

Gebruik van antivirale middelen in de diergeneeskunde

The use of antiviral drugs in veterinary medicine

A. De Vleeschauwer, D. Lefebvre, K. De Clercq

Operationele Directie Virale Ziekten, Eenheid Vesiculeuze en Exotische Ziekten,
Centrum voor Onderzoek in de Diergeneeskunde en Agrochemie (CODA-CERVA),
Groeselenberg 99, 1180 Ukkel

Annebel.DeVleeschauwer@coda-cerva.be

SAMENVATTING

De interesse voor het gebruik van antivirale geneesmiddelen in de diergeneeskunde neemt duidelijk toe. Tot op heden blijft de behandeling van virale infectieziekten in de diergeneeskunde beperkt tot het gebruik van enkele humane geneesmiddelen bij gezelschapsdieren, maar de ontwikkeling van specifieke diergeneeskundige middelen is aan de gang. Ook in de sector van de nutsdieren, waar virale infectieziekten kunnen leiden tot grote economische verliezen, is er toeneemende interesse voor het gebruik van antivirale geneesmiddelen. De toediening van geneesmiddelen aan voedselproducerende dieren stelt echter specifieke eisen met betrekking tot farmacokinetiek, de uitwerking van maximale residulimieten (MRLs) en wachttijden, alsook (eco)toxiciteit. Ervaringen uit de humane geneeskunde leren dat de therapeutische doeltreffendheid van antivirale middelen soms negatief beïnvloed wordt door het ontstaan van minder gevoelige (resistente) virusvarianten. Bij de ontwikkeling van nieuwe antivirale producten is het dus van uitermate belang rekening te houden met de kans op antivirale resistentieontwikkeling. Dit is zeker het geval wanneer er wordt gedacht aan de grootschalige toepassing in de diergeneeskunde. In dit artikel wordt een korte inleiding gegeven over antivirale resistentieontwikkeling. Daarnaast wordt voor de meest voorkomende virale ziekten bij huisdieren een literatuuroverzicht gegeven van de mogelijke behandeling met chemische antivirale moleculen waarbij specifiek aandacht wordt besteed aan de beschikbare gegevens over antivirale resistentieontwikkeling. Het aantal studies over de effectiviteit van (humane) antivirale middelen tegenover diervirussen is beperkt en klinisch onderzoek limiteert zich meestal tot de werkzaamheid en toxiciteit. Er is een gebrek aan wetenschappelijke gegevens omtrent de dosering en de kans op resistentieontwikkeling van antivirale producten voor gebruik bij dieren. De bestrijding van virale dierziekten door middel van een antivirale therapie lijkt omwille van verschillende redenen aanlokkelijk, maar er is nog veel onderzoek vereist om tot een verantwoorde praktische toepassing te komen.

ABSTRACT

There is an increasing interest in the use of antiviral agents for the treatment of viral infections in animals. To date, the veterinary clinical use of antiviral drugs has mainly been limited to the application of drugs developed for humans in companion animals. However, the research and development of antiviral drugs against specific animal viruses are ongoing. The interest in the use of antiviral drugs is also growing in livestock farming, where viral infections often have a high economic and social impact. The development of drugs for food-producing animals in particular requires thorough knowledge of the pharmacokinetics and (eco) toxicity, for determining maximum residue limits (MRLs) and withdrawal periods. Experience gained from human medicine shows that the therapeutic efficacy of antiviral drugs may decrease with the emergence of less sensitive (resistant) virus variants. Therefore, the development of drugs with a high barrier to antiviral resistance, and especially for mass application in veterinary medicine, is very important. There are only a few studies on the efficacy of (human) antiviral drugs against animal viruses, and clinical trials are usually limited to efficacy and toxicity. There is a lack of scientific data on the dosage and risk of resistance development of antiviral products in animals. Control of viral diseases by means of an antiviral therapy appears to be attractive for multiple reasons, but a lot of research is required to achieve an appropriate practical application. This article provides a brief introduction on the development of antiviral resistance, and gives an overview of the literature on antiviral treatment options for the most common viral diseases in domestic animals, with specific attention to the available data on antiviral resistance development.

INLEIDING

Infectieziekten bij dieren worden in hoofdzaak veroorzaakt door virussen, bacteriën, schimmels en parasieten. Het onder controle houden van virale ziekten is vooral gericht op preventieve vaccinatie. Uitgebreide vaccinatiecampagnes zijn reeds nuttig gebleken voor het regionaal (bijvoorbeeld klassieke varkenspest) of wereldwijd (bijvoorbeeld runderpest) uitroeien van virale dierziekten (FAO 2011). Toch biedt vaccinatie niet steeds soelaas. In het beste geval bieden vaccins bescherming vanaf vier tot zeven dagen na vaccinatie. Er is met andere woorden een korte periode waarin gevaccineerde dieren toch nog gevoelig zijn voor virale infectie. Voor sommige virussen zijn er geen doeltreffende vaccins beschikbaar (bijvoorbeeld voor Afrikaanse varkenspest) of wordt hun gebruik – vaak om economische redenen – ingeperkt door wettelijke voorschriften. Daarenboven is het niet steeds mogelijk om een onderscheid te maken tussen gevaccineerde en geïnfecteerde dieren, wat vooral voor wettelijk bestreden ziekten problemen kan opleveren. Als alternatieve en/of aanvullende therapie kan een antivirale behandeling worden overwogen.

Hoewel er voor verschillende humane virussen reeds effectieve antivirale moleculen ontwikkeld zijn, wordt hun therapeutische doeltreffendheid soms negatief beïnvloed door het ontstaan van minder gevoelige virusvarianten. Dit is vooral van belang bij chronische virale ziekten, waarbij het antivirale middel langdurig of zelfs continu wordt toegediend. Deze verminderde gevoeligheid leidt op termijn niet enkel tot het falen van de therapie, maar kan ook een negatief effect hebben op de efficiëntie van daaropvolgende behandelingen door kruisresistentie tegenover moleculen met een gelijkaardig werkingsmechanisme of moleculair doelwit. Pogingen om de ontwikkeling van antivirale resistentie te voorkomen, leiden dikwijls tot een toename van de complexiteit (bijvoorbeeld combinatietherapie), toxiciteit en de kostprijs van een behandeling (Müller en Kräusslich, 2010).

Virussen zijn voor hun vermeerdering volledig afhankelijk van de gastheercel. Deze obligaate intracellulaire levenswijze leidt ertoe dat antivirale middelen specifiek op de virale vermeerdering moeten ingrijpen zonder schadelijk te zijn voor de gastheercellen. Bij de vermeerdering van het viraal genoom bedraagt de spontane mutatiegraad voor DNA-virussen gemiddeld één mutatie per 10^8 - 10^{11} nucleïne-zuren. Bij RNA-virussen is deze mutatiegraad veel hoger (één mutatie per 10^3 - 10^4 nucleïne-zuren) door het ontbreken van natuurlijke RNA-polymerase proefleesmechanismen (Ball, 2007). Vooral RNA-virussen bestaan zelden uit louter één enkele genetische samenstelling, maar komen voor als een populatie van genetisch nauw verwante varianten, i.e. een quasispecies. Dit zorgt ervoor dat er binnen een viruspopulatie reeds varianten met een verminderde gevoeligheid voor een welbepaald antiviraal middel aanwezig kunnen zijn (Müller en Kräusslich, 2010). Toch is antivirale resistentie meestal geen alles-of-niets-fenomeen. De aanwezigheid van

een antiviraal minder gevoelige variant betekent niet onmiddellijk dat er klinische resistentie en een falen van de therapie zullen optreden, maar het ondoordacht – en vaak langdurig – toedienen kan uiteindelijk leiden tot het uitselecteren van de antiviraal minder gevoelige variant. De snelheid waarmee de minder gevoelige variant de overhand kan krijgen in een viruspopulatie wordt beïnvloed door verschillende factoren waaronder (i) de werkzaamheid en de concentratie van het antivirale middel op de virusvermeerderingsplaats, (ii) de genetische resistentiebarrière of het aantal mutaties dat noodzakelijk is om tot een verminderde gevoeligheid te leiden en (iii) de virale fitheid of de vermeerderings- en verspreidingscapaciteit van de minder gevoelige variant (Müller en Kräusslich, 2010). Combinatietherapie kan bijdragen tot een stijging van de genetische resistentiebarrière. De kans dat er in een quasispecies reeds van nature varianten aanwezig zijn met meer dan één aminozuurmutatie die kan bijdragen tot een verminderde gevoeligheid, is zeer klein. De dominante populatie in een viraal quasispecies is die die het beste is aangepast aan vermeerdering binnen een bepaalde gastheer in bepaalde omstandigheden. Varianten met een verminderde gevoeligheid voor een bepaald antiviraal middel hebben heel vaak een verminderde virale fitheid vergeleken met “wild-type” varianten. Hun aandeel is meestal klein en staat in verhouding tot hun verminderde fitheid (Nijhuis et al. 2010). Wanneer de selectiedruk verandert door de toediening van een onvoldoende hoge concentratie van een antiviraal middel, dan ondervinden de minder gevoelige varianten een selectief voordeel en kunnen ze na verloop van tijd dominant worden in het behandelde individu. Omwille van de lagere fitheid verspreidt deze minder gevoelige variant meestal ook minder snel in de dierpopulatie dan de “wild-type” variant (Nijhuis et al., 2010).

