

A Monsieur le Professeur Jacques IZOPET,
Professeur en virologie à la Faculté de Médecine de Toulouse et praticien hospitalier,
Qui a accepté de présider notre jury de thèse.
Hommages très respectueux.

A Monsieur le Docteur Stéphane BERTAGNOLI,
Maître de conférences en pathologie infectieuse à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Qui a accepté d'encadrer ce travail.
Sincères remerciements.

A Madame le Docteur Frédérique MESSUD-PETIT
Maître de conférences en pathologie infectieuse à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Qui a accepté d'être l'assesseur de notre jury de thèse.
Sincères remerciements.

A Madame le Docteur Gwenaëlle DAUPHIN
Inspecteur de santé publique vétérinaire,
Scientifique à l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments de Maisons-Alfort,
Pour l'aide précieuse qu'elle nous a apporté.
Qu'elle trouve ici le témoignage de notre vive reconnaissance.

A l'équipe de l'unité de virologie de l'AFSSA Alfort et à son directeur, M Plateau, qui m'ont accueillie pour la réalisation de ce travail et plus particulièrement :

A Gwenaëlle qui m'a accordé de son temps, pour m'initier aux techniques de laboratoire pour le diagnostic Borna et surtout pour répondre à mes nombreuses questions.

A Stéphan pour la lecture de ma thèse et sa disponibilité malgré une charge de travail et de responsabilités considérables.

A Bernard et Jacques qui n'ont pas hésité à effectuer des sérologies rhinopneumonie et West Nile supplémentaires pour mon travail.

A Corinne et Manu pour les pauses repas et les pauses cafés toujours animées de conversations intéressantes.

A Claire et Anne de l'AFSSA Dozulé pour leur aide pour la partie RESPE de ma thèse.

A Agnès de l'ENVL qui m'a transmis les dossiers des chevaux hospitalisés à l'ENVL que j'ai introduit dans mon étude rétrospective.

A mes parents, ma sœur, pour leur soutien tout au long de mes études. Qu'ils soient rassurés, ils sont au bout de leur peine, la preuve en est ce travail.

A mes grands-parents, oncles, tantes, cousins et cousine.

Avec une telle liste, on pourrait imaginer une famille nombreuse, il n'en est rien, ce qui consolide d'ailleurs nos liens.

A Sébastien, qui me supporte maintenant depuis 6 ans. J'espère que nous multiplierons ce chiffre par 10.

A Maëlle pour son amitié précieuse.

A Estelle, Anouck, Perrine, Françoise, Eva.

Je les cite ici en espérant être citée au même endroit dans leur thèse.

A Sophie pour mon initiation aux makis, aux momoks et aux farafels.

A Emilie que je connais depuis l'âge de 10 ans et qui m'a hébergée, une fois de plus sans hésiter, à Paris pour que je puisse me rendre tous les jours à l'AFSSA Alfort.

Table des Matières

<i>Table des Matières</i>	7
<i>Table des illustrations</i>	9
<i>Table des Annexes</i>	10
<i>Liste des abréviations</i>	11
<i>Introduction</i>	13
<i>Première partie</i>	15
<i>Maladies nerveuses des équidés</i>	15
1.1. Généralités	17
1.1.1 Neuroanatomie	17
1.1.1.1. Système nerveux central	17
1.1.1.2. Système nerveux périphérique	19
1.1.2. Physiopathologie des affections nerveuses	20
1.1.3. Répercussions cliniques	21
1.2. Maladies nerveuses d'origine infectieuse et parasitaire	22
1.2.1. Infections virales	22
1.2.2. Infections bactériennes	26
1.2.3. Infestations parasitaires	28
1.2.4. Toxi-infections	30
1.3. Maladies nerveuses non infectieuses	31
1.3.1. Maladies congénitales et malformations	31
1.3.2. Maladies inflammatoires	31
1.3.3. Traumatismes	32
1.3.4. Néoplasies	32
1.3.5. Maladies métaboliques et dégénératives	32
1.3.6. Intoxications	33
1.3.7. Idiopathiques	33
1.3.8. Autres	34
1.4. Fiches techniques des principales maladies diagnostiquées dans le cadre du réseau ANI	34
La Rhinopneumonie forme nerveuse	35
La Maladie de West Nile	37
La Maladie de Borna	41
La Maladie de Lyme	45
L'Ehrlichiose	47
Les Méningo-encéphalites équine à Protozoaires (MEP)	51
<i>Deuxième partie</i>	55
<i>Mise en place du réseau spécialisé ANI (Affections Neurologiques d'origine Infectieuse) au sein du RESPE (Réseau d'Epidémiologie-Surveillance des Pathologies Equines)</i>	55
2.1. Présentation du RESPE	57
2.1.1. Historique	57
2.1.2. Objectifs du RESPE	58

2.1.3. Organisation du RESPE _____	59
2.1.4 Le fonctionnement du réseau _____	62
2.1.4.2. Dans le cadre de la gestion de crise sanitaire _____	63
2.2. Le réseau ANI _____	66
2.2.1. Objectifs _____	66
2.2.2. Fonctionnement _____	66
2.2.3. Etat d'avancement du réseau ANI _____	70
<i>Troisième partie</i> _____	73
<i>Enquêtes épidémiologiques</i> _____	73
3.1. Bilan du réseau ANI pour l'année 2003 _____	75
3.1.1. Résultats _____	75
3.1.1.1. Résultats globaux _____	75
3.1.1.2. Rhinopneumonie forme nerveuse _____	76
3.1.2. Discussion _____	77
3.2. Etude rétrospective de 41 cas de chevaux ayant présenté des troubles nerveux _____	79
3.2.1. Population étudiée _____	79
3.2.2. Analyses effectuées _____	80
3.2.3. Résultats _____	81
3.2.4. Bilan des résultats _____	86
3.2.5. Discussion _____	87
3.2.5.1. Maladie de Borna _____	87
3.2.5.2. Rhinopneumonie forme nerveuse _____	95
3.2.5.3. West Nile _____	96
<i>Conclusion</i> _____	97
<i>Bibliographie</i> _____	99
<i>ANNEXES</i> _____	107

Table des illustrations

<i>Figure 1- Cycle épidémiologique de la maladie de West Nile (Zeller,1999)</i>	38
<i>Figure 2 - Représentation schématique du BDV (Gonzalez-Dunia, 1998)</i>	41
<i>Figure 3 - Travaux ayant rapporté des infections par le BDV dans le monde (Dauphin et al, 2002)</i>	42
<i>Figure 4 - Vue agrandie d'un Ixodes</i>	45
<i>Figure 5 - Vue au microscope de morulas dans des granulocytes après coloration au MGG</i>	48
<i>Figure 6 - Cycle épidémiologique des MEP</i>	51
<i>Figure 7 - Cheval atteint de MEP</i>	52
<i>Figure 8 - Vue macroscopique de coupes transversales de moelle épinière d'un cheval atteint de MEP</i>	53
<i>Figure 9 - Circulation de l'information au sein du RESPE dans le cadre de la veille sanitaire</i>	63
<i>Figure 10 - Circulation de l'information au sein du RESPE dans le cadre de gestion de crise pour les maladies non réglementées</i>	64
<i>Figure 11- Circulation de l'information au sein du RESPE dans le cadre de gestion de crise pour les maladies réglementées (comme WN, maladie légalement réputée contagieuse)</i>	65
<i>Figure 12- Feuille de commémoratifs</i>	67
<i>Figure 13 - Modalités d'analyses et d'envoi des prélèvements</i>	68
<i>Figure 14 - Répartition des chevaux séropositifs en fonction de l'étiologie</i>	76
<i>Figure 15 - Proportion de chevaux pour lesquels un diagnostic définitif n'a pas pu être établi</i>	77
<i>Figure 16 - Résultats des tests diagnostiques sur un échantillon de 41 chevaux présentant des troubles nerveux</i>	82
<i>Figure 18 - Récapitulatif des résultats de RT-PCR et de sérologie pour les poneys 40 et 41</i>	91
<i>Figure 19 - Photographies des séquelles des deux poneys atteints de maladie de Borna (prises par G. Dauphin)</i>	92
<i>Figure 20 -Photographie de la jument suspectée atteinte d'une forme chronique de la maladie de Borna</i>	94
<i>Figure 21 - Représentation schématique du principe de l'ELISA indirect</i>	121

Table des Annexes

<i>ANNEXE 1 - Coupe médiane d'un encéphale de cheval (Barone, 1962)</i>	<i>109</i>
<i>ANNEXE 2 - Vue ventrale d'un encéphale de cheval (Barone, 1962).....</i>	<i>110</i>
<i>ANNEXE 3 - Carte de la répartition des vétérinaires sentinelles sur le territoire français</i>	<i>111</i>
<i>ANNEXE 4 - Fiche d'instructions du réseau ANI.....</i>	<i>113</i>
<i>ANNEXE 5 - Bulletin du RESPE, octobre 2003</i>	<i>115</i>
<i>ANNEXE 6 - Bulletin d'alerte concernant la myoglobinurie atypique communiqué par e-mail le 17 novembre 2003</i>	<i>119</i>
<i>ANNEXE 7- Protocole pour le diagnostic expérimental de la maladie de Borna</i>	<i>121</i>

Liste des abréviations

Ac : Anticorps

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

Ag : Antigène

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANI : Affections Nerveuses d'origine Infectieuse

AVEF : Association Vétérinaire Equine Française

BDV : Borna Disease Virus

CNITV : Centre National

DDSV : Direction Départementale des Services Vétérinaires

DO : Densité Optique

ELISA : Enzym Linked ImmunoSorbent Assay

EHV : Equine Herpes Virus

FC : Fixation du Complément

HN : Haras Nationaux

IFI : Immuno-Fluorescence Indirecte

IHA : Inhibition de l'Hémagglutination

IM : Intra-musculaire

IV : Intra-veineux

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

LVD : Laboratoire Vétérinaire Départemental

MEP : Méningo-encéphalites Equines à Protozoaires

MGG : May Grünwald-Giemsa

MLRC : Maladie Légalement Réputée Contagieuse

OIE : Office International des Epizooties

PCR : Polymerase Chain Reaction

RESPE : Réseau d'Epidémio-Surveillance des Pathologies Equines

RT-PCR : Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction

SN : Système nerveux

SNC : Système Nerveux Central

SNP : Système Nerveux Périphérique

WN : West Nile

Introduction

La neurologie chez les équidés est souvent considérée par le vétérinaire praticien comme une discipline difficile et ceci pour plusieurs raisons. Premièrement, effectuer un examen neurologique paraît délicat. Deuxièmement, les données étiologiques, épidémiologiques et pathogéniques de nombreuses maladies nerveuses sont incomplètes. De plus, le diagnostic de laboratoire ne permet pas toujours d'avoir un résultat sûr (techniques de laboratoire encore non validées). Enfin, souvent le cheval meurt ou guérit avant qu'un diagnostic n'ait été posé. Les affections nerveuses sont ainsi souvent mal connues et difficilement diagnostiquées par les vétérinaires. Et pourtant, elles représentent la quatrième cause de mortalité chez les équidés en France, d'après une étude effectuée auprès des compagnies d'assurances françaises (n=448) (Leblond *et al*, 2000).

Il est important de reconnaître certaines affections neurologiques précocement, en particulier les maladies infectieuses, d'une part parce qu'elles présentent un risque pour la santé humaine et d'autre part parce qu'elles pourraient engendrer des pertes économiques majeures pour la filière équine. Afin de faciliter le diagnostic de ces infections, un réseau d'épidémiologie-surveillance a été créé par l'AVEF (l'association vétérinaire équine française) et l'AFSSA (l'agence française de sécurité sanitaire des aliments) : le RESPE (le réseau d'épidémiologie-surveillance des pathologies équines). Ce réseau émanant de la collaboration AVEF/AFSSA a concentré son action sur deux sujets : la grippe et les affections nerveuses. Un nouveau réseau spécialisé a ainsi été mis en place courant 2003 : le réseau ANI (Affections Neurologiques d'origine Infectieuse). Celui-ci a un double rôle : la surveillance sanitaire du cheptel équin ainsi que la gestion d'éventuelles crises (hors MLRC qui sont du ressort des DDSV).

L'ensemble des maladies nerveuses des équidés sera présenté dans une première partie et les affections diagnostiquées dans le cadre du réseau ANI seront davantage détaillées, sous forme de fiches techniques. La mise en place de ce réseau et son rôle seront abordés dans un deuxième temps. Par ailleurs, l'objectif de ce travail est de donner un état des lieux de l'avancement de ce réseau. Nous ferons un bilan de celui-ci pour l'année 2003 puis nous mènerons une étude rétrospective effectuée sur 41 cas de chevaux ayant présenté des troubles nerveux et qui ont fait l'objet d'investigations complémentaires en laboratoire.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de l'AFSSA Alfort, au sein de l'unité de virologie des équidés et des affections virales émergentes et ré-émergentes de LERPAZ (le laboratoire d'étude et de recherche sur les pathologies animales et les zoonoses), qui a récemment développé une compétence pour le diagnostic de la maladie de Borna. Ce stage dans cette unité m'a permis de réaliser un certain nombre de sérologies Borna, d'assister à des réunions du RESPE, d'avoir accès aux documents du RESPE et aux résultats de laboratoire.

Première partie
Maladies nerveuses des équidés



Avant de pouvoir réaliser un diagnostic précis à partir d'un tableau clinique neurologique, il est nécessaire d'expliquer les signes cliniques observés en localisant la ou les lésions, puis d'établir un diagnostic différentiel propre à cette région ; c'est pourquoi des connaissances de base en neuroanatomie, en neurophysiologie et en physiopathologie sont nécessaires au clinicien. La connaissance du processus pathologique et de la réponse de l'organisme lui permettront de prédire la possibilité ou non d'une récupération. Ainsi nous aborderons dans une première partie des généralités concernant la neuroanatomie, la physiopathologie nerveuse et les répercussions cliniques de l'atteinte de chaque étage. Puis nous présenterons les principales étiologies responsables de maladies nerveuses. Enfin nous étudieront plus en détail les maladies diagnostiquées dans le cadre du réseau sous formes de monographies.

1.1. Généralités

1.1.1 Neuroanatomie

La neuroanatomie s'attache à décrire deux aspects du système nerveux : la morphologie et la relation des structures aux fonctions (anatomie fonctionnelle). D'un point de vue fonctionnel, le système nerveux se subdivise en deux parties : le système nerveux central (SNC) ou névraxe et le système nerveux périphérique (SNP).

1.1.1.1. Système nerveux central

Le SNC se divise lui-même en SNC supérieur, l'encéphale et en SNC inférieur, la moelle épinière. L'encéphale et la moelle épinière, recouverts par les méninges, sont protégés au sein d'une enceinte rigide et indéformable, la boîte crânienne et la colonne vertébrale.

- Topographiquement, l'encéphale se divise en 5 régions :
 - le télencéphale qui correspond au cortex
 - le diencephale
 - le métencéphale auquel appartient le cervelet
 - le mésencéphale
 - le myélencéphale

Les 3 vésicules encéphaliques les plus caudales représentent le tronc cérébral. Il est le carrefour de toutes les voies nerveuses et a un rôle de coordination des actions supérieures. Il contient la formation réticulée, système de mise en éveil ou en repos de l'ensemble du SN. (Barone, 1962 ; Bossy *et al*, 1990)

✓ Le **téleencéphale** : chez les mammifères, le néopallium prend une grande importance. La substance grise s'organise autour de deux structures : le cortex et les noyaux gris profonds (corps striés). Le cortex est composé de deux parties :

- l'iso ou le néocortex, composé de six couches

- l'allocortex formé par l'archi et le palléocortex, composé d'un nombre de couches variables mais inférieur à six.

Le cortex a un rôle d'intégration de très nombreux stimuli qu'il analyse, interprète et mémorise.

✓ Le **diencéphale** est constitué de la glande pinéale (anciennement « épiphyse »), du thalamus qui porte dorsalement les corps géniculés et de l'hypothalamus. L'hypothalamus est un centre récepteur, coordinateur et effecteur de la vie végétative (vie organique, instinctive, affective et émotive).

✓ Le **métencéphale** est représenté ventralement par le pont et dorso-latéralement par les pédoncules cérébelleux qui portent le cervelet. La structure de ce dernier est comparable à celle du cerveau, d'où son haut potentiel d'intégration. En coupe médiane, on découvre sa structure interne, composée de trois parties : le cortex périphérique qui n'est autre que de la substance grise et la substance blanche centrale (avec arbre de vie et lames blanches) et les corps médullaires cérébelleux qui contiennent les noyaux gris cérébelleux. Le cervelet est un centre de régulation et de coordination des activités motrices, il permet le maintien de l'équilibre et de la posture.

✓ La face dorsale du **mésencéphale** ou « toit » porte les collicules rostraux et caudaux, anciennement « tubercules quadrijumeaux ».

✓ Le **myéleencéphale** correspond à la moelle allongée, anciennement « bulbe rachidien », qui possède des sillons sur sa face dorsale ; ces derniers sont des prolongements de ceux de la moelle spinale et ils limitent le faisceau gracile et le faisceau cunéiforme.

Le tronc cérébral est le lieu d'émergence ou d'origine apparente des derniers nerfs crâniens (III à XII), les deux premiers étant d'origine proencéphalique (cf annexes 1 et 2).

➤ **La moelle épinière (ou moelle spinale)**

La moelle épinière est composée de la substance grise (corps cellulaires des neurones) entourée de la substance blanche qui est « blanche » du fait de la myéline qui entoure les fibres nerveuses (axones et dendrites). La substance grise est le centre nerveux relayant l'information. La substance blanche constitue ce que l'on appelle les voies de conduction : des voies sensibles ascendantes et des voies motrices descendantes (les

motoneurones supérieurs conduisant l'information motrice des centres nerveux supérieurs jusqu'aux motoneurones inférieurs innervant l'effecteur).

La moelle épinière est divisée en plusieurs segments qui correspondent à l'émergence de nerfs innervant une même région. La portion C6-T2 correspond au plexus brachial innervant les membres thoraciques et la portion L4-S2 au plexus lombo-sacré innervant les membres pelviens.

La moelle épinière possède un rôle intégrateur puisqu'elle fournit des réponses motrices appropriées en prenant en compte toutes les afférences qui lui parviennent. Elle contrôle la tonicité des muscles grâce aux motoneurones à activité γ et la motricité grâce aux motoneurones à activité α .

On décrit ainsi des réflexes médullaires simples qui sont des réflexes segmentaires monosynaptiques, comme par exemple l'arc réflexe, dont l'exemple le plus connu est le réflexe patellaire. Les réflexes polysynaptiques sont également des réflexes simples. Les réflexes complexes, quant à eux, font intervenir plusieurs segments médullaires et plusieurs nerfs moteurs. Ils ont souvent pour origine une stimulation cutanée douloureuse.

L'application clinique de cette motricité réflexe segmentaire est illustrée par l'exemple des paralysies. Celles-ci peuvent s'expliquer par des destructions ou des compressions de la moelle épinière. Au niveau du segment comprimé, sensibilité et motricité du segment disparaissent, en amont tout est normal mais en aval les réflexes segmentaires sont exagérés puisqu'il n'y a plus de régulation par les neurones inhibiteurs des neurones moteurs.

1.1.1.2. Système nerveux périphérique

Le SNP relie le SNC aux récepteurs et aux effecteurs. Le SNP est formé des nerfs rachidiens issus de la moelle épinière, qui sont destinés au tronc et aux membres, et des douze paires de nerfs crâniens issus du tronc cérébral, innervant l'extrémité céphalique.

Les nerfs crâniens sont : I ou nerf olfactif ; II ou nerf optique ; III ou nerf oculomoteur ; IV ou nerf trochléaire ; V ou nerf trijumeau ; VI ou nerf abducteur ; VII ou nerf intermédiaire-facial ; VIII ou nerf vestibulo-cochléaire ; IX ou nerf glosso-pharyngien ; X ou nerf vague ; XI ou nerf accessoire et XII ou nerf hypoglosse.

Les nerfs spinaux, quant à eux, sont des nerfs sensitivo-moteurs.

On peut envisager une autre dichotomie du SN : le SN volontaire versus le SN autonome ou végétatif. Ce dernier contrôle l'homéostasie et innerve les viscères. Il est subdivisé en deux : le système sympathique, noradrénergique, répondant au stress et le système parasympathique, cholinergique, activé en situation basale.

Ce SN autonome peut être subdivisé en partie centrale et en partie périphérique. La partie centrale est constituée des centres nerveux végétatifs, avec les centres nerveux végétatifs supérieurs (l'hypothalamus, la formation réticulée de la moelle allongée) et les centres primaires qui sont les points de départ des voies périphériques. Les centres primaires du SN sympathique se situent dans la substance grise de la moelle épinière thoracique et lombaire et les centres primaires du SN parasympathique se situent dans la moelle épinière sacrée et dans les noyaux des nerfs crâniens du tronc cérébral (III, VII, VII bis, IX, X) (Bossy *et al*, 1990).

Ainsi les lésions du système nerveux peuvent toucher une ou plusieurs de ces structures et chacune des lésions s'exprimera de façon spécifique.

1.1.2. Physiopathologie des affections nerveuses

Ces différents étages peuvent être atteints par des processus pathologiques variés, les plus courants étant l'inflammation, les hémorragies, la nécrose (appelée malacie), l'œdème et les déstructurations traumatiques. Le plus souvent on assiste à une combinaison de ces processus. D'autres processus peuvent aussi être mis en cause tels que les malformations, les lésions dégénératives et les néoplasies (Bain, 1995). Les répercussions cliniques de ces lésions dépendent de plusieurs facteurs incluant le degré de sévérité, la durée et la localisation de la lésion. La plupart de ces processus résultent en une augmentation de la pression intracrânienne, étant donné la possibilité d'expansion très limitée du tissu nerveux dans la boîte crânienne et dans le canal rachidien. Chaque processus pathologique peut être localisé, multifocal ou diffus, et les répercussions cliniques seront liées à cette distribution.

Les réponses fonctionnelles à toutes ces lésions peuvent être de quatre types (Bain, 1995):

- des 'déficiences' résultant de la perte directe de fonctionnalité d'un nerf, entraînant une disparition d'un réflexe ou une atrophie musculaire.
- des suppressions de rétrocontrôles, le plus souvent négatifs, se traduisant par une spasticité et des réflexes augmentés.
- des 'décharges', c'est-à-dire des activations électriques incontrôlées entraînant des activations d'une ou de plusieurs régions du SN à l'origine de convulsions et de fasciculations musculaires.
- des 'chocs' qui sont définis comme une perte temporaire de la fonctionnalité d'une région particulière au niveau cérébral ou spinal.

La clé de la réussite d'un diagnostic neurologique est de reconnaître chacun de ces différents types de réponse puisqu'ils interviennent dans des localisations différentes du SN.

1.1.3. Répercussions cliniques

Les manifestations cliniques d'une atteinte cérébrale (au niveau du cortex, du cervelet, du tronc cérébral ou des nerfs crâniens) diffèrent nettement de celles d'une atteinte de la moelle épinière ou des nerfs périphériques. La première étape de l'examen neurologique est de localiser la ou les lésions. Les lésions multifocales sont évidemment possibles mais il est préférable de rechercher un site lésionnel unique pouvant expliquer tous les signes cliniques.

Une lésion centrale au niveau du cortex entraîne des troubles du comportement : excitation (pousser au mur, tremblements, marche en cercle), dépression (démarche ébrieuse, torpeur), véritables crises de fureur, positions anormales de la tête, amaurose, modification de l'appétit. Les lésions plus profondes (diencéphale et mésencéphale) interfèrent sur le niveau de conscience, s'échelonnant de la somnolence à la stupeur puis à la léthargie et enfin au stade ultime : le coma. Ceci reflète une atteinte de la formation réticulée activatrice. Une lésion au niveau du tronc cérébral peut également se manifester par des atteintes spécifiques des nerfs crâniens. Un désordre cérébelleux est caractérisé par une incoordination motrice, se traduisant par de l'ataxie cérébelleuse (démarche dysmétrique, le plus souvent hypermétrique, semblable à chaque pas), par des mouvements anormaux de la tête (mouvements de balancier, tremblements 'intentionnels'), ainsi que par la perte de réflexe à la menace. Ceci est important à noter pour que l'on puisse différencier une ataxie d'origine centrale ou spinale.

Une lésion au niveau de la moelle épinière se manifeste par des signes de faiblesse et d'incoordination des membres (ataxie spinale). Une lésion au niveau des motoneurones supérieurs se traduit par de l'incoordination motrice, alors qu'une lésion des motoneurones inférieurs se traduit par de la faiblesse et dans certains cas de l'amyotrophie. Après avoir distingué si la lésion concerne les motoneurones supérieurs ou inférieurs, il faut déterminer quel est le segment spinal atteint, ce qui est possible en évaluant les différents réflexes (Bain, 1995).

Des atteintes des deux niveaux, central et périphérique, sont bien évidemment possibles notamment lors d'encéphalomyélite ; la clinique se compose alors de troubles comportementaux et locomoteurs.

Enfin l'atteinte d'un nerf périphérique entraîne un déficit moteur et sensitif pour le territoire qu'il innerve.

1.2. Maladies nerveuses d'origine infectieuse et parasitaire

Les maladies nerveuses d'origine infectieuse et parasitaire au sens large regroupent des maladies d'étiologie virale, bactérienne, parasitaire et des toxi-infections. Les maladies diagnostiquées dans le cadre du réseau seront présentées dans la partie 1.3. sous forme de monographies décrivant en détail l'étiologie, l'épidémiologie, la symptomatologie, le diagnostic et le traitement. Le propos est ici d'envisager toutes les encéphalomyélites d'origine infectieuse et parasitaire et de présenter la fréquence, la gravité (pronostic et aspect zoonotique) et enfin des données épidémiologiques récentes de chaque étiologie.

1.2.1. Infections virales

➤ *La rhinopneumonie forme nerveuse :*

L'agent est un *Herpesvirus*, EHV-1, considéré comme le plus pathogène des *Herpesvirus* équins, responsable non seulement de myéloencéphalopathies, mais aussi de maladies respiratoires et d'avortements. Même si les formes nerveuses sont plus rares que les formes respiratoires et abortives, cette étiologie serait la plus importante parmi les maladies nerveuses d'origine virale. Le virus circule chaque année dans la population équine française et plus globalement dans la population équine mondiale. Il touche aussi bien les centres d'entraînement, les centres équestres que les haras. La France a déclaré à l'*International Collating Center*, 163 foyers de rhinopneumonie en 2000 dont 2 foyers de forme nerveuse et 157 foyers en 2001 sans forme nerveuse (Puyalto-Moussu *et al*, 2002). La prévalence élevée de EHV-1 dans la population équine contribue à la propagation virale et rend difficile le contrôle de son apparition. Une des difficultés majeures du contrôle de cette maladie réside dans le fait que le virus a la capacité de rentrer en latence dans les tissus nerveux et lymphoïdes puis il peut être réactivé à l'occasion d'un stress de l'hôte. Une étude récente effectuée à partir de prélèvements nécropsiques de 56 chevaux, autopsiés à l'AFSSA Dozulé, a montré un portage (déterminé par PCR et/ou isolement viral) de 77% pour le virus EHV-1, en particulier dans les nœuds lymphatiques drainant le tractus respiratoire, l'épithélium nasal et les ganglions nerveux (notamment le trigéminé). Il est intéressant de noter que parmi ces 56 chevaux, seuls 6 présentaient des signes cliniques (5 souffraient de troubles respiratoires seuls et 1 de troubles respiratoires et d'ataxie postérieure) et/ou des lésions macroscopiques à l'autopsie pouvant faire suspecter une infection par un *Herpesvirus* (Taouji *et al*, 2002). Cette étude a ainsi confirmé que le virus herpès EHV-1 (ainsi que EHV-4) est largement répandu dans la population équine, ce qui montre la nécessité de prendre plus de précautions dans les élevages lors d'épisodes d'avortements et/ou de maladies respiratoires. La prophylaxie sanitaire présentant des limites, une prophylaxie médicale semble nécessaire. Toutefois dans la population étudiée,

la vaccination n'a pas semblé prévenir ou diminuer la persistance du virus, sachant toutefois que les formes nerveuses surviennent plus fréquemment chez des animaux non vaccinés. Pourtant le vaccin n'a pas d'AMM pour les myéloencéphalopathies.

➤ *La maladie de West Nile :*

L'encéphalite de West Nile, est due à un *Flavivirus*, membre du sérocomplexe de l'encéphalite japonaise. Elle peut toucher différentes espèces dont l'homme. Le virus a été isolé régulièrement en Afrique, en Europe de l'Est, en Asie, en France (en 1962-1965), en Russie et dans le bassin méditerranéen (pays du Maghreb et Israël). En 1999, le virus est apparu aux USA où sa présence n'avait jusqu'alors jamais été rapportée. Trois ans plus tard, il s'est disséminé sur la quasi-totalité du territoire américain (Zientara, 2003). En France, la maladie de West Nile est une maladie légalement réputée contagieuse. En 2000, une épizootie s'est déclarée dans le sud de la France entraînant une mobilisation particulière du public et des acteurs de la santé animale. Fin août, deux chevaux situés dans l'Hérault ont présenté une hyperthermie et des troubles nerveux (tremblements, raideur des membres, myoclonies, troubles de l'équilibre) ; ce tableau s'aggravant, ils ont été euthanasiés. Des examens de laboratoires (sérologie et détection génomique) ont permis d'établir un diagnostic de certitude d'encéphalite de West Nile. Pendant les mois de septembre et d'octobre, une centaine de suspicions cliniques ou épidémiologiques a été recensée. 76 cas, répartis dans le département de l'Hérault, du Gard et des Bouches-du-Rhône, ont été confirmés. A la fin de l'année 2000, une enquête de séroprévalence menée en collaboration avec l'AFSSA Alfort et sous la conduite des DDSV concernées, a montré une séropositivité de 8,3% (n=5133) dans les zones périphériques. Cette étude a permis de conclure que le virus a largement circulé dans la population équine de la région mais souvent de façon inapparente. Pendant toute la durée de l'épizootie, une surveillance des suspicions cliniques humaines a été réalisée par l'Institut de veille sanitaire, mais aucun cas humain ne fut détecté. L'absence de cas humains, le nombre limité de cas chez les chevaux, le fait que le dispositif de diagnostic ait bien fonctionné avec une complémentarité des acteurs du terrain et des laboratoires sont des éléments extrêmement positifs. Toutefois cette épizootie française a clairement mis en évidence les lacunes relatives à la connaissance du cycle épidémiologique de cette infection en Europe (Zientara, 2003).

Depuis cet épisode, aucune circulation virale de West Nile n'a été mise en évidence en France métropolitaine jusqu'en octobre 2003. Le 6 octobre, un premier cas humain de méningo-encéphalite a été déclaré dans le Var. Des anticorps anti-WN IgM et IgG ont été détectés chez ce patient et chez sa femme. Ils résidaient dans l'est du Var et ont présenté les premiers symptômes les deux dernières semaines d'août. Suite à une étude rétrospective auprès des hôpitaux du Var, 6 autres cas confirmés et un autre cas probable (3 formes fébriles et 3 formes nerveuses), tous situés autour de Fréjus, ont été diagnostiqués positifs en ELISA. Presque simultanément, le 9 octobre, un premier cas équin a été confirmé

positif. Ce cheval était situé à 25 kilomètres de la zone d'épidémie humaine. La surveillance des encéphalites équine a permis d'identifier trois cas équine confirmés plus un autre probable dans l'ouest du Var. Une enquête sérologique pilotée par la DDSV du Var a été réalisée par l'AFSSA Alfort sur les chevaux des centres hippiques de la région (Leblond et Zientara, 2003 (article fourni en annexe 6)). Au total, 33,5% de l'effectif (N=903) a été trouvé IgG positif (résultats préliminaires obtenus par l'AFSSA Alfort). Par ailleurs, une séropositivité a été décelée en Guadeloupe : 2,8 % en 2002 (n=360, soit 70% de la population équine de l'île) et 22,7 % en 2003 (n= 489, c'est-à-dire la quasi-totalité de l'effectif) (Zientara,2003). Cette séropositivité peut s'expliquer par le fait que la Guadeloupe est située sur le trajet des oiseaux migrateurs provenant des USA, hôtes intermédiaires du virus. Pour l'instant, la séroprévalence donnée en Martinique est nulle.

➤ *L'encéphalite japonaise :*

Comme l'encéphalite de West Nile, cette encéphalite est due à un *Flavivirus*, transmis par des moustiques de la famille *Culex*. Les oiseaux constituent un réservoir pour le virus, les porcs sont des hôtes amplificateurs et les chevaux et les hommes sont des culs-de-sac épidémiologiques. La maladie sévit à l'état enzootique dans les régions infectées avec des flambées épizootiques possibles en période de forte humidité (Ganière, 2003). La clinique est proche de celle de la maladie de West Nile mais la phase fébrile initiale peut passer inaperçue. En ce qui concerne la prophylaxie de cette encéphalite, la vaccination est efficace et s'adresse surtout à l'homme, pour lequel cette étiologie est la principale cause d'encéphalite. Cette maladie n'a jamais été décrite en France.

