

Epidémiologie et maladies infectieuses des équidés

L'augmentation considérable des échanges internationaux d'équidés depuis ces vingt dernières années constitue un risque important d'introduction d'agents infectieux (les épizooties grippales en sont un exemple régulier). Les modifications des différents écosystèmes planétaires observés depuis une dizaine d'années sont, sans doute, l'une des causes de la ré-émergence de certaines maladies infectieuses : l'épizootie à virus West Nile en 2000 a clairement illustré ce phénomène chez le cheval. Enfin, la plasticité, notamment génétique, des agents infectieux contribue aussi à l'émergence de nouvelles maladies tant chez l'homme que chez l'animal. Pour surveiller, contrôler, prévenir et combattre ces maladies infectieuses, il est indispensable que des activités de recherche fondamentale ou appliquée (en bactériologie, virologie, parasitologie et épidémiologie) soient encouragées et développées.

Parmi les différents champs thématiques abordés et soutenus par le Comité d'orientation scientifique et technique (COST) des Haras nationaux, la pathologie, et plus particulièrement le domaine des maladies infectieuses, constitue un sujet d'intérêt majeur pour la filière équine de par les conséquences économiques et /ou internationales que certaines de ces maladies peuvent engendrer.

Depuis ces dernières années, les travaux de recherche soutenus financièrement par les Haras nationaux ont plus particulièrement concerné des infections virales (grippe, West Nile, virus herpès, Borna) ou bactériennes (rhodococcose, métrite contagieuse). Ainsi, en 2006, ont été spécifiquement financés trois projets relatifs respectivement :

- à l'infection par le virus du Nil occidental (ou virus West Nile) (projet 1),
- à la rhodococcose (projet 2) et
- un dernier concernant l'étude des performances des réseaux d'épidémiologie-surveillance des maladies infectieuses des équidés (projet 3).

Il est à noter que le sujet 1 (West Nile) est traité par une équipe de l'unité mixte de recherche Afssa / INRA / école vétérinaire d'Alfort et que le sujet 3 (épidémiologie-surveillance) est abordé par une équipe de l'école vétérinaire de Lyon et de l'INRA.

Les thèmes de recherche dans le domaine des maladies infectieuses des équidés, qui font actuellement l'objet de travaux, peuvent être regroupés en deux parties : épidémiologie et détection des infections virales, d'une part, et infections bactériennes, d'autre part.

ÉPIDÉMIOLOGIE ET DÉTECTION DES INFECTIONS VIRALES

Le virus West Nile

Le virus du Nil occidental, flavivirus transmis par des moustiques, est intensément étudié depuis quelques années, en raison des épidémies/épizooties qu'il a causées

depuis dix ans, en particulier sur le pourtour méditerranéen et sur le territoire nord-américain où sa dissémination a été fulgurante. Ce virus circule principalement chez les oiseaux ; les espèces migratrices jouent un rôle dans la dissémination du virus tandis que les espèces autochtones participent davantage à l'amplification du cycle viral. De nombreuses espèces de mammifères ainsi que des amphibiens et des reptiles peuvent également être infectées. Ce virus provoque parfois des maladies mortelles chez les hommes et les chevaux. C'est pourquoi une surveillance active et/ou passive est menée à plusieurs niveaux du cycle de transmission en France et aux Etats-Unis : les moustiques, les oiseaux, les équidés et l'homme. Cette surveillance vise à détecter précocement toute circulation virale et prendre ainsi des mesures appropriées d'information, de prévention et de lutte. L'épidémiologie de cette maladie étant encore très partiellement connue, la plupart des flambées épizootiques restent imprévisibles et difficiles à contrôler.

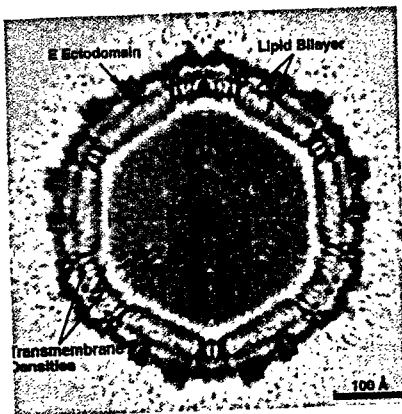
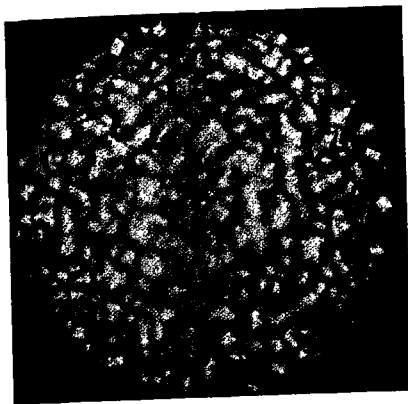
Ces dix dernières années ont vu se développer plusieurs épidémies/épizooties en Europe et sur le pourtour du bassin méditerranéen ainsi qu'en Amérique du Nord, avec une proportion de formes sévères plus importante qu'antérieurement, en particulier des formes nerveuses. Plusieurs épizooties touchant uniquement des chevaux ont été décrites au Maroc en 1996, en Italie en 1998 et en France (Camargue) en 2000 et 2004 (1, 2, 3, 4).