Momenteel zijn er in Europa nog geen antivirale middelen geregistreerd voor diergeneeskundig gebruik. Het aantal studies van de effectiviteit van de humane antivirale middelen tegenover diervirussen is beperkt en het experimentele gebruik ervan is in de diergeneeskunde meestal gelimiteerd tot gezelschapsdieren (vaak katten) en paarden. Ondanks het feit dat virale infecties bij nutsdieren kunnen leiden tot grote economische verliezen, is er tot nog toe slechts weinig vooruitgang op het gebied van de ontwikkeling van antivirale middelen tegenover deze ziekten. Nochtans zou antivirale therapie een nuttige aanvulling of vervanging kunnen zijn van noodvaccinatie en/of massale ruiming in geval van epizoötische virusuitbraken van bijvoorbeeld het klassieke varkenspestvirus of het mond- en klauwzeervirus (Goris et al., 2008). Bovendien zou het gebruik van antivirale middelen een extra hulpmiddel kunnen zijn voor de bestrijding van moeilijk onder controle te houden uitbraken van exotische virussen waarvoor nog geen doeltreffend vaccin beschikbaar is.

Hoewel het probleem van antivirale resistentie in de diergeneeskunde zich hedentendage nog niet stelt, loont het toch de moeite reeds vooruit te blikken. Hieronder wordt een beknopt overzicht gegeven van de

meest voorkomende virale infectieziekten bij huisdieren en de beschikbare gegevens over de behandeling met chemische antivirale moleculen. Er wordt niet ingegaan op het specifieke management, de ondersteunende therapie of behandeling met immunomodulatorien (inclusief interferon).

GEZELSCHAPSDIEREN

Katten en honden

Voor de meest voorkomende virale katten- en hondenziekten zijn geattenueerde en/of geïnactiveerde vaccins beschikbaar. Afhankelijk van de immuniteitsstatus van de moeder kan de maternale immuniteit de jonge dieren beschermen tegen infecties tijdens de eerste negen tot twaalf levensweken. De maternale antistoffen interfereren echter met de opbouw van actieve immuniteit na vaccinatie. Daarnaast kan ook ziekte of stress interfereren met een goede immuniteitsopbouw na vaccinatie. De grootste problemen bij acute virale infecties worden dan ook gezien bij jonge dieren op het moment dat de maternale immuniteit laag is of afneemt. Bij een hoge infectiedruk kunnen virussen door de maternale immuniteit breken nog vóór de eerste vaccinatie wordt toegediend of ze kunnen door de vaccinatie-immuniteit breken. Om de infectiedruk onder controle te krijgen is vooral in catteries, kennels, pensions en asielen een goed management (scheiden van gevoelige dieren en uitscheiders, grondige reiniging en desinfectie) van primordiaal belang. Daarnaast zou ook antivirale therapie nuttig kunnen zijn om de infectiedruk te beperken.

Felien herpesvirus type 1

Het feliene herpesvirus type 1 (FHV-1) maakt samen met het feliene calicivirus (FCV) deel uit van het niesziektecomplex waarvoor multivalente vaccins bestaan. Acute FHV-1-geïnfecteerde dieren scheiden aanzienlijke hoeveelheden virus uit via oog-, neus- en mondsecreties. Na de acute fase kunnen dieren latent geïnfecteerd blijven ter hoogte van het ganglion trigeminale. Bij stresssituaties kunnen er reactivering en virusexcretie optreden, wat kan leiden tot het chronische snufflersyndroom. De meest bekende (humane) antiherpesmoleculen zijn de nucleoside analogen (aciclovir, valaciclovir, ganciclovir, valganciclovir, famciclovir) die geactiveerd worden door het viraal thymidine kinase en daardoor specifiek werkzaam zijn in herpes geïnfecteerde cellen. De incorporatie van een nucleoside analoog in de virale DNA-keten verhindert de voltooiing ervan. De nucleoside analogen cidofovir en foscarnet hebben een verschillend werkingsmechanisme en vertonen een selectief hogere activiteit voor virale dan voor cellulaire DNA-polymerasen, waardoor ook zij enkel werkzaam zijn tegen virussen die actief vermeerderen en niet tegen latente virussen. Een overzicht van de antivirale behandelingsmogelijkheden van FHV-1 wordt gegeven in Neirinckx et al. (2005). Aciclovir en valaciclovir hebben een zeer beperkte werkzaamheid tegenover

FHV-1 in vitro (Van der Meulen et al., 2006, Gaskell et al., 2007). In vivo is aciclovir slecht oraal biobeschikbaar en vaak toxisch aan therapeutische doses. De betere biobeschikbaarheid van valaciclovir gaat gepaard met een toename van de toxiciteit (beenmergsuppressie, lever- en niertoxiciteit) (Owens et al., 1996, Nasisse et al., 1997). Bovendien verhindert de toediening van valaciclovir aan experimenteel FHV-1-geïnfecteerde katten de virusexcretie niet (Nasisse et al., 1997). De topicale toepassing van aciclovir omzeilt de toxiciteitsproblematiek en draagt bij tot een snellere healing van FHV-1-geassocieerde conjunctivitis en keratitis, mits een intensieve behandeling (vijfmaal daags) (Williams et al., 2005). Ganciclovir en cidofovir vertonen in-vitro-efficaciteit tegenover FHV-1, maar klinische gegevens ontbreken voornamelijk (Maggs et al., 2004; Sandmeyer et al., 2005; Van der Meulen et al., 2006, Gaskell et al., 2007; Hussein et al., 2008; Malik et al., 2009). Famciclovir – prodrug van penciclovir – is zowel in vitro als in vivo actief (Maggs et al., 2004, Thomasy et al., 2011). De perorale toediening van famciclovir resulteert in een klinische verbetering van oogletsels, verminderde neusvloeiing, niezen en FHV-1-geassocieerde dermatitis. Daarenboven wordt deze molecule goed verdragen (Maggs et al., 2004, Thomasy et al., 2011). Penciclovirresistente FHV-1-varianten kunnen worden geïsoleerd na vier in vitro seriële passages in stijgende concentraties van penciclovir. Door mutaties in het viraal thymidine kinase zijn deze varianten ook minder gevoelig (kruisresistentie) voor ganciclovir maar niet voor cidofovir (Hussein et al., 2008). Over antivirale resistentieontwikkeling van FHV-1 bij katten zijn momenteel nog geen gegevens beschikbaar. Uit studies van het verwante humane herpes simplexvirus blijkt resistentie tegenover nucleoside analogen echter geen uitgesproken probleem te zijn (Christophers et al., 1998). Cidofovir en foscarnet behouden ook hun activiteit tegenover aciclovir- en ganciclovirresistente humane cytomegalovirussen (HCMV). Er zijn echter wel mutaties beschreven in het virale DNA-polymerase van HCMV die leiden tot een verminderde gevoeligheid voor cidofovir of foscarnet (Erice et al., 1997; Lurain en Chou, 2010; Piret en Boivin, 2011).

Felien calicivirus

Acute met het feliene calicivirus (FCV) geïnfecteerde dieren scheiden tot dertig dagen na infectie grote hoeveelheden virus uit via oog-, neus- en mondsecreties. In een minderheid van de gevallen kan FCV na de acute fase ook persisteren ter hoogte van de keelstreek en op die manier continu worden uitgescheiden. Dit zorgt ervoor dat FCV zich kan handhaven in kattenpopulaties in afwezigheid van acute geïnfecteerde katten. Vaccinatie tegen FCV voorkomt oro-respiratoire ziekteontwikkeling maar verhindert infectie –al dan niet met ontwikkeling van dragerstatus– niet. Recent werd in de VSA melding gemaakt van hoogvirulente FCV-stammen die leiden tot een veralgemeende infectie en in verband worden gebracht met

hemorragische koorts. Er werden ook gevallen vermoed in het Verenigd Koninkrijk en Frankrijk. Vaccinatie met de klassieke vaccins blijkt niet effectief te zijn tegen de hoogvirulente FCV-stammen (Radford et al., 2007).