➤ *La maladie de Borna :*

La maladie de Borna est une méningo-encéphalomyélite, historiquement présente en Allemagne depuis plus de 200 ans, avec une incidence faible (<0,5%). Elle est due à un virus : le BDV, seul représentant de la famille des *Bornaviridae* qui appartient à l'ordre des *Mononegavirales*. Depuis une dizaine d'années, des études ont mis en évidence des infections par le virus Borna dans de nombreux pays du monde ainsi que chez de nombreuses espèces animales incluant probablement l'homme. Toutefois, les chevaux et les moutons restent les deux espèces majoritaires qui présentent des signes cliniques. Des études récentes ont montré que le virus Borna circule en France. Une technique de RT-PCR nichée appliquée à 206 prélèvements d'animaux présentant majoritairement des troubles nerveux, a permis de détecter de l'ARN viral dans des encéphales de bovin (1/31), de renard (6/61) et de cheval (3/87) ainsi que dans des prélèvements sanguins de chevaux (16/35). Ce résultat a constitué la première mise en évidence de génome du BDV en France (Dauphin *et al*, 2001). Une autre étude a évalué le taux de séroprévalence par une technique ELISA anti-P à 30% (35/119) chez des chevaux présentant des troubles nerveux et à 9% (15/155) chez des chevaux cliniquement sains. Ces outils diagnostiques ont également permis d'identifier

les premiers cas de maladie de Borna en France (une dizaine), en considérant comme atteints les chevaux présentant des troubles nerveux (locomoteurs et/ou nerveux) et ayant une sérologie et une RT-PCR positives (Dauphin et Zientara, 2003). Aucun élément ne permet de savoir si le BDV est un virus émergent sur notre territoire ou s'il est présent depuis longtemps en France puisqu'il n'avait encore jamais été recherché dans notre pays. L'incidence de la maladie reste inconnue en France mais elle est certainement faible. Son estimation doit passer par un recensement des cas cliniques de maladies nerveuses en France, ce qui va être possible grâce au réseau ANI.

➤ *La rage :*

La rage est une maladie nerveuse zoonotique qui a été éradiquée depuis peu en France mais qui ne doit cependant pas être oubliée, étant donné la gravité des symptômes et la persistance de foyers dans diverses régions du monde. Les cas de rage chez les équidés sont nettement plus rares que ceux chez les renards, les chiens ou encore chez les chauve-souris. Le cas équin le plus récent qui a été rapporté par l'OIE date de juin 2003 en Finlande. L'agent en cause est un virus de la famille des *Rhabdoviridae*, du genre *Lyssavirus*. Chez le cheval, les signes neurologiques sont variés et non pathognomoniques ; il existe une forme encéphalitique (agressivité, dépression, hyperesthésie, ataxie, paralysie du pharynx ou de la face, automutilations...) et une forme paralytique ascendante. Chez l'homme, les cas sont rares mais après le début des signes cliniques, l'évolution est très rapide (moins d'une semaine) et toujours fatale (Hussni et Kenneth, sous presse). La mesure de prévention la plus efficace est la vaccination. Cette mesure n'est plus obligatoire pour les chevaux en France mais la rage reste une maladie à déclaration obligatoire. Un seul laboratoire vétérinaire est habilité à faire le diagnostic de rage en cas de suspicion, il s'agit de l'AFSSA-Nancy. Le laboratoire Pasteur Paris diagnostique la rage chez l'homme mais aussi chez l'animal.

➤ *Les encéphalites virales américaines : l'encéphalite de l'est (EEE), l'encéphalite de l'ouest (WEE) et l'encéphalite vénézuélienne (VEE).*

Ces trois arboviroses (maladies transmises par un arthropode hématophage), non présentes en Europe, sont dues à trois virus distincts de la même famille des *Togaviridae*, du genre *Alphavirus*. Elles ont par conséquent beaucoup de similitudes concernant l'épidémiologie, la symptomatologie et les moyens de lutte à mettre en place. Elles se différencient par leur gravité et leur répartition géographique : l'EEE qui est la plus grave en terme de létalité et de morbidité se manifeste sur la côte est des Etats-Unis, dans les Caraïbes et en Argentine ; la WEE est la plus bénigne et sa région d'endémie est l'ouest des Etats-Unis mais le virus a également été isolé en Argentine, au Brésil et dans l'ex-Union Soviétique ; enfin la VEE considérée comme l'intermédiaire en terme de létalité et de

morbidity est endémique en Amérique du Sud, en Amérique Centrale et des épizooties ont eu lieu aux Etats-Unis. L'apparition de ces maladies dépend de l'abondance d'hôtes intermédiaires (des oiseaux sauvages pour l'EEE et la WEE et des rongeurs pour la VEE), des conditions climatiques favorables à la reproduction des vecteurs (des moustiques) et enfin de la réceptivité de l'hôte définitif (cheval et homme). En effet, ce sont toutes les trois des zoonoses graves. Des mesures de prévention doivent être prises : surveillance et élimination du vecteur (démoustication), augmentation de la résistance de l'hôte par la vaccination des chevaux (Hussni et Kenneth, sous presse).

➤ *Les encéphalites associées à des infections virales:*

Certains virus sont responsables de tableaux cliniques variés dont dans de très rares cas des troubles nerveux. Il s'agit du virus de l'anémie infectieuse, de l'artérite virale et de la peste équine (Mackay et Mayhew, 1992 ; Leblond et Zientara, 2002).

1.2.2. Infections bactériennes

De nombreuses agents bactériens peuvent être responsables de méningites bactériennes, d'abcès cérébraux, ou de maladies qui peuvent avoir une encéphalite dans leur tableau clinique (l'ehrlichiose et la maladie de Lyme). Exceptionnellement *Listeria monocytogenes* et *Leptospira interrogans* peuvent entraîner une pathologie nerveuse chez le cheval.

➤ *Les méningites bactériennes et les abcès cérébraux :*

Les méningites bactériennes sont de loin plus fréquentes chez les nouveaux-nés que chez les adultes (chez qui elles ne se manifestent qu'occasionnellement). L'atteinte du SNC peut avoir lieu par voie hématogène, suite à une septicémie, ce qui explique la plus grande incidence chez les nouveaux-nés ; mais elle peut aussi être secondaire à une extension d'un foyer infectieux adjacent (empyème des poches gutturales, otite interne, sinusite) en particulier chez l'adulte, et enfin par pénétration directe par traumatisme. Un grand nombre d'espèces bactériennes a été isolé lors de méningite bactérienne : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus equi*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Actinobacter*, *Actinomyces* et *Bacteroides* (Leblond et Zientara, 2002). Les signes cliniques sont au départ non spécifiques puis des signes nerveux apparaissent, résultant de la diffusion du processus pathologique vers l'encéphale et la moelle épinière. Ils dépendent de l'aire atteinte et de l'étendue des lésions. La progression des signes cliniques est en général très rapide chez le foal, c'est pourquoi la mort peut survenir en quelques heures après le début des signes cliniques. Malgré un traitement antibiotique adapté, le taux de létalité est d'au moins 50% chez le foal et tous les cas rapportés chez l'adulte ont été fatals (Sinha et Cox, 1995).

Les abcès cérébraux sont sporadiques chez le cheval ; ils peuvent être secondaires à un épisode de gourme ("abcès bâtards"), dû à *Streptococcus equi* subsp. *equi*. Les signes cliniques sont ceux d'une encéphalite et ces abcès doivent être différenciés des autres maladies cérébrales asymétriques, incluant les traumatismes, les néoplasmes intracrâniens, les méningo-encéphalites à protozoaires, les migrations parasitaires aberrantes et les granulomes cholestéaux. Le succès d'un traitement chirurgical (trépanation et drainage) dépend de la localisation de la lésion. Sans ce traitement, le pronostic est sombre (Sinha et Cox, 1995).

➤ *L'ehrlichiose:*

L'agent responsable de l'ehrlichiose granulocytaire équine (EGE) est une rickettsie, *Ehrlichia equi*, également considérée comme un biovar de l'espèce *Anaplasma phagocytophilum*, qui inclut également le biovar de l'agent de l'ehrlichiose humaine granulocytaire (HGE) décrite aux États-Unis et en Europe (Euzéby, 2003). Cette bactérie est transmise par des tiques du genre *Ixodes* et présente un tropisme pour les granulocytes neutrophiles. La maladie est diagnostiquée de manière croissante aux États-Unis, au Canada, au Brésil et en Europe du Nord. Le tableau clinique de cette maladie n'est pas uniquement neurologique (fièvre, léthargie, anorexie, œdèmes des membres, pétéchies, ictère, ataxie et difficulté à se mouvoir), mais cette étiologie entre quand même dans le diagnostic différentiel des encéphalites. Le pronostic de la maladie est bon, même pour les chevaux non traités. Une évolution fatale est toutefois possible et fait suite, soit à des traumatismes causés par l'incoordination motrice, soit à une infection secondaire puisque *E. equi* induit une immunodépression. De nombreux points restent à élucider concernant l'épidémiologie de cette maladie mais il semblerait que l'homme et le cheval s'infectent de la même façon, c'est-à-dire par une exposition à des tiques infectées. Une transmission directe homme/cheval n'a jamais été décrite (Madigan et Pusterla, 2000). En France, aucun cas aigu de HGE n'a été décrit mais ce biovar a été mis en évidence chez des tiques. De plus, des examens sérologiques semblent montrer son existence chez des donneurs de sang alsaciens (Euzéby, 2003).

➤ *La maladie de Lyme ou borréliose:*

Cette maladie, due à une bactérie du groupe des Spirochètes, *Borrelia burgdorferi*, a été décrite en Europe, en Amérique du Nord, en Asie et en Australie chez plusieurs espèces, dont l'homme. La transmission de la maladie se fait principalement par l'intermédiaire de tiques de la famille des Ixodidés, tout comme l'ehrlichiose. En France, la maladie peut être contractée sur tout le territoire. Les manifestations cliniques sont multiples et variées et regroupées en deux phases : une phase non spécifique, suivie d'une phase plus caractéristique avec des arthrites et d'autres signes rapportés seuls ou en association avec ces arthrites auxquelles peuvent être associées une encéphalite. Dans un grand nombre de

cas, l'infection est asymptomatique : seule une sérologie positive traduit le passage de l'infection (Zientara, 2000). De nombreuses inconnues demeurent concernant la pathogénie et l'épidémiologie de la maladie, notamment pour les porteurs latents. L'incidence de la maladie neurologique est inconnue chez le cheval, alors qu'elle est estimée à 15% chez l'homme (Sinha et Cox, 1995). Peu de cas de maladies neurologiques chez le cheval ont été documentés. Toutefois, des études pour évaluer la séroprévalence ont été menées. Dans certaines régions des Etats-Unis, 75 % des chevaux adultes sont séropositifs. En Angleterre, la séroprévalence chez des chevaux sains est de 3 à 4 % mais elle atteint 49 % chez des chevaux présentant des symptômes évocateurs de l'infection dans des régions endémiques pour l'homme (Moussu *et al.*, 2004). En France, une étude menée par le LVD14 sur 50 chevaux asymptomatiques a indiqué que 12 % des chevaux étaient séropositifs (Portier *et al.*, 2002).

➤ *La listériose :*

Une maladie clinique due à *Listeria monocytogenes* (méningo-encéphalite, avortements et septicémie rapidement fatale chez le foal) a été documentée chez le cheval mais elle reste très rare. De janvier 1998 à mai 1999, une enquête effectuée auprès des LVD a comptabilisé le nombre de cas de listériose en France. 428 cas de listériose animale ont été répertoriés toutes espèces confondues, dont un seul cas d'encéphalite pour les chevaux (Vaissaire, 2000).

1.2.3. Infestations parasitaires

➤ *Les méningo-encéphalites à protozoaires (MEP ou EPM en anglais) :*

Les EPM sont la principale cause de maladie nerveuse chez le cheval aux USA. On estime que 0,5 à 1% des individus sont touchés dans l'ensemble de la population équine américaine (Pitel, 2003). En Europe, tous les cas d'EPM détectés provenaient de chevaux ayant séjourné aux Etats-Unis. Toutefois, dans certains cas, des anticorps spécifiques de ces protozoaires ont été mis en évidence dans des sérums et des LCR de chevaux n'ayant jamais résidé aux Etats-Unis. Les parasites responsables de l'EPM sont *Sarcocystis neurona*, le plus fréquemment incriminé et plus rarement *Neospora sp* : *N. caninum* et *N. hughesi*, (à ce jour, seuls 7 cas de néosporose équine ont été décrits). Les protozoaires peuvent léser les différents étages du SNC (moelle épinière le plus souvent, nerfs crâniens, cerveau, cervelet) et les signes cliniques dépendent de cette localisation. Les signes les plus courants sont une faiblesse, une ataxie asymétrique et une amyotrophie. L'évolution de la maladie est progressive. Un traitement à base de molécules anticoccidiennes doit être mis

en place, ainsi qu'un traitement symptomatique et adjuvant. Ce traitement est très coûteux (dans une fourchette de 700 à 2400 dollars).

➤ *Les encéphalites vermineuses :*

Ces encéphalites sporadiques résultent de l'invasion accidentelle et de la migration dans le SNC de nématodes ou de larves de mouches. Plusieurs espèces ont été identifiées : *Setaria sp*, *Stongylus vulgaris*, *Halicephalobus deletrix* (anciennement *Micronema deletrix*), *Draschia megastoma*, *Angiostrongylus cantonensis* et des larves d'*Hypoderma* (Sinha et Cox, 1995). L'incidence de cette infestation est faible mais elle devrait faire partie du diagnostic différentiel des encéphalites, étant donné la possibilité d'une réponse favorable à une thérapie. Les signes cliniques sont variables, dépendant du nombre, de la localisation et de la durée de migration des parasites. Le diagnostic ante-mortem n'est pas facile ; toutefois en cas de suspicion un traitement à base d'anthelminthique, d'anti-inflammatoire et de soins curatifs peut être mis en place et apporter de bons résultats sur des cas aigus.

➤ *Thromboembolie parasitaire :*

Occasionnellement, des larves de *Strongylus vulgaris* peuvent s'emboliser dans l'artère carotide interne et être responsables d'un infarctus et d'un œdème cérébral. Les répercussions cliniques typiques sont une altération du comportement, des convulsions et un décubitus. L'issue d'une telle atteinte est mal documentée chez le cheval. En général, soit le tableau clinique se stabilise voire régresse, soit l'œdème cérébral est trop sévère et entraîne la mort. Si cet œdème est régulé, grâce à un traitement anti-inflammatoire, le pronostic de survie est bon, mais la persistance de déficits neurologiques est possible (Sinha et Cox, 1995).

➤ *Trypanosomose :*

Les méningo-encéphalites causées par diverses espèces de protozoaires du genre *Trypanosoma* sont fréquentes en Afrique du Nord, en Asie et en Amérique du Sud. Bien que la symptomatologie puisse varier en fonction de l'espèce de *Trypanosoma* impliquée, en général le tableau clinique se compose de fièvre, de perte de poids, d'anémie, d'œdèmes, d'urticaire, de lymphadénopathie et de signes de méningo-encéphalomyélites (déficit des nerfs crâniens, ataxie, atrophie musculaire et paralysie ou parésie). Un traitement (quina-pyramine) peut être efficace s'il est instauré rapidement, sinon la mort intervient quelques semaines ou quelques mois après le début des signes cliniques. La dourine, trypanosomose vénérienne due à *T. equiperdum*, est potentiellement cosmopolite. Après la seconde guerre mondiale, elle a été éradiquée de l'Europe occidentale et de l'Amérique du nord. Elle évolue le plus souvent sous forme chronique avec des symptômes cutanés, lymphatiques (œdème des parties génitales externes) et nerveux (parésie puis paralysie) (Sinha et Cox, 1995 ; Itard *et al*, 2003).

1.2.4. Toxi-infections

➤ *Le tétanos :*

Le tétanos est une toxi-infection aiguë hautement mortelle, commune à l'homme et à de nombreuses espèces animales, répandue dans le monde entier. Elle est causée par une neurotoxine puissante produite par *Clostridium tetani*. Le cheval et l'homme sont les deux espèces les plus sensibles à cette toxine et bien qu'un vaccin efficace soit disponible depuis plusieurs années, la maladie sévit encore aujourd'hui, de manière toutefois sporadique. *Clostridium tetani*, bacille anaérobie, est un hôte habituel du tube digestif des herbivores qui a la capacité de sporuler. Les spores éliminées dans les fèces, contaminent les pâtures et peuvent persister pendant des années. Ces spores pénètrent dans l'organisme par une plaie (incluant les plaies de castration et l'ombilic du nouveau-né) passant parfois inaperçue, puis elles vont rapidement germer. Les bactéries se multiplient au site d'infection et produisent des exotoxines, notamment la *tétanospasmosine*. Après avoir atteint le SNC (par voie rétrograde neuronale ou par voie sanguine), la toxine tétanique se fixe au niveau de la jonction synaptique entre les neurones inhibiteurs et les neurones moteurs, empêchant la libération du neurotransmetteur GABA, d'où la levée d'inhibition des neurones moteurs, ce qui entraîne des spasmes musculaires généralisés. Les premiers symptômes sont une sudation, une raideur dans la démarche ainsi qu'une queue incurvée et raide. Les symptômes s'accroissent en quelques jours et on observe une contraction des masséters (« rire sardonique ») et une protusion pathognomonique de la membrane nictitante. Les oreilles sont fixes, les naseaux dilatés, la tête étendue et la queue raide et horizontale. La mastication et la déglutition deviennent difficiles. Dans les cas avancés, un décubitus avec des convulsions et un opisthotonos est fréquent. Le pronostic est alors très réservé. La mort survient par paralysie respiratoire ou bronchopneumonie, suite à une fausse déglutition. Le diagnostic est clinique ; aucun test fiable ne permettant de détecter la toxine. Le traitement associe un sérum anti-tétanique, un débridement de la plaie, une antibiothérapie (in situ et par voie générale) et un traitement de soutien. La prophylaxie médicale est indispensable en raison de la gravité de la maladie et de l'efficacité du vaccin. Lors d'une plaie, il est fortement conseillé d'effectuer un rappel de vaccination si le cheval est vacciné ou une sérothérapie dans le cas contraire (Cox *et al*, 1995 ; El-Idrissi *et al*, 2003 ; Tritz, 2003).

➤ *Le botulisme :*

Le botulisme est une maladie grave, affectant de nombreuses espèces dont le cheval et l'homme, due à l'ingestion d'eau et/ou d'aliments imprégnés de toxines ou de spores de *Clostridium botulinum*, bactérie anaérobie tellurique. Cette maladie est connue sur tous les continents, se manifestant de manière localisée, sporadique ou enzootique, sans tendance à la diffusion. Le pouvoir pathogène de ce germe est principalement lié à sa toxine (poison le plus actif que l'on connaisse), dont il existe plusieurs sérotypes ; chez le cheval, ce sont les

types B,C et D qui ont été décrits dans les infections naturelles. La toxine botulinique neurotrope agit sur le SNP cholinergique au niveau de la plaque motrice ou du SN sécrétoire. Elle empêche la libération d'acétylcholine, donc elle inhibe la transmission nerveuse au niveau de la synapse neuro-musculaire, ce qui entraîne une paralysie flasque. Cette paralysie flasque touche non seulement les muscles mais aussi les voies aériennes et les voies digestives supérieures. Le pronostic est grave car le botulisme évolue rapidement vers la mort. Le traitement repose sur la sérothérapie antitoxique, mais celle-ci doit être établie précocement pour être efficace. La prophylaxie sanitaire repose sur deux règles essentielles : la préparation correcte des aliments et le rejet de tout aliment ou produit suspect. Une vaccination à partir de l'anatoxine botulique est possible et n'entraîne aucun effet secondaire (Akakpo, 2003).

1.3. Maladies nerveuses non infectieuses

1.3.1. Maladies congénitales et malformations

✓ Moelle épinière

L'affection majeure qui entre dans cette catégorie est le syndrome Wobbler ou ataxie spinale du poulain. Ce syndrome est dû à une maladie du développement ostéo-articulaire qui provoque des malformations vertébrales cervicales, à l'origine d'une sténose du canal vertébral (le plus souvent entre C4-C5 ou C5-C6) (Desbrosse, 1999). Cette malformation, diagnostiquée par radiographies, peut être traitée chirurgicalement, par arthrodèse cervicale, notamment aux Etats Unis ou dans quelques cliniques en Europe. Très peu de vétérinaires praticiens effectuent cette arthrodèse en France, étant donné les risques liés à l'intervention et le coût de celle-ci ; c'est pourquoi cette chirurgie s'adresse uniquement à des chevaux à hauts potentiels génétiques.

D'autres maladies congénitales sont connues chez le cheval, il s'agit de : la malformation occipitoatlantoaxiale ; la subluxation atlantoaxiale ; de l'hémivertèbre ; du bloc vertébral ; des vertèbres « butterfly » ; du spina bifida ; des myélodysplasies (Sinha et Cox, 1995).

✓ Encéphale

Il existe également un grand nombre de malformations concernant l'encéphale : hydrocéphalie ; hypoplasie cérébelleuse ; abiotrophie cérébelleuse (dégénérescence du cervelet) qui est une affection rare de pronostic mauvais et qui est connue chez le poulain arabe ; encéphalomyélopathie congénitale ; agénésie du corps calleux ; hémartome mélatonique ; hémangiome méningocérébral (Sinha et Cox, 1995).

1.3.2. Maladies inflammatoires

Trois affections concernant la moelle épinière sont à citer : il s'agit de la polynévrite équine ou syndrome de la queue de cheval, de l'ostéomyélite vertébrale et de la spondylodiscite (inflammation d'une vertèbre et des disques intervertébraux voisins). La polynévrite peut se limiter à une atteinte des racines nerveuses lombosacrées ou affecter aussi les nerfs crâniens et elle se caractérise histopathologiquement par une inflammation granulomateuse (Portier, 2001).

1.3.3. Traumatismes

- ✓ Encéphale : traumatisme cérébral, injection intra-carotidienne
- ✓ Moelle épinière : trauma vertébral, affection la plus fréquente
- ✓ Trauma des tissus mous environnants.

1.3.4. Néoplasies

Les néoplasies peuvent être primaires, secondaires, ou issues des tissus environnants. Il peut s'agir de lymphosarcomes, de mélanomes, ...

1.3.5. Maladies métaboliques et dégénératives

Plusieurs affections sont à citer : la myéloencéphalopathie équine dégénérative, l'hypoglycémie, l'hypoxémie et l'ischémie, l'hypo- et l'hyper- natrémie du foal et l'encéphalose hépatique.

Cette dernière affection à l'étiologie complexe est rare mais a toutefois fait l'objet d'une épizootie en 1992 en Normandie, principalement sur les juments. L'étiologie précise de cette entité est mal connue mais il semblerait que plusieurs facteurs interviennent : une déficience hépatique et des toxiques hépatiques. L'épisode de 1992 avait touché 112 cas avec un taux de létalité approximatif de 85% (Zientara *et al*, 1994). Les signes cliniques d'une telle affection sont un ictère, une photosensibilisation et des troubles nerveux : ataxie et amaurose. Etant donné l'ampleur de l'épizootie, un questionnaire national avait été transmis aux praticiens dans toute la France. De nombreuses recherches bactériologiques, virologiques, histopathologiques (sur foie et cerveau) ont été menées. Certains chercheurs ont recherché des plantes hépatotoxiques comme le Sénéçon ou le trèfle rampant (*Trifolium repens*). La cause de cet épisode d'encéphalose hépatique est restée inconnue. Des épisodes semblables avaient été décrit en France dans les mêmes aires géographiques en 1941.

1.3.6. Intoxications

De nombreux facteurs ont été incriminés (Sinha et Cox, 1995) :

- des mycotoxines, dont la toxine produite par *Fusarium moniliforma*, moisissure que l'on retrouve sur le maïs moisi, qui est responsable de la leucoencéphalomalacie
- des toxiques chimiques (mercure, monensin, carbamates et organophosphorés...)
- certaines plantes (des plantes de la famille des Solanacées (*Datura spp*, *Atropa belladonna*, *Solanum nigrum*), des Ombellifères (*Oenanthe crocata*, *Circuta spp*), un arbre couramment appelé acacia (*Robinia pseudoacacia*)...) (Mackay et Mayhew, 1992).
- les venins (piqûre de serpent et morsure de tique).

Une affection nouvellement connue a suscité l'intérêt de nombreux scientifiques lors de l'anazootie de l'automne 2002 : la myoglobinurie atypique. Ce syndrome a été décrit pour la première fois par une équipe de scientifiques écossais en 1986 (Hosie *et al*, 1986). En France, l'alerte a été donnée le 7 novembre 2002 par un vétérinaire sentinelle du RESPE suite à plusieurs décès rapides et inexplicables de chevaux dans le département de la Meuse. Le tableau clinique comportait de l'ataxie (94% des cas), une raideur musculaire majeure (78% des cas) souvent associée à des tremblements, de l'abattement (75% des cas), des urines foncées (100% des cas), de la sudation, de la polypnée, des coliques... L'anazootie a duré un peu plus d'un mois. Les malades étaient réparties dans 34 foyers. Le taux de létalité a été particulièrement important (83%) avec 55 décès enregistrés (Moussu, 2003). L'enquête épidémiologique et les examens complémentaires ont rapidement été orientés vers l'hypothèse d'une intoxication ou d'une intoxication. En effet, plusieurs mycotoxines sont connues pour être toxiques, voire spécifiquement myotoxiques chez le cheval (Osweiler, 2001). Des analyses toxicologiques ciblées sont envisagées pour élucider l'origine de l'anazootie mais les études menées par les scientifiques sont restées infructueuses jusqu'à ce jour.

1.3.7. Idiopathiques

Sous ce terme sont regroupées toutes les affections dont on ne parvient pas à élucider précisément l'étiologie ou la pathogénie. Il s'agit notamment de l'épilepsie du poulain et celle de l'adulte. Chez le poulain, cette affection est occasionnelle et elle est particulièrement connue chez l'arabe. Elle est de bon pronostic puisqu'on assiste à une diminution des crises avec l'âge.

Les autres affections idiopathiques connues sont le syndrome du nouveau-né inadapté, la narcolepsie et la catalepsie. Ces deux dernières affections sont occasionnelles, de pronostic bon à réservé puisque le cheval risque de se blesser. Il existe un traitement efficace à base d'amphétamines.

Enfin, on peut citer les anomalies vasculaires, les thromboembolies artérielle, les infarctissements et les granulomes cholestéaux (Sinha et Cox, 1995).

1.3.8. Autres

Entre autres, on peut classer dans cette catégorie, toutes les myélopathies qui peuvent être emboliques ou post-anesthésiques.

Deux autres entités connues en France sont particulièrement intéressantes à aborder ici. Il s'agit de la maladie de l'herbage ou grass sickness et de la maladie du motoneurone.

La maladie de l'herbage ou grass sickness est une atteinte du système nerveux autonome (dysautonomie) responsable de troubles digestifs : paralysie digestive généralisée avec troubles de la déglutition, stase, coliques... aboutissant à la mort dans deux tiers des cas.

La maladie du motoneurone est une affection neurologique dégénérative, qui peut être responsable d'une perte de poids, de faiblesse, de tremblements et d'amyotrophie. L'étiologie précise demeure inconnue mais l'histopathologie a été clairement identifiée. La maladie du motoneurone se caractérise par une dégénérescence de neurones moteurs somatiques des cornes ventrales de la moelle épinière et de certains noyaux cérébraux (trijumeau, facial, hypoglosse), ce qui provoque une atrophie neurogène des muscles squelettiques (Louf, 2003). Elle se rapproche des maladies humaines du motoneurone : l'amyotrophie spinale et la sclérose latérale amyotrophique. Une complémentation à base de vitamine E est recommandée, mais aucune étude n'a montré son efficacité.

1.4. Fiches techniques des principales maladies diagnostiquées dans le cadre du réseau ANI

Dans cette partie nous présenterons les trois principales maladies virales responsables de troubles nerveux en France (la rhinopneumonie forme nerveuse, la maladie de West Nile, la maladie de Borna), deux maladies bactériennes (la maladie de Lyme, l'ehrlichiose) et une maladie parasitaire (les méningo-encéphalites à protozoaires).

La Rhinopneumonie forme nerveuse

❖ Définition et importance

On regroupe sous le terme rhinopneumonie les infections par les herpesvirus EHV-1 et EHV-4. EHV-1, le plus pathogène, est responsable de pathologies respiratoires, abortives et plus rarement nerveuses (encéphalomyélite). Présent de façon enzootique en France et à l'étranger, il est à l'origine de pertes économiques importantes.

❖ Etiologie

EHV-1 est un virus de la famille des *Herpesviridae*, du genre *Simplexvirus*. Il existe deux sous-types : 1P et 1B et la forme nerveuse pourrait être provoquée par les deux sous-types (Crabb et Studdert, 1996).

❖ Epidémiologie

EHV-1 est ubiquiste dans la population équine et les chevaux sont souvent infectés dès la première année de vie soit au contact d'un animal infecté introduit dans l'élevage, soit au contact d'un animal de l'effectif porteur latent. La transmission se fait par inhalation ou ingestion de sécrétions contaminantes (salive, écoulements nasaux...) ou de particules virales issues de produits d'avortement. Le virus peut persister chez l'hôte sous forme latente ou inactive. Ce sont ces animaux déjà primo-infectés qui constituent des candidats privilégiés aux formes nerveuses de rhinopneumonie. Le plus souvent cela ne concerne qu'un animal mais des cas d'épizootie de forme nerveuse ont déjà été rapportés. Des signes d'atteinte respiratoire ou des avortements peuvent être observés en association avec l'émergence de la forme nerveuse. Les facteurs prédisposants à la forme nerveuse de la maladie sont inconnus mais les jeunes poulains et les poulinières semblent plus sensibles.

❖ Symptomatologie

Suite à une incubation d'environ une semaine, apparaissent brutalement une parésie et une paralysie ascendantes, ainsi qu'une ataxie. D'autres symptômes peuvent être associées : une hypotonie de la queue, de la vulve ou du pénis et une paralysie de la vessie (50% des cas) et du rectum, d'où une incontinence. Cette myélite s'accompagne d'une hyperthermie dans environ 50% des cas. Une encéphalite peut se manifester par de la cécité, un port anormal de la tête et une paralysie des nerfs faciaux. L'évolution classique est une détérioration sur 2 à 4 jours, une phase de stabilisation et une amélioration graduelle sur plusieurs semaines, voire plusieurs mois (Puyalto-Moussu *et al*, 2002). Certains chevaux conservent des déficits neurologiques, d'autres doivent être rapidement euthanasiés.

❖ Pathogénie

Après pénétration par voie respiratoire, le virus se multiplie dans les cellules épithéliales de la muqueuse respiratoire. La dissémination du virus s'effectue par voie hématogène (monocytes et lymphocytes) et/ou par voie neuronale rétrograde. La réplication du virus dans les cellules endothéliales du tissu nerveux, associée à des réactions

d'hypersensibilité de type III, provoqueraient des lésions vasculaires à l'origine de foyers de nécrose ; ceux-ci seraient la cause du dysfonctionnement du tissu nerveux plutôt que l'infection des neurones par le virus.

Les virus peuvent persister à l'état latent dans les tissus nerveux et lymphatiques et être réactivés à l'occasion d'une baisse de l'immunité (stress, maladie intercurrente...). La forme nerveuse peut donc être la résultante d'une réactivation d'une infection latente.

❖ **Diagnostic**

Le diagnostic est d'abord clinique et épidémiologique puis il doit être confirmé par des examens de laboratoire.

- *Diagnostic sérologique* : Le diagnostic d'une infection récente repose sur la détection des anticorps fixant le complément (majoritairement des IgM), rapidement détectable (quelques jours après l'infection) et disparaissant en 3 à 4 mois. On peut également rechercher les anticorps séroneutralisants (surtout des IgG), élaborés plus tardivement et persistants plus longtemps. Seule la séroconversion (augmentation de deux dilutions de titres viraux sur des sérums prélevés à 15 jours d'intervalle) permet réellement de conclure à une infection virale car les anticorps vaccinaux ne sont pas différenciables des anticorps liés à une infection. La sérologie peut aussi être appliquée à partir du LCR (Puyalto-Moussu *et al*, 2002).

- *Diagnostic virologique* : l'isolement viral par mise en culture cellulaire (à partir d'organes, de LCR ou de sang) est la méthode de référence, mais le délai de réponse est long. La seule technique directe vraiment utile en ante-mortem est la PCR sur LCR ou organes mais s'agissant d'un virus capable de latence, on risque de conclure à de faux-positifs.

- *Diagnostic histologique* : c'est un examen post-mortem de quasi-certitude lorsqu'il est couplé à une technique de détection virale comme la PCR.

❖ **Prophylaxie et traitement**

Il n'existe pas de traitement spécifique. Seul un traitement symptomatique doit être préconisé. L'utilisation de corticoïdes est controversée en raison du risque de réactivation de virus latents.