En 2003, cette fois dans le département du Var (Fréjus et environs), 7 cas cliniques humains (aucun décès) et quatre cas neurologiques équins (dont 1 décès) ont été rapportés. Ces 7 cas constituent la première description de cas cliniques chez l'homme depuis 1964.

Le virus WN est responsable d'une épidémie/épizootie majeure depuis 1999 aux Etats-Unis, causant plus de 18 000 cas humains (dont environ 6 000 cas de formes neuro-méningées et 750 morts) et plus de 20 000 cas équins (dont environ 10 000 décès) entre 1999 et 2005 (données du CDC américain).

Des études sérologiques menées en juillet 2002, janvier 2003, juillet 2003 et août 2004 sur la quasi-totalité des chevaux résidant en Guadeloupe ont révélé la présence d'IgG spécifiques du virus WN chez respectivement 2,7%, 50%, 20,6% et 16,2% d'entre eux (5). Etant donné l'augmentation significative des taux de séroprévalence entre juillet 2002 et janvier 2003, on peut supposer que le virus WN est apparu dans cet intervalle de temps en Guadeloupe, par le biais d'oiseaux migrateurs provenant du continent américain, sans qu'aucun cas clinique n'ait été confirmé ni chez les chevaux, ni chez les oiseaux, ni chez l'homme.

Le support du diagnostic de laboratoire est indispensable pour confirmer l'infection par le virus WN à cause de la symptomatologie non spécifique et similaire à celle observée dans d'autres infections ou affections équines : encéphalite à virus herpès équin 1, maladie de borna, rage, leuco-encéphalomalacie, encéphalopathie



d'origine hépatique, syndrome de Wobbler... La confirmation de l'infection peut-être effectuée par l'identification directe du virus ou de son génome ou de façon indirecte, par titrage des anticorps.

La recherche directe nécessite non seulement un laboratoire spécialisé et de confinement de niveau 3 et, de plus, doit être effectuée au moment opportun par rapport à la date d'infection et sur des prélèvements biologiques de qualité parfaite. La recherche sérologique permet la mise en évidence d'anticorps IgM et IgG spécifiques par tests ELISA. Les anticorps IgM (anticorps précoces) apparaissent en 7 à 8 jours après infection et se maintiennent pendant 3 mois environ. Les anticorps IgG apparaissent quelques jours après les IgM mais persistent pendant plusieurs mois, voire plusieurs années.

En France, les analyses sérologiques de cette infection chez le cheval sont réalisées depuis 2004 à la fois par le laboratoire national de référence (Afssa-Alfort) et par 3 laboratoires vétérinaires départementaux (LVD). Actuellement, les seuls réactifs (antigènes, anticorps totaux ou monoclonaux) commercialisés le sont aux Etats-Unis, à des prix prohibitifs.

En France, les réactifs utilisés sont actuellement directement issus de cultures de cellules infectées par le virus West Nile, préparés au centre national de référence de l'Institut Pasteur en médecine humaine. Ces réactifs sont, non seulement difficiles à produire de manière standardisée et en grandes quantités, mais en plus, ils peuvent présenter un risque infectieux résiduel pour les manipulateurs. Ces extraits cellulaires pourraient être remplacés par des protéines virales recombinantes, non infectieuses, produites par des systèmes d'expression qui permettront d'obtenir des protéines dont les propriétés antigéniques seront identiques à celles des protéines virales natives.