Er zijn momenteel geen geregistreerde antivirale producten tegen calicivirussen beschikbaar. Ribavirine -een guanisine analoog met een breedspectrumactiviteit tegenover verschillende RNA- en DNA-virussen- kan in vitro de replicatie van FCV remmen, maar blijkt in vivo niet effectief. Bovendien veroorzaakt het ernstige bijwerkingen bij katten: hemolyse, bloedingen en trombocytopenie (Radford et al., 2007). Potentiële benaderingen voor het ontwikkelen van antivirale middelen tegen calicivirussen worden uitgebreid besproken in Royahem et al. (2010). De RNA-natuur van calicivirussen -met inherente uitgesproken genomische variabiliteit- maakt het niet onaanneembaar dat resistentieontwikkeling een probleem kan vormen wanneer persisterende uitscheiders zouden behandeld worden tegen FCV.

Felien enterisch coronavirus en felien infectieus peritonitisvirus

Feliene coronavirussen (FCoV) kunnen worden opgedeeld in twee pathotypes: (i) het endemisch voorkomend en weinig virulent felien enterisch coronavirus (FECV) veroorzaakt subklinische tot milde enteritis; (ii) het hoogvirulente felien infectieus peritonitis virus (FIPV) dat door mutatie uit het FECV ontstaat, leidt tot een letale systemische infectie (FIP). De mutatie van FECV naar FIPV wordt het meest waargenomen bij een hoge infectiedruk van FECV. Een levend verzwakt vaccin is beschikbaar, maar er bestaat twijfel over de werkzaamheid (Fehr et al., 1995). Tot nog toe is er geen doeltreffende behandeling voor FIP-geïnfecteerde katten. Ribavirine kan de groei van FCoV in vitro remmen, maar de behandeling van experimenteel FIPV-geïnfecteerde katten kan ziekteontwikkeling en fatale afloop niet verhinderen (Weiss et al., 1993; Hartmann en Ritz, 2008). Sinds het opduiken van het “severe acquired respiratory syndrome coronavirus” (SARS CoV) werden zestien moleculen met activiteit tegenover SARS CoV in vitro getest tegenover FCoV. Enkel de protease-inhibitor nelfinavir en de carbohydraatbinder *Galantus nivalis* agglutinine vertoonden een sterke activiteit (Hsieh et al., 2010). De bevestiging van de activiteit tegenover het FIPV in vivo alsook het onderzoek naar mogelijke resistentieontwikkeling zijn nodig.

Felien immunodeficiëntievirus en felien leukemievirus

Het feliene immunodeficiëntievirus (FIV) behoort tot het genus Lentivirus binnen de familie van de Retrovirussen en vertoont opvallende gelijkenissen met het humaan immunodeficiëntievirus (HIV). Verschillende humane HIV antiretrovirale middelen zijn beschikbaar en voornamelijk nucleoside “reverse tran-

scriptase” (RT) inhibitoren (NRTI) blijken interessant voor de behandeling van FIV-infecties.

De replicatie van retrovirussen vereist “reverse transcriptie” van het viraal RNA-genoom naar dubbelstrengig DNA opdat dit als provirus kan worden geïntegreerd in het cellulair genoom. NRTI zijn nucleoside analogen die, wanneer ze worden geïntegreerd in de virale DNA-keten, de voltooiing ervan verhinderen. Aan therapeutische concentraties inhiberen NRTI's selectief het viraal RT zonder in te werken op cellulaire DNA-polymerasen. Het NRTI-zidovudine (AZT), een thymidine analoog, vertoont zowel in vitro als in vivo activiteit tegen FIV. De profylactische behandeling van katten met AZT kan experimentele infectie met FIV niet verhinderen maar reduceert wel de hoeveelheid circulerend virus in het plasma en stelt infectie van CD4+ lymfocyten uit. Bij chronisch geïnfecteerde katten heeft AZT weinig effect al maakt één studie gewag van verbetering van de klinische symptomen en een verbeterde levenskwaliteit (Hartman et al., 1992). De toediening van AZT aan katten gaat vaak gepaard met dosisafhankelijke anemie en neutropenie. Regelmatig bloedonderzoek bij katten in therapie is daarom aangewezen (Hashek et al., 1990; Hartman et al., 1992). FIV-varianten met verminderde gevoeligheid voor AZT kunnen worden geïsoleerd vanaf vijf weken in-vitro-viruskweek in continue aanwezigheid van AZT (Reminton et al., 1991; Arai et al., 2002). De combinatie van AZT met nieuwere nucleoside analogen, zoals lamivudine, kan hier een oplossing bieden omdat de lamivudinegeïnduceerde mutaties niet compatibel zijn met de AZT-geïnduceerde mutaties en de resistente virusvarianten daardoor niet meer levensvatbaar zijn (Arai et al., 2002). De profylactische of acute behandeling van katten met AZT/lamivudine kan experimentele infectie met FIV verhinderen of significant vertragen. Op chronisch geïnfecteerde dieren heeft de behandeling echter geen klinisch of virologisch effect (Arai et al., 2002). De behandeling van chronisch geïnfecteerde katten met het NRTI-stampidine leidt tot de reductie van de hoeveelheid FIV in perifere mononucleaire cellen zonder toxische effecten (Unckun et al., 2003).

Een nieuwe klasse van moleculen – bicyclams (prototype AMD3100, geregistreerd als stamcelactivator) – is gericht tegen de chemokine-receptor CXCR4 die naast CD4 als co-receptor wordt gebruikt door HIV om T-helpercellen te infecteren. Ook FIV gebruikt de CXCR4-receptor om cellen te infecteren en AMD3100 vertoont in-vitroactiviteit tegenover FIV. De behandeling van met natuurlijk FIV-geïnfecteerde katten met AMD3100 reduceert de hoeveelheid virus in het plasma en zorgt voor een klinische verbetering zonder uitgesproken nevenwerkingen (Hartmann et al., 2002).

Het feliene leukemievirus (FeLV) behoort tot het genus Gammaretrovirus binnen de familie van de Retrovirussen. In-vitro- en in-vivostudies geven aan dat het “reverse transcriptase” van FeLV veel minder gevoelig is voor nucleoside analogen dan dat van lentivirussen. Voor AZT is aangetoond dat het de replicatie

van FeLV in vitro en in vivo inhibeert. Het toedienen van AZT kort vóór of na infectie met het FeLV reduceert de viremie en de klinische symptomen en verlengt de levensverwachting van sommige katten. Over de efficaciteit bij katten met een chronische FeLV-infectie zijn echter geen gegevens beschikbaar (Hartmann, 2005; Greggs et al., 2011). De moeilijkheid bij de antivirale behandeling van FeLV-infecties is de noodzaak vroegtijdig in te grijpen. Dit is nodig om de viremie te onderdrukken en de insertie van het FeLV-genoom – verantwoordelijk voor de ontwikkeling van lymfomen en leukemie – te voorkomen. Ook onderzoek naar mogelijke resistentieontwikkeling tegenover andere AZT van FeLV is nodig. Voor een overzicht van antivirale behandelingsmogelijkheden van feliene retrovirusinfecties wordt verwezen naar Neirinckx et al. (2005).

Felien parvovirus en canien parvovirus

Het feliene parvovirus (FPV) veroorzaakt feliene panleukemie of ‘kattenziekte’. Het caniene parvovirus (CPV) is verantwoordelijk voor hemorragische gastro-enteritis met vaak dodelijke afloop bij pups. Geattenuerde of geïnactiveerde FPV- of CPV-stammen zitten in alle geregistreerde multivalente vaccins vevat. Er zijn geen antivirale middelen geregistreerd voor de behandeling van parvovirussen en er zijn geen gegevens gepubliceerd over de antivirale behandeling van FPV. Bij de behandeling van CPV-enteritis wordt het gebruik van oseltamivir sporadisch beschreven maar uit een placebo-gecontroleerde studie blijkt dit geen invloed te hebben op morbiditeit of mortaliteit (Savigny en Macinire, 2010).

Canien adenovirus

Het caniene adenovirus-1 (CAV-1) veroorzaakt infectieuze caniene hepatitis. Het caniene adenovirus-2 (CAV-2) is de oorzaak van infectieuze tracheobronchitis en maakt deel uit van het kennelhoestcomplex. De meeste multivalente vaccins bevatten een levend verzwakte CAV-2-stam die ook kruisimmunitet opwekt tegenover het antigenisch nauw verwante CAV-1.