-*Prophylaxie sanitaire* : elle est essentielle et consiste en une gestion du cheptel en lots physiquement indépendants, un contrôle des introductions d'animaux (quarantaine) et une prévention du phénomène de réactivation chez les porteurs latents en minimisant le stress (statut nutritionnel, affections intercurrentes...) (Taouji *et al*, 2002).

-*Prophylaxie médicale* : Si la vaccination constitue un moyen de lutte avéré de la rhinopneumonie, elle n'empêche malheureusement pas la primo-infection des poulains et semble avoir une protection limitée vis-à-vis de la forme nerveuse. Toutefois un programme de vaccination bien respecté permet de réduire l'intensité des symptômes lors d'une infection, la durée du portage viral ainsi que la quantité de virus excrétés.

La Maladie de West Nile

❖ Définition

La maladie de West Nile (WN) ou fièvre du Nil occidental, est une encéphalomyélite due à un arbovirus, transmissible à l'homme.

❖ Etiologie

Le virus WN appartient à la famille des *Flaviviridae*. C'est un virus à ARN positif, simple brin, enveloppé. Il existe deux lignages de ce virus et tous les isolats équins appartiennent au lignage 1.

❖ Epidémiologie

- *Répartition géographique* : Le virus WN a été isolé du sang d'une femme infectée pour la première fois en 1937 en Ouganda dans le district de West Nile. Depuis cette date, la répartition mondiale du virus WN s'est largement étendue : tout le continent Africain, l'Asie, le Moyen-Orient, l'Europe, l'Océanie et les USA depuis 1999. Avant cette date, le WN était une maladie exotique pour les Etats-Unis, alors qu'en 2002, 14 000 cas d'encéphalite WN et plus de 4000 cas humains ont été répertoriés dans 44 Etats américains; c'est pourquoi on parle de maladie émergente dans ce pays. En France la zone d'endémie se situe au niveau du pourtour méditerranéen, où une épizootie a sévi durant l'été de l'année 2000. (Zientara, 2002)

- *Le cycle épidémiologique* (figure1) du virus WN n'est pas totalement élucidé, mais certains aspects sont toutefois connus. Le virus circule selon un mode enzootique entre des moustiques vecteurs (principalement du genre *Culex*) et des oiseaux, hôtes amplificateurs, (Zeller et Murgue, 2001) développant habituellement une infection inapparente. La durée du cycle dépend des conditions climatiques (température, humidité) conditionnant les possibilités de transmission par les vecteurs. Lorsque le cycle entre les oiseaux et les moustiques est intense, certains vecteurs peuvent piquer et infecter la plupart des mammifères dont l'homme et/ou les chevaux considérés comme hôtes accidentels, véritables impasses biologiques. Il n'y a pas de transmission directe possible homme/homme, cheval/cheval ou homme/cheval. (Zientara, 2003)

Le virus a été isolé chez d'autres arthropodes hématophages comme les tiques, mais leur rôle dans la transmission du virus est encore peu connu. Les oiseaux migrateurs jouent un rôle essentiel dans la dissémination du virus d'un pays à un autre (Zeller et Murgue, 2001). Chez certains oiseaux sauvages, l'infection peut entraîner une évolution fatale, ce qui fait de ces individus des animaux sentinelles pour la surveillance de l'évolution de l'épizootie.

L'émergence du virus semble résulter de la conjonction de plusieurs étapes : (ré)introduction par des migrants ; amplification entre vecteurs potentiels compétents et

oiseaux bons répondeurs avant passage éventuel *via* le vecteur à un hôte révélateur (homme, cheval,...). Une meilleure connaissance des différents facteurs impliqués dans le cycle permettra de mieux cerner l'épidémiologie complexe de cette arbovirose. (Zeller et Murgue, 2001)

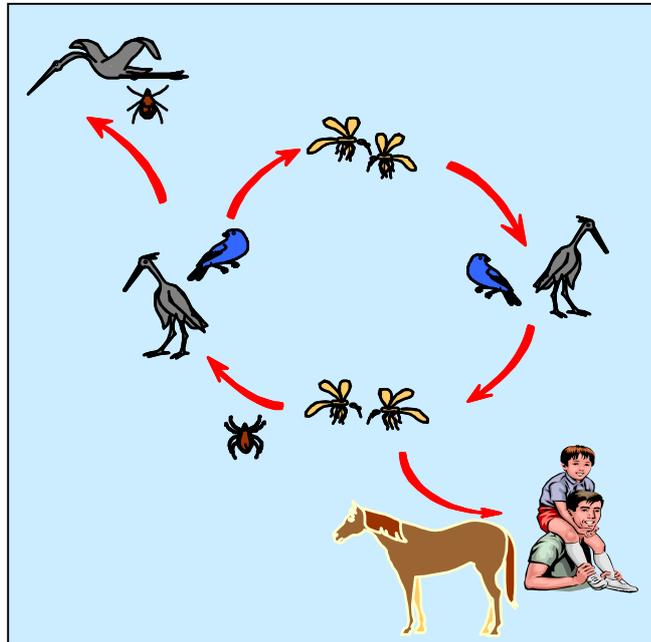


Figure 1- Cycle épidémiologique de la maladie de West Nile (Zeller, 1999)

❖ Symptomatologie

La symptomatologie chez le cheval est peu décrite, ce qui pourrait s'expliquer par une expression clinique de la maladie non systématique : seuls 20 à 40%, selon les études, des chevaux sérologiquement positifs présentent des troubles nerveux. La maladie se manifeste en fait de façon fort variée : d'un simple syndrome grippal à une encéphalomyélite à fort taux de mortalité (30% en 2002 aux USA) avec ataxie, déficit proprioceptif et comportement altéré. Les cas les plus sévères évoluent vers une paralysie postérieure, un décubitus, des convulsions terminales puis la mort (Zientara, 2003).

❖ Pathogénie

Chez les chevaux, le virus WN a un tropisme exclusif pour le SNC, provoquant une dégénérescence des cellules infectées et une nécrose du SNC avec une inflammation diffuse importante (réaction immunopathologique). Beaucoup d'incertitudes demeurent mais il est probable qu'il y ait réplication virale au niveau de la peau et des nœuds lymphatiques régionaux, virémie, envahissement de l'épithélium olfactif et de ses neurones puis remontée vers le SNC par transport axonal rétrograde.

❖ **Diagnostic**

Le diagnostic ne peut se fonder uniquement sur la clinique, il nécessite d'être confirmé par des techniques de laboratoire.

- *Diagnostic sérologique* : la mise en évidence des anticorps anti-virus WN (IgG ou IgM) est réalisée par la technique ELISA. La présence d'IgM permet de conclure à une infection récente (inférieure à 3 mois). A l'heure actuelle, cette sérologie est réalisée uniquement à l'AFSSA Alfort, avec confirmation des résultats positifs par le Centre National de Référence des Arboviroses (Pr Zeller).
- *Diagnostic virologique* : des techniques d'amplification génique (RT-PCR) ont été développées, permettant de détecter le génome viral à partir d'échantillons nécropsiques (cerveau, moelle épinière, sang sur EDTA) (Berthet et al., 1997).

❖ **Prophylaxie et Traitement**

Les mesures de protection sanitaire sont essentiellement la lutte contre les arthropodes vecteurs mais leur efficacité semble limitée et elles peuvent avoir des répercussions écologiques non négligeables. Seuls des traitements symptomatiques peuvent être proposés.

Aux USA un vaccin inactivé a récemment été autorisé afin de limiter l'expansion de l'infection. Plusieurs laboratoires ont développé des vaccins qui semblent donner des résultats encourageants. Le laboratoire Merial a mis au point un vaccin recombinant Canarypox, qui va bientôt être commercialisé aux USA. A l'heure actuelle, aucun vaccin n'a d'AMM en France.

❖ **Remarques**

Chez l'homme, la fièvre de West Nile se manifeste le plus souvent par un syndrome grippal mais des méningites aiguës et des encéphalites (dans 1 à 15 % des cas) sont également rapportées. La récupération est souvent complète mais peut être longue. Cependant, le taux de mortalité peut varier de 3 à 15 %.

La Maladie de Borna

❖ Définition

La maladie de Borna est une méningo-encéphalomyélite, décrite depuis plus de 200 ans, d'origine virale, probablement zoonotique et dont l'incidence est faible.

❖ Etiologie

Le virus de la maladie de Borna (BDV) est classé dans l'ordre des *Mononegavirales*, seul représentant d'une nouvelle famille : les *Bornaviridae*. Ce virus à ARN négatif, simple brin, enveloppé et non segmenté se caractérise par un neurotropisme, une réplication non cytotytique et une persistance dans le SNC. Il existe deux souches de référence les souches V et He/80 (Jordan et Lipkin, 2001).

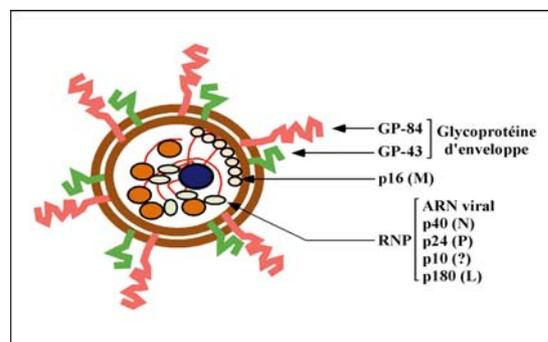


Figure 2 - Représentation schématique du BDV (Gonzalez-Dunia, 1998)

❖ Epidémiologie

Historiquement, la maladie de Borna sévissait dans le sud de l'Allemagne et en Suisse à la fin du XVIII^e siècle. Elle se déclarait de manière enzootique dans ces régions chez le cheval et le mouton, de manière cyclique tous les 3, 4 ans. Aujourd'hui, la distribution géographique est encore incertaine, mais des infections ont été décrites au Nord de l'Europe, aux USA, en Asie, au Moyen-Orient et en Australie (Richt et al., 2000). Des études récentes ont montré la présence de génome viral chez des chevaux, des renards et des bovins en France (Dauphin *et al.*, 2001). Le spectre d'hôtes est large, de nombreuses espèces à sang chaud (dont l'homme ?) peuvent être infectées naturellement. Malgré de nombreuses études, la communauté scientifique reste prudente sur une éventuelle infection humaine par le BDV et encore plus sur la possibilité de maladie psychiatrique humaine.

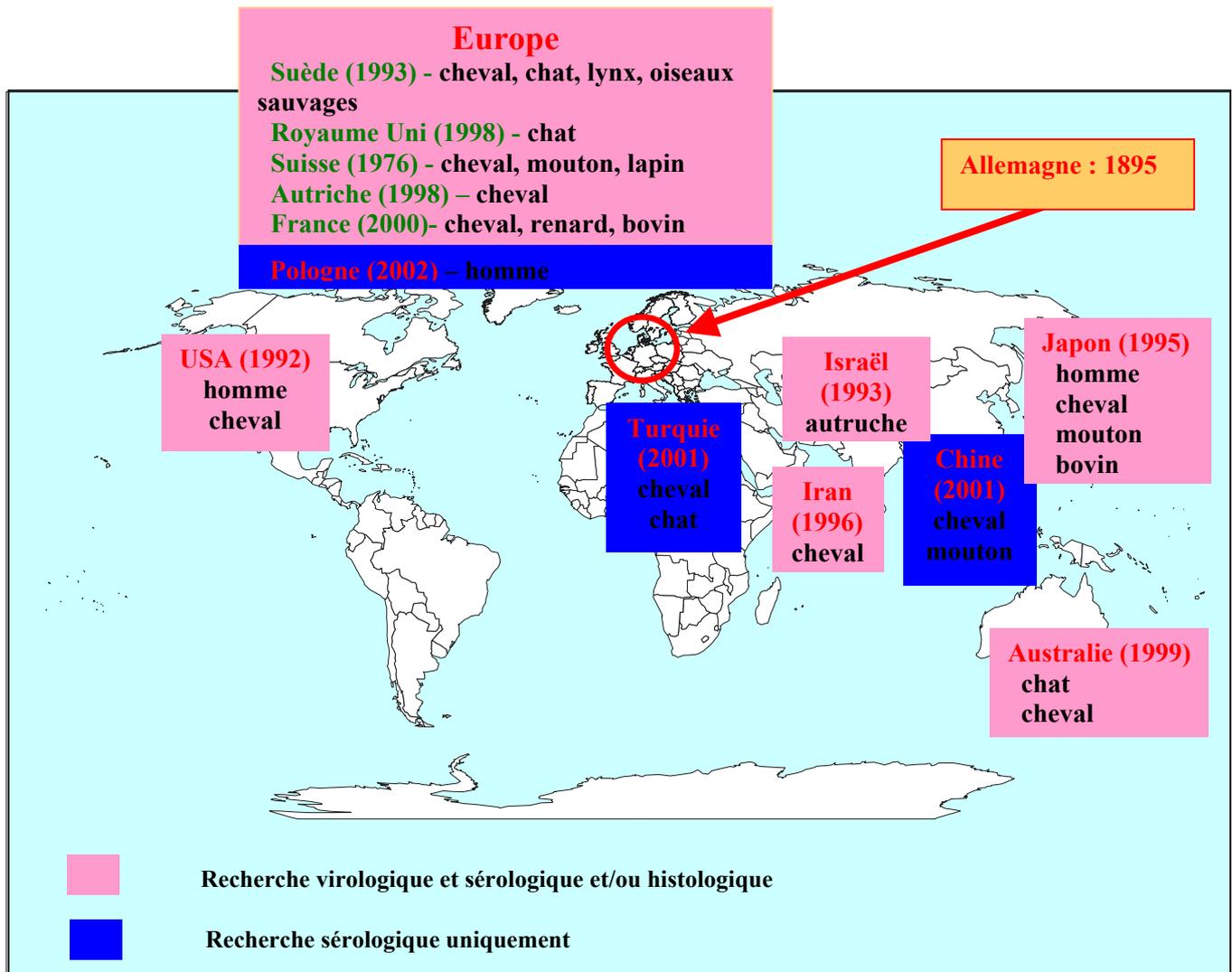


Figure 3 - Travaux ayant rapporté des infections par le BDV dans le monde (Dauphin *et al*, 2002)

Les connaissances sont encore limitées sur le mode de transmission. Le virus est probablement excrété par les sécrétions salivaires, nasales et conjonctivales. La contamination a lieu par voie olfactive, soit par contact direct avec ces sécrétions, soit par l'alimentation ou l'eau contaminée. La transmission directe de chevaux à chevaux ou de moutons à moutons n'a jamais été montrée.

L'infection naturelle des chevaux et des moutons est rare et d'apparition sporadique et enzootique. Elle a un caractère saisonnier, son incidence augmente au printemps et au début de l'été (liée au caractère saisonnier d'un éventuel vecteur ?). L'homologie génétique entre les souches de BDV isolées à partir d'animaux d'espèces différentes (chevaux, moutons et autres animaux de ferme) évoque une source virale commune. Les rongeurs ou d'autres espèces sauvages pourraient être des réservoirs et des vecteurs potentiels du virus, mais ceci n'a pas été démontré. Par ailleurs de nombreux animaux séropositifs cliniquement

sains ou avec des infections subcliniques peuvent également constituer des sources potentielles d'infection (Richt *et al.*, 2000).

❖ **Symptomatologie**

Suite à une incubation variant de deux semaines à quelques mois, la maladie de Borna entraîne simultanément ou consécutivement des troubles du comportement, de la sensibilité et de la mobilité. Trois formes de la maladie existent : deux formes cliniques et une forme asymptomatique. Les formes aiguës de la maladie ne seraient pas les plus courantes. Beaucoup de cas d'infection asymptomatique sont observés dans la population équine, avec occasionnellement, des modifications légères du comportement et/ou des mouvements ataxiques, suivis de la guérison de l'animal (Dürwald et Ludwig, 1997).

- *Forme aiguë* :

◆ phase initiale : signes non spécifiques (hyperthermie, anorexie, coliques et constipation).

L'hyperthermie n'est pas systématiquement observée car elle peut être brève.

◆ phase nerveuse : postures anormales, déficit proprioceptif, mouvements répétitifs, bruxisme, marche en cercle, raideur de la nuque, nystagmus, strabisme, myosis associés à des réactions anormales aux stimuli extérieurs (hyperexcitabilité, agressivité, léthargie, somnolence, stupeur).

◆ phase finale : des paralysies peuvent apparaître, suivies de convulsions souvent associées à des mouvements de 'pousser au mur' et parfois un décubitus avec pédalage et des convulsions précédant la mort.

- *Forme chronique* :

Pour des raisons encore peu élucidées, certains animaux survivent à la maladie aiguë et développent, quelques semaines après, une maladie chronique. Des épisodes récurrents peuvent ainsi apparaître tout au long de la vie de l'animal, en raison du caractère persistant du virus, suite à un stress ou d'autres pathologies intercurrentes. Il est possible que les animaux infectés avec de faible quantité de virus BDV survivent à la maladie aiguë et développent des troubles comportementaux chroniques.

❖ **Pathogénie**

L'infection expérimentale du rat a permis l'étude de la pathogénèse du BDV, qui est très proche de celle du virus rabique. Le BDV se réplique dans les neurones situés au site d'inoculation (dans le nerf olfactif ou les terminaisons nerveuses oropharyngées ou intestinales) puis migre vers le SNC par voie intra-axonale. Le délai d'apparition de la maladie dépend de la distance entre le site d'inoculation et le SNC. La mise en évidence récente d'une virémie (le plus souvent accompagnée d'une maladie sévère) remet en question, au moins partiellement, le mode de dissémination par voie nerveuse du virus. L'envahissement du SNC par le BDV a pour conséquence une infiltration massive du

parenchyme cérébral par des cellules mononucléées, responsable d'une inflammation massive du SNC qui s'accompagne d'une destruction neuronale importante (effet immunopathogène). La réponse inflammatoire diminue ensuite fortement lors de la phase chronique malgré la persistance du virus à des taux très importants (Gonzalez-Dunia, 1998).

❖ **Diagnostic**

Le diagnostic, aussi bien clinique qu'expérimental, est difficile. En effet, la maladie de Borna peut être diagnostiquée par sérologie, détection d'antigène, PCR ou isolement du virus, mais aucune méthode n'est suffisante à elle seule pour effectuer un diagnostic de certitude.

- Le diagnostic clinique : les signes nerveux étant nombreux et non spécifiques, la clinique ne permet pas de conclure.

- Le diagnostic sérologique : il permet le diagnostic du vivant de l'animal par recherche des anticorps dans le sang et/ou le LCR par Western blot, ELISA ou immunofluorescence indirecte (IFI). Les taux d'anticorps sont le plus souvent très faibles.

- Le diagnostic histo-pathologique : des degrés variables d'encéphalite sont observables. La répartition des cellules infectées dans le cerveau est très hétérogène et la détection des cas de Borna peut donc parfois échapper à la détection. La sensibilité de la technique histologique peut être améliorée par l'immunohistochimie.

- Le diagnostic virologique : Les méthodes classiques d'isolement viral à partir de tissu cérébral sont peu concluantes. La RT-PCR-nichée peut être appliquée sur le cerveau ou sur le sang, mais cette technique extrêmement sensible pose des problèmes de contamination de laboratoire.

❖ **Prophylaxie et traitement**

Des essais de vaccination et de traitement ont été réalisés mais aucun ne donne de résultats très probants. Des essais de traitement ont été menés avec l'amantadine mais l'efficacité de cette molécule n'a pas été confirmée.

La Maladie de Lyme

❖ Définition

La maladie de Lyme ou borréliose est une maladie infectieuse à la symptomatologie variée, due à une bactérie. Les signes d'encéphalites entrent donc dans un tableau clinique vaste.

❖ Etiologie

La borréliose est due à un agent bactérien de la famille des *Spirocheataceae* : *Borrelia burgdorferi*, famille qui appartient au groupe des Spirochètes.

❖ Epidémiologie



Figure 4 - Vue agrandie d'un *Ixodes*

La maladie de Lyme a été décrite en Europe, en Amérique du Nord, en Asie et en Australie. La transmission de cette maladie se fait principalement par l'intermédiaire de tiques de la famille de *Ixodidés*. La maladie sévit donc dans les aires de répartition des tiques, c'est-à-dire des régions tempérées comportant des forêts d'arbres à feuillages caduc ou des zones de végétation dense, broussailleuse et humide (Zientara, 2000).

En France métropolitaine, la maladie peut être contractée sur tout le territoire, avec des zones d'endémie comme l'Alsace (Moussu *et al.*, 2004). En Europe, l'*Ixodes* vecteur de *Borrelia burgdorferi* est *Ixodes ricinus*, la tique des ongulés. Les humains peuvent également être infectés lors de morsure de tiques.

❖ Symptomatologie

La plupart des animaux séropositifs ne présentent pas de signes cliniques. Lorsque la bactérie est responsable d'une maladie clinique, les troubles cliniques sont multiples et variés, regroupés en deux phases (Zientara, 2000).

✓ Phase primaire : elle survient une huitaine de jours après la morsure de la tique et se traduit par des signes non pathognomoniques (hyperthermie, asthénie, anorexie, fourbure). En raison du pelage, les manifestations cutanées passent souvent inaperçues.

✓ Phase secondaire (avec manifestations cliniques plus caractéristiques)

- Arthrites rémittentes, avec boiteries et difficultés à se déplacer. Elles touchent principalement les grosses articulations qui deviennent chaudes, douloureuses, tuméfiées. Ces arthrites sont souvent accompagnées d'un œdème des membres.

- Autres signes cliniques rapportés seuls ou en association avec ces arthrites :
 - des complications cardiaques,
 - des encéphalites avec paralysie de la queue, dysphagie, tête pendante et yeux vitreux,
 - une glomérulonéphrite, avec dégénérescence de l'épithélium tubulaire,

- de la toux,
- des lésions oculaires : une kératite ulcéralive unilatérale, une uvéite bilatérale et une cataracte bilatérale,
- des troubles de la reproduction : avortements ou mise-bas de poulains faibles qui meurent rapidement, de l'infertilité (résorption embryonnaire précoce ou absence de conception).

❖ **Diagnostic**

Le diagnostic clinique est très difficile, la borreliose étant une maladie protéiforme. Le diagnostic de laboratoire est donc indispensable.

✓Diagnostic direct (mise en évidence de l'agent pathogène). On peut rechercher la bactérie dans divers prélèvements (sang sur EDTA, liquide synovial, LCR, urines, colostrum) ou sur différents organes en post-mortem (foie, rate, moelle osseuse, rein, poumon, cerveau, œil). La recherche des germes de type spirochétal se fait par examen microscopique ; ensuite, l'identité du germe mis en évidence est confirmée par l'utilisation d'anticorps monoclonaux marqués (technique pratiquée uniquement dans des laboratoires très spécialisés)

✓Culture : celle-ci est très difficile et n'est réalisée que dans des laboratoires spécialisés.

✓Recherche d'anticorps : les deux tests sérologiques les plus utilisés sont l'immunofluorescence et le test ELISA.

❖ **Prophylaxie et traitement**

La prophylaxie sanitaire consiste à détruire les vecteurs dans l'environnement (emploi d'acaricide, débroussaillage) et à éliminer les vecteurs sur l'animal (arrachage rapide et soigneux des tiques accrochées sur la peau et emploi de substances acaricides). A l'heure actuelle, il n'existe pas de vaccin destiné au cheval (Zientara, 2000).

La traitement préconisé dans la littérature est l'administration de tétracyclines à la dose de 6,6 mg/kg en IV pendant un mois puis de doxycyclines à la dose de 5 à 10 mg/kg par voie orale, 2 fois par jour pendant un mois. Une réponse doit être observée sous 3 à 5 jours (Moussu *et al.*, 2004). Une application locale d'antibiotique est possible si on intervient dans les 2 à 3 jours après la morsure de la tique. Il faut renouveler au moins trois fois les applications.

L'utilisation concomitante d'anti-inflammatoires recueille des opinions très divergentes.

L'Ehrlichiose

❖ Définition

L'ehrlichiose équine ou ehrlichiose granulocytaire des équidés est une maladie infectieuse non contagieuse rencontrée surtout aux Etats-Unis mais aussi en Europe. Même si aujourd'hui personne ne peut affirmer que l'ehrlichiose équine est une zoonose, son étude reste très intéressante pour mieux comprendre la maladie chez l'homme (l'ehrlichiose granulocytaire humaine).

❖ Etiologie

L'agent causal est une bactérie, *Ehrlichia equi*, qui appartient à l'ordre des *Rickettsiales*. Dumber et Walker ont proposé en 2001 que les espèces *E. equi*, *E. phagocytophila* et l'agent de l'ehrlichiose granulocytaire humaine soient réunis dans une seule et même espèce appelée *Anaplasma phagocytophila*.

❖ Epidémiologie

Cette maladie a été découverte aux Etats-Unis, puis décrite au Canada, en Israël et au Brésil. En Europe, elle est répartie surtout dans le nord-ouest du continent : Allemagne, Suisse, Suède, Royaume-Uni, Danemark, Autriche. En France, la forme clinique de la maladie équine a été décrite pour la première fois en Picardie (Bermann, 2002).

Il a été établi récemment que cette bactérie est transmise par les tiques : *Ixodes spp.* Elle sévit donc surtout au printemps et en automne (Madigan et Pusterla, 2000). En France, le vecteur principal est *I. ricinus*. La possibilité d'une infection couplée par *Borrelia burgdorferi* et par l'agent de l'ehrlichiose granulocytaire humaine ou par *E. equi* est suggérée, ce qui représenterait un plus grand danger pour la santé humaine et animale en raison des effets synergiques entre bactéries (Richter *et al.*, 1996).

Les équidés seraient des culs-de-sac épidémiologiques pour *E. equi* et la bactérie serait maintenue dans une espèce réservoir sauvage, qui pourrait être soit le daim, soit un rongeur.

❖ Symptomatologie

Au syndrome fébrile (pics de température jusqu'à 42,7°C, tachycardie, polypnée, abattement et dysorexie) sont associés des œdèmes sous-cutanés, le plus souvent limités aux membres mais qui peuvent s'étendre à l'abdomen ventral et au prépuce (Gribble, 1969).

Les troubles nerveux sont une ataxie et une réticence à marcher associée à cet état débilité. Un chancellement est toujours présent et le cheval augmente son polygone de sustentation, ce qui peut faire suspecter des déficits proprioceptifs.

Des troubles hématologiques importants sont observés : une leucopénie, une thrombocytopénie, une élévation de la bilirubine, une anémie modérée et des inclusions granulaires caractéristiques (des morulas) dans le cytoplasme des neutrophiles.

La sévérité des signes est fonction de l'âge de l'animal (ils s'aggravent avec l'âge) et de la durée de la maladie. Les signes cliniques durent de 7 à 14 jours chez les chevaux non traités, avec une amélioration progressive et une résolution spontanée le plus souvent (Madigan et Pusterla, 2000). Le pronostic de cette maladie est donc excellent, le décès est exceptionnel.

❖ Pathogénie

Les bactéries, le plus souvent phagocytées, sont capables de résister et de se multiplier dans les macrophages en empêchant la fusion phagosome-lysosome. Ces bactéries qui survivent dans les cellules de défense, utilisent celles-ci comme véhicules pour une diffusion par voie lymphatique ou sanguine, permettant l'extension de l'infection.

❖ Diagnostic

- ✓ Diagnostic épidémio-clinique : il nécessite de bien connaître la séquence d'évolution clinique de la maladie et les nombreux changements hématologiques ainsi que la répartition géographique et la saisonnalité de la maladie.
- ✓ Microscopie optique : du fait de la spécificité d' *E. equi* pour les granulocytes, le frottis sanguin est l'élément de choix pour le diagnostic en phase clinique de la maladie.

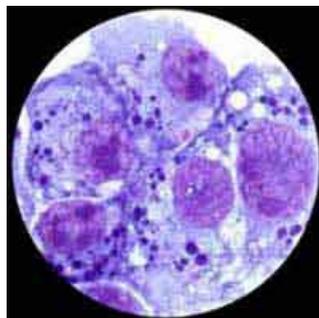


Figure 5 - Vue au microscope de morulas dans des granulocytes après coloration au MGG

- ✓ Sérologie : l'immunofluorescence indirecte est la méthode la plus courante. Le problème est de lier les résultats de sérologie à la clinique. D'après l'étude de Madigan *et al.* en 1990, en zone endémique, une large proportion de chevaux ont des titres en anticorps significatifs sans avoir jamais présenté de signes cliniques. Pour conclure à une infection récente ou ancienne en cas de titre élevé en anticorps, il faut effectuer une cinétique des anticorps.
- ✓ PCR : cette technique hautement spécifique et sensible est non standardisée et reste une technique onéreuse.

❖ Prophylaxie et traitement

Le meilleur traitement est l'oxytétracycline à la dose de 7 mg/kg en IV une fois par jour pendant 7 jours ou pendant 2 jours en IV pour faire baisser la fièvre suivi d'administrations *per os* à la dose de 20 mg/kg deux fois par jour. Aucun effet secondaire dû aux tétracyclines n'a été noté sur quarante cas (Madigan, 1983). Un repos de 3 semaines est nécessaire après la guérison clinique.

Il faut s'attacher à rechercher, par des examens cliniques minutieux et fréquents, toute infection concomitante qui pourrait être exacerbée par l'infection à *E. equi*.

A l'heure actuelle, il n'existe pas encore de vaccin protégeant contre l'ehrlichiose granulocytaire équine. Les mesures prophylactiques consistent à éviter, ou au moins à réduire, l'exposition aux tiques aussi bien pour les chevaux que pour l'homme. En effet, l'ehrlichiose granulocytaire humaine est devenue une maladie émergente aux Etats-Unis.

❖ Remarques

Cette infection ne doit pas être confondue avec l'ehrlichiose monocytaire équine ou fièvre équine du Potomac, due à un autre agent bactérien (*E. risticii*), qui cause un syndrome colique, une forte fièvre ou une diarrhée, suivant les cas.

Les Méningo-encéphalites équine à Protozoaires (MEP)

❖ Définition

Ces méningo-encéphalites, causées par deux types de protozoaires, particulièrement connues aux USA, sont la première cause de préoccupation des éleveurs en terme de pathologie. Cette pathologie, principale cause de maladie nerveuse aux USA, n'a jamais été détectée en Europe.

❖ Etiologie

Le parasite majeur est *Sarcocystis neurona*. Récemment, un autre parasite a été identifié : *Neospora sp* mais la plupart des cas de MEP sont dus à *S. neurona*.

❖ Epidémiologie

Sur l'ensemble de la population équine des Etats-Unis, estimée à 6,6 millions d'animaux, il est considéré qu'entre 0,5 à 1 % des individus sont touchés. Entre 1992 et 1996, le nombre d'animaux présentant des troubles nerveux, pour lesquels le diagnostic de MEP a été établi est passé de 24,9 à 50%.

Si tous les cas de MEP à *S. neurona* détectés en Europe provenaient de chevaux ayant séjourné aux Etats-Unis, il n'en reste pas moins que 10% d'un échantillon d'une population de 450 chevaux résidant en France possède des anticorps anti-*Neospora sp*. (Pitel, 2001).

Le cycle parasitaire de *S. neurona* fait intervenir l'opossum (*Didelphis virginiana* et *D. albiventris*) comme hôte définitif et il semblerait que le chat soit l'hôte intermédiaire (Fenger *et al*, 1997). Le cheval est un hôte accidentel du protozoaire.

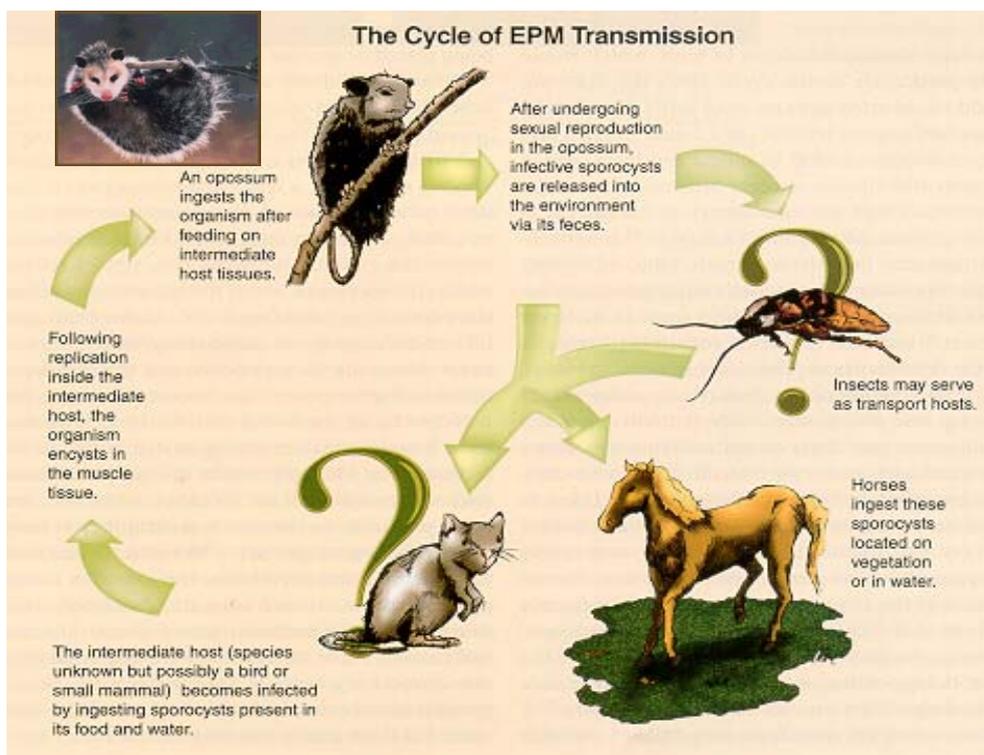


Figure 6 - Cycle épidémiologique des MEP

❖ Symptomatologie

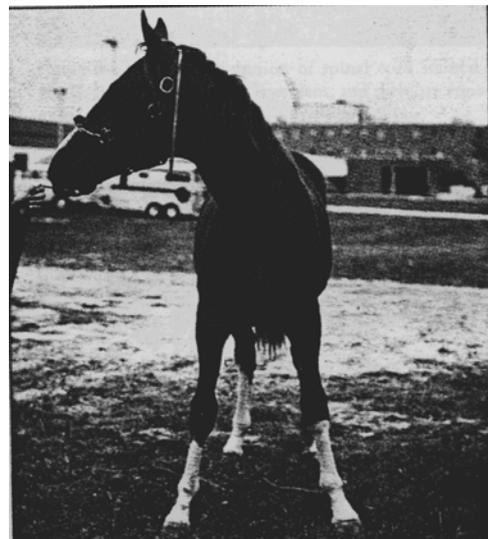
Les EPM sont souvent des maladies individuelles débilitantes à évolution progressive. Les signes cliniques majeurs sont une faiblesse, une ataxie asymétrique et une amyotrophie.