La protéine de surface la plus abondante à la surface du virion est la protéine E qui est aussi la protéine la plus immunogène. Son intérêt comme antigène pour le diagnostic d'une infection n'est plus à démontrer. La protéine E est divisée en 3 domaines distincts (I à III). Le domaine III, bien que peu immunogène, est constitué d'une séquence spécifique de chaque flavivirus. L'utilisation d'un test sérologique basé sur cet antigène devrait permettre de détecter spécifiquement les infections liées au virus West Nile de celles des autres flavivirus. L'objectif principal du projet en cours à l'Afssa-Alfort est de développer des tests ELISA performants à partir de protéines virales (E, domaine III de la E, NS1) exprimées en cellules de drosophile et de disposer d'antigènes non infectieux et en grande quantité.

Grippe des équidés

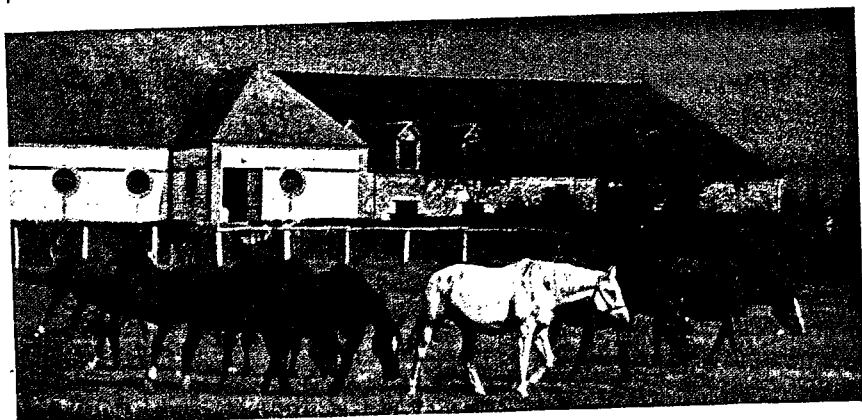
La grippe des équidés est probablement la pathologie des voies respiratoires la plus pénalisante sur le plan économique pour l'industrie du cheval (courses, com-

pétitions, ventes, ...). En France, le réseau syndrome grippal (créé au sein du RESPE depuis 1999) a comptabilisé 707 déclarations de cas de syndromes respiratoires aigus depuis sa création et 84 foyers de grippe confirmés.

Deux sous-types de virus grippaux ont été identifiés chez le cheval : A/equine/Prague/1/56 (H7N7) et A/equine/Miami/1/63 (H3N8). Depuis 1979, aucun foyer dû au virus H7N7 n'a été rapporté chez le cheval, même si des traces sérologiques indiquent que ce virus continue de circuler sous forme sub-clinique.

En 1963, une épidémie majeure aux USA a été décrite et a permis l'isolement et l'identification du premier virus H3N8 (Miami/63), prototype du sous-type H3. Ensuite, à la faveur des mouvements internationaux de chevaux, ce virus a largement diffusé en Europe à partir de 1964.

De nombreuses souches ont été isolées et tous les foyers répertoriés ont désormais pour origine des virus de sous-type H3. L'analyse phylogénétique des isolats indique que les virus équins H3N8 ont évolué en un lignage, puis se sont séparés en 2 lignages distincts à partir de 1987 : un lignage européen et un lignage américain. Ces données génétiques renforcent la nécessité d'une surveillance internationale des virus équins qui circulent dans les pays à partir desquels s'effectuent l'essentiel des mouvements de chevaux (vente, courses, compétition, ...). De même, les axes stratégiques, quant au choix des souches introduites dans les vaccins, s'appuient sur des données phylogénétiques : nécessité d'introduire une souche du groupe Europe et une souche du groupe Amérique, abandon de la souche ancienne Miami/63, maintien de



▷ la souche A/equine/1/Prague/56 H7N7...
Le projet qui est actuellement mené à l'Afssa-Alfort consiste à effectuer une étude phylogénique complète de l'ensemble des souches françaises présentes dans la souchothèque du laboratoire depuis 1965 (35 souches) ainsi que des nouvelles souches isolées en 2005. L'analyse phylogénique des souches s'appuiera, non seulement sur la comparaison des séquences du gène de l'hémagglutinine, mais aussi sur d'autres régions géniques, en particulier la neuraminidase et éventuellement les gènes des protéines non structurales du complexe de réplication/transcription (PBI, PB2 et PA). L'étude de cette région génomique a, en effet, déjà montré son intérêt à la fois pour la compréhension des relations phylogéniques des souches équinnes entre elles et avec des souches influenza issues d'autres espèces animales.