Er zijn geen geregistreerde antivirale middelen tegen adenovirussen beschikbaar. Een beperkt aantal moleculen – voornamelijk nucleoside en nucleotide analogen – werden in vitro getest tegenover humane adenovirussen met wisselend succes. Cidofovir en ribavirine worden off-label gebruikt om voornamelijk adenovirus ooginfecties bij AIDS-patiënten te behandelen. De ontwikkeling van resistentie van adenovirussen tegen cidofovir door in-vitropassage werd beschreven (Gordon et al., 1996; Kinshington et al. 2002). Adenovirussen hebben geen virale kinase, wat ertoe leidt dat ze ongevoelig zijn voor acyclische nucleoside analogen, zoals aciclovir. Een uitzondering hierop is ganciclovir, dat een matige in-vitroactiviteit tegenover humane adenovirussen vertoont. Voor enkele antiretrovirale middelen (zalcitabine en stampidine) is in vi-

tro een inhiberend effect op adenovirussen beschreven.

Canien herpesvirus

Infectie met het caniene herpesvirus (CHV) bij volwassen honden verloopt subklinisch of gaat gepaard met milde respiratoire symptomen en/of reproductiestoornissen. Na de acute fase blijven de meeste dieren latente dragers en kan intermitterende excretie optreden. CHV is vooral in neonati de oorzaak van het “fading puppy” syndroom. Een monovalent vaccin is beschikbaar. Er zijn geen gegevens gepubliceerd over antivirale behandeling van CHV.

Canien distempervirus en canien para-influenzavirus

Het caniene distempervirus (CDV) en het caniene para-influenzavirus (CpiV) behoren tot de Paramyxoviridae. Het CDV of hondenziektevirus behoort tot het genus Morbillivirus en is verwant aan het humane mazelenvirus. CDV-infectie kan subklinisch verlopen of gepaard gaan met gastro-intestinale, ademhalings-, huid- en centraal zenuwstelselstoornissen en heeft een hoge mortaliteitsgraad, voornamelijk bij jonge dieren. Een geattenuerde CDV-stam zit in de meeste multivalente vaccins. In vitro is een replicatie inhiberende capaciteit van ribavirine en het ribavirine analoog EICAR aangetoond, maar in-vivogegevens ontbreken (Scagliarini et al., 2006; Elia et al., 2008; Dal Pozzo et al., 2010). Bijkomend onderzoek naar de pathogenese en de replicatiecyclus van CDV is nodig om effectieve aangrijpingspunten voor een antivirale therapie te identificeren.

Het CpiV behoort tot het genus Paramyxovirus en kan bijdragen tot kennelhoest. Een geattenuerde CpiV-stam is vevat in monovalente of multivalente vaccins. In vitro is een replicatie inhiberende capaciteit van ribavirine op CpiV aangetoond, maar in-vivogegevens ontbreken (Povey, 1978).

PAARDEN

Equine herpesvirus

Van het equine herpesvirus (EHV) bestaan er verschillende types waarvan type 1 en type 4 het beste bekend zijn en wijd verspreid zijn in België. EHV-1-infecties kunnen de oorzaak zijn van ademhalingsstoornissen (rinopneumonie), abortus, fatale neonatale ziekte en neurologische symptomen. EHV-4 is milder en beperkt zich voornamelijk tot ademhalingsstoornissen. De beschikbare geïnactiveerde vaccins bieden klinische bescherming tegen ademhalingsstoornissen, maar bescherming tegen abortus en zenuwstoornissen wordt niet gegarandeerd daar de celgeassocieerde viremie niet volledig wordt onderdrukt. De vermeerdering van abortigene en neurogene EHV-1-stammen kan in vitro worden geremd door de nucleo(s/t)ide analogen ganciclovir, aciclovir, PMEDAP, adefovir, cidofovir en foscarnet (in afnemende volgorde van ef-

ficaciteit) (Garré et al., 2007). Hoewel ganciclovir in vitro het meeste actief blijkt, wordt de klinische toepassing ervan bij paarden beperkt door de kostprijs. Vanuit dit perspectief lijkt aciclovir een beter alternatief. Het klinisch en/of virologisch voordeel van de toediening van aciclovir of valaciclovir – een prodrug met betere orale biobeschikbaarheid – tijdens velduitbraken van EHV-1 is moeilijk te evalueren wegens het vaak ontbreken van onbehandelde controledieren (Gryspeerd et al., 2011). Ook de behandeling van paarden met valaciclovir in experimentele EHV-1-infectiestudies geven tegenstrijdige resultaten gaande van geen effect tot een significante klinische verbetering (Maxwell et al., 2008; Garré et al. 2009).

Equine virale arteritisvirus

Het equine virale arteritisvirus (EVAV) behoort tot de familie van de Arteriviridae. Infecties verlopen veelal subklinisch maar kunnen soms gepaard gaan met koorts, anorexie, oedeemvorming, conjunctivitis, abortus en in zeldzame gevallen ernstige pneumonie en/of enteritis bij jonge veulens. In vrijwel alle gevallen herstellen geïnfecteerde dieren volledig. Bij hengsten kan de infectie echter persistenten en deze dragers scheiden het virus levenslang uit in het sperma. Dit is de belangrijkste oorzaak van verspreiding. In België is er geen EVAV-vaccin geregistreerd. Eén in-vitrostudie geeft aan dat virusspecifieke enkelstrengige oligonucleotide analogen (fosforodiamidate morfolino oligomeren (PMO)) een persistent EVAV-geïnfecteerde cellijn virusvrij kunnen maken, wat perspectief biedt voor de behandeling van dragerhengsten. Bevestiging in vivo is echter nodig. De RNA-natuur van EVAV en het feit dat er bij langdurige dragers een grote genetische diversiteit van EVAV kan worden gevonden, maken dat resistentieontwikkeling een probleem kan vormen wanneer persisterende uitscheiders zouden behandeld worden (Zhang et al., 2010).

Equine infectieuze anemievirus

Het equine infectieuze anemievirus (EIAV) behoort tot het genus Lentivirus binnen de familie van de Retrovirussen en wordt overgedragen door besmet bloed. Dit gebeurt gewoonlijk via hematofage arthropoden, maar in-utero-overdracht en iatrogene overdracht zijn gedocumenteerd. De ziekte is wereldwijd verspreid en treft paarden, pony's, ezels en muilezels. In België is EIAV aangifteplichtig.

Indien paarden blootgesteld worden aan EIAV, kunnen ze ernstige acute symptomen van de ziekte vertonen en binnen twee tot drie weken sterven. De klinische symptomen kunnen koorts, anorexie, depressie en petechiën op de slijmvliezen omvatten. Indien een dier de acute fase overleeft, kan de ziekte chronisch worden met het cyclisch voorkomen van anemie, oedeem en gewichtsverlies. De frequentie en ernst van de klinische voorvallen verminderen gewoonlijk geleidelijk aan tot het dier een subklinische drager wordt. Tot op heden

zijn er geen geschikte vaccins tegen EIAV beschikbaar en is er geen behandeling om het virus uit het dier te elimineren. Door de sterke verwantschap tussen het RT van EIAV en HIV zouden in theorie RT-inhibitoren kunnen aangewend worden. In-vitro-onderzoek wijst echter uit dat het RT van EIAV opmerkelijk minder gevoelig is voor NRTIs, zoals AZT (Rubinek et al., 1994).

NUTSDIEREN

De steeds toenemende intensivering van de veeteelt, het wereldwijd transport van dieren, goederen en personen en de veranderende klimaatsomstandigheden impliceren een toenemende waarschijnlijkheid van de verspreiding van virale ziekteverwekkers in de vee-stapel. Strenge vaccinatie- en uitroeiingscampagnes hebben ertoe geleid dat de EU grotendeels vrij is van epizoötische ziekten, zoals klassieke varkenspest (KVP) en mond- en klauwzeer (MKZ). De kans op insleep van deze en andere exotische ziekten blijft echter continu bestaan. De massale preventieve ruiming van gezonde, niet-geïnfecteerde dieren tijdens ziekte-uitbraken stuit echter steeds meer op weerstand vanuit ethisch, ethologisch en ecologisch oogpunt. Alternatieve benaderingen worden dus verkend. Hoewel de EU in 2001 besliste dat noodvaccinatie een meer prominente rol zal spelen in de bestrijding van KVP- en MKZ-epizoötieën, zijn er ook aan deze benadering enkele nadelen verbonden, waarvan het immuniteitsvenster tussen vaccinatie en effectieve bescherming er één is. Antivirale therapie kan hier haar toepassing vinden. Aangezien de antivirale activiteit van een selectieve inhibitor van de virale replicatie niet afhankelijk is van het immuunsysteem van de gastheer, biedt een antiviraal middel het voordeel dat behandeling in onmiddellijke bescherming kan resulteren. Het onderzoek naar antivirale middelen voor de toepassing in de veeteelt staat echter nog in zijn kinderschoenen. Hieronder wordt een beknopt overzicht gegeven van de vorderingen die recent werden gemaakt in de strijd tegen het KVP-virus (KVPV) en het MKZ-virus (MKZV).