Dans 10% des cas, on note une atteinte des nerfs crâniens qui se manifeste par une difficulté à avaler, une paralysie des nerfs faciaux, une atonie de la langue et des lèvres et une ptose palpébrale ou auriculaire et parfois paralysie une laryngée, responsable de troubles respiratoires.

Rarement, le cerveau ou le cervelet peuvent être infectés, ce qui se manifeste par une asthénie ou de l'hypoalgésie faciale. L'atteinte du cervelet peut engendrer de l'ataxie et une diminution du réflexe à la menace. Dans certains cas, le cheval peut avoir des difficultés locomotrices sévères. L'évolution peut parfois spontanément se stabiliser mais cette rémission n'est que temporaire.



A- Paralysie faciale (bout du nez dévié)



B- Posture anormale

Figure 7 - Cheval atteint de MEP

❖ Pathogénie

L'atteinte du SNC (inflammation, œdème, mort cellulaire) peut être focale ou multifocale. Les symptômes sont fonction de la zone du SNC central lésée. C'est la moelle épinière qui est la plus fréquemment touchée, responsable d'ataxie et/ou d'amyotrophie.

❖ Diagnostic

- ✓ Diagnostic clinique : aux Etats-Unis, tout cheval présentant des signes neurologiques doit être suspecté de MEP. Un des éléments non pathognomoniques mais fréquemment rencontré est un déficit asymétrique de posture et une amyotrophie localisée (muscle glutéal, biceps fémoral, infra et supra épineux).
- ✓ PCR : malgré une spécificité excellente, la sensibilité de ces tests peut paraître décevante, puisque peu de parasites restent libres dans le LCR. Toutefois, l'utilité de ces

techniques n'est pas à écarter puisqu'un certain nombre de cas ont été trouvés positifs en PCR alors que la sérologie sur LCR était négative (contamination récente ?).

- ✓ Histologie : d'un point de vue microscopique, les lésions principales sont des plages d'hémorragie avec des foyers d'inflammation non suppuratifs et de nécrose (figure 8). Le nombre de parasites visibles sur les coupes microscopiques est en général très faible. Un œil exercé pourra facilement différencier *S. neurona* des autres parasites potentiellement responsables de MEP.

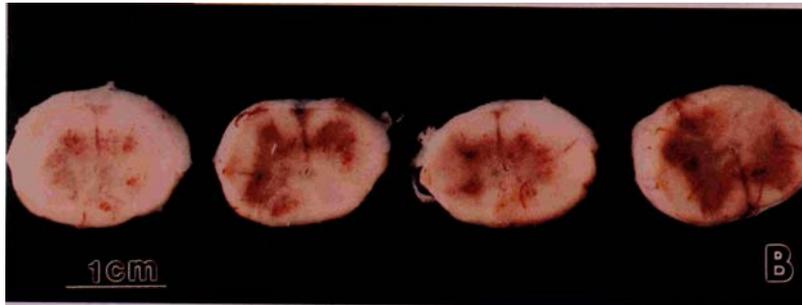


Figure 8 - Vue macroscopique de coupes transversales de moelle épinière d'un cheval atteint de MEP

❖ Prophylaxie et traitement

- ✓ Traitement étiologique : il repose sur l'utilisation de molécules anticoccidiennes (Pyriméthamine associé à un sulfamide, Diclazuril, Toltrazuril, Nitazoxanide). Le traitement à la pyriméthamide doit s'accompagner d'un dosage mensuel des folates ainsi que d'une prise de sang hebdomadaire pour un suivi hématologique (thrombocytopénie, anémie et/ou neutropénie).
- ✓ Traitement adjuvant et symptomatique : l'utilisation d'AINS les premiers jours pour diminuer l'œdème et de DMSO est recommandée. Un minimum d'exercice non monté est recommandé dans la mesure où l'état de l'animal le permet.
- ✓ Prophylaxie : elle semble difficile étant donné la distribution de l'agent causal dans la plupart des Etats des USA et des mouvements fréquents des chevaux au sein du pays. L'accès des opossums à la nourriture et à l'eau doit être éliminée (conservation du granulé dans des containers). Des efforts sont actuellement menés par certains laboratoires afin de développer un vaccin (MacKay *et al*, 2000).

Deuxième partie

Mise en place du réseau spécialisé ANI (Affections Neurologiques d'origine Infectieuse) au sein du RESPE (Réseau d'Epidémio-Surveillance des Pathologies Equines)



2.1. Présentation du RESPE

2.1.1. Historique

Des structures de surveillance des maladies équine ont été créées ces 15 dernières années dans un certain nombre de pays (Angleterre, Suisse, Etats-Unis). Ces réseaux se sont orientés de façon prépondérante vers les maladies infectieuses, avec parfois une restriction à un syndrome particulier (Ex : réseau sur les encéphalites aux Etats-Unis). En France, à la suite de réunions avec des professionnels de la filière équine (éleveurs, entraîneurs, vétérinaires, laboratoires d'analyse...), il est apparu un besoin croissant d'informations actualisées sur la fréquence, la localisation et la diffusion des maladies infectieuses majeures, ainsi que sur certaines pathologies non infectieuses. Ce souhait était d'autant plus justifié que les transports fréquents et parfois sur de longues distances des chevaux de compétition (sport, courses), favorisent la diffusion d'un certain nombre de maladies. En France, dix maladies infectieuses équine sont inscrites sur la liste des maladies légalement réputées contagieuses. Cinq de ces infections ne sont pas des maladies nerveuses ; il s'agit de la métrite contagieuse équine, de l'anémie infectieuse, de la peste équine, de la morve et de la dourine, ces trois dernières n'étant actuellement plus présentes sur le territoire français. Les cinq autres infections sont des maladies nerveuses mais une seule d'entre elles est présente sur le territoire français. Ces cinq infections sont la maladie de West Nile, l'encéphalite japonaise, et les trois encéphalites virales américaines. En ce qui concerne les autres maladies infectieuses, un certain nombre d'informations sont déjà disponibles mais elles sont dispersées dans différentes structures : les laboratoires départementaux et les laboratoires privés, les directions des Services vétérinaires (CESAME), l'AFSSA (Alfort, Dozulé) et les écoles vétérinaires.

C'est pourquoi il semblait nécessaire de mettre à disposition de l'ensemble de la filière équine une structure rassemblant un maximum d'informations sur les maladies infectieuses des équidés, ceci dans un souci de maîtrise de la dissémination de ces maladies. Ainsi, c'est aux alentours de l'année 1995 qu'une commission 'Laboratoire – Epidémiologie' est née au sein de l'AVEF (Association Vétérinaire Equine Française). Cette commission, par la suite nommée Commission maladies infectieuses et parasitaires, a proposé la création d'un véritable réseau de surveillance des pathologies équine, nommé RESPE (Réseau d'épidémiologie-surveillance des pathologies équine). La création de ce réseau avait pour but d'estimer l'incidence d'un certain nombre de pathologies équine au sein de clientèles équine variées, d'attirer l'attention des éleveurs et des praticiens sur le développement d'épizooties comme la grippe et de déceler précocement l'apparition de maladies émergentes ou ré-émergentes. Pour parvenir à ces objectifs, l'association de plusieurs partenaires était nécessaire : des vétérinaires sentinelles, des laboratoires d'analyses, des

instituts de recherche et des écoles vétérinaires. L'AFSSA Dozulé et l'AFSSA Alfort ont ainsi été rapidement impliquées dans ce réseau. Un partenariat entre l'AFSSA et l'AVEF a été mis en place en 1998. Le RESPE est donc une structure mixte AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, organisme public) et AVEF (Association Vétérinaire Equine Française, association loi 1901). Cette collaboration est nécessaire au bon fonctionnement du réseau. Il faut préciser que les actions du RESPE restent dans le domaine de compétence de l'AFSSA, c'est-à-dire des maladies infectieuses et parasitaires.

2.1.2. Objectifs du RESPE

❖ *Objectifs généraux :*

Le RESPE a pour mission de contribuer :

- à **l'épidémio-surveillance** des maladies infectieuses et parasitaires des équidés à l'échelon national. La surveillance s'applique à tous les équidés (chevaux, poneys, ânes, croisements, exceptionnellement zèbres), à toutes les races et types d'utilisation, sur l'ensemble du territoire français avec une couverture plus importante dans les zones à forte densité équine. Sont privilégiées les maladies présentant une grande contagiosité, occasionnant des pertes économiques importantes pour la filière ou présentant un risque en santé publique vétérinaire.
- au développement d'un **réseau de compétences vétérinaires** permettant en cas d'alerte sanitaire et notamment en cas de maladies émergentes ou ré-émergentes, de collecter rapidement des informations cliniques et épidémiologiques.
- à la mise à disposition ou à la diffusion des **informations épidémiologiques** recueillies, aux professionnels de la filière et aux autorités sanitaires compétentes.
- à assister les experts dans l'utilisation et l'interprétation des informations épidémiologiques.

❖ *Objectifs des réseaux spécialisés :*

Au sein du RESPE, deux réseaux spécialisés ont été mis en place : le réseau « **Syndrome grippal** » qui fonctionne depuis 1999 et le réseau ANI « **Affections Neurologiques d'origine Infectieuse** », qui a été lancé en juin 2003.

La grippe est un problème majeur en pathologie équine infectieuse, étant donné sa forte contagiosité. Chaque année, plusieurs formes épizootiques se déclarent en France. De septembre 2002 à septembre 2003, 101 foyers suspects de grippe ont été déclarés au réseau, soit environ le double par rapport à la campagne 2001-2002 (58 foyers déclarés). Il semblerait donc que la circulation de virus à tropisme respiratoire ait été active au cours de l'automne 2002 et de l'hiver 2003. En effet, au cours de cette période, 16 foyers de grippe ont été confirmés (Saison et Moussu, 2003, voir article en annexe 5).

L'objectif de ce réseau spécialisé est de détecter précocement le virus grippal, de suivre son évolution régionale et nationale et de prendre rapidement des mesures de contrôle, c'est-à-dire surveiller les caractéristiques génétiques du virus et de vérifier l'adéquation de la composition vaccinale avec les souches circulant en France. En effet, le virus grippal a une forte capacité à muter, et la souche responsable de l'épizootie change chaque année. C'est pourquoi la surveillance de la circulation des virus grippaux est essentielle.

En ce qui concerne les affections nerveuses, le besoin de la création d'un réseau spécialisé s'est fait ressentir auprès des vétérinaires praticiens, qui sont souvent démunis face à un cheval présentant des troubles nerveux. De plus, aucune données concernant l'incidence des affections nerveuses équine en France ne sont disponibles. Les objectifs précis de ce réseau spécialisé seront détaillés dans la partie 2.2..

2.1.3. Organisation du RESPE

❖ *Les acteurs du RESPE et leurs rôles :*

Le RESPE est un réseau pluridisciplinaire qui a pour objectif une confrontation en temps réel de données sanitaires (nombre d'actes vétérinaires réalisés dans le cadre d'une pathologie donnée avec des résultats d'analyses en laboratoire). Cet objectif ne peut être atteint que grâce à la collaboration de différents professionnels.

➤ **Les vétérinaires sentinelles** : à l'heure actuelle, le réseau en comprend 100, répartis sur tout le territoire français (voir la carte en annexe n° 3). Peut devenir vétérinaire sentinelle, tout vétérinaire praticien qui signe la charte de partenariat avec le RESPE, dans laquelle sont cités les différents engagements du vétérinaire sentinelle. Celui-ci s'engage à déclarer systématiquement les cas entrant dans le cadre des réseaux spécialisés, à effectuer les prélèvements requis pour le diagnostic des étiologies suspectées et à accompagner ces prélèvements de la fiche de commémoratifs standardisée du réseau. En contrepartie de sa participation active, le vétérinaire sentinelle -membre de l'AVEF- bénéficie d'analyses gratuites dans le cadre des réseaux spécialisés, d'un accès réservé au site intranet du réseau (adresse : <http://www.respe.net/>), du bulletin trimestriel de synthèse du RESPE (voir annexe n°5) et d'informations épidémiologiques envoyées par mail ou par fax lors d'épizooties concernant les pathologies surveillées par le réseau ou en cas de crise sanitaire (voir l'annexe n°6). Les vétérinaires sentinelles qui ne seraient pas membres AVEF ne bénéficieraient que de ces deux derniers avantages.

➤ **Les instituts de recherche** : il s'agit du service d'épidémiologie du laboratoire de l'AFSSA à Dozulé et de l'unité de virologie équine de l'AFSSA à Alfort. Le laboratoire de l'AFSSA Dozulé est consacré aux maladies infectieuses et parasitaires des équidés et offre

également un service de diagnostic nécropsique spécialisé à l'espèce équine. Ses missions dans le cadre du RESPE sont la gestion des bases de données du réseau (réception et enregistrement des informations cliniques et des résultats de laboratoire), la diffusion des informations épidémiologiques, la gestion des analyses histologiques réalisées dans le cadre des réseaux spécialisés, la caractérisation et la conservation des souches bactériennes pathogènes collectées. Le laboratoire de l'unité de virologie de l'AFSSA Alfort mène des activités de recherche, d'expertise et d'appui technique particulièrement en virologie équine. Il est laboratoire de référence pour les affections suivantes : anémie infectieuse, peste équine, artérite virale et West Nile. Ses missions consistent la réalisation d'analyses, majoritairement dans le cadre des réseaux spécialisés (sérologies grippe, rhinopneumonie, Borna, West Nile, détection et isolement des virus correspondants), le développement et l'amélioration d'outils de diagnostic moléculaire et le typage des virus.

➤ **Les écoles vétérinaires** : elles participent au fonctionnement du réseau par des investigations complémentaires sur des cas identifiés par les vétérinaires sentinelles, des examens nécropsiques, de l'épidémiologie-surveillance... A l'heure actuelle, l'unité de médecine et l'unité de biomathématiques et d'épidémiologie de l'Ecole Vétérinaire de Lyon sont impliquées. La thématique de travail de cette dernière est la mise au point d'outils génériques pour les systèmes de surveillance et d'alerte précoce des maladies infectieuses. Les maladies vectorielles zoonotiques sont étudiées en tant que modèles (maladie de Lyme, Ehrlichiose, maladie de West Nile, fièvre de la vallée du Rift). L'unité de médecine interne de l'Ecole Vétérinaire de Maisons-Alfort participe également à la vie du réseau, notamment par l'envoi de prélèvements.

➤ **Les laboratoires d'analyses** : ils sont au nombre de six actuellement, quatre laboratoires publics et deux laboratoires privés.

Les laboratoires publics impliqués dans la vie du réseau sont les laboratoires vétérinaires départementaux du Calvados (LVD 14 ou laboratoire Frank Duncombe dont les responsables sont *Dr Fortier et Dr Pitel*), de la Mayenne (LVD 53 sous la responsabilité de *F. Menard*) et de la Sarthe (LVD 72 sous la responsabilité de *S. Poliak*) et le laboratoire de l'AFSSA Alfort avec les *Dr Zientara et Dauphin*. Outre la réalisation d'analyses dans le cadre des réseaux spécialisés, l'AFSSA Alfort et le laboratoire Frank Duncombe participent aux réflexions sur la standardisation des techniques de laboratoire utilisées et le développement de nouveaux outils de diagnostic moléculaire des agents infectieux étudiés dans le cadre du réseau.

Le laboratoire Pasteur Cerba (dirigé par *Dr Bernadac*) participe à la vie du réseau en réalisant gratuitement des analyses et en s'investissant activement au sein des groupes de travail. Cet établissement situé à Saint Ouen l'Aumône (95) est le laboratoire d'analyses biologiques de la Fédération Nationale des Courses Françaises. Le laboratoire de Biologie Equine (sous la responsabilité de *M Bermann*), un laboratoire privé de biochimie vétérinaire

situé à la Chapelle en Serval (60), participe également aux travaux du réseau et travaille à la mise en place de nouvelles techniques d'analyses équine.

❖ *Organisation juridique du RESPE :*

A la tête du réseau seront mises en place deux instances décisionnelles : un conseil d'orientation, qui apportera un avis critique et constructif sur les projets du réseau, et un bureau, qui veillera à son bon fonctionnement.

◆ *Le conseil d'orientation* assurera le 'pilotage' du réseau. Il étudiera l'intérêt des nouveaux projets proposés par des groupes de travail, leur pertinence par rapport aux objectifs du réseau. Puis, il évaluera la faisabilité de ceux-ci (adéquation avec les moyens humains et financiers disponibles). Il établira les budgets prévisionnels. Il fixera également le contenu de l'information diffusée (bulletin, site Internet) et contrôlera les interventions ou publications émanant des sources du réseau. Toute publication ou communiqué réalisés à partir des données du réseau seront donc soumis à un comité de lecture, qui veillera à ce que la confidentialité et l'anonymat sur l'origine des données soient conservés.

Ce conseil se réunira quatre fois par an. Il devrait être constitué des vétérinaires membres de la Commission maladies infectieuses et parasitaires de l'AVEF, de membres de l'AFSSA Dozulé et de l'AFSSA Alfort, de représentants des laboratoires et des écoles vétérinaires impliqués dans le fonctionnement du réseau.

A chaque réunion du conseil d'orientation, d'autres membres pourront être invités : des représentants de la DGAI (Direction Générale de l'Alimentation), de l'ADREF (Association pour le Développement et de Recherche Equine Française), des Haras Nationaux et des professionnels de la filière équine.

◆ *Le bureau* sera paritaire : 2 membres AVEF (son président ou son représentant et le responsable de la Commission maladies infectieuses et parasitaires) et 2 membres AFSSA (un représentant du laboratoire d'Alfort et un autre du laboratoire de Dozulé). Ses rôles seront d'assurer le suivi et le contrôle du fonctionnement du réseau, de valider le budget et les nouveaux projets, de délibérer lors d'opposition au sein du conseil d'orientation et d'organiser les réunions de ce dernier. Le bureau se réunira deux fois par an.

◆ *Le financement* : Le RESPE finance les analyses qui entrent dans le cadre des réseaux spécialisés (ce qui constitue la plus grosse dépense de son budget) grâce aux subventions qu'il reçoit de plusieurs partenaires privés. Pour l'année 2003, on peut citer les laboratoires pharmaceutiques Merial, Schering et également une provision de l'AVEF, qui est reconduite chaque année depuis la création du RESPE.

2.1.4 Le fonctionnement du réseau

Pour parvenir à atteindre l'objectif principal du réseau qui est l'épidémiologie-surveillance des maladies infectieuses et parasitaires des équidés, il est nécessaire que les prélèvements et les informations circulent rapidement et simplement entre les différents acteurs du réseau. Ainsi la diffusion des informations est codifiée à chaque étape :

- Réception et enregistrement des informations cliniques et épidémiologiques au secrétariat du réseau (AFSSA Dozulé). Ces informations sont transmises par le vétérinaire sentinelle par l'intermédiaire de la fiche de commémoratifs (fax, site Internet, messagerie) qu'il doit joindre au prélèvement adressé au laboratoire d'analyses compétent.

- Restitution par ces laboratoires des résultats d'analyses à l'AFSSA Dozulé et au vétérinaire sentinelle.

- Diffusion de communiqués en temps réel indiquant la présence de foyers confirmés de certaines maladies infectieuses contagieuses (grippe, rhinopneumonie,...) ou de certains syndromes particuliers (myoglobinurie atypique).

- Bilans réguliers (trimestriel et annuel) des données recensées par le réseau, diffusés dans plusieurs supports d'information : le bulletin du RESPE (voir le bulletin d'octobre 2003, annexe 5), le site Internet (adresse : <http://www.respe.net/>) et par la diffusion de mails aux intéressés (voir annexe 6). En fait, plusieurs niveaux d'accès à l'information sont fournis par le RESPE, plus ou moins exhaustifs selon l'intéressé. Les vétérinaires sentinelles, les autorités sanitaires compétentes (DGAI et DSV) et les laboratoires membres du réseau ont accès grâce à un code au site intranet du RESPE et le secrétariat du RESPE leur envoie l'actualité par e-mails et le bulletin du RESPE. Les autres professionnels de la filière équine ont uniquement accès au site Internet du réseau et non à « l'espace protégé vétérinaire ». Ils peuvent également obtenir des informations dans des communiqués de presse (Eperon, Paris Turf, Bulletin des HN, Lettre des éleveurs de PS ...).

A partir de ce schéma général de diffusion de l'information entre les différents acteurs du réseau, nous pouvons détailler deux situations différentes : la veille sanitaire et la gestion de crise pour une maladie non réglementée et pour une maladie réglementée. Les modalités de circulation des prélèvements et d'informations entre les différents acteurs du réseau sont représentées sur trois schémas (figures 9 à 11).

2.1.4.1. Dans le cadre de la veille sanitaire

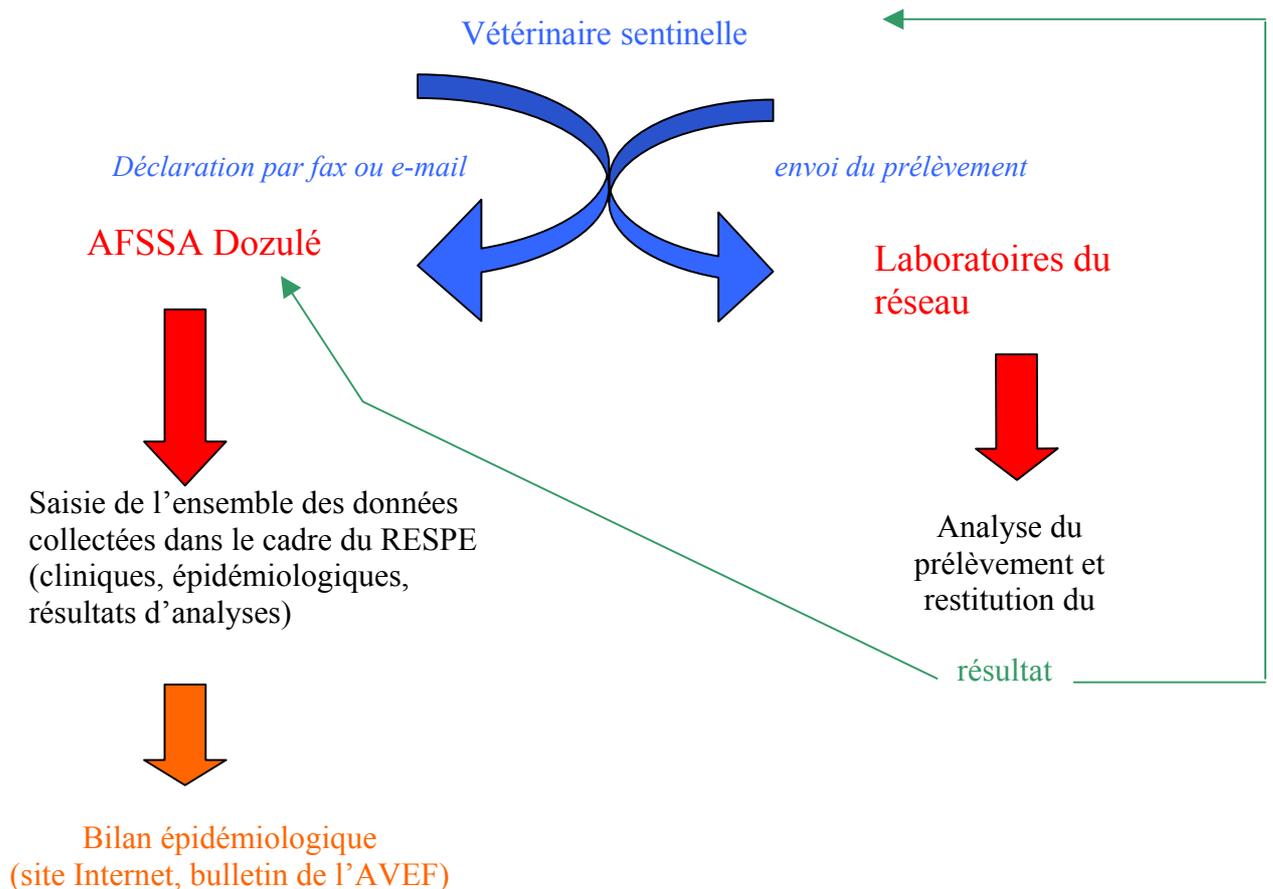


Figure 9 - Circulation de l'information au sein du RESPE dans le cadre de la veille sanitaire

2.1.4.2. Dans le cadre de la gestion de crise sanitaire

En cas de crise sanitaire, outre les partenaires précédemment cités, le réseau pourra informer d'autres structures d'Etat afin qu'elles assurent le rôle de relais régionaux pour le recueil d'informations et la réalisation de prélèvements. Il s'agit des Directions Départementales des Services Vétérinaires (DDSV) et des circonscriptions des Haras Nationaux.

Contrairement à la veille sanitaire qui est réalisée grâce aux vétérinaires sentinelles, le réseau est ouvert à tous les vétérinaires, sentinelles ou non, en cas de crise.

Deux cas de figure peuvent se présenter en fonction de la réglementation. Les maladies sont soit non réglementées (ex : encéphalose hépatique, myoglobinurie atypique...), soit réglementées (ex : West Nile qui est soumise à un arrêté préfectoral) et les organismes impliqués sont alors différents.

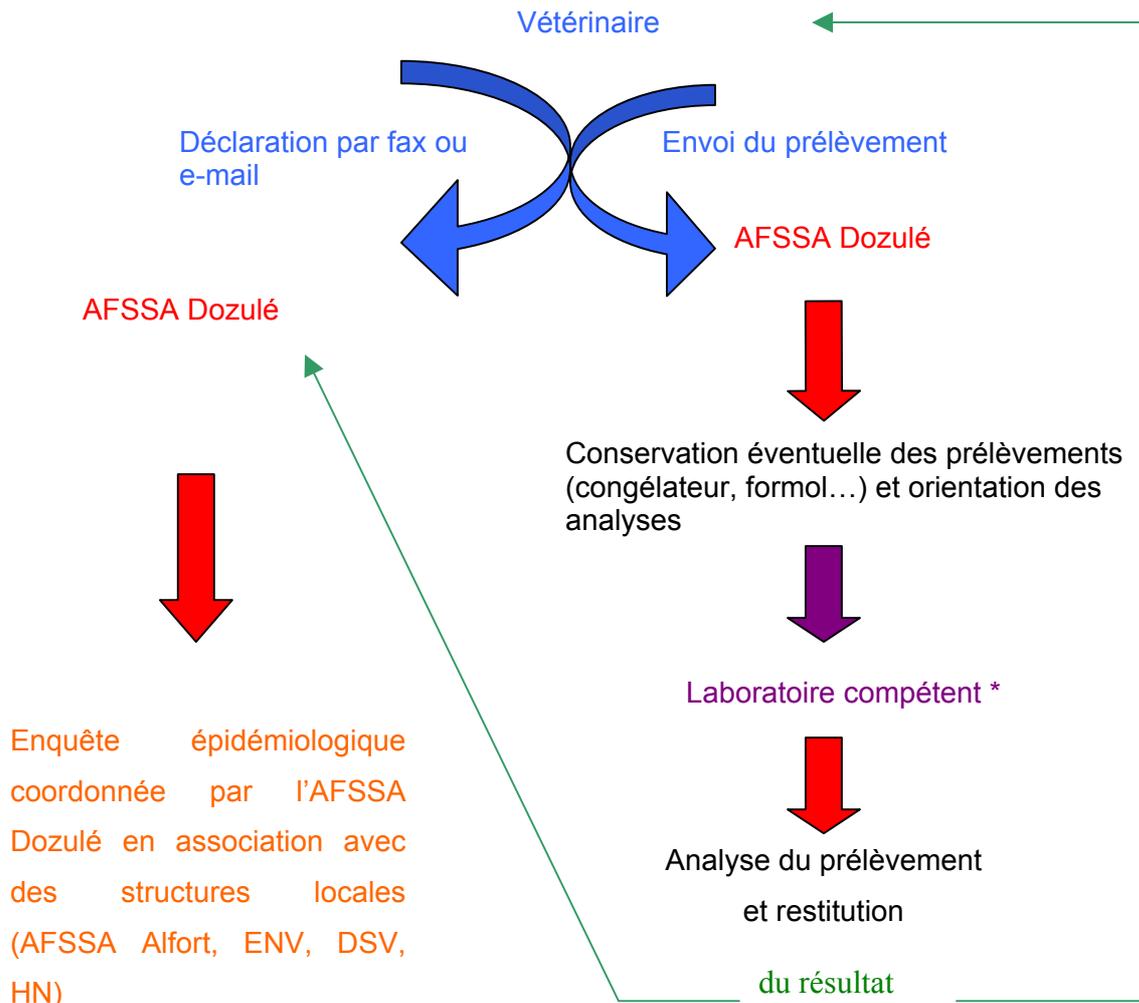


Figure 10 - Circulation de l'information au sein du RESPE dans le cadre de gestion de crise pour les maladies non réglementées

* La liste des laboratoires partenaires du RESPE a été définie par le conseil d'orientation.

Un accord avec la DGAI a été passé sur un partenariat avec le RESPE lors de crises sanitaires, ce qui permettrait des échanges d'informations épidémiologiques en temps réel.

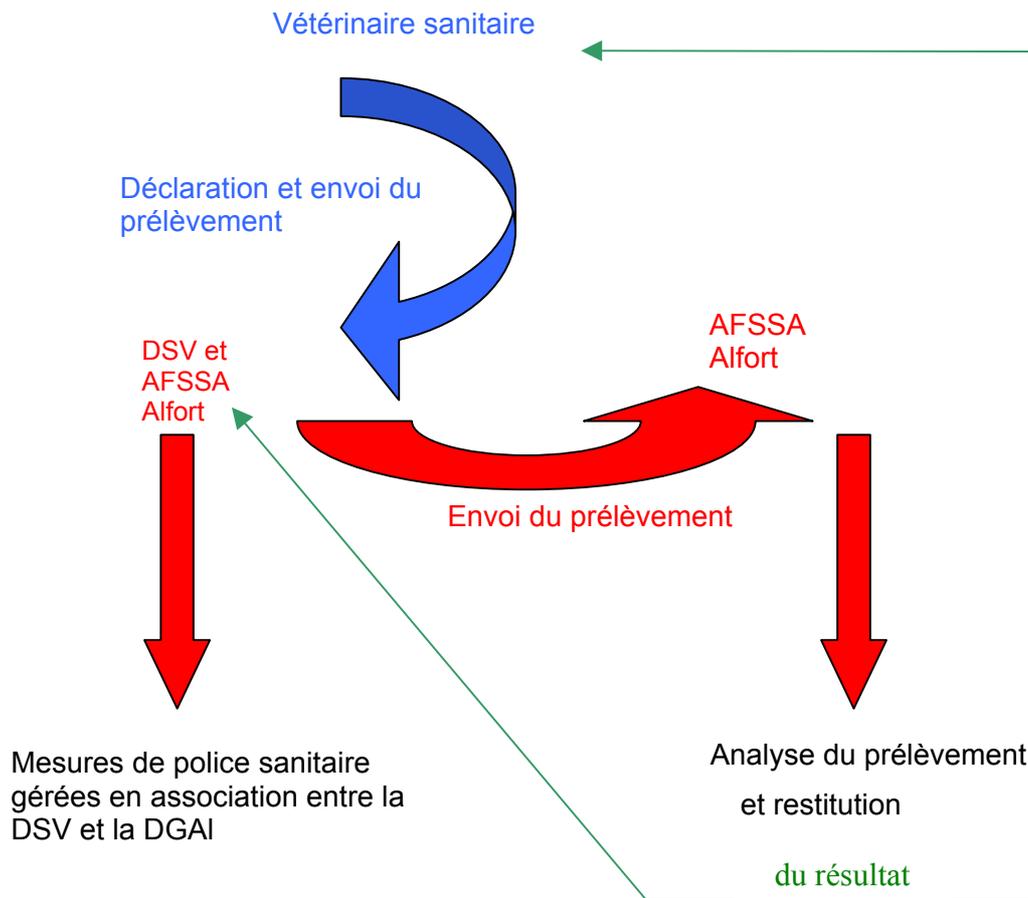


Figure 11- Circulation de l'information au sein du RESPE dans le cadre de gestion de crise pour les maladies réglementées (comme WN, maladie légalement réputée contagieuse)

La France a connu plusieurs crises ces dix dernières années en ce qui concerne les affections neurologiques : l'encéphalose hépatique en 1992, le West Nile en 2000 et 2003, la myoglobulinurie atypique en octobre 2002. En 1992, le réseau n'existait pas encore et la gestion de la crise a été difficile à cette époque : manque de diffusion des informations (sur les types de prélèvements à réaliser, sur le tableau clinique, les dispositions à prendre, les résultats...), longs délais d'acheminement des prélèvements... L'épisode d'octobre 2002, quant à lui, a été très vite régulé. L'information a circulé très vite : en moins de quinze jours toutes les autorités, les laboratoires et les professionnels de la filière équine ont été mis au courant du problème de myoglobulinurie atypique et surtout de son évolution. Il est à noter que pour les épizooties de WN de 2000 et 2003, le RESPE n'a pas été impliqué et la crise a été gérée par la DGAI, l'AFSSA Alfort et les DSV. La diffusion de l'information est en effet le rôle majeur du RESPE. Cette gestion de plus en plus rapide des crises permet de limiter la dissémination de l'infection par la mise en place de mesures sanitaires, d'éviter des mouvements de panique, comme par exemple l'annulation de contrats de vente de chevaux avec des acheteurs étrangers (ce qui s'était passé en 1992).