Maladie de Borna

La maladie de Borna a été décrite pour la première fois à la fin du XVIII^e siècle dans le sud de l'Allemagne. Elle doit son nom à la ville Borna en Saxe où elle décima une centaine de chevaux de cavalerie en 1895. L'agent étiologique de la maladie de Borna a été récemment caractérisé. Le virus de la maladie de Borna (BDV) est un virus à ARN négatif, simple brin, enveloppé et non segmenté et classifié dans la nouvelle famille des Bornaviridae.

Le BDV est un virus neurotrope non cytolitique, se répliquant à des niveaux très faibles et persistant dans le système nerveux central. Récemment, un nouveau génotype issu d'un cheval autrichien a fait l'exception à cette règle puisqu'il présentait une variabilité génétique de 15% avec les autres souches de BDV.

La maladie de Borna a été décrite à l'origine uniquement chez les chevaux et moutons, mais d'autres espèces animales à sang chaud peuvent également être infectées, tels que les bovins, chèvres, lapins, chiens, chats et une variété d'autres espèces comme les autruches, chevreuils, singes, alpagas, lamas et récemment les lynx et renards.

La prévalence de la maladie de Borna est faible mais la fréquence du portage asymptomatique semble élevé (de l'ordre de 10%). De plus, des marqueurs



© SOPHIE LENOIRE

spécifiques du BDV ont été détectés chez l'homme ces 10 dernières années, en particulier chez les patients psychiatriques. Cependant, l'aspect zoonotique de la maladie de Borna est encore extrêmement controversé.

En France, les travaux de recherche menés sur cette maladie concernent les aspects neuro-physiopathologiques de l'infection (unité du Dr Gonzalez-Dunia, INSERM-CNRS, Toulouse) et le développement de méthodes d'identification et de caractérisation du virus (Afssa-Alfort). Les travaux de l'Afssa-Alfort portent essentiellement sur l'amélioration des outils d'identification de l'agent pathogène (diagnostic sérologique, moléculaires et virologique) et leur application à l'épidémiologie de cette infection.

Réseau d'épidémiologie

Les réseaux d'épidémiologie qui se sont développés ces dernières années ont pour objectifs de disposer d'informations les plus précises possibles sur l'incidence et la nature des maladies animales et aussi de détecter le plus rapidement possible tout phénomène pathologique "anormal". La performance de ces réseaux est très variable : choix et nature des maladies surveillées, structure et densité du réseau, motivation des

acteurs... Ainsi, dans le domaine des maladies infectieuses des équidés, seront évaluées les performances d'un réseau d'épidémiologie-surveillance plus particulièrement localisé dans le sud de la France et animé par le Docteur Agnès Leblond de l'école vétérinaire de Lyon/INRA.

INFECTIONS BACTÉRIENNES

Les Haras nationaux apportent aussi un soutien financier aux équipes impliquées dans le domaine de la bactériologie équine (équipes de l'Afssa Dozulé, en collaboration avec le laboratoire départemental Franck Duncombe, Calvados). Métrite contagieuse équine et rhodococose équine, deux maladies bactériennes étudiées au sein du service de microbiologie du laboratoire d'études et de recherches en pathologie équine (AFSSA site de Dozulé).

La métrite contagieuse équine (MCE) est une maladie infectieuse et contagieuse des équidés, transmise par voie vénérienne, due à une bactérie à Gram négatif : *Taylorella equigenitalis*. Décrite pour la première fois en 1977 en Grande-Bretagne, la MCE sévit dans toutes les régions du monde (1^{er} cas en France en 1978).

Chez les étalons, l'infection ne se manifeste que par un portage inapparent alors que chez les juments, les expressions cliniques sont variables, allant du portage inapparent à une métrite clinique sévère pouvant entraîner une diminution de la fertilité, voire des résorptions embryonnaires. Médicalement bénigne, la MCE doit son importance à sa contagiosité, à la baisse de la fertilité qu'elle peut provoquer ainsi qu'aux pertes économiques liées à l'obligation de retirer les équidés infectés de la monte.