Tegenover het KVPV is een klasse imidazopyridines – die inwerkt op het viraal RNA-afhankelijk RNA-polymerase – geïdentificeerd, waarvan 5-[(4-bromofenyl)methyl]-2-fenyl-5*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridine (BPIP) het meest actief is. De toediening van BPIP in het voeder van KVPV-geïnfecteerde varkens resulteert in een belangrijke reductie van de viremische periode en in een zeer significante reductie van de virustiter. Daarenboven wordt een reductie van de virustransmissie van BPIP-behandelde/KVPV-geïnfecteerde dieren naar onbehandelde, gevoelige dieren gezien. Virus geïsoleerd uit BPIP-behandelde dieren vertoont geen reductie in gevoeligheid voor BPIP (Vrancken et al., 2008; 2009a,b). Voor “wild-type” KVPV werd reeds beschreven dat het genoom relatief stabiel is, zowel in vitro als in vivo, met zeer weinig varianten/quasispecies (Vanderhallen *et al.*, 1999). Het gebruik van een combinatiestrategie, waarbij verschillende inhibitoren inwerken op verschillende virale doelwitten, zou de

kans op de ontwikkeling van geneesmiddelresistente varianten mogelijk nog verder verkleinen (Vrancken et al., 2008; 2009a,b).

Tegenover het MKZV is de activiteit van ribavirine in vitro aangetoond. Virusvarianten met verminderde gevoeligheid voor ribavirine worden snel uitgeselecteerd wanneer MKZV serieel wordt gepasseerd op cellculturen in aanwezigheid van ribavirine (Sierra *et al.*, 2005; Ferrer-Orta *et al.*, 2010). Het ribonucleoside analoog 2'C methylcytidine is in vitro actief tegenover de zeven MKZV-serotypes aan lagere concentraties dan ribavirine (Goris et al., 2007). Ook pyrazinecarboxamide derivaten (onder andere T-1105) kunnen in vitro de replicatie van MKZV remmen. In een studie van Furuta, et al. (2009) onderdrukte de per orale toediening van T-1105 aan varkens die experimenteel werden geïnfecteerd met MKZV de klinische symptomen, viremie, nasale virusexcretie en antistofrespons in vergelijking met niet-behandelde geïnfecteerde controledieren. In de zoektocht naar nieuwe krachtig werkzame inhibitoren van het MKZV worden grootschalige antivirale screeningscampagnes uitgevoerd (Durk et al., 2010). De anti-MKZV-activiteit van de op deze manier geïdentificeerde klassen van moleculen wordt verder geoptimaliseerd. Hierbij worden ook het antivirale werkingsmechanisme en de kans op resistentieontwikkeling onderzocht.

Naast KVP en MKZ zijn er nog tal van andere virale ziekten (bijvoorbeeld bovine virale diarree, border disease, Aujeszky, Afrikaanse varkenspest, blauwtong) die verantwoordelijk zijn voor belangrijke economische verliezen in de veeteelt. Ook in de bestrijding van deze ziekten zou antivirale therapie nuttig kunnen zijn (Furuta *et al.*, 2009).

VIRUSSEN VAN MEERDERE DIERSOORTEN EN DE MENS

Influenza

Twee klassen van antivirale middelen tegenover influenzavirussen zijn momenteel beschikbaar: de neuraminidase- en de matrix(M)-2 protonkanaalinhibitoren.

De neuraminidase-inhibitoren binden op de actieve zijde van het virale neuraminidase en verhinderen het vrijkomen van nieuwgevormde viruspartikels. De gevoeligheid voor resistentieontwikkeling is afhankelijk van het neuraminidasesubtype (Rameix-Welti et al., 2006; Abed et al., 2006). In de humane populatie wordt resistentie tegenover oseltamivir –beter bekend onder de merknaam Tamiflu®– significant vaker gedetecteerd dan resistentie tegenover zanamivir ten gevolge van het frequenter gebruik van oseltamivir (Hurt et al., 2006; Sheu et al., 2008). Oseltamivirresistente mutanten hebben vaak een gedaalde virale fitheid (Ives et al., 2002; Abed et al., 2006). In 2007 werd oseltamivirresistentie bij humane H1N1-seizoensgriepvirussen gedetecteerd in afwezigheid van een antivirale selectiedruk. Deze resistente mutanten blijken onverwacht fit en zijn sinds

2009 wereldwijd verspreid (Hauge et al., 2009; Dharan et al., 2009; Hurt et al., 2012). Er is in-vitrokruisresistentie tussen oseltamivir en zanamivir beschreven. Oseltamivirresistentie bij het pandemische H1N1-virus van 2009 is wereldwijd beschreven en oseltamivirresistente mutanten kunnen worden overgedragen van mens op mens (Hurt et al., 2011). De ontwikkeling van oseltamivirresistentie wordt ook vastgesteld bij humane infecties met hoogpathogene H5N1-virussen, met soms een falende therapie en de dood tot gevolg (de Jong et al., 2005).

M2-inhibitoren interfereren met de ontmanteling van het virus binnen de cel. Amantadine selecteert snel voor resistentie in vitro en in vivo. Slechts enkele puntmutaties volstaan. Amantadineresistentie heeft weinig invloed op de virale fitheid (Webster et al., 1985; Hall et al., 1987; Hayden et al., 1989; Abed et al., 2005). Amantadineresistente varianten worden vaak gevonden bij populaties van humane (tot 90%) en aviaire influenzavirussen, wat hun klinische bruikbaarheid zeer sterk beperkt (Bright et al., 2005).

Aviaire influenza

De vermeerdering van aviaire influenzavirussen kan in vitro worden onderdrukt met zowel oseltamivir als zanamivir. Afhankelijk van het neuraminidasesubtype is er een verschil in gevoeligheid voor beide producten. In een studie van Govorkova, et al. (2001) leidde de profylactische oseltamivirbehandeling van muizen die nadien experimenteel geïnfecteerd werden met aviaire H5N1- of H9N2-virussen tot een significante daling van de virusvermeerdering in de longen, de afwezigheid van virusvermeerdering in de hersenen en beschermde tegen sterfte. Er werd geen resistentieontwikkeling tegen oseltamivir gedetecteerd. Bij kippen en eenden werd experimenteel aangetoond dat oseltamivir de vermeerdering van H9N2 en H6N2 volledig kan inhiberen (Lee et al., 2011). Natuurlijk voorkomende oseltamivirresistentie blijkt zeldzaam te zijn bij influenzavirussen in wilde watervogels. Van 91 geteste virusisolaten vertonen zeven isolaten een verminderde gevoeligheid voor oseltamivir in vitro (Stoner et al., 2010). Aviaire influenza is echter een aangifteplichtige ziekte. Het is wettelijk verboden om te vaccineren of te behandelen en aangetaste tomen dienen te worden opgeruimd.

Varkensinfluenza

Vijftien H1N1-varkensinfluenza-virusisolaten uit de VSA blijken in vitro gevoelig voor oseltamivir. Een verminderde gevoeligheid voor oseltamivir is niet vastgesteld (Stoner et al., 2010).

Equine influenza

Amantadine en rimantadine onderdrukken de replicatie van equine influenzavirussen in vitro (Rees et al., 1997). In een studie van Rees et al. (1999) redu-

ceerde de profylactische toediening van rimantadine koorts en afwijkende longgeluiden bij paarden die experimenteel geïnfecteerd werden. De mogelijke resistentieontwikkeling werd niet onderzocht.

Feliene en caniene influenza

Sinds 2004 worden bij katachtigen in Azië, Duitsland en Oostenrijk infecties met hoogpathogene aviaire H5N1-virussen beschreven. Ook honden blijken gevoelig te zijn voor influenzavirussen van zowel aviaire (H5N1) als equine (H3N8) oorsprong (Thiry et al., 2007, Dubovi en Njaa, 2008). Tijdens een uitbraak van H5N1 bij tijgers in Thailand werden de dieren na een oseltamivirbehandeling nog steeds ziek. Het virus kon worden geïsoleerd en er was een vermoedelijke spreiding tussen de tijgers. In de H5N1-isolaten van de tijgers behandeld met oseltamivir werden geen mutaties gevonden die wijzen op resistentie (Thanawongnuwech et al., 2005).

Algemeen kan worden gesteld dat gezien het zoonotische karakter van influenzavirussen het onverantwoord is de huidige humane producten in te zetten voor diergeneeskundig gebruik omdat er een risico bestaat op resistentieontwikkeling bij de dieren met vervolgens spreiding van resistente mutanten naar de mens (Ashton et al., 2010). Een uitzondering kan worden overwogen voor de conservatie van zeldzame en bedreigde diersoorten. Momenteel zijn er echter nog te weinig gegevens betreffende dosering, behandelingsduur en efficaciteit om de behandeling van dieren met oseltamivir te verantwoorden.