2.2. Le réseau ANI

2.2.1. Objectifs

Les objectifs du réseau ANI sont les suivants :

- recensement du nombre de cas neurologiques par an et par clientèle pour les principales maladies infectieuses : rhinopneumonie forme nerveuse, West Nile, maladie de Borna, ehrlichiose, maladie de Lyme, EPM (encéphalomyélite équine à protozoaire), listériose, grass sickness, maladie du motoneurone ...,
- recherche ciblée d'un certain nombre d'agents infectieux potentiellement responsables de troubles neurologiques chez le cheval,
- récolte d'informations épidémiologiques et cliniques et si possible, diagnostic étiologique de l'épizootie et restitution de l'information aux vétérinaires,
- établissement d'une relation de cause à effet entre la présence de l'agent infectieux et la pathologie,
- formation des vétérinaires sentinelles au diagnostic différentiel de ces affections.

2.2.2. Fonctionnement

Un vétérinaire sentinelle confronté à un cas clinique neurologique effectue une déclaration au réseau et envoie un ou plusieurs prélèvement(s) à un laboratoire partenaire du réseau pour rechercher l'étiologie (figure 13, p 68-69). Ainsi en passant par les laboratoires partenaires du réseau, le vétérinaire fournit des données au réseau qui permettront d'assurer une veille sanitaire du cheptel français. Lorsque les analyses demandées nécessitent la compétence de deux laboratoires différents, le vétérinaire peut, soit effectuer deux envois aux deux laboratoires, soit envoyer les prélèvements à un seul laboratoire qui acheminera ensuite le prélèvement à l'autre laboratoire compétent. Toutes les consignes concernant la réalisation et l'envoi des prélèvements sont répertoriées dans un document fourni par le réseau aux vétérinaires, également téléchargeable sur le site Internet (voir annexe n°5). Les prélèvements doivent être accompagnés de feuilles de commémoratifs dûment remplies (figure 12, page suivante). La qualité des prélèvements reçus doit être compatible avec les contraintes de réalisation des analyses demandées (les colis doivent être envoyés par colissimo et sous régime du froid). Les échantillons sont conservés au minimum un an au congélateur dans le laboratoire de réception ou dans un autre éventuellement.



A FAXER AU RESPE au 02 31 79 79 87

<p>▶ DATE DECLARATION : / / 2003</p> <p>REFERENCES PRATICIEN : ▶ CODE V.S. n° (tampon clinique)</p> <hr/> <p>REFERENCES PROPRIETAIRE :</p> <p>▶ NOM :</p> <p>▶ ADRESSE :</p>	<p>STATIONNEMENT DU CHEVAL :</p> <p>▶ LIEU / ADRESSE (si différente du propriétaire)</p> <p>▶ NOM du CHEVAL : _____</p> <p>▶ RACE: _____ AGE : _____</p> <p>▶ N° SIRE : _____ SEXE : _____</p> <p>▶ Type d'utilisation : _____</p> <p>▶ Pays d'origine (cvx étranger) : _____</p>
--	---

DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

▶ AUTRES PATHOLOGIES SUR LE RESTE DE L'EFFECTIF (Avts, Synd. Resp....) _____

▶ EFFECTIF TOTAL : EFFECTIF ATTEINT : EFFECTIF A RISQUE :
(même lot, présence contiguë...)

▶ INTRODUCTION RECENTE (1 mois) : OUI NON

▶ DATES Derniers déplacements : _____ France Étranger Lieu : _____

▶ VACCINATION TETANOS : OUI NON Type vaccin : _____ Date dernier rappel : _____

▶ VACCINATION RHINO : OUI NON Type vaccin : _____ Date dernier rappel : _____

▶ VERMIFUGES / Nature produit : _____ Date dernière adm : _____ Rythme : _____

▶ ALIMENTATION : Céréales (orge, avoine) Foin Granulés Floconnés Autres : _____

Accès herbage : jamais occasionnel Permanent

<p>▶ Début 1^{er} symptômes (j)s : _____</p> <p>▶ MOTIF D'APPEL et/ou SYMPTOMES NERVEUX D'APPEL :</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>▶ Évolution du cas : (détail sur ordonnance si besoin)</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>AUTRES SYMPTOMES ASSOCIES (si oui donnez détails)</p> <p>▶ Température max : <input type="text"/> OUI NON</p> <p>▶ App. CardioVasc. _____ <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p> <p>▶ App Resp. _____ <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p> <p>▶ Troubles Digest. _____ <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p> <p>▶ App Uro Gen. _____ <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p> <p>▶ Org; des sens et téguments _____ <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p>
---	--

▶ EXAMEN RADIOLOGIQUE : OUI NON Résultats : _____

▶ HYPOTHESES DIAGNOSTIQUES : _____

▶ ANALYSES DEMANDEES : _____

▶ PRELEVEMENTS JOINTS : DATE _____ TYPE : LCR Sang Autre : _____

▶ COORDONNEES LABORATOIRES : AFSSA Alfort: LDV14: Pasteur Cerba : LDV72 : Bermann :
Histo Amboise : Autres précisez : _____

Figure 12- Feuille de commémoratifs

Figure 13 - Modalités d'analyses et d'envoi des prélèvements

Maladie	Prélèvements	Technique d'analyse	Délai de réponse	Prix	Laboratoire réalisant l'analyse
Rhino pneumonie (EHV1)	✓ Sérum Conditionnement : tube sec Quantité : 5 ml	Cinétique sérologique par séroneutralisation et FC Eventuellement FC seule sur animal non vacciné	7j	Gratuit Gratuit Prix à fournir	Pasteur Cerba AFSSA Alfort LDV14
	✓ LCR Conditionnement : tube sec Quantité : 1 à 5 ml Envoi : sous régime du froid positif	FC Isolement sur cellules en culture PCR	7j 15j 10j	Gratuit Gratuit Prix à fournir	Pasteur Cerba AFSSA Alfort LDV14
	✓ Encéphale Moelle épinière (région cervicale et lombo- sacrée)	Histologie	7j	Gratuit	AFSSA Dozulé
Maladie de West Nile	✓ Sérum et LCR Conditionnement : tube sec Quantité : 5 ml	Sérologie ELISA IgG et IgM	21j	Gratuit	AFSSA Alfort
Maladie de Borna	✓ Sérum Conditionnement : tube sec Quantité : 5 ml	Sérologie ELISA et Western blot	21j	Gratuit	AFSSA Alfort
	✓ LCR Conditionnement : tube sec Quantité : 1 à 5 ml Envoi : sous régime du froid positif	Sérologie ELISA et Western blot PCR	21j	Gratuit	AFSSA Alfort
	✓ Sang sur EDTA Conditionnement : tube EDTA Quantité : 10 à 20 ml Envoi : sous régime du froid positif	PCR	21j	Gratuit	AFSSA Alfort
	✓ Encéphale en cas de mortalité Conditionnement : une partie fixée dans le formol à 10% et une partie réfrigérée ou congelée Envoi : sous régime du froid (- ou+)	PCR Histologie et immunohistochimie	21j NC	Gratuit Gratuit	AFSSA Alfort AFSSA Alfort

Maladie de Lyme	<p>✓ Sérum Conditionnement : tube sec Quantité : 5 ml</p> <p>✓ LCR</p>	<p>- Screening IHA, Confirmation ELISA ou IF - ELISA - PCR</p>	7j	Gratuit (si nombre de demandes importantes)	LDV14 LDV72 Labo Bermann LDV14
Ehrlichiose (E. equi)	<p>✓ Sérum Conditionnement : tube sec Quantité : 5 ml</p>	ELISA	7j	Gratuit	LDV14 Labo Bermann
	<p>✓ LCR éventuellement Conditionnement : tube sec, Quantité : 1 à 5 ml</p>	ELISA	7j	Gratuit	LDV14 Labo Bermann
	<p>Envoi : sous régime du froid positif</p> <p>✓ Sang sur EDTA Conditionnement : tube EDTA Quantité : 10 ml</p>	PCR Coloration MGG sur buffy coat pour recherche de morula	10j		Labo Bermann LDV14
	<p>Envoi : sous régime du froid positif</p>				
EPM	<p>✓ Sérum Conditionnement : tube sec Quantité : 5 ml</p>	<p>- Western blot Ac Sarcocystis neurona - Sérologie Neospora</p>	15j 10j	Prendre contact avec le labo	LDV14
	<p>✓ LCR (accompagné obligatoirement de sérum) Conditionnement : tube sec Quantité : 1 à 5 ml</p>	PCR spécifique N. caninum	15j	Prendre contact avec le labo	LDV14
	<p>Envoi : sous régime du froid positif</p> <p>✓ Encéphale, moelle Conditionnement : une partie fixée dans le formol et une partie réfrigérée ou congelée</p>	PCR spécifique N. caninum	15j 7j	Prendre contact avec le labo	LDV14 AFSSA Dozulé
	<p>Envoi : sous régime du froid (- ou +)</p>	Histologie		Gratuit	
Listériose	<p>✓ Encéphale, LCR Conditionnement réfrigéré Envoi : sous régime du froid positif</p>	Bactériologie Sérologie	10j	Gratuit	LDV14 LDV72 LDV14
Maladie du motoneurone	<p>✓ Biopsie musculaire dans les muscles atrophiés</p> <p>✓ Racine des nerfs en regard des zones musculaires atteintes (région lombo-sacrée)</p>	Histologie	7j	Gratuit	AFSSA Dozulé
Grass sickness	<p>✓ Paroi iléon ✓ Ganglions nerveux de l'appareil digestif (mésentériques)</p>	Histologie	7j	Gratuit	AFSSA Dozulé

2.2.3. Etat d'avancement du réseau ANI

❖ *Bilan du nombre de cas :*

Le réseau ANI a fait ses premiers pas en juin 2003. Fin décembre, on comptabilisait à 27 le nombre de prélèvements envoyés dans le cadre du réseau. Ces prélèvements accompagnés de la fiche de commémoratifs ont été envoyés aux laboratoires de Franck Duncombe et de l'AFSSA Alfort. Une copie de cette fiche a été acheminée jusqu'à l'AFSSA Dozulé. Ces 27 prélèvements provenaient de 17 prescripteurs différents, ce qui est un premier résultat encourageant.

Toutefois, on peut totaliser au cours de la même période le nombre de prélèvements, issus de chevaux présentant des troubles neurologiques, reçus à l'AFSSA Alfort et au LVD14, à une petite centaine. La grande majorité des prélèvements continue donc à passer en dehors du réseau ANI, sans parler des prélèvements qui sont acheminés vers d'autres laboratoires ou de ceux qui passent 'inaperçus' dans les laboratoires du réseau, car expédiés sans commémoratifs et pour lesquels seule une recherche de rhinopneumonie est demandée.

Les résultats des diverses analyses effectuées sur ces 19 prélèvements seront présentés dans la troisième partie de cette thèse.

❖ *Points qui restent à améliorer :*

Au terme de cette année de mise en route, différents points restent à améliorer pour un meilleur fonctionnement du réseau. Tout d'abord, il est nécessaire d'augmenter le nombre de déclarations réalisées dans le cadre du réseau ANI ainsi que le nombre de prélèvements réalisés dans chaque cas. Il faudrait d'une part que le nombre de vétérinaires sentinelles augmente et d'autre part s'assurer qu'ils déclarent systématiquement les cas neurologiques au réseau. La déclaration systématique des cas constitue le premier engagement de la charte de partenariat entre les vétérinaires sentinelles et le RESPE. L'objectif de cette charte est que chaque vétérinaire sentinelle réaffirme chaque année son engagement auprès du réseau. Une fiche d'engagement des vétérinaires sentinelles a d'ailleurs été rédigée et devra être signée annuellement par ces derniers. Sans la collaboration des vétérinaires praticiens, le réseau ne peut fonctionner, c'est pourquoi il est important que ces derniers répondent à leurs engagements. Afin d'assurer le renouvellement des effectifs, il est primordial qu'une information régulière sur le réseau (fonctionnement, résultats) soit faite auprès des vétérinaires praticiens non sentinelles. C'est plus particulièrement le rôle de la Commission maladies infectieuses et parasitaires de l'AVEF (congrès annuel, lettre de l'AVEF...).

L'autre amélioration à apporter de la part des vétérinaires sentinelles concerne la qualité de la description des commémoratifs. En effet, les fiches sont trop souvent incomplètes et les descriptifs cliniques très succincts. Or, pour que les résultats d'analyses puissent être interprétés, il est nécessaire d'avoir une anamnèse et des commémoratifs détaillés. Il est utile par exemple de connaître le statut vaccinal vis-à-vis de la rhinopneumonie d'un animal pour pouvoir interpréter les résultats d'une sérologie EHV-1, ou la localisation géographique de l'animal pour une sérologie WN.

Un grand soin doit également être apporté aux prélèvements. En fonction des étiologies recherchées, les prélèvements ne seront pas identiques. Il serait souhaitable que les vétérinaires envoient systématiquement du sang sur tube sec (sérologie) et sur EDTA (PCR Borna, cytologie Ehrlichiose), et du LCR lorsque cela est possible. Le LCR est considéré comme le prélèvement de choix pour la recherche du virus EHV-1 mais sa ponction ne peut malheureusement pas être entreprise systématiquement du fait des difficultés de prélèvements qui peuvent être rencontrées chez un cheval fortement ataxique. Près d'un tiers des sérums issus de chevaux présentant des troubles nerveux reçus pendant l'année 2003 dans les différents laboratoires étaient accompagnés de LCR, ce qui est déjà satisfaisant. En cas d'issue fatale, une autopsie avec analyse histologique du tissu nerveux central, est fortement conseillée. Dans certains cas, comme la listériose, l'encéphale est le seul prélèvement qui permettra de confirmer l'hypothèse étiologique. De même, la recherche directe du virus de la maladie de Borna (RT-PCR) dans l'encéphale est nettement meilleure que dans le sang puisque ce virus est neurotrope.

Un renforcement des échanges d'informations entre les différents participants du réseau semble nécessaire, d'une part entre les différents laboratoires pour le suivi des prélèvements et d'autre part entre les laboratoires et les vétérinaires. En effet, souvent les délais d'envoi des résultats semblent trop longs pour les vétérinaires sentinelles. Cependant, certaines des analyses effectuées dans le cadre du réseau ANI ne sont pas des analyses de routine (ex : EPM, Borna), ce qui explique que les délais d'envoi des résultats soient longs. Ceci serait rendu possible par l'intermédiaire du site Internet qui pourrait centraliser les commémoratifs et les résultats de chaque analyse, ce qui serait possible à condition d'avoir un mot de passe individuel.

Un suivi des animaux entrant dans le réseau serait très intéressant. Ceci impliquerait la réalisation de prélèvements ultérieurs et la rédaction par le vétérinaire d'une fiche de suivi et de synthèse du cas. Les résultats d'éventuelles analyses complémentaires demandées par le vétérinaire à d'autres laboratoires pourraient être mentionnées (comme par exemple le

dosage de la vitamine E), ainsi que l'évolution clinique de l'animal. Ce type de suivi permettrait à tous les acteurs du réseau de connaître les tenants et les aboutissants de certains cas, ce qui pourrait être utile pour d'éventuels nouveaux cas comparables.

Concernant les examens de laboratoires proposés par le réseau, les toxi-infections (tétanos, botulisme) ne font pas partie des étiologies testées. Ce constat pourrait être ressenti comme une faille du réseau. Il faut savoir qu'en France, très peu de laboratoires proposent ce diagnostic. Le diagnostic du tétanos est essentiellement clinique puisque aucun test fiable de laboratoire ne permet de détecter la présence de la toxine. Le diagnostic de laboratoire du botulisme n'est possible qu'à l'Institut Pasteur de Paris, centre national de référence des anaérobies. La rage n'est pas non plus une étiologie recherchée dans le cadre du réseau. S'agissant d'une maladie à déclaration obligatoire, son diagnostic est réglementé. Les seuls laboratoires habilités au diagnostic de rage sont les laboratoires AFSSA Nancy et Pasteur. Par contre, le réseau propose une aide au diagnostic de la maladie du motoneurone et de la maladie l'herbage ou grass sickness. L'étiologie précise de ces deux maladies demeure inconnue. Le diagnostic est uniquement histologique, à partir d'une biopsie musculaire pour la maladie du motoneurone (diagnostic ante-mortem) et à partir de ganglions nerveux mésentériques pour la grass sickness (diagnostic post-mortem). Ces deux maladies, qui préoccupent les vétérinaires sentinelles, ne font donc pas partie à proprement parler des affections neurologiques d'origine infectieuse du cheval, c'est pourquoi elles n'ont été abordées que succinctement dans la partie 1.3.

Troisième partie

Enquêtes épidémiologiques



3.1. Bilan du réseau ANI pour l'année 2003

Le réseau ANI a fait ses premiers pas courant 2003. Au total 27 prélèvements accompagnés des fiches de commémoratifs du réseau ont été envoyés cette année aux laboratoires de Frank Duncombe (LVD14), de l'AFSSA Alfort, de l'AFSSA Dozulé et de Pasteur Cerba. Toutes ces fiches ont bien été acheminées vers l'AFSSA Dozulé. Ces 27 prélèvements provenaient de 17 vétérinaires sentinelles différents.

3.1.1. Résultats

3.1.1.1. Résultats globaux

Sur ces 27 chevaux, 2 ne présentaient aucun troubles nerveux ; du sérum de ces animaux a été envoyé par le vétérinaire sentinelle avec du sérum d'un cheval qui présentait des tremblements et refusait de reculer (animaux témoins).

Pour tous les animaux, du sérum a été envoyé à l'un des laboratoires précédemment cités et pour neuf d'entre eux, ce prélèvement était accompagné de LCR.

Toutes les étiologies n'ont pas été systématiquement testées en aveugle par les laboratoires. Les recherches ont été ciblées en fonction de la clinique de l'animal. Au total :

- 85% des chevaux ont été testés pour la rhinopneumonie
- 56% des chevaux ont été testés pour la maladie de Borna
- 48% des chevaux ont été testés pour la maladie de Lyme
- 41% des chevaux ont été testés pour l'ehrlichiose
- 33% des chevaux ont été testés pour la néosporose
- 26% des chevaux ont été testés pour la MEP (*Sarcocystis neurona*).

L'étiologie la plus fréquemment recherchée reste donc de loin la rhinopneumonie. En fixant le seuil de positivité à $1/64^e$, 7 cas sur les 23 testés, soit 30%, présentaient des anticorps anti-EHV fixant le complément dans le sérum. Pour 5 cas, soit 22%, les sérologies étaient fortement positives (\geq à $1/128^e$). Si l'on fixe le seuil de positivité à $1/32^e$, 12 étaient positifs, soit 52%. C'est donc la rhinopneumonie forme nerveuse qui semble être l'étiologie prédominante.

Parmi les cas supposés de rhinopneumonie, un cas présentait également une forte séropositivité vis-à-vis de *Borrelia burgdorferi* et une forte séropositivité vis-à-vis du virus de la maladie de Borna. Deux autres cas fortement positif vis-à-vis de la rhinopneumonie ($1/128^e$) présentaient une séropositivité faible ou moyenne pour *Neospora*. Enfin, un cas était

faiblement séropositif pour la rhinopneumonie forme nerveuse (1/32^e) séropositif pour *Ehrlichia equi*, *Neospora sp.* et pour le virus de la maladie de Borna.

Un cas a été trouvé séropositif pour *Ehrlichia equi*.

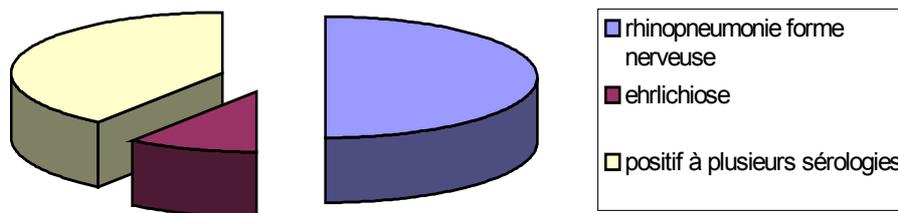


Figure 14 - Répartition des chevaux séropositifs en fonction de l'étiologie

3.1.1.2. Rhinopneumonie forme nerveuse

Au total, il y a donc 7 chevaux (dont 3 déclarés avant le lancement officiel du réseau ANI en juin 2003) qui ont simultanément présenté des troubles neurologiques compatibles avec la rhinopneumonie et des titres en anticorps élevés vis-à-vis d'EHV-1 (FC >1/128) en sérologie initiale ou lors de la seconde analyse d'une cinétique (J+15) (Moussu *et al*, 2004).

◆*Clinique* : le motif d'appel était pour 6 cas sur 7 de l'ataxie, et pour le dernier cas une toux et une gêne respiratoire importante à l'effort. Cet animal a ensuite présenté des troubles nerveux. L'ataxie observée dans tous les cas était parfois associée à des tremblements (shivering 2/7), à de l'hyperesthésie (1/7), à une atonie de la queue (1/7), à du jetage ou de la toux (2/7) et à une hyperthermie modérée (3/7).

◆*Examen nécropsique* : un cheval a été autopsié par le service d'anatomo-pathologie de l'AFSSA Dozulé. Aucune lésion macroscopique significative n'a été observée.

◆*Epidémiologie* : 5 cas sur 7 étaient uniques dans l'effectif de chevaux concernés (âge des animaux atteints compris entre 2,5 et 18 ans). Aucun vétérinaire n'a mentionné l'observation de symptômes respiratoires compatibles avec la forme respiratoire de la rhinopneumonie sur les chevaux appartenant à l'effectif dont ils étaient issus. Deux cas sur

7 ont été observés dans un même centre équestre, qui connaît de façon récurrente des épisodes de toux sur l'ensemble de son effectif. Seuls 2 chevaux sur 7 étaient vaccinés depuis moins d'un an vis-à-vis de la rhinopneumonie. Un seul cheval sur les 7 avait été récemment déplacé (quelques jours avant le début des symptômes) pour participer à une course. Les autres chevaux n'avaient pas quitté leur lieu de stationnement depuis au minimum 3 mois.

♦*Examens complémentaires de laboratoire:*

- du LCR a été obtenu pour seulement deux chevaux (dont 1 en post-mortem). Des résultats négatifs ont été obtenus en PCR EHV-1 et EHV-4 sur le LCR.
- des sérologies *Neospora*, *Borrelia*, *Ehrlichia*, *Sarcocystis* et *Borna* ont été réalisées pour 3 des 7 chevaux au LDD14 et à l'AFSSA Alfort. Deux chevaux sur 3 ont présenté une sérologie positive vis-à-vis de *Neospora* (1/80 – limite du seuil de positivité). Les autres analyses sérologiques se sont avérées négatives.

3.1.2. Discussion

Ces premiers cas neurologiques pris en charge au cours de l'année 2003 par le réseau ANI confirment un fait indéniable : le diagnostic des maladies nerveuses est difficile tant au plan clinique qu'au plan laboratoire. On voit sur ce graphique que pour plus de la moitié des animaux, un diagnostic définitif n'a pas pu être établi.

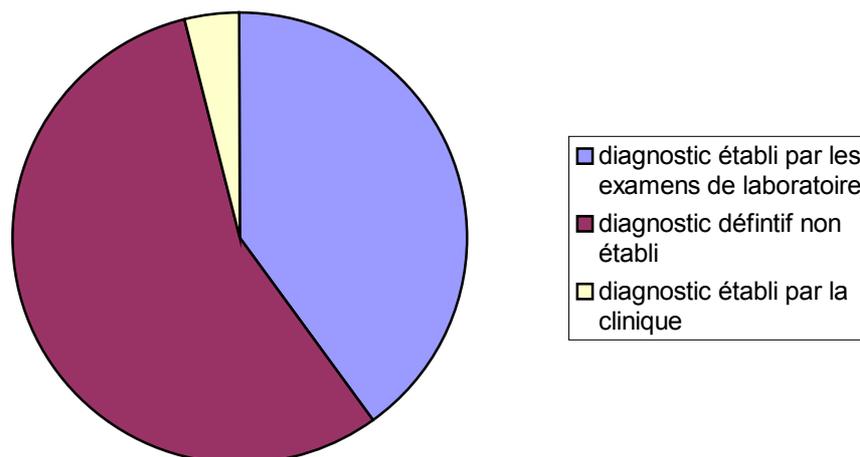


Figure15 - Proportion de chevaux pour lesquels un diagnostic définitif n'a pas pu être établi

Une majorité des cas de neurologie reste à étiologie indéterminée, même en multipliant le nombre d'investigations de laboratoire.

Il en est de même en médecine humaine. En effet, une étude récente menée en Californie aboutit à la même conclusion. 334 patients qui souffraient d'encéphalite ont été prélevés pour la recherche d'au moins 13 agents étiologiques (*herpesvirus*, *enterovirus*, *arbovirus*, *Bartonella sp.*, *Chlamydia sp.*, *Mycoplasma pneumoniae*). Malgré la recherche de nombreux agents viraux et bactériens, l'étiologie est restée inconnue pour 208 patients, soit 62% des cas (Glaser *et al*, 2003).

Ce constat est lié tout d'abord à la variété des sites lésionnels possibles mais aussi des étiologies et des expressions cliniques possibles. D'autre part, de nombreux tests de laboratoires sont encore à développer ou à améliorer, notamment pour la maladie de Borna et les MEP. Ces constatations révèlent le risque de démotivation rapide des vétérinaires sentinelles et donc peut être du réseau.

Dans la partie 2.2., nous avons mis en évidence le rôle majeur du réseau ANI en cas de crise ou d'épizootie. Mais il faut souligner ici que son action est plus difficile dans le diagnostic de cas isolés et ceci pour différentes raisons. Tout d'abord, comme nous l'avons vu dans la partie 1.1., il existe une multitude d'étiologies nerveuses et seules les étiologies infectieuses sont diagnostiquées dans le cadre du réseau. Par exemple, les affections nerveuses d'origine toxique, en particulier pour des cas isolés, ne sont pas prises en compte par ce réseau. En cas de crise, par contre, des maladies non infectieuses peuvent être gérées (exemple de la myoglobinurie atypique), mais ces affections ne sont pas comptabilisées par le réseau dans le cadre de la veille sanitaire. De plus, beaucoup d'inconnues demeurent en ce qui concerne l'étiologie de nombreuses maladies, comme par exemple pour la myoglobinurie atypique ou l'encéphalose hépatique.

Il faut également rappeler, car ceci est souvent oublié, que les méthodes diagnostiques de laboratoires ne peuvent être fiables à 100%. Par exemple, le diagnostic de la maladie de Borna est problématique, étant donné le manque de standardisation de certains tests.

Bien qu'encourageant, l'effectif de chevaux qui ont été étudiés dans le cadre du réseau ANI reste limité pour cette année 2003. De plus, toutes les étiologies infectieuses n'ont pas été testées, soit par défaut de circulation des prélèvements entre les laboratoires, soit par manque de moyens, soit car la clinique permettait d'écarter certaines hypothèses diagnostiques. C'est pourquoi, nous avons entrepris une étude rétrospective sur un plus grand nombre d'animaux en testant entre autre systématiquement l'étiologie Borna par des techniques de laboratoires nouvellement mises au point à l'AFSSA Alfort.

3.2. Etude rétrospective de 41 cas de chevaux ayant présenté des troubles nerveux

3.2.1. Population étudiée

Les chevaux qui ont été pris en compte dans cette étude ont présenté des troubles nerveux suite à quoi ils ont subi des prélèvements. Ces derniers ont été envoyés à l'AFSSA Alfort pour le diagnostic de laboratoire de maladie de Borna. Parmi tous les prélèvements (sérums, sang total, LCR) envoyés à l'AFSSA Alfort, nous avons constitué un échantillonnage à partir des chevaux provenant de quatre régions distinctes : l'Est de la France, la Normandie, le Sud-Ouest et la région Rhône-Alpes. Ces prélèvements, reçus à l'AFSSA Alfort entre l'année 2000 et 2002 incluse, sont répartis de la façon suivante :

- 12 chevaux de l'Est de la France qui sont tous issus de la clientèle du même vétérinaire installé dans le département du Haut-Rhin, donc non loin de la frontière allemande. Certains de ces chevaux résident en Allemagne (Fribourg / Forêt Noire) et une partie de ces chevaux est de race allemande. Ils sont numérotés de 1 à 12.

- 9 chevaux de Normandie, provenant de la clientèle d'un vétérinaire situé dans le département du Calvados, qui pratique des chirurgies d'arthrodèse cervicale et qui effectue par conséquent systématiquement des prélèvements sur les animaux avant l'intervention afin d'éliminer les étiologies infectieuses. Ces 9 cas sont numérotés de 13 à 21.

- 12 chevaux de la région Rhône-Alpes, qui sont pour la plupart des animaux qui ont été référés à la clinique équine de l'école vétérinaire de Lyon. Ces animaux sont numérotés de 22 à 33.

- 8 chevaux du Sud-ouest, dont 6 proviennent de la clientèle de vétérinaires du département des Pyrénées-Atlantiques et 2 de l'école vétérinaire de Toulouse. Ces chevaux sont numérotés de 33 à 41.

Tous ces chevaux ont présenté des troubles nerveux variés. Un soin particulier a été apporté au recueil des commémoratifs, mais les vétérinaires praticiens ne prennent pas toujours soin de décrire en détail l'anamnèse. Pour certains cas, la description des signes cliniques est donc très sommaire et certains chevaux provenant de la même clientèle ont dû être retirés de l'étude puisque nous n'avons pu obtenir de renseignement des vétérinaires, malgré de multiples relances de notre part.

Le tableau clinique de ces animaux est présenté dans la figure 16.

3.2.2. Analyses effectuées

Les 41 prélèvements étudiés (sérum parfois associés à du LCR et à du sang total) sont issus de la banque de prélèvements de chevaux présentant des troubles nerveux de l'AFSSA Alfort, qui a permis de valider les outils diagnostiques pour le virus de Borna. En effet, l'AFSSA Alfort a une compétence nouvelle pour le diagnostic de Borna, mais les techniques développées au laboratoire ne sont pas encore validées. Reçus entre la fin de l'année 1999 et l'année 2002, donc avant la naissance du réseau ANI, ces prélèvements n'ont pas pu bénéficier de la palette d'analyses proposées par le réseau. Tout au mieux, ils ont pu être testés pour les étiologies recherchées dans l'unité de virologie équine de l'AFSSA Alfort : EHV-1 et WN. Pour des raisons de budget, les étiologies bactériennes et parasitaires n'ont pas pu être testées rétrospectivement.

Le diagnostic sérologique de Borna a été réalisé par la méthode ELISA et/ou Western blot pour un certain nombre d'entre eux. Un diagnostic virologique par RT-PCR sur sang total a également été effectué pour certains chevaux, notamment ceux d'Alsace (protocole d'analyses détaillés en annexe 7).

Les sérum ont tous été testés pour la rhinopneumonie par la méthode de fixation du complément (FC) et pour certains également par séroneutralisation. La FC permet de rechercher une infection récente tandis que la séroneutralisation permet de rechercher une infection ancienne (ou une vaccination).

