sowie Iris und Linse.

Fehlgestellte Wimpern (Distichien), ektopische Zilien, minimale Hornhautverletzungen, sowie stromale Hornhautentzündungen können sicher mit einer Spaltlampenuntersuchung diagnostiziert werden [35].

### **g) Fluoreszeintest**

Die Fluoreszeinprobe dient zum Detektieren von Hornhautdefekten [42]. Dabei wird dem Hund je ein Tropfen einer fluoreszierenden Flüssigkeit in beide Augen geträufelt bzw. die Konjunktiva sanft mit dem Teststreifen berührt. Dann werden die Augen mit physiologischer Kochsalzlösung gespült. Mit Hilfe des Blaulichts aus einer Spaltlampe oder der Untersuchungslampe wird die Augenoberfläche genau betrachtet und auf Schäden untersucht.

## h) Lissamingrün-Test

Der Lissamingrün-Test wird ebenfalls zur Detektion von Hornhautepitheldefekten eingesetzt, um kleinere Schädigungen und abgestorbene Zellen der Hornhaut sichtbar zu machen [65]. Die Durchführung der Untersuchung ist identisch mit der oben beschriebenen Fluoreszeinprobe.

## i) Tonometrie

Je nach Praxisausstattung wird eine Augeninnendruckmessung durchgeführt. Die Augeninnendruckmessung erfolgt mit einem einem Rückstoß-Tonometer (TonoVet®) oder einem Applanationstonometer (Tono-Pen®).

## Literaturverzeichnis

- 1) Selbitz HJ, Truyen U, Valentin-Weigand P [Hrsg.], 2010: Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. Enke Verlag Stuttgart, 9. Auflage, 440-444
- 2) Rémond M, Sheldrick P, Lebreton F, Nardeux P, Foulon T, 1996: Gene organization in the UL region and inverted repeats of the canine herpesvirus genome. *Journal of General Virology*, 77, 37-48
- 3) ICTV. International Comitee on Taxonomy of Viruses. Virus Taxonomy: 2015. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
- 4) Ledbetter EC, Riis RC, kern TJ, Haley NJ, Schatzberg SJ, 2006: Corneal ulceration associated with naturally occurring canine herpesvirus-1 infection in two dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 229, 376-384
- 5) Davidson WR, Appel MJ, Doster GL, Baker OE, Brown JF, 1992: Diseases and parasites of red foxes, gray foxes, and coyotes from commercial sources selling to fox-chasing enclosures. *Journal of Wildlife Diseases*. 28(4). 581-589
- 6) Ronse V, Versteegen J, Thirny E, Onclin K, Aeberle C, Brunet S, Poulet H, 2005: Canine herpesvirus-1 (CHV-1): clinical, serological and virological patterns in breeding colonies. *Theriogenology* 64, 61-74
- 7) Reading MJ, Field HJ, 1998: A serological study of canine herpes virus-1 infection in the English dog population. *Arch Virol* 143, 1477-1488