Rabiës

Rabiës (hondsdolheid) is een zoönose die veroorzaakt wordt door een Lyssavirus van de familie van de Rhabdoviridae. Momenteel bestaan er geen specifieke antivirale middelen voor de behandeling van rabiësinfecties en de behandeling berust vooral op het toedienen van antiserum. Geïnactiveerde vaccins die bij meerdere huisdiersoorten kunnen worden gebruikt zijn beschikbaar. Gezien de epidemiologische implicaties van deze ziekte is het uiterst belangrijk om het vaccinatieprotocol en de wettelijke voorschriften strikt te respecteren. Het toedienen van het rabiësvaccin na blootstelling aan het virus, zoals toegepast in de humane geneeskunde, is niet toegestaan bij dieren. Hoewel er volop wordt gezocht naar antivirale middelen voor humaan gebruik is het behandelen van blootgestelde of rabide dieren uit den boze.

CONCLUSIE

Hoewel er tot op heden nog geen antivirale geneesmiddelen voor diergeneeskundig gebruik zijn geregistreerd, neemt de interesse stelselmatig toe. In de sector van de gezelschapsdieren worden reeds humane producten off-label gebruikt voor de behandeling van bepaalde virale ziekten. Toch ontbreekt het aan voldoende wetenschappelijke gegevens omtrent dosering,

werkzaamheid en kans op resistentieontwikkeling. Het aantal bekende werkzame moleculen is bovendien nog vrij beperkt en voor enkele virusfamilies met enkele specifieke dierpathogenen zijn nog geen werkzame antivirale middelen beschikbaar.

In de sector van de landbouwhuisdieren is de toenadering tot het gebruik van antivirale middelen nog pril. Het toedienen van medicatie aan voedselproducerende dieren stelt enkele specifieke vereisten. Ten eerste is er de voedselveiligheid. Om de volksgezondheid te beschermen moeten voor farmacologisch werkzame stoffen die aan voedselproducerende dieren worden toegediend, maximumwaarden voor residuen (MRL's) worden vastgesteld (Richtlijn 81/851/EEG en 93/40/EEG, Verordening (EG) Nr. 470/2009). Hierbij moet onder andere rekening worden gehouden met farmacologische en toxicologische effecten van residuen bij de mens. Dit vereist een grondige kennis van onder andere de toxiciteit en het farmacokinetisch profiel van het antivirale product binnen de specifieke doelspecies.

Ten tweede overstijgt de schaal waarop de toediening gebeurt in geval van ziekte-uitbraken in de nutsdierensector vele malen die van de gezelschapsdierensector. De massale toediening van een antiviraal product kan bijvoorbeeld in het geval van voedermedicatie het risico op versnelde resistentieontwikkeling met zich meebrengen wanneer sommige dieren onvoldoende voeder en dus een te lage hoeveelheid antiviraal middel zouden opnemen.

Om dit risico te beheersen is een grondige, fundamenteel wetenschappelijke kennis van de resistentiebarrière, de fitheid en transmissie-efficiëntie van eventuele resistente varianten absoluut noodzakelijk. Tenslotte –en niet van het minste belang– is er de kostprijs. Alle ethische beschouwingen ten spijt moet een medicinale behandeling in de veeteelt vooral financieel te verantwoorden zijn en economisch opwegen tegen andere bestrijdingsstrategieën. De kostprijs wordt in eerste instantie bepaald door het product en de vereiste dosering die bij grote huisdieren niet mag onderschat worden. Een eenvoudig en goedkoop syntheseproces dat geschikt is voor productie in grote hoeveelheden is dus vereist. Daarnaast moeten ook bijkomende diergeneeskundige handelingen, wachttijden, residuanalyses in acht worden genomen bij de kostenberekening. Op het gebied van de praktische haalbaarheid van massamedicatie in het geval van een ziekte-uitbraak, lijkt toediening via voeder de te verkiezen vorm. Dit brengt met zich mee dat de geneesmiddelen uiterst stabiel en goed oraal beschikbaar moeten zijn zodat de dosering en activiteit optimaal zijn en de kans op het ontstaan van antivirale resistentie tot een minimum wordt beperkt. Verder kan contaminatie met antiviraal product van niet-gemedicineerde voeders die worden geproduceerd na de gemedicineerde variant leiden tot ongewenste residuen in dierlijke producten en bijgevolg een gezondheidsrisico voor de consument vormen. De bestrijding van virale dierziekten door middel van een antivirale therapie lijkt omwille van verschillende redenen aantrekkelijk, maar moet goed doordacht en strikt

gecontroleerd gebeuren. Er is nog veel onderzoek vereist om tot een werkelijke praktische toepassing te komen.

REFERENTIES

- Abed Y., Baz M., Boivin G. (2006). Impact of neuraminidase mutations conferring influenza resistance to neuraminidase inhibitors in the N1 and N2 genetic backgrounds. *Antiviral Therapy* 11(8), 971-976.
- Abed Y., Goyette N., Boivin G. (2005). Generation and characterization of recombinant influenza A (H1N1) viruses harboring amantadine resistance mutations. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49(2), 556-559.
- Arai M., Earl D.D., Yamamoto J.K. (2002). Is AZT/3TC therapy effective against FIV infection or immunopathogenesis? *Veterinary Immunology and Immunopathology* 85(3-4), 189-204.
- Ashton L.V., Callan R.L., Rao S., Landolt G.A. (2010). In vitro susceptibility of canine influenza A (H3N8) virus to nitazoxanide and tizoxanide. *Veterinary Medicine International* 2010, 891010.
- Ball L.A. (2007). Virus replication strategies. In: Knipe D.M., Howley P.M. (editors). *Fields Virology*, 5th edition, vol. 1, Lippincott, Williams and Wilkins and Wolters Kluwer Business, p. 119-140.
- Bright R.A., Medina M.J., Xu X., Perez-Oroz G., Wallis T.R., Davis X.M., Povinelli L., Cox N.J., Klimov A.I. (2005). Incidence of adamantane resistance among influenza A (H3N2) viruses isolated worldwide from 1994 to 2005: a cause for concern. *Lancet* 366(9492), 1175-1181.
- Christophers J., Clayton J., Craske J., Ward R., Collins P., Trowbridge M., Darby G. (1998). Survey of resistance of herpes simplex virus to acyclovir in northwest England. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42(4), 868-872.
- Dal Pozzo F., Galligioni V., Vaccari F., Gallina L., Battilani M., Scagliarini A. (2010). Antiviral efficacy of EICAR against canine distemper virus (CDV) in vitro. *Research in Veterinary Science* 88(2), 339-344.
- de Jong M.D., Tran T.T., Truong H.K., Vo M.H., Smith G.J., Nguyen V.C., Bach V.C., Phan T.Q., Do Q.H., Guan Y., Peiris J.S., Tran T.H., Farrar J. (2005). Oseltamivir resistance during treatment of influenza A (H5N1) infection. *New England Journal of Medicine* 353(25), 2667-2672.
- Dharan N.J., Patton M., Siston A.M., Morita J., Ramirez E., Wallis T.R., Deyde V., Gubareva L.V., Klimov A.I., Brees J.S., Fry A.M. (2008). Outbreak of antiviral drug-resistant influenza A in long-term care facility, Illinois, USA, 2008. *Emerging Infectious Diseases* 15(12), 1973-1976.
- Dubovi E.J., Njaa B.L. (2008). Canine influenza. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 38(4), 827-835.
- Durk R.C., Singh K., Cornelison C.A., Rai D.K., Matzek K.B., Leslie M.D., Schafer E., Marchand B., Adedeji A., Michailidis E., Dorst C.A., Moran J., Pautler C., Rodriguez L.L., McIntosh M.A., Rieder E., Sarafianos S.G. (2010). Inhibitors of foot and mouth disease virus targeting a novel pocket of the RNA-dependent RNA polymerase. *PLoS One* 5(12), e15049.
- Elia G., Belloli C., Cirone F., Lucente M.S., Caruso M., Martella V., Decaro N., Buonavoglia C., Ormas P. (2008). In vitro efficacy of ribavirin against canine distemper virus. *Antiviral Research* 77, 108-113.
- Erice A., Gil-Roda C., Pérez J.L., Balfour H.H. Jr., Sanne-
rud K.J., Hanson M.N., Boivin G., Chou S. (1997). Antiviral susceptibilities and analysis of UL97 and DNA polymerase sequences of clinical cytomegalovirus isolates from immunocompromised patients. *Journal of Infectious Diseases* 175(5), 1087-1092.
- FAO (2011). The global rinderpest eradication programme progress report on rinderpest eradication: Success stories and actions leading to the June 2011 Global Declaration. http://www.fao.org/ag/againfo/resources/documents/AH/GREP_flyer.pdf; Accessed on 04 July 2012.
- Fehr D., Holznagel E., Bolla S., Lutz H., Hauser B., Herrewegh A.A.P.M., Horzinek M.C. (1995). Evaluation of the safety and efficacy of a modified live FIPV vaccine under field conditions. *Feline Practice* 23, 83-88.
- Ferrer-Orta C., Sierra M., Agudo R., de la Higuera I., Arias A., Pérez-Luque R., Escarmís C., Domingo E., Verdaguer N. (2010). Structure of foot-and-mouth disease virus mutant polymerases with reduced sensitivity to ribavirin. *Journal of Virology* 84(12), 6188-6199.
- Furuta Y., Takahashi K., Shiraki K., Sakamoto K., Smee D.F., Barnard D.L., Gowen B.B., Julander J.G., Morrey J.D. (2009). T-705 (favipiravir) and related compounds: Novel broad spectrum inhibitors of RNA viral infections. *Antiviral Research* 82(3), 95-102.
- Garré B., Baert K., Nauwynck H., Deprez P., De Backer P., Croubels S. (2009). Multiple oral dosing of valacyclovir in horses and ponies. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 32(3), 207-212.
- Garré B., van der Meulen K., Nugent J., Neyts J., Croubels S., De Backer P., Nauwynck H. (2007). In vitro susceptibility of six isolates of equine herpesvirus 1 to acyclovir, ganciclovir, cidofovir, adefovir, PMEDAP and foscarnet. *Veterinary Microbiology* 122(1-2), 43-51.
- Gaskell R., Dawson S., Radford A., Thiry E. (2007). Feline herpesvirus. *Veterinary Research* 38(2), 337-354.
- Gordon Y.J., Araullo-Cruz T.P., Johnson Y.F., Romanowski E.G., Kinchington P.R. (1996). Isolation of human adenovirus type 5 variants resistant to the antiviral cidofovir. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 37(13), 2774-2778.
- Goris N., Vandebussche F., De Clercq K. (2008). Potential of antiviral therapy and prophylaxis for controlling RNA viral infections of livestock. *Antiviral Research* 78(1), 170-178.
- Goris N., De Palma A., Toussaint J.F., Musch I., Neyts J., De Clercq K. (2007). 2'-C-methylcytidine as a potent and selective inhibitor of the replication of foot-and-mouth disease virus. *Antiviral Research* 73(3), 161-168.
- Govorkova E.A., Leneva I.A., Goloubeva O.G., Bush K., Webster R.G. (2001). Comparison of efficacies of RWJ-270201, zanamivir, and oseltamivir against H5N1, H9N2, and other avian influenza viruses. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45(10), 2723-2732.
- Greggs W.M., Clouser C.L., Patterson S.E., Mansky L.M. (2011). Broadening the use of antiretroviral therapy: the case for feline leukemia virus. *Therapeutics and Clinical Risk Management* 7, 115-122.
- Gryspeerd A.C., Vandekerckhove A.P., Van Doorselaere J., Van de Walle G.R., Nauwynck H.J. (2011). Description of an unusually large outbreak of nervous system disorders caused by equine herpesvirus 1 (EHV1) in 2009 in Belgium. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 80, 139-145.
- Hall C.B., Dolin R., Gala C.L., Markovitz D.M., Zhang Y.Q., Madore P.H., Disney F.A., Talpey W.B., Green J.L., Francis A.B. (1987). Children with influenza A infection:

- treatment with rimantadine. *Pediatrics* 80(2), 275-282.
- Hartmann K., Donath A., Beer B., Egberink H.F., Horzinek M.C., Lutz H., Hoffmann-Fezer G., Thum I., Thefeld S. (1992). Use of two virustatica (AZT, PMEA) in the treatment of FIV and of FeLV seropositive cats with clinical symptoms. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 35(1-2), 167-175.
- Hartmann K., Ritz S. (2008). Treatment of cats with feline infectious peritonitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 123(1-2), 172-175.
- Hartmann K., Stengel S., Klein D., Egberink H., Balzarini J. (2002). Efficacy of the chemokine receptor inhibitor 1,1'-bis-1,4,8,11-tetraazacyclotetradekan against feline immunodeficiency virus infection. *Abstract 6th International Feline Retrovirus Research Symposium*. Amelia Island, USA, 2002, 26.
- Hartmann K. (2005). FeLV treatment strategies and prognosis. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 27, 14-26.
- Haschek W.M., Weigel R.M., Scherba G., DeVera M.C., Feinmehl R., Solter P., Tompkins M.B., Tompkins W.A. (1990). Zidovudine toxicity to cats infected with feline leukemia virus. *Fundamental and Applied Toxicology* 14(4), 764-775.
- Hauge S.H., Dudman S., Borgen K., Lackenby A., Hungnes O. (2009). Oseltamivir-resistant influenza viruses A (H1N1), Norway, 2007-08. *Emerging Infectious Diseases* 215(2), 155-162.
- Hayden F.G., Belshe R.B., Clover R.D., Hay A.J., Oakes M.G., Soo W. (1989). Emergence and apparent transmission of rimantadine-resistant influenza A virus in families. *New England Journal of Medicine* 321(25), 1696-1702.
- Hsieh L.E., Lin C.N., Su B.L., Jan T.R., Chen C.M., Wang C.H., Lin D.S., Lin C.T., Chueh L.L. (2010). Synergistic antiviral effect of Galanthus nivalis agglutinin and nelfinavir against feline coronavirus. *Antiviral Research* 88(1), 25-30.
- Hurt A.C., Chotpitayasunondh T., Cox N.J., Daniels R., Fry A.M., Gubareva L.V., Hayden F.G., Hui D.S., Hungnes O., Lackenby A., Lim W., Meijer A., Penn C., Tashiro M., Uyeki T.M., Zambon M. (2012). Antiviral resistance during the 2009 influenza A H1N1 pandemic: public health, laboratory, and clinical perspectives. *Lancet Infectious Diseases* 12(3), 240-248.
- Hurt A.C., Hardie K., Wilson N.J., Deng Y.M., Osbourn M., Gehrig N., Kelso A. (2011). Community transmission of oseltamivir-resistant A (H1N1) pdm09 influenza. *New England Journal of Medicine* 365(26), 2541-2542.
- Hurt A.C., Ho H.T., Barr I. (2006). Resistance to anti-influenza drugs: adamantanes and neuraminidase inhibitors. *Expert Reviews Anti Infective Therapy* 4(5), 795-805.
- Hussein I.T., Menashy R.V., Field H.J. (2008). Penciclovir is a potent inhibitor of feline herpesvirus-1 with susceptibility determined at the level of virus-encoded thymidine kinase. *Antiviral Research* 78(3), 268-274.
- Ives J.A., Carr J.A., Mendel D.B., Tai C.Y., Lambkin R., Kelly L., Oxford J.S., Hayden F.G., Roberts N.A. (2002). The H274Y mutation in the influenza A/H1N1 neuraminidase active site following oseltamivir phosphate treatment leave virus severely compromised both in vitro and in vivo. *Antiviral Research* 55(2), 307-317.
- Kinchington P.R., Araullo-Cruz T., Vergnes J.P., Yates K., Gordon Y.J. (2002). Sequence changes in the human adenovirus type 5 DNA polymerase associated with resistance to the broad spectrum antiviral cidofovir. *Antiviral Research* 56(1), 73-84.
- Lee D.H., Lee Y.N., Park J.K., Yuk S.S., Lee J.W., Kim J.I., Han J.S., Lee J.B., Park S.Y., Choi I.S., Song C.S. (2011). Antiviral efficacy of oseltamivir against avian influenza virus in avian species. *Avian Diseases* 55(4), 677-679.
- Lurain N.S., Chou S. (2010). Antiviral drug resistance of human cytomegalovirus. *Clinical Microbiology Reviews* 23(4), 689-712.
- Maggs D.J., Clarke H.E. (2004). In vitro efficacy of ganciclovir, cidofovir, penciclovir, foscarnet, idoxuridine, and acyclovir against feline herpesvirus type-1. *American Journal of Veterinary Research* 65(4), 399-403.
- Malik R., Lessels N.S., Webb S., Meek M., Graham P.G., Vitale C., Norris J.M., Power H. (2009). Treatment of feline herpesvirus-1 associated disease in cats with famciclovir and related drugs. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 11(1), 40-48.
- Maxwell L.K., Bentz B.G., Gilliam L.L., Titchey J.W., Holbrook T.C., McFarlane D., Rezabek G.B., MacAllister C.G., Allen G.P. (2008). Efficacy of valacyclovir against clinical disease after EHV-1 challenge in aged mares. In: *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP* 54, 198-199.
- Müller B., Kräusslich H.G. (2010). Antiviral strategies. In: Kräusslich H.G. en Bartenschlager R. (editors). *Handbook of Experimental Pharmacology 189: Antiviral Strategies*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, p. 1-24.
- Nasise M.P., Dorman D.C., Jamison K.C., Weigler B.J., Hawkins E.C., Stevens J.B., (1997). Effects of valacyclovir in cats infected with feline herpesvirus 1. *American Journal of Veterinary Research* 58(10), 1141-1144.
- Neirinckx E., Garré B., Nauwynck H., Croubels S., De Backer P., van der Meulen K. (2005). Antivirale behandeling van rhinotracheïtisvirus- immunodeficiëntievirus- en leukemievirusinfecties bij de kat. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 74, 420-431.
- Nijhuis M., van Maarseveen N.M., Boucher C.A.B. (2010). Antiviral resistance and impact on viral replication capacity: evolution of viruses under antiviral pressure occurs in three phases. In: Kräusslich H.G. en Bartenschlager R. (editors). *Handbook of Experimental Pharmacology 189: Antiviral Strategies*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, p. 299-320.
- Owens J.G., Nasise M.P., Tadepalli S.M., Dormans D.C. (1996). Pharmacokinetics of acyclovir in the cat. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapy* 19, 488-490.
- Piret J., Boivin G. (2011). Resistance of herpes simplex viruses to nucleoside analogues: mechanisms, prevalence, and management. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 55(2), 459-472.
- Povey R.C. (1978). In vitro antiviral efficacy of ribavirin against feline calicivirus, feline viral rhinotracheitis virus, and canine parainfluenza virus. *American Journal of Veterinary Research* 39(1), 175-178.
- Radford A.D., Coyne K.P., Dawson S., Porter C.J., Gaskell R.M. (2007). Feline calicivirus. *Veterinary Research* 38(2), 319-335.
- Rameix-Welti M.A., Agou F., Buchy P., Mardy S., Aubin J.T., Véron M., van der Werf S., Naffakh N. (2006). Natural variation can significantly alter the sensitivity of influenza A (H5N1) viruses to oseltamivir. (2006). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50(11), 3809-3815.
- Rees W.A., Harkins J.D., Lu M., Holland R.E. Jr., Lehner A.F., Tobin T., Chambers T.M. (1999). Pharmacokinetics

