

Description d'une épidémie d'encéphalomyélite à HVE 1 survenue dans un centre équestre dans le nord de la France en 2009 : investigations cliniques et virologiques

Par :

▪ S Pronost¹, J Lissens², B Wegge³, L Legrand¹, E Richard¹, PH Pitel¹, F Freymuth⁴, G Fortier¹.

¹Laboratoire Frank Duncombe IFR 146 ICORE 14053 Caen Cedex 4 France

²Clinique Vétérinaire 59122 Rexpoede France

³Faculté vétérinaire de Médecine Université de Gand Belgique

⁴Laboratoire de Virologie CHU de Caen IFR ICORE 146 Caen France

Résumé

L'équid herpesvirus de type 1 (HVE 1) est communément appelé virus abortif équin. S'il demeure la première cause d'avortement virale chez la jument, il est également responsable d'infections respiratoires chez les jeunes chevaux et à l'origine de maladie de forme nerveuses surtout chez les chevaux âgés. L'objet de la présente étude est de décrire l'épidémie d'encéphalomyélite qui a sévit dans le nord de la France en Juillet 2009 en présentant les investigations cliniques et l'intérêt d'une réponse rapide du laboratoire. Sept chevaux sur 66, âgés de 12 à 22 ans, ont présenté des signes neurologiques. L'épisode de fièvre observé pour les 7 chevaux a été suivi systématiquement de signes d'ataxie deux jours plus tard. Le taux de morbidité a été de 11% (7/66) et le taux de mortalité de 8% (5/66). Le diagnostic a été réalisé par PCR quantitative sur écouvillons nasaux et sang et par culture cellulaire. Le génotypage de la souche a montré qu'il s'agissait d'une souche neuropathogène. Après identification du premier cas, le suivi quotidien de la température a permis de réaliser un suivi par des analyses PCR sur les chevaux présentant de la fièvre. Cet épisode est l'un des plus importants survenus en Europe au cours de la dernière décennie.

Mots clés : Encéphalomyélite à herpesvirus 1, PCR, HVE-1, épidémie

Summary

Equid herpesvirus type 1 (EHV-1) associated myeloencephalopathy (EHM) is a disease affecting the central nervous system and, in particular, the spinal cord of horses. Despite the constantly increasing interest about this syndrome, epidemiological data are limited especially when related to the description of large outbreaks. The epizootic disease described in this paper concerned a riding school in North of France where 7/66 horse aged 12 – 22 years old developed signs of a neurological disease in July 2009. Clinical presentation of the disease was characterized by a strong association between fever and ataxia being systematically observed two days later. Morbidity was observed at 11% (7/66), mortality was 8% (5/66) and case fatality rate was 71% (5/7). The diagnosis of EHV-1 myeloencephalitis was supported by both real-time PCR and virus culture techniques. After identification of the index case, the temperature was monitored each day and PCR was realised on nasal swabs specimens and venous blood samples from horses that exhibited fever. To our knowledge this large outbreak was one of the most important described during the last decade in Europe.

Key-words : neurological disease, PCR, outbreak, EHV-1, EHM

Introduction

A ce jour, 9 herpèsvirus sont décrits chez les équidés : l'herpèsvirus 1 à l'herpèsvirus 5 (HVE 1 à HVE 5) infectent les chevaux ; HVE 6 à HVE 8 infectent les ânes et HVE 9 infecte la gazelle. Si jusqu'en 1981, l'HVE-1 et l'HVE-4 étaient considérés comme deux sous-types d'un même virus et rassemblés sous le nom de virus de la rhinopneumonie, il est bien établi aujourd'hui, sur la base de l'étude de leurs génomes, qu'il s'agit de deux virus différents (Crabb et Studdert, 1995). L'HVE 1 est communément appelé virus abortif équin et l'HVE 4, virus de la rhinopneumonie équine. Une certaine confusion règne encore aujourd'hui car l'HVE 1 n'est pas responsable uniquement d'avortement mais également de pathologie respiratoire et de maladie de forme nerveuse. Chez les équidés, l'HVE 1 est transmis par inhalation ou par contact direct avec des éléments infectés suite à un avortement, comme le fœtus ou les annexes fœtales (essentiellement le placenta) ; mais des transmissions par voie iatrogène ont également été décrites. Une étude récente a montré qu'un animal pouvait potentiellement contaminer ses congénères par les voies respiratoires jusqu'à une distance supérieure à 5 mètres (Pusterla et Mapes, 2008).