- 8) Gervais KJ, Pirie CG, Ledbetter EC, Pizzirani S, 2012: Acute primary canine herpesvirus-1 dendritic ulcerative keratitis in an adult dog. *Veterinary Ophthalmology*, 15, 133-138
- 9) Rijsewijk FAM, Luiten EJ, Daus FJ, van der Heijden RW, van Oirschot JT, 1999: Prevalence of antibodies against canine herpesvirus 1 in dogs in The Netherlands in 1997-1998. *Veterinary Microbiology* 65, 1-7
- 10) Ledbetter EC, Kim SG, Dubovi EJ, Bicalho RC; 2009: Experimental reaction of Lenten canine herpesvirus-1 and induction of recurrent ocular disease in adult dogs. *Veterinary Microbiology* 138, 98-105
- 11) Reading MJ, Field HJ, 1999: Detection of high levels of canine herpes virus-1 neutralising antibody in kennel dogs using a novel serum neutralization test. *Research in Veterinary Science*, 66, 273-275
- 12) Krogeneas A, Rootwelt V, Larsen S, Sjöberg EK, Akselsen B, Skar TM, Myhre SS, Renström LHM, Klingeborn B, Lund A, 2012: A serologic study of canine herpes virus-1 infection in the Norwegian adult dog population. *Theriogenology* 78, 153-158
- 13) Percy DH, Carmichael LE, Albert DM, King JM, Jonas AM, 1971: Lesions in puppies surviving infection with canine herpesvirus. *Vet Path*, 8, 37-53
- 14) Rijsewijk FAM, Luiten EJ, Daus FJ, van der Heijden RW, van Oirschot JT, 1999: Prevalence of antibodies against canine herpesvirus 1 in dogs in The Netherlands in 1997-1998. *Veterinary Microbiology* 65, 1-7
- 15) Burr PD, Campbell MEM, Nicolson L, Onions DE, 1996: Detection of Canine Herpesvirus 1 in a wild range of tissue using polymerase chain reaction. *Veterinary Ophthalmology* 53, 227-237
- 16) Nöthling JO, Hüsey D, Steckler D, Ackermann M, 2008: Seroprevalence of canine herpesvirus in breeding kennels in the Gauteng Province of South Africa. *Theriogenology* 65, 276-282
- 17) Ronse V, Versteegen J, Onclin K, Guiot AL, Aeberle C, Nauwynck HJ, Poulet H, 2002: Seroprevalence of canine herpesvirus-1 in the Belgian dog population in 2000. *Reprod Dom Anim* 37, 299-304
- 18) Yesilbag K, Yalcin E, Yilmaz Z, 2012: Seroprevalence of canine herpesvirus-1 in Turkish dog population. *Research in Veterinary Science* 92, 36-39
- 19) Dahlbom M, Johnsson M, Myllys V, Taponen J, Andersson M, 2009: Seroprevalence of Canine Herpesvirus-1 and *Brucella canis* in Finnish breeding kennels with or without reproductive problems. *Reprod Dom Anim* 44,128-131
- 20) Truyen U, Straubingen R, Osterrieder K, Bastian M, 2017: Die aktualisierten Impfleitlinien für Kleintiere und Pferde. Die ständige Impfkommission Veterinärmedizin informiert. *Deutsches Tierärzteblatt* 65(4), 458-464