Seuls les prélèvements des chevaux du Sud-Ouest et de la région Rhône-Alpes ont été soumis à une sérologie West Nile. En effet, les connaissances épidémiologiques sur la distribution géographique de cette maladie (pourtour méditerranéen) ne justifiait pas de réaliser cette sérologie sur les prélèvements des chevaux provenant d'Alsace et de Normandie.

3.2.3. Résultats

Les résultats des différentes analyses effectuées sur chaque prélèvement sont répertoriés dans le tableau présenté dans les pages suivantes (figure 16). Les signes cliniques sont également indiqués pour chaque animal ainsi que l'évolution, dans les cas où elle nous a été communiquée.

L'abréviation NR signifie que le test n'a pas été réalisé, soit car l'épidémiologie ne correspondait pas à cette étiologie, soit car le prélèvement ne permettait pas d'effectuer le test (sérum en quantité insuffisante, absence de sang sur EDTA,...). Le signe + signifie que le résultat est positif. Le signe – signifie que le résultat est négatif. Le signe +/- signifie que la valeur de DO de l'ELISA se situe aux alentours de la valeur seuil. Ce sont les sérums que l'on peut qualifier de douteux.

Figure 16 - Résultats des tests diagnostiques sur un échantillon de 41 chevaux présentant des troubles nerveux

Légende : WB = Western blot ; NR = test non réalisé ; + = test positif ; +/- = valeur intermédiaire ; - = test négatif

	Signes cliniques	Maladie de Borna		EHV-1		West Nile	Autres examens	Evolution, Diagnostic final
		ELISA WB	RT- PCR	FC	Séro- neutralisation	ELISA		
1	Hyperesthésie cutanée, douleurs tête, boiterie postérieure intermittente, mauvais état général	+	+	+/-	NR	NR		Maladie de Borna
2	Hyperesthésie cutanée, anxiété ++, boiterie intermittente	+	+	-	NR	NR		Maladie de Borna
3	Hyperesthésie cutanée, douleurs tête, anxiété, boiterie antérieur D	-	-	-	NR	NR		
4	Douleurs tête persistantes, crises nerveuses, boiterie antérieure intermittente, mauvais état général	-	+	-	NR	NR		
5	Douleurs tête G, troubles du comportement, hypersexualité	+	+	+ au 1/40	NR	NR		Maladie de Borna
6	Nervosité ++	-	+/-	+ au 1/40	NR	NR		
7	Lombalgies, douleurs tête, abattement	+	+/-	-	NR	NR		Maladie de Borna
8	Raideur lombaire, nervosité +++	+	+/-	+ au 1/20	NR	NR		Maladie de Borna
9	Douleurs tête, parésie intermittente, mouvements spasmodiques des postérieurs	-	+/-	-	NR	NR		
10	Troubles locomoteurs, head shaking	+	NR	-	NR	NR		Suspicion de maladie de Borna
11	Douleurs tête et dorsalgies	+	NR	NR	NR	NR		Suspicion de maladie de Borna
12	Douleurs atlanto-occipitale, ataxie	+	NR	NR	NR	NR		Suspicion de maladie de Borna

	Signes cliniques	Maladie de Borna		EHV-1		West Nile	Autres examens	Evolution, Diagnostic final
		ELISA WB	RT-PCR*	FC	Séro-neutralisation	ELISA		
13	Ataxie	-	NR	-	NR	NR		Compression médullaire C4-C5
14	Ataxie	-	NR	-	NR	NR		Diagnostic final non établi
15	Ataxie	-	NR	-	NR	NR		Compression médullaire C3-C4
16	Ataxie, troubles du comportement (excitabilité, anxiété), amaigrissement	+ puis -	-	-	NR	NR		Amélioration lente Suspicion de maladie de Borna forme chronique
17	Commémoratifs non communiqués	-	NR	-	NR	NR		
18	Ataxie légère	-	NR	+au 1/16	NR	NR		
19	Ataxie	+/-	NR	-	NR	NR		
20	Commémoratifs non communiqués	-	NR	-	NR	NR		
21	Ataxie, raideur cervicale, tombe, anxiété ++ par crises, hypersensibilité au bruit	-	NR	-	NR	NR		Arthrose des ailes vertébrales
22	Paralysie du nerf radial D, ataxie, raideur cervicale apparues brusquement. Puis boiterie antérieur D, vigilance altérée (agitation à apathie) et postures anormales	+	NR	-	-	-	Cytologie LCR :RAS Myélographie : Compression médullaire C6-C7	Suspicion de maladie de Borna
23	Ataxie et parésie des 4 membres, postures anormales, douleur cervicale haute, atteinte du nerf facial G	-	NR	-	+/-	-	Cytologie LCR : RAS Myélographie : RAS	Aggravation suite à anesthésie générale Euthanasie, autopsie ne permettant pas de conclure
24	Crises d'épilepsie, amaurose de l'œil D	-	NR	-	-	-	Cytologie LCR : RAS	Euthanasie sans autopsie

	Signes cliniques	Maladie de Borna		EHV-1		West Nile	Autres examens	Evolution, Diagnostic final
		ELISA WB	RT- PCR*	FC	Séro- neutralisation	ELISA		
25	Ataxie des postérieurs, tête déviée à D, boiterie AG, hémiplégie laryngée G (slap test +)	+	NR	-	+au 1/32	-		Amélioration Suspicion de maladie de Borna
26	Troubles du comportement (anxiété +++, agressivité) puis aggravation : se jette sur les murs, tremblements, incurvation à D, amaurose œil D et bout du nez dévié à D, anorexie	-	NR	-	+/-	-	Cytologie LCR : inflammation marquée, lymphocytose et érythrophagocytose	Euthanasie car aggravation Autopsie : diagnostic de rage négatif, histopathologie de l'encéphale : méningo- encéphalite plutôt d'origine bactérienne
27	Chutes au sol, hypermétrie des 4 membres	+	NR	+au 1/16	+au 1/128	-	Cytologie LCR : RAS Radiographies crâne : RAS	Rhinopneumonie forme nerveuse
28	Crises de détresse respiratoire, phases de décubitus latéral en opisthotonos, paralysie flasque de la langue, port anormal de queue	-	NR	+ au 1/20	NR	-	Cytologie LCR : LCR inflammatoire	Aggravation jusqu'à la mort Histopatologie de l'encéphale : encéphalite non spécifique
29	Phases de décubitus fréquentes, posture et démarche anormales, trémulations musculaires, amaigrissement	-	NR	-	+au 1/16	-	-Cytologie LCR : RAS - Sérologie ehrlichiose – -Biopsie musculaire compatible avec maladie du motoneurone	Dégradation soudaine justifiant l'euthanasie Suspicion de maladie du motoneurone
30	Ataxie, chutes, atteintes des nerfs crâniens II, III, IV et VI	-	NR	-	+au 1/32	-	Cytologie LCR en faveur d'une méningo- encéphalomyélite	Amélioration Diagnostic définitif non établi

	Signes cliniques	Maladie de Borna		EHV-1		West Nile	Autres examens	Evolution, Diagnostic final
		ELISA WB	RT-PCR*	FC	Séro-neutralisation	ELISA		
31	Amaurose, refus de se déplacer, alternance ataxie/agitation, déglutition impossible	+/-	NR	-	NR	-		Euthanasie
32	Agitation+++ , pousser au mur, détresse respiratoire, anorexie	-	NR	-	+/-	-		Amélioration Diagnostic définitif non établi
33	Ataxie et signes de méningomyélite	-	NR		NR	-		
34	Ataxie spinale	-	NR	-	NR	-		Amélioration progressive
35	Commémoratifs précis non communiqués, signes de syndrome vestibulaire périphérique	-	NR	-	NR	-		Stable
36	Commémoratifs précis non communiqués, signes d'atteinte SNC au niveau du cortex	-	NR	-	NR	-		Amélioration rapide Diagnostic final non établi
37	Commémoratifs précis non communiqués, signes d'atteinte SNC au niveau du cortex	-	NR	-	NR			Amélioration rapide Diagnostic final non établi
38	Ataxie, atteinte du nerf facial (bout du nez dévié, paupière G tombante)	-	NR	-	-			Aggravation, décubitus puis mort, diagnostic final non établi
39	Ataxie, amaigrissement	-	NR	-	NR		Ponction LCR : RAS Borréliose (HI, ELISA) - Ehrlichiose (ELISA) -	Aggravation, euthanasie, diagnostic final non établi
40	Convulsions puis tremblements de la tête et encolure, spasticité des postérieurs, queue flasque	+	+	Cinétique + au 1/16 puis -	Cinétique : + au 1/32 2 fois			Amélioration lente Maladie de Borna
41	Convulsions puis tremblements de la tête et encolure, spasticité des postérieurs, queue flasque	+	+	Cinétique - 2 fois	Cinétique : + au 1/32 puis au 1/16			Amélioration lente Maladie de Borna

Remarques :

- résultats de RT- PCR effectué sur sang total : on considère que le résultat est positif si l'une des deux amplifications des ARN génomiques et messagers (p40 ou p24) est positive. Mais le résultat doit cependant être confirmé au moins une fois. Si le résultat n'a pas été confirmé, on considère que le prélèvement est douteux (+/-).
- le seul prélèvement disponible pour le cheval 28 est du LCR.

3.2.4. Bilan des résultats

➤ **Résultats globaux** : sur les 41 prélèvements testés, 15 n'ont montré aucune séropositivité pour les trois étiologies recherchées, soit **37%**. **63%** ont donc présenté une séropositivité pour une ou plusieurs étiologies.

➤ **Maladie de Borna** : **34%** des prélèvements sont séropositifs (14/41), 5 % sont douteux (2/41) et 61 % sont séronégatifs (25/41). On a considéré le cheval 16 séropositif car la séropositivité a été confirmée par les deux techniques (ELISA et Western Blot) en juillet 2002. Un suivi a été entrepris sur ce cheval ; deux mois puis quatre mois plus tard la sérologie a été trouvée négative, ce qui a été concomitant avec l'amélioration des signes cliniques. On peut supposer que ce cheval s'est séronégativé. Ce cas est développé plus en détail dans la discussion.

La PCR a été réalisée que chez 12 cas, dont 9 provenant de l'est de la France, 1 de Normandie et 2 du Sud-ouest. Pour les chevaux 1 à 9, les résultats de PCR sont compatibles avec la sérologie, sauf pour les chevaux 4,6 et 9. On peut suspecter une contamination de laboratoire lors de la manipulation, puisque les animaux sont trouvés positifs alors qu'ils devraient être négatifs. Les 3 autres cas qui ont été passés en PCR (16,40 et 41) seront détaillés dans la partie cas cliniques.

➤ **Rhinopneumonie** : en fixation du complément, **16%** des prélèvements sont séropositifs (6/38), **3%** sont douteux (1/38) et **82%** sont séronégatifs. En séroneutralisation, 5 des 12 prélèvements testés sont positifs, 3 sont douteux et 4 sont séronégatifs.

➤ **West Nile** : **100%** des prélèvements testés sont séronégatifs.

La figure 16 révèle que 5 individus sont séropositifs à la fois en sérologie Borna et rhinopneumonie (chevaux 5, 8, 25, 27 et 40). Ceci souligne qu'une analyse détaillée et méticuleuse des résultats de laboratoire et des commémoratifs est toujours nécessaire. En effet la vaccination de l'animal contre la rhinopneumonie va entraîner une synthèse d'anticorps, qui sont détectés lors des analyses sérologiques ; il n'existe pas de méthodes permettant de différencier les anticorps vaccinaux des anticorps synthétisés lors d'une

infection. Outre l'hypothèse de la vaccination contre la rhinopneumonie, il faut également rappeler qu'un portage latent pour ces deux types d'infection est très courant. On peut également imaginer qu'un individu soit co-infecté par les deux virus de façon symptomatique. Enfin, cette double séropositivité peut aussi faire suspecter l'existence de réactions croisées dans la détection de la réponse immunitaire.

3.2.5. Discussion

3.2.5.1. Maladie de Borna

Le diagnostic de la maladie de Borna est relativement nouveau en France. A l'heure actuelle, il n'est effectué qu'au laboratoire de virologie de l'AFSSA Alfort et les techniques de laboratoire utilisées n'ont pas encore été validées. Cette maladie peut être diagnostiquée par sérologie, isolement viral (méthode très difficile), détection d'antigène, RT-PCR, mais pour l'instant aucune méthode n'a été validée par la communauté scientifique et aucune d'entre elle n'est suffisamment sensible et spécifique pour permettre à elle seule un diagnostic de certitude. Les essais interlaboratoires encore rares, montrent des écarts de résultats encore importants entre les laboratoires (Dauphin, 2003). L'interprétation des résultats est donc difficile. Toutefois, plusieurs conclusions peuvent être tirées à partir de notre étude rétrospective.

✓ **Diagnostic sérologique**

La séropositivité pour l'ensemble de l'effectif est de 34%, résultat tout à fait comparable à celui estimé lors d'une étude effectuée sur un plus large effectif de chevaux (n=119) présentant des troubles nerveux : 30% (Dauphin, 2003).

L'analyse de la répartition géographique des chevaux séropositifs est intéressante. Les chevaux de l'Est de la France (Haut-Rhin) qui présentaient des troubles nerveux (troubles du comportement, et/ou locomoteurs) pouvaient être suspects de maladie de Borna, puisque l'on sait que l'Allemagne est une région d'enzootie de cette maladie. Sur ces douze chevaux, huit sont séropositifs au test ELISA et/ou Western Blot, soit **67%**. Pour les chevaux provenant des trois autres régions, le pourcentage de séropositifs est nettement plus faible (figure 17). Cet échantillon de sérums provenant de l'Est de la France est toutefois un peu particulier puisque le vétérinaire les a envoyés à l'AFSSA Alfort après avoir éliminé la plupart des hypothèses étiologiques et suspectait, chez chacun de ces chevaux, une maladie de Borna.

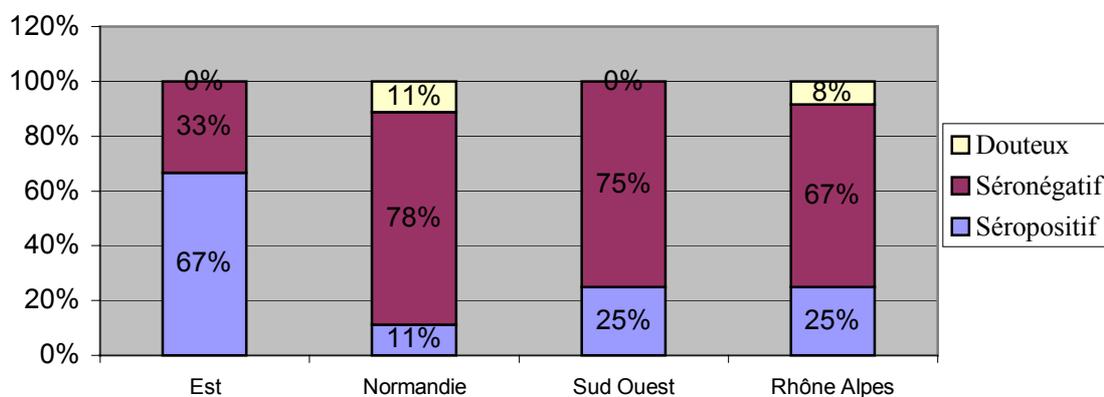


Figure 17 – Séroprévalence de la maladie de Borna chez des chevaux situés dans 4 zones de France

La prévalence de la maladie de Borna est donc probablement plus élevée à la frontière allemande que dans le reste du territoire. Toutefois, on ne peut pas exclure la possibilité d'infection dans le reste de la France puisque l'on détecte des anticorps anti-BDV chez des chevaux n'ayant jamais séjourné dans l'Est de la France ou en Allemagne.

✓ Diagnostic virologique

La RT-PCR a été appliquée à 12 des prélèvements de cette étude qui présentaient une forte séropositivité. Six prélèvements ont été trouvés positifs, ce qui permet de conclure que le génome du BDV, donc le virus lui-même, est présent en France. Ces prélèvements ont également été inclus dans l'étude qui a décrit la première mise en évidence du génome du BDV en France (Dauphin *et al*, 2001). Ceci est d'autant plus intéressant que cette mise en évidence n'a pas concerné uniquement des chevaux situés dans l'est de la France : deux de ces chevaux résidaient aux alentours de Biarritz. (p 90-91).

✓ Les limites du diagnostic

L'interprétation des résultats des tests diagnostiques pour Borna est souvent délicate et il n'existe pas de bonne corrélation entre le diagnostic sérologique, virologique et clinique. En effet, l'ARN viral peut être détecté chez un animal sans que des anticorps dirigés contre le BDV soient détectés (chevaux 4, 6 et 9) et inversement (cheval 16). Plusieurs travaux, aussi bien chez l'homme (Sauder *et al*, 1996) que chez l'animal (Nakamura *et al*, 1995 ; Ogino *et al*, 1998) ont également montré un manque de corrélation entre la détection d'ARN viral et d'anticorps, ce qui suggère la nécessité de méthodes à la fois sérologiques et

moléculaires pour effectuer le diagnostic de l'infection. Les difficultés à détecter une infection par le BDV sont liées au fait que les charges virales sont faibles dans les tissus infectés. De plus la PCR a ici été réalisée sur sang total, alors que le BDV est un virus neurotrope. Il serait donc plus satisfaisant de la réaliser sur des prélèvements d'encéphale. D'autre part, les titres en anticorps dirigés contre le BDV sont également faibles ainsi que l'affinité des anticorps pour les antigènes du BDV (Dauphin, 2003). D'après Herzog, la mise en évidence d'anticorps chez des chevaux présentant des troubles nerveux n'établit pas de façon certaine un diagnostic de maladie de Borna, puisque des chevaux cliniquement sains peuvent être séropositifs (Herzog *et al*, 1994). Par ailleurs, les animaux chez lesquels de l'ARN viral a été détecté ne présentent pas systématiquement de signes cliniques (Dauphin, 2003). Il faut également évoquer les controverses importantes concernant les résultats de RT-PCR nichée pour la détection de l'ARN du BDV. En effet, les résultats faussement positifs dus à des contaminations de laboratoires sont largement évoqués par de nombreux auteurs (Schwemmler *et al*, 1999).

Les limites techniques précédemment citées et la complexité de ce type d'infection expliquent la prudence avec laquelle nous analysons nos résultats diagnostiques.

✓ **Cas cliniques de maladie de Borna**

Nous avons choisi de considérer, qu'un animal présente une maladie de Borna lorsque les trois critères suivants sont remplis: l'animal présente des troubles nerveux (locomoteurs et/ou comportementaux), la sérologie et la RT-PCR nichée (pratiquée à partir d'un culot leucocytaire) sont positives. Selon ces critères, plusieurs chevaux de cette étude ont été diagnostiqués atteints de maladie de Borna, avec pour certains une forme aiguë (tableau clinique aigu) et pour d'autres une forme chronique. Il est à noter que tous les cas cliniques de maladie aiguë décrits ont survécu. Nous allons présenter ici ces différents cas. Ils correspondent aux premiers cas identifiés, par l'AFSSA, en France (Dauphin et Zientara, 2003).

❖ **Chevaux situés dans l'est de la France (chevaux 1 à 12)**

Le tableau clinique décrit par le vétérinaire praticien pour chacun de ces chevaux peut correspondre à des signes de maladie de Borna: troubles du comportement (anxiété, nervosité, agressivité...), tremblements de la tête, hyperesthésie cutanée, hypersexualité, crises de fureur, boiteries intermittentes d'origine neurologique, dorsalgies, ataxie et parésie. Il est aussi intéressant de signaler que les juments 1 et 2, qui sont mère et fille, vivent ensemble.

Les résultats sérologiques ont déjà été présentés plus haut ; les chevaux 8 et 12 sont séropositifs. Chaque prélèvement a été soumis aux deux techniques sérologiques, mises au point au laboratoire de l'AFSSA Alfort, et aucune discordance n'a été mise en évidence entre les deux techniques. En ce qui concerne les résultats RT-PCR, parmi les 8 chevaux séropositifs, 5 ont été testés en PCR et ont tous été trouvés positifs, au moins une fois. Pour les chevaux 7 et 8, les résultats de RT-PCR n'ont pas pu être confirmés par un deuxième test ; c'est pourquoi ils ont été considérés comme « douteux ». Le cheval 4, quant à lui, a été trouvé positif en RT-PCR alors qu'il est séronégatif. Deux hypothèses peuvent être envisagées pour cet animal : une infection récente par le virus BDV (le cheval n'a pas encore séroconverti) ou des contaminations de laboratoire (ayant entraîné un résultat de RT-PCR faussement positif), hypothèse qui doit être infirmée par une deuxième RT-PCR. Il en est de même pour les chevaux 6 et 9, qui sont séronégatifs et douteux en RT-PCR. On peut tout de même conclure avec quasi-certitude à une forme aiguë de maladie de Borna pour les chevaux 1, 2, 5, 7 et 8.

En Allemagne, la maladie de Borna est bien connue des vétérinaires. La proximité géographique, l'importance des mouvements de chevaux entre l'Allemagne et l'est de la France ainsi que la génétique des chevaux présents (races allemandes) constituent quelques unes des raisons qui pourraient expliquer la présence de cette maladie dans cette région de l'hexagone. Enfin, il est à noter que ces prélèvements ont été réalisés à la période de l'année où l'incidence de la maladie de Borna est la plus élevée : fin du printemps et début de l'été, ce qui peut expliquer la raison du repérage de l'ARN viral dans le sang de certains de ces chevaux.

❖ **Deux poneys du Sud-ouest de la France (cas 40 et 41)**

Ces deux poneys situés dans un club hippique du sud-ouest de la France (aux alentours de Biarritz) ont présenté des troubles neurologiques fin 1999. Il est intéressant de détailler ici davantage le tableau clinique de ces deux poneys, déjà présenté succinctement dans le tableau de la figure 16.

- **Poney 40** : en octobre 99, il a présenté pendant 2 heures des convulsions et des tremblements. Suite à cet épisode, il a manifesté pendant quelques semaines, des tremblements de la tête et de l'encolure, une spasticité des postérieurs et de la queue. Il n'a jamais présenté d'ataxie. Il restait en décubitus la majorité du temps. Son état s'est lentement amélioré 2 mois plus tard (mi-décembre 1999).
- **Poney 41**: il a présenté le même tableau clinique un mois plus tard avec une évolution comparable.

Différents examens complémentaires ont été mis en place par le vétérinaire traitant. Les bilans sanguins étaient normaux. Une cinétique rhinopneumonie a été réalisée fin novembre 1999 pour les deux poneys et s'est avérée négative.

Le vétérinaire a envoyé des prélèvements (sérum et sang total) quelques semaines après le début des symptômes à l'AFSSA Alfort pour un diagnostic de maladie de Borna. La sérologie et la RT-PCR ont été trouvées positives pour les deux poneys. Un suivi a alors été entrepris sur ces deux poneys. Le tableau ci-dessous présente les résultats de ces différentes analyses.

Date de prélèvement	Poney	PCR-p40	PCR-p24	WB-p24	ELISA-P DO*
janvier 2000	40	+	+	+	2,44
	41	-	+	+/-	1,45
juin 2000	40	+	+	+	2,66
	41	-	+	+	1,66
décembre 2000	40	NR	NR	+	2,44
	41	NR	NR	+/-	0,93

Figure 18 - Récapitulatif des résultats de RT-PCR et de sérologie pour les poneys 40 et 41

+/- : résultat douteux ; + : résultat positif ; - : résultat négatif ; NR : non réalisé ; Chiffres en caractère gras : résultat positif

* valeur seuil de l'ELISA :1,5 (Dauphin, 2003)

Il est à noter que ces différents résultats sérologiques ont été confirmés par l'équipe du Pr Müller de l'unité de virologie de l'université vétérinaire de Leipzig.

L'état des deux poneys s'est progressivement amélioré et ils ne présentent aujourd'hui que quelques séquelles : postures anormales avec diminution du polygone de sustentation, queue déviée, raideurs des postérieurs (figure 19). Leur charge de travail au club hippique a été diminuée mais ces deux poneys ont pu continuer à travailler presque normalement. Ils résident depuis juillet 2003 à la ferme expérimentale de l'AFSSA Lyon.



A-Posture anormale

B-Déviatonde la queue

C-Diminution du polygone de sustentation

Figure 19 - Photographies des séquelles des deux poneys atteints de maladie de Borna (prises par G. Dauphin)

❖ *Jeune Pur-Sang Arabe stationné en Suisse (cas 22)*

En août 2001, un cheval de 2 ans a été présenté à la consultation à la clinique équine de l'école vétérinaire de Lyon. L'examen clinique a montré une raideur de l'encolure (flexion impossible), des signes d'ataxie, une paralysie du nerf radial à droite (qui a ensuite rétrocedé), un léger déficit proprioceptif, une alternance d'apathie et d'excitation et une boiterie d'un antérieur au trot.

Les résultats de l'hémato-biochimie étaient normaux et l'examen du LCR normal (limpidité, absence de cellules). Les sérologies rhinopneumonie et West Nile étaient négatives. Une myélographie a révélé une légère sténose cervicale. La sérologie Borna s'est révélée positive (DO = 1,9, ELISA) et la DO obtenue avec le LCR était également élevée (DO = 0,36). Aucune PCR n'a été réalisée (absence de prélèvement de sang sur EDTA).

Ce cheval a reçu un traitement à l'école vétérinaire : Dexadreson® pendant 10 jours et repos au box. Aucun suivi de cet animal n'a pu être effectué.

Le tableau clinique de ce jeune Pur Sang Arabe correspond à celui d'une maladie de Borna. D'ailleurs le Pr Cadoré avait émis qu'il s'agissait d'une maladie de Borna en première hypothèse diagnostique. L'épidémiologie est également en faveur d'une maladie de Borna : à la fois la localisation de l'animal en Suisse et la saison d'apparition des signes pendant l'été. Toutefois, étant donné que nous avons qu'un résultat sérologique, nous ne pouvons pas conclure de manière certaine à une maladie de Borna.

Cheval Selle Français de 10 ans (Cas 25)

En février 2002, ce cheval, résidant à Grenoble, a présenté des troubles locomoteurs d'origine neurologique : boiterie de l'antérieur gauche, raideur, déséquilibre postérieur, tête penchée à droite. Son état s'est amélioré lentement et régulièrement sous Diurizone ©. Les signes neurologiques, quoique toujours présents début mai, se sont atténués. Des sérologies ont été réalisées début mai : rhinopneumonie, West Nile, artérite Virale. Elles ont toutes été trouvées négatives. Le sérum a également été testé en Borna et a été trouvé positif en ELISA. Le LCR a également été trouvé positif en ELISA et Western Blot, même si la technique sérologique sur LCR n'est pas encore été testée et validée sur un nombre suffisant de LCR. Toutefois, on ne peut pas conclure de manière certaine à une maladie de Borna puisque la RT-PCR n'a pas été effectuée pour cet animal (pas d'envoi de sang total). Ceci confirme une fois de plus, qu'il est nécessaire de multiplier les techniques de laboratoire pour le diagnostic de la maladie de Borna.

❖ Jument trotteuse normande (cas 16)

Début 2002, une pouliche trotteuse de 2 ans, résidant dans un haras situé dans l'Orne (61), a présenté des signes généraux et nerveux, d'étiologie indéterminée. Achetée dans un autre haras à l'âge de 8 mois, elle présentait déjà un amaigrissement chronique. En mai 2002, la pouliche a présenté une entérocolite et de l'ataxie. Elle a subi une chirurgie de coliques (torsion du colon) et est restée, suite à l'opération, en décubitus latéral pendant 2 semaines. Elle a par la suite manifesté des mouvements de panique à la contention, comportement qu'elle n'avait jamais manifesté auparavant.

En juillet 2002, son sérum a révélé des anticorps anti-P (ELISA et Western blot). Ce résultat a été confirmé en IFI (Immunofluorescence indirecte) par le laboratoire privé allemand BÖSE. En septembre et octobre 2002, des écouvillons oculaire, nasal et salivaire ont été réalisés, ainsi que de nouvelles prises de sang. L'ARN du BDV n'a pas été détecté par RT-PCR nichée dans ces différents prélèvements.

Suite au résultat de sérologie positive de la pouliche, les propriétaires et le vétérinaire praticien ont adressé au laboratoire BÖSE, les sérums de 10 autres chevaux présents dans le haras, ainsi que celui de la mère de la pouliche séropositive. Un de ces sérums a été trouvé faiblement positif par IFI.

Cette pouliche a été isolée du reste des chevaux du haras, en attendant son transfert en octobre 2002 à la ferme expérimentale de l'AFSSA de Lyon (ferme de la Brochetière). Au moment de son transfert, elle avait retrouvé un caractère calme mais présentait toujours une ataxie et un amaigrissement importants. Quelques mois après, l'ataxie n'avait pas disparu et

son état général s'était amélioré. Aujourd'hui, seuls quelques défauts d'aplombs persistent (figure 20) et la jument mène une vie paisible loin des champs de courses. Cet exemple de suspicion de maladie de Borna illustre encore une fois les conséquences d'une infection devenue chronique pour des chevaux destinés à une carrière de compétition et la difficulté d'un diagnostic certain (Dauphin, 2003)



Figure 20 -Photographie de la jument suspectée atteinte d'une forme chronique de la maladie de Borna

■ Bilan de ces quelques cas cliniques

La description de ces cas cliniques met en évidence la problématique de ce type d'infection au caractère chronique (ou à convalescence longue) et au diagnostic difficile. La littérature allemande (Herzogen *et al*, 1994 ; Richt *et al*, 2000) décrit 80% de létalité chez les chevaux développant une maladie de Borna sous forme aiguë. A l'inverse, les cas cliniques décrits dans cette étude ne correspondent qu'à un tableau clinique passager et non mortel. Quatre hypothèses peuvent être envisagées quant à ces observations. Premièrement, les souches virales de BDV circulant en France peuvent être moins virulentes que celles circulant en Allemagne. Deuxièmement, les races de chevaux français peuvent être plus résistantes à l'infection. De plus, la dose infectieuse peut être moindre dans des régions où le virus circule peu. Et enfin, notre échantillonnage n'est pas aléatoire, car les cas cliniques rapportés à l'AFSSA Alfort, correspondent à des formes moins sévères (car les formes suraiguës ne sont pas rapportées). En effet, il est possible que des cas aigus mortels de maladie de Borna existent en France et ne soient pas déclarés, ni diagnostiqués.

Katz *et al.* ont effectué des études expérimentales (1998) et ont infecté 3 poneys avec le BDV. Le poney qui a reçu la dose infectieuse la plus faible a survécu au premier épisode aigu de la maladie et a ensuite fait une rechute (à la suite de laquelle il a été euthanasié). La dose infectieuse pourrait donc également avoir une incidence sur l'évolution de la maladie.

3.2.5.2. Rhinopneumonie forme nerveuse

La rhinopneumonie forme nerveuse est sans doute l'étiologie infectieuse la plus fréquemment diagnostiquée lors de syndrome nerveux chez le cheval (fréquence de la maladie, forte contagiosité, disponibilité des tests de laboratoires). Dans cette étude rétrospective, beaucoup de résultats sérologiques étaient aux alentours de la valeurs seuils, c'est à dire qu'elles étaient positives au 1/16^e ou au 1/32^e ; ce qui rend l'interprétation de ces tests difficile. En fonction de la clinique et du statut vaccinal de l'animal, le laboratoire pourra conclure ou non à une rhinopneumonie. On ne peut pas affirmer qu'il s'agit de cas de rhinopneumonie forme nerveuse pour les sérologies faiblement positives (cas n° 5, 6, 8, 18, 25, 28, 29, 30, 40, 41). Toutefois, une sérologie s'est nettement démarquée : la n° 27, positive au 1/128^e par séroneutralisation.

✓ Cas clinique

▪ *Jument espagnole 4 ans (cas 27)*

Cette jument a présenté des troubles nerveux apparus brutalement : chutes au sol récurrentes, bruxisme. Ce tableau clinique s'est aggravé pendant 24 à 48 heures, puis est apparue une hypermétrie avec grasset et jarret gauche en extension permanente et une ataxie légère.

Plusieurs examens ont été effectués :

- une ponction de LCR : RAS à la cytologie
- radiographies du grasset et du jarret gauche : RAS.
- Sérologie artérite, West Nile, Borna : négatives
- Sérologie rhinopneumonie : positive au 1/16^e en FC et positive 1/128^e en séroneutralisation.

Un traitement à base d'antibiotique et de corticoïde (pénicilline et dexaméthasone) a été mis en place et a permis une amélioration du tableau clinique de la jument. Dans ce cas, une cinétique en anticorps aurait été particulièrement intéressante.

3.2.5.3. West Nile

Aucune sérologie réalisée sur les chevaux de notre étude (chevaux du Sud-Ouest et de la région Rhône-Alpes) n'a été trouvée positive. Cette zoonose apparaît en France sous forme épizootique ; on se rappelle de l'épizootie de l'été et de l'automne 2000, qui avait été très médiatisée et qui avait touché 76 chevaux et tué 21 chevaux (Zientara, 2002). Le seul laboratoire de référence qui effectue les sérologies équine West Nile en France est l'unité de virologie de l'AFSSA Alfort. Aucune sérologie n'a été trouvée positive par ce laboratoire entre l'épizootie de l'été 2000 jusqu'à octobre 2003, où un nouvel épisode a été décrit dans la région de Grimaud (département du Var), ce que nous avons déjà abordé dans la sous-partie 1.2.