Le premier cas d'encéphalomyélite à HVE 1 (MHVE) a été décrit en 1966 par Saxegaard. Depuis, plusieurs épisodes ont été rapportés, et les différents signes cliniques caractéristiques décrits sont : l'ataxie (manque de coordination des mouvements), l'incontinence urinaire, mais aussi une paralysie complète pouvant conduire à la mort de l'animal. Il est essentiel d'éviter que l'animal ne se couche pour favoriser ses chances de récupérations. Le virus infecte les animaux par les voies respiratoires et après une première phase de multiplication dans les cellules épithéliales, une seconde phase de virémie permet d'acheminer le virus jusqu'au système nerveux central. La phase d'incubation en conditions expérimentales ou lors d'infections par les voies naturelles varie de 6 à 8 jours.

Les myéloencéphalites à HVE 1 conduisent à une souffrance et/ou des séquelles importantes chez l'animal et parfois à la mort. Cette maladie est également responsable de pertes économiques majeures en particulier lorsqu'elle est détectée sur un champ de course. La « rhinopneumonie de forme nerveuse » que l'on devrait nommer myéloencéphalite à herpèsvirus 1 n'est pas une nouvelle maladie mais de récents travaux ont posé la question de l'importance d'une nouvelle souche d'HVE 1 dite « neuropathogène » qui serait apparue ces dernières années. Ceci a conduit récemment à la classification de la MHVE comme « maladie potentiellement émergente » par l'USDA (United States Department of Agriculture ; USDA, Aphis VS CEAH). La différence entre les souches d'HVE 1 dites paralytique et abortives est basée sur la description des signes cliniques mais une nouvelle appellation est apparue dans la littérature en 2006 basée sur le génotype des souches et la présence d'une mutation en position 2254 de l'ADN codant l'ADN polymérase (Nugent *et al.*, 2006). Ainsi les souches présentant la base A (adénine) en position 2254 sont dites « souches sauvages » ou « non neuropathogènes » et les souches présentant la base G (guanine) sont dites « souches mutantes » ou « neuropathogènes ».

En réalité, cette souche mutante ou neuropathogène circule au moins depuis les années 50 et s'il est admis qu'elle présente un caractère de virulence accru, les dernières études de terrain ont montré qu'il n'y avait pas 100% de corrélation entre la pathologie observée et le génotype des souches détecté (Pronost *et al.*, 2010a ; Pronost *et al.*, 2010b). Ainsi, des souches dites « non neuropathogènes » ont pu être isolées lors de cas de MHVE et des souches « neuropathogènes » isolées suite à des avortements. Ceci montre la nécessité de mettre en place les mesures de prophylaxie quelles que soient les caractéristiques génotypiques des souches d'HVE 1 isolées. Le génotypage de la souche apporte une information sur la notion de risque qui est accru en présence de la souche dite « neuropathogène ».

L'objet de la présente étude est de décrire l'épidémie de MHVE qui a sévit dans le nord de la France en Juillet 2009 en présentant les investigations cliniques et l'intérêt d'une réponse rapide du laboratoire.

1. Matériels et méthodes

L'épisode concerne un centre équestre qui héberge 66 chevaux et 7 ont présenté des symptômes neurologiques. Une graduation des différents symptômes a été établie selon le score établi par Goerhing *et al.* (2009). Des analyses virologiques et de biologie moléculaire ont été réalisées sur des prélèvements sanguins (tubes EDTA) et des écouvillons nasaux. Les analyses réalisées par PCR sont celles recommandées par Lunn *et al.* (2009) suite à la dernière réunion de consensus qui s'est déroulée aux USA. La détection est réalisée par un test de PCR quantitatif et le typage de la souche par un test SNP-PCR (Pronost *et al.*, 2010). Un cheval a été autopsié et les différentes recherches réalisées sur l'ensemble des organes (différents tissus nerveux, foie, poumon, ganglion trijumeau). La recherche par culture cellulaire a été également réalisée sur l'ensemble des prélèvements parvenus au laboratoire.