- 21) Evermann JF, Ledbetter EC, Maes RK, 2011: Canine reproductive, respiratory, and ocular diseases due to canine herpesvirus. *Vet Clin Small Anim* 41, 1097-1120
- 22) Hashimoto A, Hirai K, Yamaguchi T, Fujimoto Y, 1982: Experimental transplacental infection of pregnant dogs with canine herpesvirus. *Am J Vet Res.* 43(5), 844-50
- 23) Hashimoto A, Hirai K, Fukushi H, Fujimoto Y, 1983: The vaginal lesions of a bitch with a history of canine herpesvirus infection. *Jpn. Vet. Sci.* 45 (1),123-126
- 24) Erles K, Dubovi EJ, Brooks HW, Brownlie J, 2004: Longitudinal study of viruses associated with canine infectious respiratory disease. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol 42, No 10, 4524-2529
- 25) Ledbetter EC, Dubovi EJ, Kim SG, Maggs DJ, Bicalho RC, 2009: Experimental primary ocular canine herpesvirus-1 infection in adult dogs. *Am J Vet Res*, 70, 513-521
- 26) Ledbetter EC, Kim SG, Dubovi EJ, 2009: Outbreak of ocular disease associated with naturally-acquired canine herpesvirus-1 infection in closed domestic dog colony. *Veterinary Ophthalmology* 12, 4, 242-247
- 27) Ledbetter EC, Hornbuckle WE, Dubovi EJ, 2009: Virologic survey of dogs with naturally acquired idiopathic conjunctivitis. *J Am Vet Med Assoc*, 235, 954-959
- 28) Ledbetter EC, Kice NC, Matusow RB, Dubovi EJ, Kim SG, 2010: The effect of topical ocular corticosteroid administration in dogs with experimentally induced latent canine herpesvirus-1 infection. *Experimental eye research*, 90, 711-717
- 29) Malone EK, Ledbetter EC, Rassnick KM, Kim SG, Russell D, 2010: Disseminated canine herpesvirus-1 infection in an immunocompromised adult dog. *J Vet Intern Med*, 24, 965-968
- 30) Ledbetter EC, Kim K, Dubovi EJ, Mohammed HO, Felipe MJB, 2016: Clinical and immunological assessment of therapeutic immunization with a subunit vaccine of recurrent ocular canine herpesvirus-1 infection in dogs. *Veterinary Microbiology* 197, 102-110
- 31) Percy DH, Carmichael LE, Albert DM, King JM, Jonas AM, 1971: Lesions in puppies surviving infection with canine herpesvirus. *Vet Path*, 8, 37-53
- 32) Myoshi M, Ishii Y, Takiguchi M, Takada A, Yasuda J, Hashimoto A, Okazaki K, Kida H, 1999: Detection of Canine Herpesvirus DNA in the ganglionic neurons and the lymph node lymphocytes of latently infected dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 61(4), 375-379
- 33) Okuda Y, Ishida K, Hashimoto A, Yamaguchi T, Fukuchi H, Hirai K, Carmichael LE, 1993: Virus reactivation in bitches with a medical history of herpesvirus infection. *Am J Vet Res.* 54(4), 551-554
- 34) Ohmura Y, Ono E, Matsuura T, Kida H, Shimizu Y, 1993: Detection of feline herpesvirus 1 transcripts in trigeminal ganglia of latently infected cats. *Arch Virol* 129, 341-347
- 35) Ollivier FJ, Plummer CE, Barrie KP, 2007: Ophthalmic Examination and Diagnostics In: Gelatt, K.N. (Ed.) *Veterinary Ophthalmology*. Blackwell Publishing, Gainesville, 438-483
- 36) Nasisse MP, Guy JS, Davidson MG, Sussman WA, Fairley NM, 1989: Experimental ocular herpesvirus infection in cat. Sites of virus replication, clinical features and effects of corticosteroid administration. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, Vol. 30, No.8, 1758-1768
- 37) Andrew SE, 2001: Ocular manifestations of feline herpesvirus. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 3, 9-16
- 38) Manning A, Buchan A, Skinner GRB, Durham J, Thompson H, 1988: The immunological relationship between canine herpesvirus and four other herpesviruses. *J. gen. Virol.*, 69, 1601-1608
- 39) Limcumpao JA, Horimoto T, Xuan X, Takahashi E, Mikami T, 1990: Immunological relationship between feline herpesvirus type 1 (FHV-1) and canine herpesvirus (CHV) as revealed by polyvalent and monoclonal antibodies. *Arch Virol* 111, 165-176
- 40) Rota PA, Maes RK, 1990: Homology between feline herpesvirus-1 and canine herpesvirus. *Arch Virol* 115, 139-145
- 41) Tack SG, Studdert MJ, Johnson MA, 1997: Nucleotide sequence of canine herpesvirus homologues of herpes simplex virus type 1 US2, US3, Glycoproteins I and E, US8.5 and US9 genes. *DNA Sequence-The Journal of Sequencing and Mapping*, Vol.7(6), 365-368
- 42) Moore PA, 2001: Examination techniques and interpretation of ophthalmic findings. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 16, 1-12

**Kontakt Daten:**

Klinik für kleine Haustiere  
 Freie Universität Berlin  
 Oertzenweg 19b  
 14163 Berlin

Telefon: +49 30 - 838 62422 und 62356  
 Fax: +49 30 - 838 460 157  
 e-mail: kleintierklinik@vetmed.fu-berlin.de