Même si seulement trois étiologies virales ont été recherchées au cours de cette étude, parmi ces 41 chevaux, 7 diagnostics de maladie de Borna ont été établis, dont une forme chronique, et un cas de rhinopneumonie. Au total, un diagnostic a été établi pour **19,5%** des chevaux.

Conclusion

Le réseau ANI, présenté dans ce travail, est novateur et unique en Europe. Il permet l'épidémiologie-surveillance des pathologies nerveuses infectieuses équine. C'est le deuxième réseau spécialisé mis en place par le RESPE, après le réseau grippe. Ce dernier fonctionne très bien et ce depuis plus de 5 ans. Même si le principe du réseau ANI est plus complexe, puisqu'il concerne plusieurs étiologies, on peut espérer qu'il fonctionnera aussi bien. Le premier bilan qu'on peut établir du réseau ANI est plutôt encourageant : 27 cas de chevaux qui ont présenté des troubles nerveux ont été pris en charge par le réseau au cours de l'année 2003. Toutefois, le réseau n'en est encore qu'à ses débuts et connaît quelques difficultés de mise en route : le manque de vétérinaires sentinelles dans certaines zones géographiques, des limites dans l'organisation pratique (fiches de commémoratifs insuffisamment remplies, défaut de circulation des prélèvements entre les laboratoires...), le financement des analyses... De plus, en France, peu de laboratoires sont spécialisés dans le domaine équin, ce qui réduit encore l'éventail des analyses de routine ainsi que le nombre de laboratoires susceptibles de participer au réseau.

La neurologie reste une discipline difficile pour le vétérinaire praticien, non seulement au niveau de l'examen clinique de l'animal, mais aussi dans l'établissement d'un diagnostic et d'un pronostic définitif. L'étiologie qui est la plus fréquemment suspectée et confirmée au niveau du laboratoire semble être la rhinopneumonie forme nerveuse. Notons toutefois que certaines étiologies étaient autrefois non diagnostiquées, car non recherchées. Pour illustration, le premier cas d'ehrlichiose granulocytaire équine diagnostiqué en France a été publié en 2002 et les premiers cas de maladie de Borna français ont été diagnostiqués en 2001. Le diagnostic de laboratoire de cette maladie, largement évoqué au cours de ce travail, et d'autres maladies comme la myoglobulinurie atypique, posent encore des problèmes de fiabilité et nécessitent une standardisation. Toutes ces difficultés ont été abordées lors de l'étude rétrospective sur les 41 chevaux présentant des troubles nerveux. Cette étude a confirmé que l'étiologie reste le plus souvent indéterminée ou seulement suspectée. Le réseau ANI rencontrera les mêmes difficultés. De plus, lorsqu'un cheval présente des symptômes nerveux, l'étiologie infectieuse n'est pas la seule étiologie à envisager. En effet, une large proportion de chevaux présente de l'ataxie suite à un traumatisme ou à une affection congénitale (syndrome de Wobbler). Il serait ainsi intéressant d'introduire un organisme comme le CNITV de Lyon (Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires) dans le réseau pour les étiologies liées aux intoxications.

Bibliographie

AKAKPO A., Botulisme, p 1077-1091

In : LEFEVRE P.C., BLANCOU J., CHERMETTE R.

Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail ; Europe et régions chaudes
Paris : Lavoisier, 2003.

BARONE R.

Anatomie des Equidés domestiques. Tome 3 : Névtraxe, nerfs, glandes exocrines
Laboratoire d'Anatomie. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 1962, 737 pages.

BAIN F., Pathophysiology and diagnosis of neurologic disease, p405-411

SINHA A., COX J., Diseases of the brain, p 413-441

COX J., MURRAY R., Diseases of the spinal cord, p 443-467

In: KOBLUK, AMES, GEOR

The Horse, Diseases & Clinical Management

Philadelphia : W.B. Saunders Company, 1995, 405-467.

BERMANN F., DAVOUST B., FOURNIER P.E. *et al*

Ehrlichia equi (Anaplasma phagocytophila) infection in an adult horse in France

Vet. Rec., 2002 Jun22, **150** (25),787-88.

BERTHET F.X., ZELLER H.G., DROUET M.T. *et al*.

Extensive nucleotide changes and deletions within the envelope glycoprotein gene of Euro-African West Nile viruses

J. Gen. Virol., 1997, **78** : 2293-7.

BOSSY J., BASTIDE G. *et al*

Anatomie clinique. Tome 4 : Neuro-anatomie

Paris : Springer-Verlag, 1990.

CRABB B.S. and STUDDERT M.J.

Equine rhinopneumonitis (Equine Herpesvirus 4) and equine abortion (Equine Herpesvirus 1)

In: STUDDERT M.J., Virus infections of equines

Amsterdam : Elsevier Science B. V., 1996, 11-37.

DAUPHIN G., LEGAY V., SAILLEAU C. *et al*

Evidence of Borna disease virus genome detection in French domestic animals and in foxes (*Vulpes vulpes*)

J. Gen. Virol., 2001, **82**, 2199-2204

DAUPHIN G., BOUTROUILLE A., ZIENTARA S.

Actualités sur le virus de la maladie de Borna en France

Prat. Vét. Equine, 2002, **34** (136), 27-34.

DAUPHIN G.

Développement d'outils sérologiques et moléculaires pour le diagnostic et l'étude de la prévalence de la maladie de Borna en France

Th. D. : Lyon I, N° 65- 2003.

DAUPHIN G., ZIENTARA S.

Le virus de la maladie de Borna : un virus émergent en France ?

Epidémiol. et santé animale, 2003, **43**, 19-29.

DESBROSSE F.

L'ataxie spinale équine. Traitement chirurgical par la technique de l'arthrodèse cervicale

Bull. Acad. Vét. de France, 1999, **72**, 99-106.

DUMBLER J.S., WALKER D.H.

Tick-borne ehrlichioses

Lancet, 2001, suppl. avril, 21-28.

DÜRRWALD R., LUDWING H.

Borna disease virus (BDV), a (zoonotic?) worldwide pathogen. A review of the history of the disease and the virus infection with comprehensive bibliography

J. Vet. Med., 1997, **44**, 147-184.

EL-IDRISSI A., Tétanos, p1073-1076

In : LEFEVRE P.C., BLANCOU J., CHERMETTE R.

Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail ; Europe et régions chaudes

Paris : Lavoisier, 2003.

EUZEBY J.P., Ehrlichiose granulocytaire équine, (Page consultée le 3 octobre 2003).
Dictionnaire de bactériologie vétérinaire [en ligne]
Adresse : <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/garde.html>

FENGER C.K., GRANSTROM D.E., GAJADHAR A.A. *et al*
Experimental induction of equine protozoal myeloencephalitis in horses using *Sarcocystis* sp. sporocysts from the opossum (*Didelphis virginiana*)
Vet. Parasitol., 1997, **68**, 199–213.

GANIERE J.P., Méningoencéphalomyélites virales des équidés. p 705-720
In : LEFEVRE P.C., BLANCOU J., CHERMETTE R.
Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail ; Europe et régions chaudes
Paris : Lavoisier, 2003.

GLASER C., GILLIAM S, SCHNURR D. *et al*
In Search of encephalitis etiologies : Diagnostic challenges in the California. Encephalitis project, 1998-2000
CID, 15 March 2003, **36**, 731-742.

GONZALEZ-DUNIA D.
Le virus de la maladie de Borna
Virologie, 1998, **2**, 191-198.

GRIBBLE D. H.
Equine ehrlichiosis
J. Am. Vet. Med. Assoc., 1969, **155** (2), 462-469.

HERZOG S., FRESE K., RICHT, and ROTT R.
Ein Beitrag zur Epizootiologie der Bornaschen Krankheit beim Pferd
Wiener Tierärztliche Monatsschrift, 1994, **81**, 374-379.

HOSIE B.D., GOULD P.W., HUNTER A.R., *et al*
Acute myopathy in horses at grass in east and south east Scotland
Vet. Rec., 1986, **119**, 444-449.

HUSSNI O., KENNETH S.

Zoonotic diseases of the horse

Vet. Research, sous presse.

ITARD J., CUISANCE D, TACHER G., Trypanosomoses, p1607-1650

In : LEFEVRE P.C., BLANCOU J., CHERMETTE R.

Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail ; Europe et régions chaudes

Paris : Lavoisier, 2003.

JORDAN I., LIPKIN W.I.

Borna disease virus

Rev. Med. Virol., 2001, **11**, 37-57.

LEBLOND A., VILLARD I., LEBLOND L. *et al*

A retrospective evaluation of the causes of death of 448 insured French horses in 1995

Vet. Res. Commun, 2000, **24** (2), 85-102.

LEBLOND A., ZIENTARA S.

Diagnostic différentiel des encéphalomyélites d'origine infectieuse chez le cheval

Prat. Vét. Equine, 2002, **34** (136), 17-26.

LEBLOND A., ZIENTARA S., DAUPHIN G.

Fièvre du Nil Occidental : le point sur la surveillance en France et en Europe

Bulletin du réseau d'épidémiologie-surveillance des pathologies équinés, Oct 2003, 2-3.

LOUF C.F., Fiche technique « Maladie du motoneurone », (Page consultée le 10/10/03, dans l'espace protégé vétérinaire)

Réseau d'épidémiologie-surveillance des pathologies équinés [en ligne]

Adresse : <http://www.respe.net>

MACKAY R.J., MAYHEW I.J.

Diseases of the Nervous System

In: COLAHAN P., MAYHEW I., MERRITT A., MOORE A.

Equine Medicine and Surgery, 4^e edition

Goleta : American Veterinary Publications, 1992, p723-845

MACKAY J., GRANSTROM D., SAVILLE W. *et al*
Equine Protozoal Myeloencephalitis
Vet. Clin. North Am. Equine Pract., Dec 2000, **16**(3), 405-21.

MADIGAN J.E., Equine ehrlichiosis
In:ROBINSON N.E.
Current therapy in equine medicine
Philadelphia : W.B. Saunders Compagny, 1983, 13-14

MADIGAN J.E., RICHTER P.J., KIMSEY R.B. *et al*
Seroepidemiological survey of antibodies to Ehrlichia equi in horses of Northern California
J. Am. Vet. Med. Assoc., 1990, **12**, 1962-1964.

MADIGAN J.E., PUSTERLA N.
Ehrlichial diseases
Vet. Clin. North Am. Equine Pract., Dec 2000, **16**(3), 487-99.

MOUSSU C., Fiche technique « La myoglobulinurie atypique des Equidés : une nouvelle maladie ? », (Page consultée le 17/11/03, dans l'espace protégé vétérinaire)
Réseau d'épidémio-surveillance des pathologies équinnes [en ligne]
Adresse : <http://www.respe.net>

MOUSSU C., SAISON A., DAUPHIN G., PITEL P.H.
La rhinopneumonie : bilan des formes neurologiques et des affections respiratoires identifiées en 2003
MOUSSU C., HAÏ C., PITEL P.H.
La maladie de Lyme : il faut y penser
Bulletin du réseau d'épidémio-surveillance des pathologies équinnes, janvier 2004, 5-6.

NAKAMURA Y., KISHI M., NAKAYA T., *et al*
Demonstration of Borna disease virus RNA in peripheral blood mononuclear cells from healthy horses in Japan
Vaccine, 1995, **13**, 1076-1079

OGINO M., YOSHIMATSU K., TSUJIMURA K., *et al*

Evaluation of serological diagnosis of Borna disease virus infection using recombinant proteins in experimentally infected rats

J. Vet. Med. Sci., 1998, **60**, 531-534

OSWEILER G.D.

Mycotoxins

Vet. Clin. North Am. Equine Pract., 2001, **17** (3), 547-566.

PITEL P.H., PRONOST S., ROMAND S. *et al*

Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in France

Equine Vet. J., 2001, **33**, 205-207.

PITEL P.H., Fiche technique « Les méningo-encéphalites équines à protozoaires »,

(Page consultée le 10/10/03, dans l'espace protégé vétérinaire)

Réseau d'épidémiologie-surveillance des pathologies équines [en ligne]

Adresse : <http://www.respe.net>

PORTIER K., GEORGE C., COLLOBERT-LAUGIER C. *et al*

Un cas de polyradiculonévrite chez un poney

Prat. Vét. Equine, 2001, **33** (131), 35-43.

PORTIER K. *et al*.

Suspicion de maladie de Lyme chez un poney

Prat. Vét. Equine, 2002, **34** (134), 59-65.

PUYALTO-MOUSSU C., PITEL P.H., SAISON A. *et al*

Ataxies et parésies induites par l'herpes virus équin de type 1 (rhinopneumonie)

Prat. Vét. Equine, 2002, **34** (136), 9-15

RICHT J.A., GRABNER A., HERZOG S;

Borna disease in horses

Vet. Clin. North Am. Equine Pract., 2000, **16**, 579-595.

RICHTER P.J., KIMSEY R.B., MADIGAN J.E. *et al*

Ixodes pacificus (Acari: Ixodidae) as a vector of *Ehrlichia equi* (Rickettsiales: Ehrlichieae)

J. Med. Entomol., 1996, **33** (1), 1-5.

SAISON A., MOUSSU C.

La grippe équine : bilan septembre 2002_septembre 2003.

Bulletin du réseau d'épidémiologie-surveillance des pathologies équinées, Oct 2003, 2-3.

SAUDER C., MULLER A., CUBITT B. *et al*

Detection of Borna disease virus (BDV) antibodies and BDV RNA in psychiatric patients : evidence for high sequence conservation of human blood-derived BDV RNA

J. Virol., 1996, **70**, 7713-7724.

SCHWEMMLE M., JEHLE C., FORMELLA S. *et al*

Sequence similarities between human bornavirus isolates and laboratory strains question human origin

Lancet, 1999, **354**, 1973-1974.

TAOUJI S., COLLOBERT C., GICQUEL B. *et al*

Detection and isolation of Equine Herpesviruses 1 and 4 from horses in Normandy : an autopsy study of tissue distribution in relation to vaccination status

J. Vet. Med. B, 2002, **49**, 394-399

TRITZ P., Fiche technique « Le tétanos », (Page consultée le 13/10/03 dans l'espace protégé vétérinaire)

Réseau d'épidémiologie-surveillance des pathologies équinées [en ligne]

Adresse: <http://www.respe.net>

VAISSAIRE J.

Epidémiologie des listérioses animales en France

Bull. Acad. Natle. Méd., 2000, **184** (2), 275-286

ZELLER H.

West Nile : une arbovirose migrante d'actualité

Médecine tropicale, 1999, **59** (4) : 490-494.

ZELLER H. et MURGUE B.

Rôle des oiseaux migrateurs dans l'épidémiologie du virus West Nile

Med. Mal. Infect., 2001, **31**, 168-174.

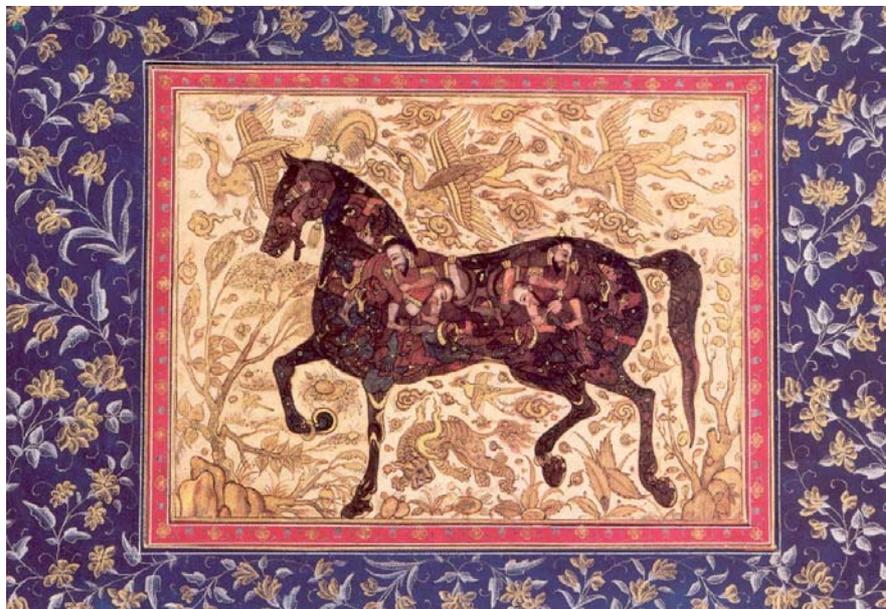
ZIENTARA S., TRAP D., FONTAINE J.J. *et al*
Survey of equine hepatic encephalopathy in France in 1992
Vet. Record, 1994, **134**, 18-19.

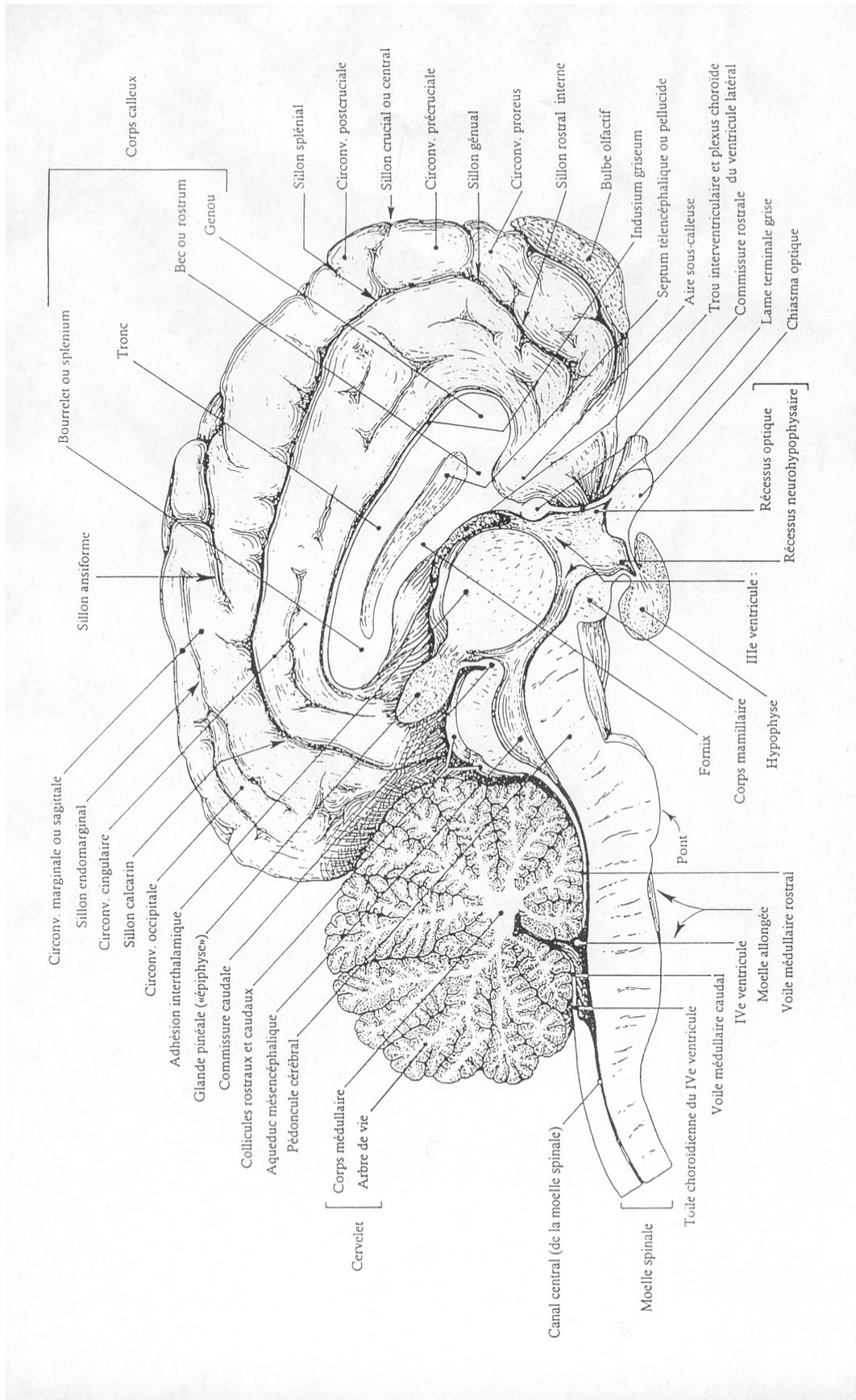
ZIENTARA S.
Maladie de Lyme ou Borréliose de Lyme
Prat. Vét. Equine, 2000, **32** (128), 58-59.

ZIENTARA S.
Infection à virus « West Nile ». Situation épidémiologique. Risques pour l'homme. Epizootie en France en 2000-2001.
Bull. Acad. Vét. de France, 2002, **155**, 67-72.

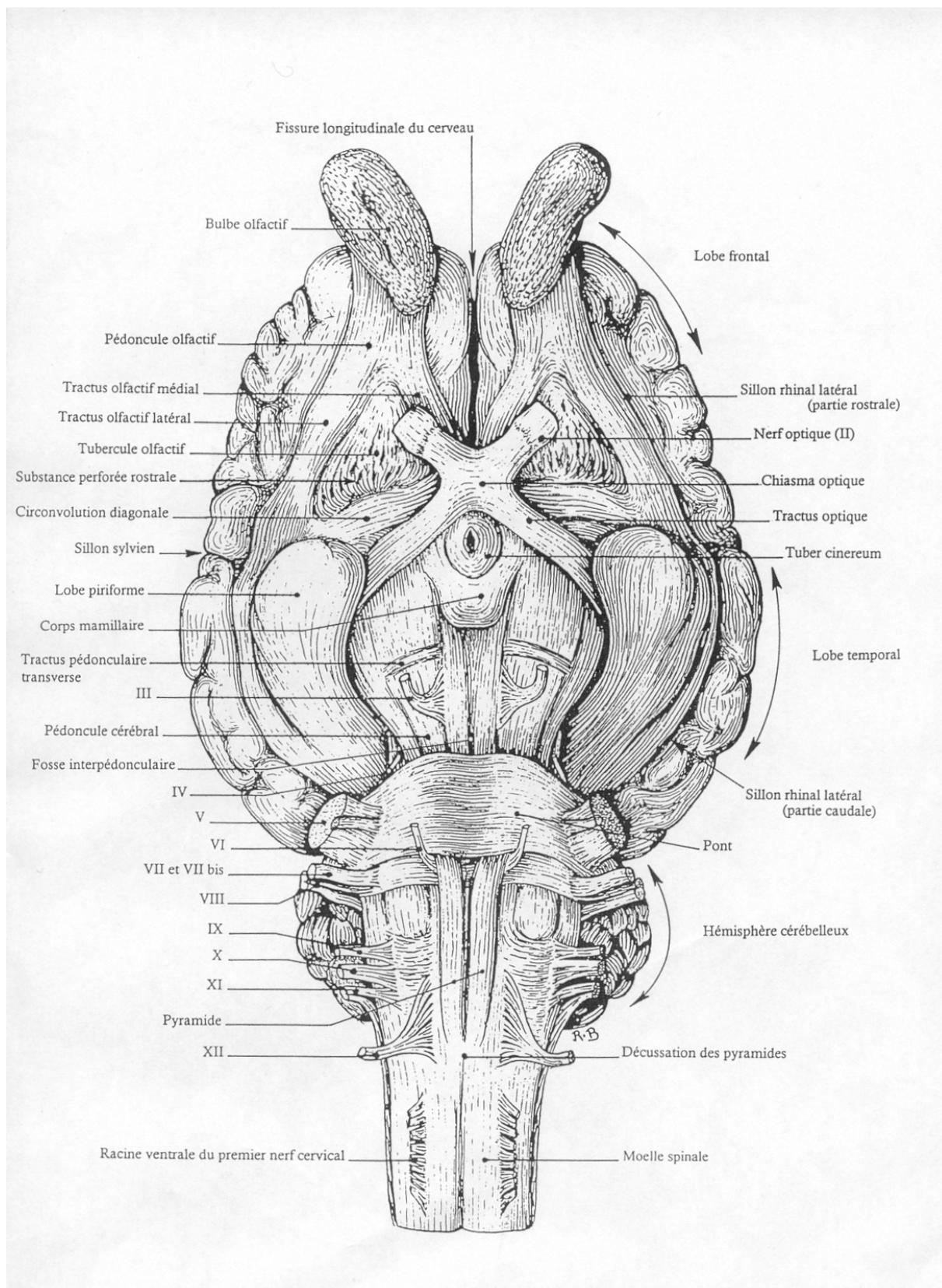
ZIENTARA S., Fiche technique « L'encéphalite de West Nile », (Page consultée le 01/10/03, dans l'espace protégé vétérinaire)
Réseau d'épidémio-surveillance des pathologies équines [en ligne]
Adresse : <http://www.respe.net>

ANNEXES



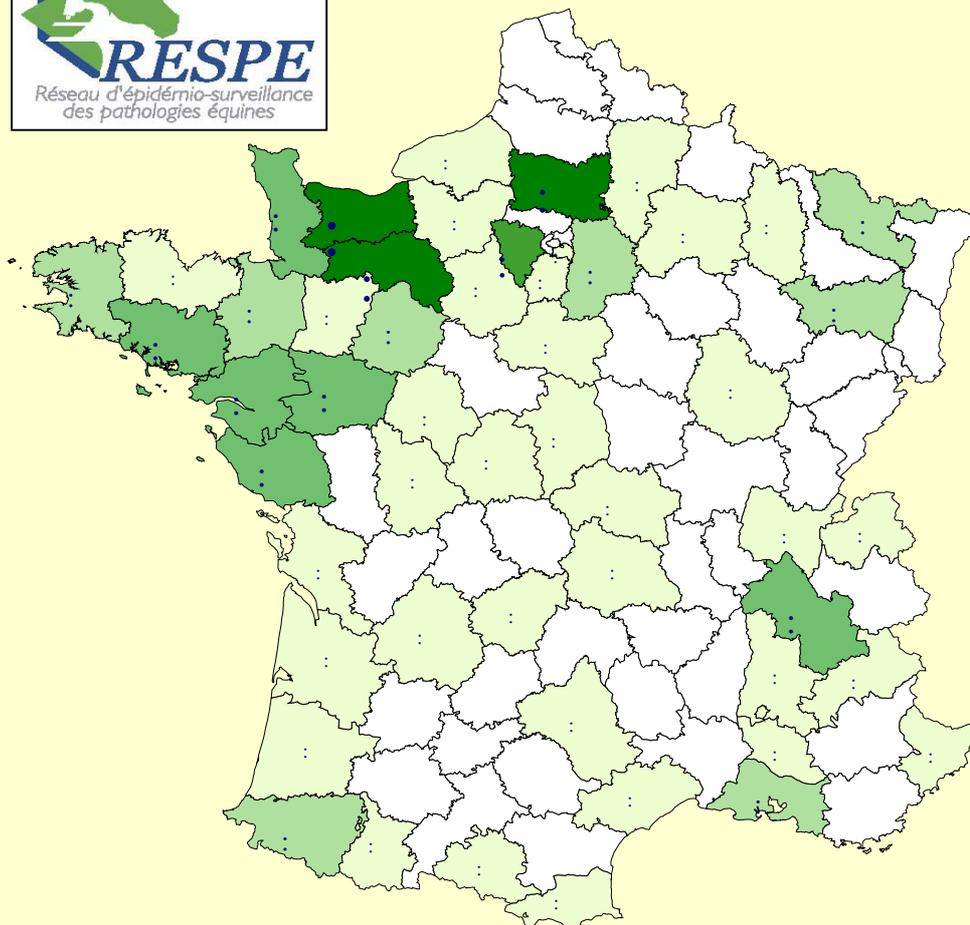


ANNEXE 1 - Coupe médiane d'un encéphale de cheval (Barone, 1962)



ANNEXE 2 - Vue ventrale d'un encéphale de cheval (Barone, 1962)

REPARTITION DES VETERINAIRE SENTINELLES PAR DEPARTEMENT AU 1/10/2003



Répartition des VS par Dept
(Nbr de Dept concernés)

Dark Green	5 - 10	(3)
Medium-Dark Green	4 - 5	(1)
Medium Green	3 - 4	(6)
Light Green	2 - 3	(8)
White	1 - 2	(34)

ANNEXE 3 - Carte de la répartition des vétérinaires sentinelles sur le territoire français

ANNEXE 4 - Fiche d'instructions du réseau ANI



Réseau Affection neurologique Protocole 2003



L'objectif de ce réseau est double :

- Surveillance sanitaire : recensement du nombre de cas par an et par clientèle, de maladies nerveuses infectieuses ou parasitaires diagnostiquées dans le cadre du réseau : rhinopneumonie forme nerveuse, West Nile, maladie de Borna, ehrlichiose, maladie de Lyme, EPM (encéphalomyélite équine à protozoaire), listériose, grass sickness, maladie du motoneurone (EPM)...
- Gestion de crise : récolte d'informations épidémiologiques et cliniques, si possible, diagnostic étiologique de l'épizootie et restitution de l'information aux vétérinaires.

Quand faut-il déclarer ?

Tout cheval présentant des troubles nerveux correspondant au tableau clinique des maladies citées précédemment (cf fiche diagnostic différentiel « Maladies Nerveuses » ci-jointe) doit être déclaré au réseau (envoi par fax de la fiche de déclaration et de la fiche d'examen neurologique) et faire l'objet de prélèvements standardisés.

Que faut-il prélever ?

Dans un premier temps, il est demandé au vétérinaire d'effectuer les examens permettant d'éliminer les étiologies traumatiques et les malformations congénitales (type Wobbler).

Nous demandons ensuite au vétérinaire déclarant d'effectuer au minimum les analyses suivantes (qui sont à la charge du propriétaire) :

- Un bilan hémato-biochimique
- Une sérologie EHV1 avec cinétique
- dans la mesure du possible, une cytologie du LCR

Le choix des autres examens complémentaires demandés dépendra du contexte clinique et épidémiologique. Des personnes « Contact Réseau » (citées en fin de document) sont à la disposition des vétérinaires pour les aider dans ce choix.

 **Mémo:**

- Dans tous les cas, prélever du sang sur tube sec (5 ml minimum) et sur tube EDTA (10 ml minimum). Les conserver au froid positif
- Dans la majorité des cas, un prélèvement de LCR pourra faciliter le diagnostic de laboratoire et sera même nécessaire en cas de suspicion d'EPM (1 à 5 ml).
- Post-mortem : l'encéphale est le seul prélèvement permettant le diagnostic de certitude de la listériose. Il peut être également nécessaire pour le diagnostic de la maladie de Borna et de l'EPM. Une moitié de l'encéphale (coupe longitudinale) est fixée dans le formol 10% et l'autre moitié sera conservée sous régime du froid positif ou négatif.

Attention le port de gants est indispensable (protection du manipulateur et du prélèvement)

!!! En fonction du contexte clinique, il peut être utile de conserver d'autres tissus (cf tableau prélèvement) en prévision d'examens complémentaires (muscles, ganglions, nerfs, etc..)

Où les adresser ?

1.  Le prélèvement doit être **impérativement accompagné de la fiche de déclaration** (en complétant soigneusement toutes les rubriques).

Il doit être **adressé rapidement** (Chronopost) et **sous régime du froid** (4°C) dans un délai de 24h après le prélèvement, aux laboratoires partenaires du réseau (cf. tableau prélèvement).

Attention !!! : seules les analyses mentionnées en rouge sont financièrement prises en charge par le réseau.

Les premiers résultats seront adressés au vétérinaire praticien. Il lui incombera de les transmettre à son client.

2.  Contacts pour toute information complémentaire concernant les prélèvements

Dr Dauphin – Dr Zientara
AFSSA Alfort
22, rue Pierre Curie BP
67
94 703 Maisons – Alfort
Tél : 01 49 77 13 13
Fax : 01 49 77 13 00

Dr Pitel – Dr Fortier
Laboratoire
départemental
1, route de Rosel
14000 Caen
Tél : 02 31 47 19 19
Fax : 02 31 47 19 00

Dr Moussu – A. Saison
AFSSA Dozulé
14430 Goustrainville
Tél-Fax : 02 31 79 79 87



Bulletin du Réseau d'Épidémiologie des Pathologies Équines

OCTOBRE 2003

DANS CE NUMÉRO :

Des nouvelles recrues au RESPE !

La consultation du site
augmente de semaine en
semaine...

EDITORIAL	1
West Nile	2 3
Réseau ANI	3
Réseau SRA	4

Comité de rédaction :

- A. Leblond (ENVL)
- C. Mousu (AFSSA Dozulé)
- A. Saison (AFSSA Dozulé)
- S. Zientara (AFSSA Alfort)
- G. Dauphin (AFSSA Alfort)



Le réseau ANI (Affection Neurologique d'origine Infectieuse) du RESPE a définitivement pris son envol ainsi que le confirment les nombreux contacts que les différents animateurs dudit réseau ont eu ces dernières semaines avec des confrères confrontés à des cas neurologiques.