2. Matériels et méthodes

2.1. Investigations cliniques

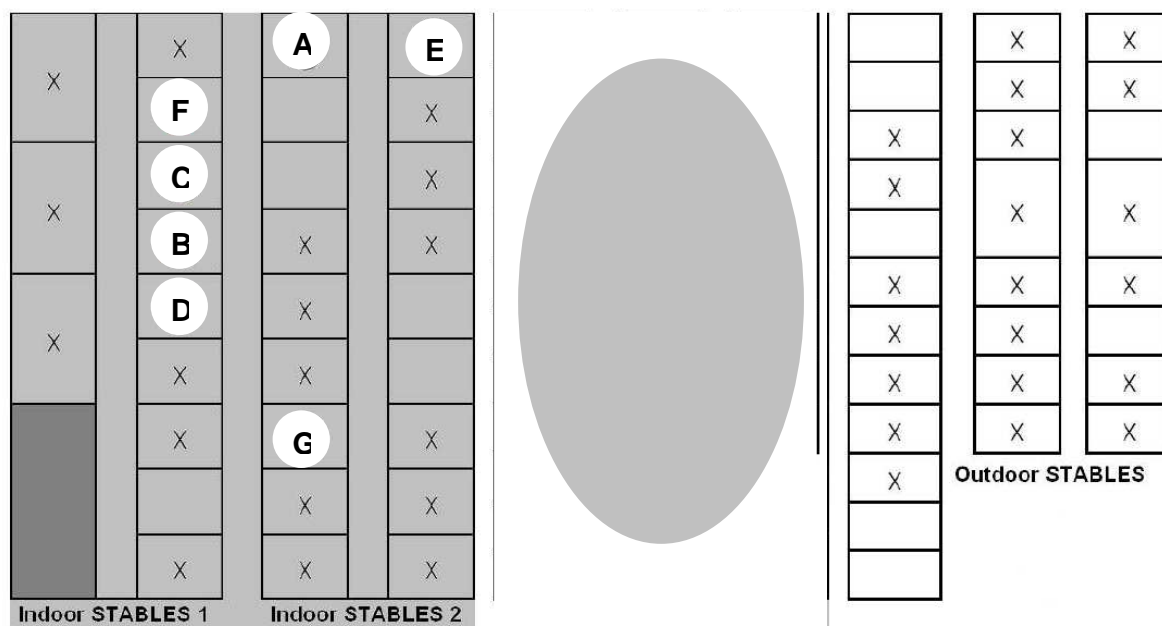
Les 7 cas se sont déclarés entre le 14 et le 28 juillet 2009 chez des chevaux âgés de 12 à 22 ans. Le vétérinaire a été appelé le matin du 14 Juillet pour le cheval A qui présentait des signes respiratoires (température > 38,5°C et jetage nasal) et a été de nouveau appelé en soirée pour le cheval B qui présentait des signes d'ataxie. Ces 2 chevaux ont été mis à l'isolement. Le 15 Juillet le vétérinaire est appelé de nouveau pour le cheval B et a dû pratiquer une euthanasie au vu du tableau clinique. Le 16 juillet, le cheval A présente à son tour des signes neurologiques (incontinence urinaire, ataxie). Le même jour, un troisième cheval (Cheval C) a présenté de la température. Ce cheval est isolé à son tour et il est décidé de mettre en place des mesures de quarantaine pour l'ensemble du centre équestre. Les mesures sanitaires mises en place avec présence de pédiluves, de matériels jetables affectés aux différents animaux sont accompagnées d'un effort d'information et de formation du personnel. Les premiers prélèvements biologique pour analyses sont réalisés le 17 Juillet sur les chevaux A et C. L'autorisation ne sera pas obtenue pour pratiquer l'autopsie sur le cheval B. Au total se sont 7 chevaux, tous confinés dans les écuries 1 et 2 (figure I) qui seront touchés et présenteront les mêmes signes cliniques: de la fièvre suivi 48 heures après d'ataxie pour l'ensemble des chevaux atteints et de l'incontinence mais également du jetage et de la toux pour 5 des 7 chevaux.