- and therapeutic efficacy of rimantadine in horses experimentally infected with influenza virus A2. *American Journal of Veterinary Research* 60(7), 888-894.
- Rees W.A., Harkins J.D., Woods W.E., Blouin R.A., Lu M., Fenger C., Holland R.E., Chambers T.M., Tobin T. (1997). Amantadine and equine influenza: pharmacology, pharmacokinetics and neurological effects in the horse. *Equine Veterinary Journal* 29(2), 104-110.
- Remington K.M., Chesebro B., Wehrly K., Pedersen N.C., North T.W. (1991). Mutants of feline immunodeficiency virus resistant to 3'-azido-3'-deoxythymidine. *Journal of Virology* 65(1), 308-312.
- Rohayem J., Bergmann M., Gebhardt J., Gould E., Tucker P., Mattevi A., Unge T., Hilgenfeld R., Neyts J. (2010). Antiviral strategies to control calicivirus infections. *Antiviral Research* 87(2), 162-178.
- Rubinek T., Loya S., Shaharabany M., Hughes S.H., Clark P.K., Hizi A. (1994). The catalytic properties of the reverse transcriptase of the lentivirus equine infectious anemia virus. *European Journal of Biochemistry/FEBS* 219(3), 977-983.
- Thomasy S.M., Lim C.C., Reilly C.M., Kass P.H., Lappin M.R., Maggs D.J. (2011). Evaluation of orally administered famciclovir in cats experimentally infected with feline herpesvirus type-1. *American Journal of Veterinary Research* 72, 85-95
- Sandmeyer L.S., Keller C.B., Bienzle D. (2005). Effects of cidofovir on cell death and replication of feline herpesvirus-1 in cultured feline corneal epithelial cells. *American Journal of Veterinary Research* 66(2), 217-222.
- Savigny M.R., Macintire D.K. (2010). Use of oseltamivir in the treatment of canine parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 20(1), 132-142.
- Scagliarini, A., Vaccari, F., Gallina, L., Dal Pozzo, F., Prosperi, S. (2006). In vitro evaluation of antiviral activity of ribavirin against canine distemper virus. *Veterinary Research Communications* 30 (supplement 1), 269-272.
- Sierra M., Airaksinen A., González-López C., Agudo R., Arias A, Domingo E. (2005). Foot-and-mouth disease virus mutant with decreased sensitivity to ribavirin: implications for error catastrophe. *Journal of Virology* 81(4), 2012-2024.
- Sheu T.G., Deyde V.M., Okomo-Adhiambo M., Garten R.J., Xu X., Bright R.A., Butler E.N., Wallis T.R., Klimov A.I., Gubareva L.V. (2008). Surveillance for neuraminidase inhibitor resistance among human influenza A and B viruses circulating worldwide from 2004 to 2008. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 52(9), 3284-3292.
- Stoner T.D., Krauss S., DuBois R.M., Negovetich N.J., Stallknecht D.E., Senne D.A., Gramer M.R., Swafford S., DeLiberto T., Govorkova E.A., Webster R.G. (2010). Antiviral susceptibility of avian and swine influenza virus of the N1 neuraminidase subtype. *Journal of Virology* 84(19), 9800-9809.
- Thanawongnuwech R., Amonsin A., Tantilertcharoen R., Damrongwatanapokin S., Theamboonlers A., Payungporn S., Nanthapornphiphat K., Ratanamungklanon S., Tunak E., Songserm T., Vivatthanavanich V., Lekdumrongsak T., Kesdangsakonwut S., Tunhikorn S., Poovorawan Y. (2005). Probable tiger-to-tiger transmission of avian influenza H5N1. *Emerging Infectious Diseases* 11(5), 699-701.
- Thiry E., Zicola A., Addie D., Egberink H., Hartmann K., Lutz H., Poulet H., Horzinek M.C. (2007). Highly pathogenic avian influenza H5N1 virus in cats and other carnivores. *Veterinary Microbiology* 122(1-2), 25-31.
- Uckun F.M., Chen C.L., Samuel P., Pendergrass S., Venkatchalam T.K., Waurzyniak B., Qazi S. (2003). In vivo antiretroviral activity of stampidine in chronically feline immunodeficiency virus-infected cats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47(4), 1233-1240.
- Vanderhallen H., Mittelholzer C., Hofmann M.A., Koenen F. (1999). Classical swine fever virus is genetically stable in vitro and in vivo. *Archives of Virology* 144(9), 1669-1677.
- Van der Meulen K., Garré B., Croubels S., Nauwynck H. (2006). In vitro comparison of antiviral drugs against feline herpesvirus 1. *BMC Veterinary Research* 2, 13.
- Vrancken R., Haegeman A., Dewulf J., Paeshuyse J., Puerstinger G., Tignon M., Le Potier M.F., Neyts J., Koenen F. (2009a). The reduction of CSFV transmission to untreated pigs by the pestivirus inhibitor BPIP: A proof-of-concept. *Veterinary Microbiology* 139, 365-368.
- Vrancken R., Haegeman A., Paeshuyse J., Puerstinger G., Rozenski J., Wright M., Tignon M., Le Potier M.F., Neyts J., Koenen F. (2009b). Proof-of-concept for the reduction of classical swine fever infection in pigs by a novel viral polymerase inhibitor. *Journal of General Virology* 90, 1335-1342.
- Vrancken R., Paeshuyse J., Haegeman A., Puerstinger G., Froeyen M., Herdewijn P., Kerkhofs P., Neyts J., Koenen F. (2008). Imidazo[4,5-c]pyridines inhibit the in vitro replication of the Classical Swine Fever Virus and target the viral polymerase. *Antiviral Research* 77, 114-111.
- Webster R.G., Kawaoka Y., Bean W.J., Beard C.W., Brugh M. (1985). Chemotherapy and vaccination: a possible strategy for the control of highly virulent influenza virus. *Journal of Virology* 55(1), 173-176.
- Weiss R.C., Cox N.R., Martinez M.L. (1993). Evaluation of free or liposome-encapsulated ribavirin for antiviral therapy of experimentally induced feline infectious peritonitis. *Research in Veterinary Sciences* 55(2), 162-172.
- Williams D.L., Robinson J.C., Lay E., Field H. (2005). Efficacy of topical aciclovir for the treatment of feline herpetic keratitis: results of a prospective clinical trial and data from in vitro investigations. *The Veterinary Record* 157(9), 254-257.
- Zhang J., Stein D.A., Timoney P.J., Balasuriya U.B. (2010). Curing of HeLa cells persistently infected with equine arteritis virus by a peptide-conjugated morpholino oligomer. *Virus Research* 150(1-2), 138-142.