L'épisode de forme nerveuse à EHV-1 qui a été rapporté cet été en Normandie illustre l'intérêt d'un tel réseau ainsi que la richesse que les collaborations entre praticiens, laboratoires, épidémiologistes... sont susceptibles d'engendrer.

L'été fut chaud (!) y compris sur le plan de l'infection à virus West Nile. Un cas fut rapporté en août chez un patient américain qui avait auparavant séjourné en Floride et aux Bahamas (où il s'est vraisemblablement infecté). Un cas d'encéphalite à West Nile a été confirmé en septembre chez un habitant du Var. D'autres cas humains d'infection par le West Nile ont été révélés lors d'une enquête rétrospective auprès des hôpitaux de la région.

A l'heure actuelle, trois cas de chevaux du même département atteints de méningo-encéphalite depuis septembre 2003 ont été confirmés. Le virus West Nile a donc circulé au cours de l'été 2003 dans le département du Var alors qu'aucun cas n'a été déclaré cette année en Camargue. L'infection à virus West Nile s'avère toujours très active à la fois dans des régions du monde nouvellement infectées et dans d'autres infectées depuis longtemps comme l'indiquent les données publiées dans ce numéro du bulletin.

La rédaction des fiches techniques

qui viendront alimenter le site web du RESPE se poursuit activement. La consultation du site augmente de semaine en semaine. Bref, tout ceci est de bon augure !!

Une enquête de terrain est programmée par l'équipe d'épidémiologie de Dozulé afin de déterminer d'éventuels facteurs de risque et de permettre ainsi de disposer d'outils de gestion dans l'hypothèse de réapparition de cas de myoglobinurie atypique cet automne.

Alors que le RESPE prépare activement sa participation au congrès de l'AVEF à Montpellier, **nous vous invitons à nous rejoindre le vendredi à 18h15 dans la salle Antigone** afin de nous faire part de vos remarques et d'alimenter de façon la plus efficace la dynamique de fonctionnement du réseau.

Enfin la diffusion du précédent bulletin à tous les vétérinaires de l'AVEF a permis un « recrutement » de nouveaux confrères comme vétérinaires sentinelles dont le nombre maintenant se conforte (95) ainsi que l'étendue nationale (53 départements) de surveillance. Merci et bienvenue.

S. Zientara





Fièvre du Nil Occidental : Le point sur la surveillance En France et en Europe

France

Concernant la surveillance humaine de la fièvre West Nile, 19 cas suspects de Fièvre de WN ont été notifiés en juin et juillet 2003 aux DDASS et DSS (CIRE Sud – Marseille); ces 19 cas se sont révélés négatifs à l'analyse des prélèvements par le laboratoire de virologie de l'IMTSSA à Marseille. L'InVS (Institut de Veille Sanitaire) a signalé le 25 août une suspicion d'infection récente à virus West Nile chez un américain ayant séjourné en France en Camargue en juillet (mais également à Miami et aux Bahamas). Le 3 septembre, un habitant du Var a été hospitalisé à l'hôpital de Fréjus pour méningo-encéphalite. Des anticorps anti-WN IgM et IgG ont été détectés chez ce patient, ainsi que chez son épouse, qui avait présenté un syndrome fébrile et des céphalées fin août (alors non diagnostiqués). Suite à une enquête rétrospective auprès des hôpitaux du Var, 5 autres cas (3 formes fébriles et 2 formes nerveuses), tous situés autour de Fréjus et avec une date de début des symptômes voisine (fin août), ont été diagnostiqués positifs en ELISA et attendent une confirmation par le Centre National de Références des Arboviroses.

Vers le 15 septembre, un cheval résidant dans ce même département a présenté des signes cliniques de méningo-encéphalite et a été détecté séropositif vis à vis du virus WN (IgG et IgM). Les signes ont rétrocedé au bout de 3 semaines. Deux autres cas équinés de méningo-encéphalite à WN ont été diagnostiqués. Une enquête sérologique a débuté et est pilotée par la Direction Départementale des Services Vétérinaires du Var sur les chevaux détenus dans 24 centres équestres situés autour du foyer primaire (Grimaud). Il est à noter que tous les cas de WN décrits (hommes et chevaux) correspondent à d'infection datant de fin août et début septembre. Aucun nouveau cas n'a été déclaré depuis cette période.

Royaume Uni

Aucun cas humain d'infection par le virus de WN n'a été déclaré. Cependant, les scientifiques du Centre d'Ecologie et d'Hydrologie d'Oxford ont observé une prévalence élevée d'anticorps anti-WN chez des oiseaux sauvages. Des anticorps ont été retrouvés chez plus de la moitié des oiseaux testés, comprenant des corneilles, des pies, des moineaux, des poulets, des dindons et des canards. Aucune mortalité anormale d'oiseaux migrateurs ou sédentaires n'a été notée.

Autres pays du vieux continent :

Des isolations de virus WN ont été réalisées chez trois espèces d'oiseaux migrateurs prélevés au Sud Ouest de la Sibérie en été 2002 (région de Novosibirsk). La souche isolée était proche de la souche circulant à Volgograd en 1999. Les similitudes entre ces souches suggèrent l'existence d'une circulation de virus entre la mer Caspienne et la Sibérie grâce aux oiseaux migrateurs.

En Israël, l'étude phylogénétique des virus isolés chez des chevaux et des oiseaux migrateurs entre 1998 et 2001 a montré que pendant cette période deux souches distinctes ont circulé dans la région : l'une est proche du virus isolé à New

York en 1999, l'autre plus proche des virus plus récemment isolés sur le vieux continent. Deux cas ont été diagnostiqués chez l'homme depuis le début de l'été 2003.

Nouveau continent :

Antilles françaises

La Guadeloupe : Dès juillet 2002 près de 70% des chevaux de l'île ont été prélevés (n=360), 10 positivités en IgG ont été décelées par l'AFSSA, dont 2 en Ig M dans 4 clubs hippiques. Fin 2002, un cheval est décédé après une phase clinique d'encéphalite (individu non analysé). La surveillance chez les chevaux se poursuit depuis mai 2003. Des prélèvements sont programmés en octobre pour connaître le statut des individus et surveiller une éventuelle séroconversion. Actuellement, le pic de l'infection est supposé se situer entre Août et Octobre chez les chevaux. Il n'est pas encore déterminé si la circulation virale persiste toute l'année, avec une activité vectorielle constante mais réduite en période sèche et une activation après la période des pluies (mi-Mai), ou bien si cette activité n'existe qu'à certaines périodes comme dans les zones tempérées.

La Martinique : 362 chevaux ont été prélevés en mai 2003 dans le cadre d'une enquête sérologique ; la mortalité de l'avifaune fait également l'objet d'une attention particulière. Actuellement aucune circulation virale n'a été mise en évidence.

Etats – Unis

Pour l'année 2003, 3370 cas humains dont 65 morts sont rapportés aux États-Unis. Seuls 4 états du Nord-Ouest semblent encore indemnes. Les systèmes de surveillance recensent 5197 oiseaux morts, 1162 infections chez le cheval, 5 chez des chiens, 2 chez des écureuils.

Canada

Au 14 septembre, 4 cas de mortalité consécutifs à une infection par le virus de West Nile chez l'homme ont été observés au Canada. Le dénombrement des cas recense 131 cas probables chez l'homme, 85 chez le cheval, 201 pools de moustiques positifs et des oiseaux sauvages positifs dans 7 provinces du Canada, Québec, Ontario, Manitoba Saskatchewan et Alberta étant les plus touchés.

Mexique

Au 4 septembre 2003, une étude de séroprévalence a montré la présence d'anticorps vis-à-vis du virus de WN dans le sérum de 624 chevaux sur 3.477 prélevés. Les chevaux positifs sont répartis dans tout le pays, indiquant une extension de l'aire de circulation du virus vers le sud au-delà de l'état de Mexico. Seuls deux cas de chevaux malades ont été diagnostiqués. Aucun cas humain n'a été rapporté.

Autres pays

Au Salvador, le diagnostic d'infection par le virus de

WN a été confirmé le 29 avril 2003 chez trois chevaux morts. Aucun cas humain n'a encore été détecté.

Des anticorps anti-WN ont été retrouvés chez des oiseaux du parc national de « Los Haitises », en république Dominicaine.

Un cas a été observé dans les îles Cayman en 2001. En Jamaïque, des oiseaux sédentaires ont été trouvés séropositifs en janvier 2002.

Les nouvelles modalités de transmission :

En 2002, de nouvelles modalités de transmission à l'homme ont été documentées : transfusion sanguine provenant de donneurs en phase virémique, transplantation d'organes, transmission intra-utérine (transplacentaire) et transmission par allaitement.

Des cas d'infection acquises en laboratoire ont été rapportés, soit par coupure avec un scalpel au cours d'une autopsie d'oiseaux morts ou par piqûre avec une aiguille infectée.

Le point sur la clinique :

Les signes cliniques les plus fréquemment observés chez le cheval sont l'hyperthermie (dans 1/3 des cas environ) et des signes d'atteinte centrale ou périphérique du système nerveux : faiblesse ou ataxie et tremblements musculaires. La parésie est plus fréquente que l'ataxie, mais les deux peuvent être multifocales et asymétriques. La faiblesse musculaire serait consécutive à la localisation de l'infection dans les cornes antérieures de la moelle épinière et à la destruction des neurones moteurs.

Le virus a été isolé à plusieurs reprises sur des embryons équins après avortement. Mais aucun lien ne peut encore être établi entre l'infection par le virus de West Nile chez la jument et l'occurrence d'avortements.

De nouvelles formes cliniques sont décrites chez l'homme : chorioretinite, choroidite multifocale, névropathies unilatérales du plexus brachial, névrite du nerf optique, paralysie flasque asymétrique (forme neuromusculaire ou « West Nile polio »), parkinsonisme transitoire, rétention urinaire. Les symptômes sont similaires à ceux d'une poliomyélite chez l'homme.

De nouvelles descriptions d'infections chez d'autres espèces ont été publiées : chez le chien (atteintes des systèmes nerveux central, rénal et cardiaque), la brebis (encéphalomyélite et avortements), les crocodiles et les alligators. Chez ces derniers la transmission aurait pu se faire par ingestion de viande de cheval infectée.

Le point sur le vaccin

Jusqu'à une date récente, le seul vaccin à être utilisé contre le virus WN était commercialisé par **Fort Dodge** (usage exclusivement réservé aux chevaux). Aux États-Unis, des mortalités néonatales, des avortements et des malformations ont été rapportés chez des juments vaccinées au cours de la gestation. Le Département de l'Agriculture américain (APHIS, Animal and Plant Health Inspection Service) considère qu'aucun lien causal ne peut être établi avec la vaccination. Le vaccin est fabriqué à partir de virus tué. Au cours d'essais cliniques préliminaires, 32 des 649 chevaux vaccinés étaient des juments gestantes. Aucun effet secondaire indésirable n'a été noté chez ces juments et leurs poulains.

Un nouveau vaccin recombinant produit par **Merial** (canarypox) est en cours de commercialisation aux États Unis et semble donner des résultats intéressants. Le virus Kunjin, présent en Australie, qui provoque une maladie bénigne dans de rares cas, pourrait servir de base à la mise au point d'un vaccin protégeant contre le virus WN. Des chercheurs de l'université de Queensland, à Brisbane (Australie), utilisant les similitudes génétiques des 2 virus, ont réussi à faire produire par des souris inoculées avec de l'ADN de Kunjin, des anticorps efficaces contre le Kunjin mais également contre le virus WN (CR de l'Académie américaine des sciences, 11 août 2003). **A.L, S.Z, G.D**

PREMIERS PAS DU RESEAU NOUVEAU-NE : LE RESEAU ANI

Le réseau ANI (Affections Neurologiques d'origine Infectieuse) est bien né et a fait ses premiers pas cette année. Preuve en est : 19 prélèvements accompagnés des fiches de renseignements du réseau ANI ont été envoyés depuis début juillet au laboratoire départemental Franck Duncombe (LDFD) et au laboratoire de virologie équine de l'AFSSA Alfort. Ces prélèvements étaient issus de 16 prescripteurs différents.

En dehors du strict cadre du réseau, on peut totaliser le nombre de prélèvements reçus depuis janvier 2003 à Alfort et au LDFD issus de chevaux présentant des troubles neurologiques à une petite centaine. Depuis l'inauguration officielle du réseau ANI, 16 cas n'ont pas été déclarés dans le cadre du réseau dont 7 provenant de vétérinaires sentinelles. Une part importante de prélèvements continuent donc à transiter en dehors du réseau ANI. Près d'un tiers des prélèvements réalisés cette année, dans le cadre d'une affection neurologique, comprenaient du LCR, ce qui montre une nette progression de ce type de prélèvement. L'objectif est que ce prélèvement puisse être réalisé à terme par tous les vétérinaires sentinelles (une EPU sur le diagnostic des affections neurologiques équines sera organisée en 2004 par la Commission EMIP de l'AVEF).

Premiers résultats : Chez la moitié des chevaux suivis dans le cadre du réseau, des anticorps anti-HEV fixant le complément ont été détectés en grande quantité dans le sérum (parfois dans le LCR). C'est donc la rhinopneumonie forme nerveuse qui semble l'étiologie prédominante. Parmi les cas supposés de rhinopneumonie, un cas présentait également une forte séropositivité de Lyme et un autre une séropositivité faible ou moyenne pour *Neospora* et *Sarcocystis neurona* (EPM). La maladie de Borna a été suspectée chez l'un des 19 chevaux déclarés. L'évolution de ces chevaux n'est en général pas connue par les laboratoires. Lors du décès de certains de ces chevaux, le recours à l'autopsie et l'envoi de prélèvements post-mortem (encéphale, moelle épinière) a été particulièrement utile.

Les points qui restent à améliorer pour un meilleur fonctionnement du réseau sont les suivants :

- ✎ systématiser les déclarations
- ✎ améliorer la qualité des prélèvements (LCR)
- ✎ renforcer l'échange d'informations entre les participants du réseau (notamment entre les laboratoires)

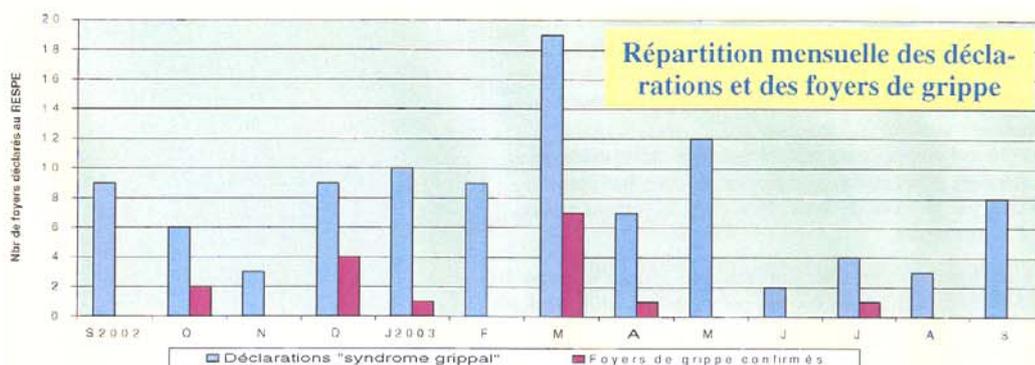
organiser un meilleur suivi, dans la durée, des animaux entrant dans le réseau (informations sur la réalisation d'examen ou d'analyses complémentaires, rédaction par le vétérinaire d'une fiche de synthèse clinique du cas, compte-rendu d'autopsie en cas de décès de l'animal). Cela est à élaborer par le groupe de travail « réseau ANI ».

Les premiers cas neurologiques pris en charge cette année par le réseau ANI nous confirment ce à quoi nous nous attendions : le diagnostic des maladies nerveuses est difficile tant au plan clinique qu'au plan laboratoire. Même en ouvrant largement le parapluie des investigations de laboratoire, une majorité des cas resteront probablement à étiologie indéterminée. Ce constat est lié d'une part à la variété des sites lésionnels, des expressions cliniques et des étiologies possibles. D'autre part, de nombreux tests de laboratoire sont encore à développer ou à améliorer, notamment Borna et EPM... **G.D**

LA GRIPPE EQUINE : BILAN SEPT.2002 - SEPT.2003

De septembre 2002 à septembre 2003, **101 foyers suspects de grippe** ont été déclarés au réseau. Ce nombre représente quasiment le double des déclarations effectuées au cours de la campagne 2001-2002 (58 foyers déclarés). Cela ne peut s'expliquer par le seul recrutement de nouvelles sentinelles (seulement 6 foyers déclarés par des sentinelles recrutées après septembre 2002). On observe également, tout comme la campagne précédente, une assez large répartition géographique des cas déclarés (38 départements déclarants contre 28 en 2001-2002). Certains départements privilégiés semblent, malgré la présence de sentinelles, demeurer indemnes de ce type d'affection... Alors soyez vigilants... En bref, il semble donc que la circulation de virus à tropis-

-me respiratoire ait été active au cours de l'automne 2002 et de l'hiver 2003. Au cours de cette période, **16 foyers de grippe** ont été confirmés, principalement au cours des mois de décembre 2002 et de mars 2003. 7 foyers sur 16 concernent des Trotteurs, 2 des Purs-Sang, 3 des poneys, 4 d'autres races (PS, SF, AQPS...). Les déclarations proviennent exclusivement de centres équestres (6/16 foyers) et de centres d'entraînement (10/16 foyers) (risque accru et/ou établissements mieux surveillés...). Du virus grippal a circulé activement en mars et avril 2003 dans plusieurs écuries de trotteurs.



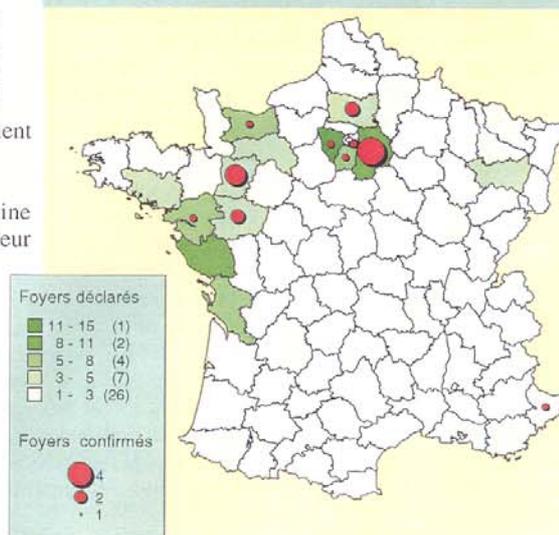
Le statut vaccinal de 29 chevaux atteints de grippe durant cette période est détaillé ci-dessous :

- Absence de vaccination depuis plus de 12 mois 16
- Dernière vaccination entre 6 et 12 mois 8
- Dernière vaccination entre 1 et 6 mois 2
- Vaccination depuis moins de 15 jours 3

On constate que plus de 90% des chevaux malades prélevés étaient non vaccinés ou vaccinés de façon non optimale.

Une souche grippale a été isolée par l'Unité de Virologie Equine de l'AFSSA Alfort à partir d'un écouvillon réalisé sur un trotteur stationné à Grosbois en mars 2003. Le séquençage de la souche isolée est en cours. **A.S, C.M**

REPARTITION DES FOYERS (01/09/02 au 30/09/03)



Secrétariat RESPE
AFSSA DOZULE
Service épidémiologie
Goustranville 14430

Téléphone / Fax : 02 31 79 79 87
Contact E mail
c.moussu@dozule.afssa.fr
a.saison@dozule.afssa.fr

**ANNEXE 6 - Bulletin d'alerte concernant la myoglobulinurie atypique communiqué par e-mail
le 17 novembre 2003**

Envoyé : lundi 17 novembre 2003 17:18

> À : A. Demongeot ; A. Giraudet ; AC. Fabry; Arquer Helena; Baltenger Laure; Bayssat ; Betizeau ; Betsch Jean Marc; C. Bourgeois ; C. Bru ; C. Bussy ; C. Hugnet ; C. Louf ; C. Schlotterer ; Causse ; Christopher Stockwell ; Ciantar philippe; Corde Richard; Couderc; Delavenne Marc; Delecroix Alain; Desbrosse Francis; Dominique Vienet ; Donnay ; Dr Martin; Dr Martin-Keller; Dr Moreau ; Emmanuel Lagarde; F. Orange; F. Tonnelles; Florin Caroline; Franck De Craene ; Francois Valon; G. Tourtoulou ; H. Bourguignon ; I. Got; I. Levy ; J. Bouvier ; Jean Servantie ; JG. Filliat ; JJ. Roy ; JY Delorme ; JY. Sallard ; Langlois Patrick ; Laroze Catherine; Lefrançois Valérie; Losfeld Pierre; M. Brouard ; Martin ; MC Heng; MFoursin ; Michel Payan ; Nougailon Gauchot ; P. Romantzoff ; Pascal Fanuel ; Paumier Jeanne; Pechayre Michel ; Pioche Marie Noel ; R. Ridoux ; Rivière ; S. Paul ; Savallle Benoit ; Seignot ; T. Cauchard ; Th. Launois ; Tritz ; Vermoesen ; X. D'ablon ; X. Goupil ; Y. Gay ; A. Benamou ; Benoit. Waterkeyn ; C. Fleury ; Caroline Vianney de ponnat ; Catherine Delguste ; Denis Logerot ; Fraipont; George ; George Placiard ; Guiot ; Heng ; Jean-Pierre Pellissier ; Kraetzschmann ; Leducq; Levy Eric ; Maindiaux ; Peloquin ; SCHOTT Pascale ; sensenbrenner ; Sylvie Bateau ; université de Siegen; Xavier Pineau ; AM Desbrosse ; Bermann Frédéric; COLLOBERT-LAUGIER Claire; DAUPHIN Gwenaëlle; G Fortier; JL Cadoré; Karine Maillard ; Leblond Agnès; M LEGARE ; Michel Béatrice; PH Pitel ; SAISON Anne; ZIENTARA Stephan; Sylvie Poliak; Tainturier; TAOUJI Said

Objet : Myoglobulinurie atypique : premier cas recensé cet automne

>

> **Communiqué RESPE du 17/11/2003**

>

> Deux cas de myoglobulinurie atypique ont été identifiés dans un même élevage situé dans le département des Côtes-d'Armor (22). Deux poneys de 18 mois séjournant dans un même herbage ont manifesté successivement (à 2 jours d'intervalle) les symptômes suivants : ataxie, dépression, urine rouge et sudation importante. Les analyses hémato-biochimiques ont révélé des enzymes musculaires très augmentées (CPK > 50 000 UI/L; ASAT > 8 000 UI/L). Les enzymes hépatiques n'ont pas été dosées du vivant des animaux. Contrairement au reste de l'effectif, ces deux poneys étaient stationnés en permanence sur une parcelle en

pente, bordée d'un bois et ne recevaient aucun complément alimentaire.
> Ils ont été euthanasiés successivement le lundi 10 et le jeudi 13 Novembre. Le second poney a pu être acheminé à l'AFSSA Dozulé pour y être autopsié. L'examen anatomo-pathologique semble confirmer l'hypothèse de myoglobinurie atypique (décolorations et suffusions hémorragiques au sein de certains muscles locomoteurs et sur le muscle cardiaque, oedème pleural et interlobulaire, myoglobinurie). Des analyses complémentaires sont en cours. Un recensement floristique et des prélèvements de végétaux seront réalisés mardi 18 novembre dans la parcelle où étaient stationnés les deux poneys.
>

> Dr C. Puyalto-Moussu, DVM, Msc
> Service Epidémiologie
> 14430 Goustranville
> Tél/Fax : (+33) 02 31 79 79 87

ANNEXE 7- Protocole pour le diagnostic expérimental de la maladie de Borna

◆ Préparation des prélèvements

- Prélèvements de sang et de LCR

Les sérums et les échantillons de LCR prélevés sur tubes secs sont mis en aliquots dans des tubes Eppendorf, répertoriés et congelés à -20°C . Pour pouvoir réaliser par la suite l'extraction des ARN, les prélèvements de sang sur EDTA doivent être traités le plus tôt possible après leur réception au laboratoire. Comme le BVD semble être transporté dans le sang par les leucocytes, le sang doit être soumis à une érythrolyse, avec le tampon BLB (NH_4Cl (155 mM), KHCO_3 (10 mM), EDTA(1 mM)) puis le culot de leucocytes totaux est récupéré par centrifugation (2000 g, 10 min). Chaque extraction est effectuée à partir de leucocytes correspondant à 5 ml de sang total. Les échantillons de plasma et de leucocytes sont conservés à -80°C jusqu'à leur manipulation.

◆ Sérologie

- Elisa

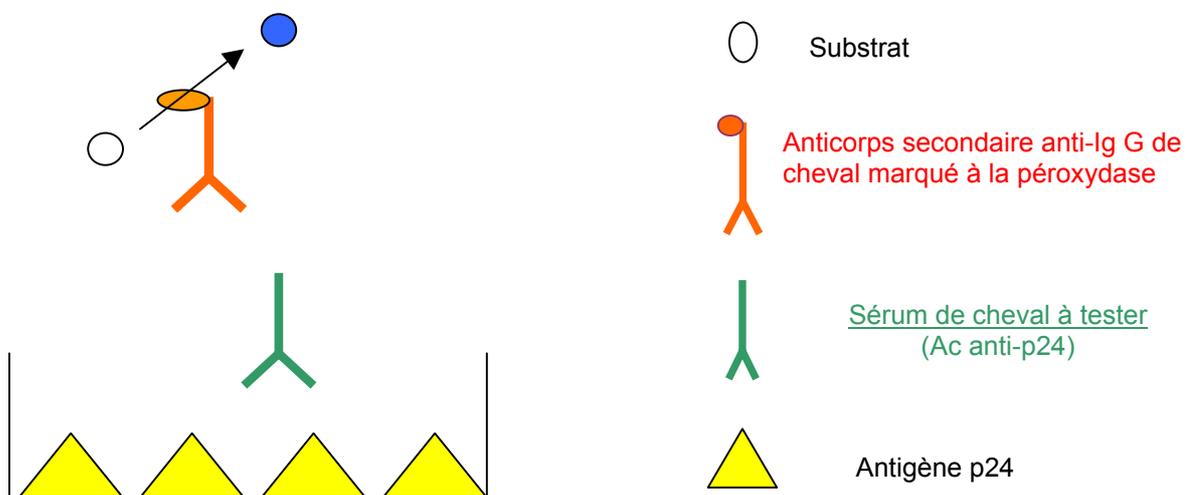


Figure 21 - Représentation schématique du principe de l'ELISA indirect

Trois lavages des plaques au PBS-Tween 0,1% sont effectués après la sensibilisation. 300 μl de tampon de blocage sont mis dans chaque cupule (lait écrémé en poudre 5%, Tween 20 0,1%, PBS). La plaque est mise à 37°C , sous agitation pendant 1 h.

Ensuite, les sérums sont dilués au 1/50^e dans le tampon de blocage et 50 µl sont distribués en doublet sur la plaque. L'incubation des sérums à tester est effectuée à 37°C sous agitation pendant 2 h.

Après 4 lavages au PBS-Tween 0,1%, l'anticorps secondaire anti-IgG de cheval (SIGMA) marqué à la peroxydase dilué au 1/8000^e est réparti sur la plaque à raison de 50 µl par puits. La plaque est mise à 37°C, sous agitation pendant 45 min.

Après 4 lavages au PBS-Tween 0,1%, le substrat (mélange des deux solutions de TMB (tétraméthylbenzidine et H₂O₂, 50 µl de chaque) est réparti dans les puits et la plaque est laissée dans l'obscurité pendant 10-15 min. Pour arrêter la réaction, 100 µl de H₂PO₄ (dilué au 1/10^e) sont ajoutés par puits. Les plaques sont lues à la densité optique (DO) de 450 nm. Le seuil de positivité est fixé à la valeur de DO de 1,5.

- **Western blot**

Le principe du Western blot reste le même que celui de l'ELISA mais contrairement à l'ELISA où on a un résultat positif, négatif ou incertain, le Western blot est plus spécifique et permet de visualiser la réaction des anticorps avec chaque antigène. On fait migrer par électrophorèse un extrait cellulaire contenant l'antigène p24 dans un gel d'acrylamide que l'on transfère ensuite par électrophorèse sur une feuille de nitrocellulose. Les sérums à tester sont alors mis en présence de cette membrane de nitrocellulose contenant p24. Pour tester les sérums, les bandelettes sont mises en tampon de blocage pendant une nuit à +4°C, puis sont incubées avec les sérums d'animaux à tester (dilué au 1/20^e dans 2 ml de tampon de blocage par bandelette) pendant 1h30 à température ambiante sous agitation douce. Ensuite, un lavage rapide puis 3 autres lavages de 15 min en PBS-Tween 20 (0,1%) sont effectués sous agitation. Les bandelettes sont incubées avec l'anticorps secondaire anti-IgG de lapin (dilué au 1/5000^e) ou anti-IgG de cheval (dilués au 1/8000^e) dans le tampon de blocage pendant ¾ d'heure, à température ambiante sous agitation douce. Deux ou trois autres lavages de 15 min en PBS-Tween 20 sont effectués sous agitation. Un dernier lavage est réalisé avec du PBS seul. Les bandelettes sont incubées avec le mélange des 2 solutions d'ECL puis égouttées et placées dans la cassette photographique. Le film est développé après 3 min.

◆ RT-PCR nichée

Afin de s'affranchir au mieux des risques de contamination de laboratoire, des règles strictes de manipulation et de préparation des échantillons doivent être respectées. Tout d'abord, la préparation des échantillons de tissus nerveux doit être effectuée dans un laboratoire voisin, dans lequel le virus Borna n'a jamais été manipulé, ni son génome amplifié. Ensuite, chaque étape de la PCR est effectuée dans des pièces séparées. Afin de détecter d'éventuelles contaminations de laboratoire, chaque série de 5 tubes réactionnels doit comprendre un témoin négatif d'extraction et de PCR.

Extraction des ARN : l'extraction d'ARN est effectuée à partir de 100 mg de cerveaux congelés ou d'un culot de leucocytes totaux (obtenus après érythrolyse à partir de 5 ml de sang sur EDTA) avec un réactif le TRIzol® (GIBCO/BRL), selon les instructions du fournisseur.

Amplification du génome viral : Les amorces utilisées pour la RT-PCR nichée sont celles décrites par Sauder *et al.* (1996), classiquement utilisées pour la recherche d'ARN viral BDV. Elles s'hybrident avec le gène p40 (de la nucléoprotéine) et avec le gène p24 (de la phosphoprotéine). Etant donné l'hétérogénéité de la répartition du virus BDV dans le cerveau, deux extractions par cerveau sont effectuées, avec la recherche des gènes p24 et p40 dans tous les cas. Tout résultat de RT-PCR nichée positif doit être confirmé par une nouvelle extraction, suivi d'une nouvelle RT-PCR nichée.

Etape de RT-PCR : La transcription inverse (RT) et la première amplification sont réalisées à l'aide du kit "Qiagen One Step RT-PCR" (Qiagen). La réaction se déroule dans un volume de 50 µl en utilisant les amorces externes p40 et p24 spécifiques du BDV. Chaque mélange réactionnel contient 21 µl d'eau RNase free, 2 µl de dNTP (10 µM de chaque dNTP), 10 µl de tampon 5X du kit, 10 µl de solution Q, 2 µl du mélange des enzymes RT et Taq polymérase et 1,5 µl de chaque amorce (20 µM) externe spécifique du BDV. Après avoir réparti 48 µl de ce mélange réactionnel dans des microtubes, une goutte d'huile minérale est ajoutée à chaque microtube, afin d'éviter une dispersion aérienne des ADNc amplifiés lors de l'ouverture des tubes. Enfin, 1 µl de chacun des ARN extraits des échantillons et de l'ARN du témoin interne (mimic) sont ajoutés. Les cycles de température suivants sont appliqués : 30 min. à 50 °C puis 15 min. à 95°C pour la phase de transcription inverse, puis une phase d'amplification de 40 cycles comportant 1 min. à 94°C, 1 min. à 57°C et 1 min. à 72 °C et enfin une phase terminale d'élongation de 10 min. à 72 °C.

Etape de PCR nichée : La seconde amplification est réalisée à partir de 1 µl de l'ADN produit lors de la première RT-PCR et les couples d'amorces internes spécifiques du BDV. Le mélange réactionnel contient 43 µl d'eau bi-distillée, 5 µl de tampon *Taq* polymerase (10X), 0,4 µl de chaque amorce interne (20µM), 0,4 µl d'un mélange de dNTP (100µM) et 1,25 unités de *Taq* polymerase par réaction. Les mêmes conditions de température que lors de la première amplification ont été appliquées, avec un nombre de cycles ramené à 25.

Les produits PCR sont visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose (2 % d'agarose). Les gels sont observés à l'aide d'un analyseur d'images (Gel Doc, BIO-RAD), après immersion du gel pendant 15 min dans un bain de bromure d'éthidium (BET) au 1/10000^e.