Figure I : Plan du centre équestre. Les lettres (A-G) représentent les chevaux infectés par HVE 1.

X représente les chevaux ne présentant aucun symptôme

Figure I: Equine barn floor plan of the riding school.

Letters (A-G) represent the EHV-1 infected horse; X represent horses without any symptom.



2.2. Investigations virologiques

Les 6 chevaux analysés ont donné des signaux positifs pour HVE1 après analyse PCR soit sur le sang, soit sur écouvillon nasal. Cinq chevaux ont dû être euthanasiés et les deux autres ont récupéré respectivement après 7 et 16 semaines. Les lésions observées sur l'animal autopsié (Cheval E) étaient caractéristiques des formes de MHVE et l'ensemble des tissus analysés à l'exception du cerveau étaient positifs après PCR. Le virus a pu être isolé par culture cellulaire sur les prélèvements respiratoires et le génotypage de la souche à partir des prélèvements des 6 chevaux a montré qu'il s'agissait de la souche « neuropathogène ». Les premières mesures d'isolement prises dès le début des symptômes et le maintien de la quarantaine mise en place dès l'obtention des premiers résultats de laboratoire ont permis de contenir l'épizootie. Aucun autre cas n'a été détecté après le 28 juillet et l'ensemble des mesures ont été levées le 3 septembre. Si l'on considère le taux de mortalité comme un critère de gravité de l'épizootie, cet épisode est l'un des plus importants décrit ces dix dernières années.

3. Discussion

La gestion de l'épisode a confirmé les recommandations de la réunion de consensus (Lunn *et al.*, 2009) expliquant que les moyens de lutte les plus efficaces étaient de contenir et d'éliminer le virus à son « point d'origine » par des mesures d'isolement, de traitement, de quarantaine et des tests biologiques ciblés afin d'assurer toute dissémination.

3.1. Prophylaxie sanitaire

Favoriser la séparation des animaux et leur éviter tout stress reste une des mesures les plus efficaces mais elle s'avère difficile à mettre en œuvre face aux contraintes économiques (densité et très fort brassage de la population équine, fort niveau de stress dans l'environnement des courses, des centres d'entraînement ou encore des zones d'embarquement pour chevaux).

L'isolement des animaux se traduit par le fait d'éviter un contact « nez à nez », de séparer la nourriture, l'eau et les divers équipements. Une attention particulière doit-être apportée à l'élimination du fœtus et des annexes ainsi qu'à la désinfection du matériel et du box suite à un avortement à HVE 1. Une gestion du cheptel par lots physiquement indépendants (séparation des yearlings et des juments gestantes du reste du troupeau) a été suggérée mais reste difficiles à mettre en œuvre pour la plupart des élevages qui sont de petites tailles.

Le contrôle des animaux à l'introduction afin d'éviter de faire entrer dans l'élevage un animal infecté fait partie des recommandations. Ceci concerne également les animaux ayant été sortis du groupe pour saillie, hospitalisation, concours,... L'outil PCR sur écouvillon nasal est un réel progrès dans ces différentes étapes de contrôle.

3.2. Prophylaxie médicale

3.2.1 Vaccination

La vaccination présente un intérêt pour lutter contre les infections à HVE 1 mais ses effets sont parfois insuffisants en particulier pour lutter contre les formes nerveuses de la maladie. Des épisodes de myéloencéphalopathies ont été rapportés sur des animaux régulièrement vaccinés au moyen de vaccin inactivés. Dans le cas de l'épisode du Nord, 4 chevaux atteints sur les 7 avaient fait l'objet d'un programme de vaccination bien suivi. De nouvelles générations de vaccins sont à l'étude pour mettre au point une génération de vaccins encore plus performants.

3.2.2 Gestion des foyers en cas d'infection

Lorsqu'un cas est détecté dans un élevage ou sur un champ de course il est essentiel d'éviter la propagation du virus. Les moyens de lutte les plus efficaces restent de contenir et d'éliminer le virus à son « point d'origine » par des mesures d'isolement, de traitement, de quarantaine, et de tests biologiques ciblés afin d'éviter toute dissémination.

Les 3 éléments suivants sont des facteurs de succès : 1/la précocité du diagnostic du premier cas. 2/ l'interruption rapide de la chaîne de transmission du virus. 3/ la réponse au traitement.

1/ *La précocité du diagnostic du premier cas* a pu être illustrée lors de l'épisode du Nord où un échange du praticien avec deux laboratoires experts a permis une rapide suspicion de MHVE suivi d'une confirmation rapide par PCR, puis par culture et immunohistochimie.

2/ *L'interruption de la chaîne de transmission* : Il s'agit d'éviter la dissémination du virus à partir des animaux malades ou à partir du fœtus et des annexes fœtales lors d'un avortement à HVE 1 par le personnel (mains, vêtements,...) ou le matériel contaminé (litière, licol, instruments vétérinaires,..).

Là encore, il n'y a pas de règle mais plusieurs façons d'opérer avec une constante ; l'augmentation de la surveillance. Il est possible de tester l'ensemble des animaux potentiellement en contact avec l'animal malade pour déterminer l'étendue de l'exposition et évaluer le risque épidémique. Une autre approche est d'augmenter la surveillance en mesurant la température corporelle et l'apparition des signes cliniques mais de tester uniquement les animaux présentant de la fièvre et des signes cliniques compatibles avec la MHVE. Cette approche a été particulièrement efficiente lors de la crise du Nord.

La quarantaine est une des options souvent mise en place pour lutter contre la dissémination de la maladie. Des enquêtes réalisées sur les quarantaines qui ont suivi les cas décelées aux Etats-Unis ont montré qu'il n'y avait pas un mode de gestion de la quarantaine mais plusieurs modèles. Un des objectifs des études futures sera de tenter d'harmoniser ces mesures tout en conciliant maintien de l'activité économique et des courses en particulier et management du risque de dissémination de la maladie. A

titre d'exemple on peut citer des quarantaines sur des hippodromes qui ont été limitées aux barns affectés le temps de contenir la maladie alors que d'autres ont concerné l'ensemble du champ de course. Le nombre de chevaux concernés variait également de la vingtaine au millier de chevaux. Dans certains cas des transports restreints ont été autorisés pour les chevaux sains entre plusieurs champs de courses pour maintenir l'activité économique. Un autre élément majeur est la durée de la quarantaine qui a varié dans ces exemples de 14 jours à 3 mois et là encore il n'existe pas de consensus même si les experts s'accordent à dire qu'attendre 21 jours après la disparition des signes cliniques et l'obtention de tests négatifs permet de lever raisonnablement la quarantaine. Dans la majorité des cas deux tests PCR négatifs réalisés à partir de sang total et d'écouvillons nasaux à deux jours d'intervalle sont requis pour lever la quarantaine.

3/ *Traitement par les antiviraux* : Des antiviraux comme l'acyclovir®, la famciclovir® et le penciclovir® ont été utilisés à titre expérimental mais leur efficacité doit encore être démontrée chez l'animal. Les antiviraux constitueront certainement un nouveau mode de lutte contre ce type de maladie dans le futur mais leur coût reste aujourd'hui un obstacle majeur.

Un traitement antibiotique est souvent administré pour éviter les surinfections et un traitement préventif vis-à-vis des cystites est recommandé. L'emploi de corticoïdes est sujet à interrogation au cas par cas, car ces molécules sont aussi à forte dose, de puissants réactivateurs de virus latent, dont les herpesvirus !

La rhinopneumonie sous sa forme nerveuse est considérée aujourd'hui comme une maladie émergente. L'augmentation des cas ces dernières années a surtout été constatée aux Etats Unis et la question se pose aujourd'hui d'une réelle d'augmentation du nombre de foyers en France. On observe qu'avant 2009, les cas recensés étaient sporadiques et n'avaient pas conduit à l'euthanasie de l'animal. Depuis 2009, ce sont 3 épisodes importants qui ont été recensés. Si celui du Nord demeure le plus important par le nombre de cas d'animaux ayant présenté des symptômes de HMVE et la mortalité observée, les deux autres épisodes rapportés dans l'Orne et dans l'Oise ont touché un grand nombre de chevaux soit par des formes respiratoires associées soit par des avortements apparus dans les semaines qui ont suivi. La souche neuropathogène a été incriminée dans l'ensemble des cas ayant conduit à l'euthanasie des animaux mais une souche non neuropathogène a également pu être identifiée dans deux des trois haras et entraîner des formes respiratoires et abortives. Cette co-circulation des deux types de virus au sein d'un même élevage a également été décrite par des équipes américaines. Il semble que la co-infection d'un même animal par plusieurs souches soit également possible même si ceci n'a pas été clairement démontré pour HVE 1 contrairement à HVE 2 (Brault *et al.*, 2009).

Parmi les challenges de demain face à cette maladie on peut évoquer l'évolution des vaccins ou la disponibilité d'antiviraux. Mais une question essentielle demeure, qui justifie en grande partie les travaux de recherche poursuivis sur cette pathologie : comment distinguer les chevaux à risques pour l'HMVE de ceux qui vont uniquement présenter de la fièvre et ne développer aucun signe clinique malgré l'exposition au virus ?

Remerciements

Les auteurs remercient le COST qui soutient depuis 3 années un programme de recherche sur les myéloencéphalite à herpèsvirus 1 et a participé ainsi au développement des outils de biologie moléculaire nécessaires au typage du virus.

Références

Brault SA, Bird BH, Balasuriya UB, Maclachlan NJ. Genetic heterogeneity and variation in viral load during equid herpesvirus-2 infection of foals. *Vet Microbiol.* 2011 Jan 27;147(3-4):253-61.

Crabb B.S., Studdert M.J. Equine herpesviruses 4 (equine rhinopneumonitis virus) and 1 (equine abortion virus). *Adv. Virus Res.*, 1995, 45, 153-190.

Goehring, L.S., Van, M.C., Berendsen, M., Cullinane, A., DE Groot, R.J., Rottier, P.J., Wesselingh, J.J., Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan M.M. Experimental infection with neuropathogenic equid herpesvirus type 1 (EHV-1) in adult horses. *Vet J.*, 2010, 186, 180-7.

Lunn D.P., Davis-Poynter N., Flaminio M.J., Horohov D.W., Osterrieder K., Pusterla N., Townsend H.G. Equine herpesvirus-1 consensus statement. *J. Vet. Intern. Med.*, 2009. 23, 450-461.

Nugent J., Birch-Machin I., Smith K.C., Mumford J.A., Swann Z., Newton J.R., Bowden R.J., Allen G.P., Davis-Poynter N. Analysis of equid herpesvirus 1 strain variation reveals a point mutation of the

DNA polymerase strongly associated with neuropathogenic versus nonneuropathogenic disease outbreaks. *J Virol.*, 2006, 80, 4047-4060.

Pronost S, Léon A, Legrand L, Fortier C, Mischczak F, Freymuth F, Fortier G. Neuropathogenic and non-neuropathogenic variants of equine herpesvirus 1 in France. *Vet Microbiol.* 2010a Oct 26;145(3-4):329-33.

Pronost S, Cook RF, Fortier G, Timoney PJ, Balasuriya UB Relationship between equine herpesvirus-1 myeloencephalopathy and viral genotype. *Equine Vet J.* 2010b Nov;42(8):672-4.

Pusterla N., Mapes S. Evaluation of an air tester for the sampling of aerosolised equineherpesvirus type 1. *Vet. Rec.*, 2008, 163(10), 306-8.