En conséquence de quoi, elle devient maladie à déclaration obligatoire en 1988, puis maladie légalement réputée contagieuse en 1991. Ces mesures de lutte drastiques ayant permis une nette diminution du nombre de cas entre 1992 et 2003, il est proposé de reclasser cette maladie en maladie à déclaration obligatoire (MDO). Cette proposition est effective avec la parution du décret n°2006-179 du 17 février 2006. Dans ce contexte, les perspectives de l'Afssa Dozulé, en tant que laboratoire national de référence, sont prioritairement tournées vers :

- le développement, l'optimisation et/ou la validation d'outils de diagnostic. L'équipe de l'Afssa Dozulé vient de développer, en partenariat avec le laboratoire départemental Frank Duncombe (conseil général du Calvados), une PCR spécifique *T. equigenitalis* (6). Ce travail sera poursuivi dans cette voie en adaptant ce test en PCR temps réel. La présence d'un témoin interne serait à envisager.
- le développement et l'application d'outils d'épidémiologie moléculaire. Il existe de nombreuses méthodes pour évaluer la diversité génétique existante entre plusieurs isolats bactériens. La difficulté réside dans le choix de méthodes robustes donnant, de plus, des résultats inter-laboratoires comparables.
- la surveillance de l'antibiorésistance des souches *T. equigenitalis* isolées par les différents laboratoires français agréés pour le diagnostic de la maladie.

La rhodococcose équine (surnommée rhodococcose du poulain), est une maladie infectieuse et mortelle principalement rencontrée chez les jeunes poulains âgés de moins de six mois. Elle est due à une bactérie à Gram positif, *Rhodococcus equi*, présente dans le sol et dans les déjections animales. *R. equi* est

pathogène pour de nombreuses autres espèces animales (porcs, bovins, chèvres, chats, chiens, daims, lapins, moutons, opossums, pigeons, poules,...) et pour l'homme.

Chez le poulain, les formes cliniques de cette infection sont variées mais se traduisent généralement par des pneumonies aiguës mortelles en quelques jours, des pneumonies chroniques suppuratives de traitement difficile souvent mortelles, des abcès des nœuds lymphatiques du tractus digestif abdominal, des entérites avec diarrhées souvent mortelles, mais aussi par des infections ostéo-articulaires, des mortalités néonatales et, plus rarement, par des avortements chez la jument. En Normandie, cette maladie représente la cause majeure de mortalité bactérienne des jeunes poulains.

Aujourd'hui, les perspectives de l'Afssa Dozulé sont principalement focalisées sur :

- le développement et/ou l'optimisation d'outils de prophylaxie médicale. Le laboratoire a mis au point un vaccin à administrer aux juments gravides pour permettre le transfert passif d'anticorps anti-*Rhodococcus equi* au poulain et ainsi le protéger de la rhodococcose, la durée de la protection étant dépendante de la durée de vie de ces anticorps maternels (7). Actuellement, le laboratoire de l'Afssa Dozulé travaille sur le développement d'un second vaccin qui devra être capable de prendre le relais d'une vaccination « jument gravide » et ainsi protéger le poulain des formes plus tardives de rhodococcoses.
- le développement et l'application d'outils d'épidémiologie moléculaire ciblés sur l'étude de la biodiversité des plasmides de virulence des souches de *R. equi* en Basse-Normandie.
- l'optimisation d'outils de diagnostic existants tel que la technique sérologique de type ELISA, et ceci en partenariat avec le laboratoire départemental Frank Duncombe.

CONCLUSIONS

Ce rapide aperçu des sujets, actuellement soutenus par les Haras nationaux, l'Afssa et l'INRA, illustre les principaux domaines de la recherche concernant des maladies infectieuses des équidés qui sont ou seront développés dans les prochaines années. Des résultats prometteurs sont, d'ores et déjà, disponibles, ont été valorisés

par des publications scientifiques et vont ou font déjà l'objet de sujets de masters ou de thèses d'université. Cependant, les structures de recherche en France dans le domaine des maladies infectieuses des équidés restent fragiles et doivent bénéficier de la part des tutelles d'une attention particulière qui devraient leur permettre de se fédérer et de collaborer tout en tenant compte des spécificités et des compétences de chacune. ■

Stéphan ZIENTARA

UMR 1161 Virologie Afssa/INRA/ENVA
23 avenue du Général de Gaulle 94703 Maisons-Alfort

Remerciements

L'auteur tient à remercier pour leurs contributions, leurs conseils et leur lecture critique les collègues suivants : Sandrine Petry et Julien Cauchard de l'Afssa Dozulé et Agnès Leblond, ENVL/INRA.

Bibliographie :

- 1 B. MURGUE, S. MURRI, S. ZIENTARA, J. LABIE, B. DURAND, J. P. DURAND AND H. ZELLER. 2001. West Nile in France in 2000 : the return 38 years later. *Emerging infectious diseases*, 7(4), 692-696.
- 2 B. DURAND, V. CHEVALIER, R. POUILLOT, J. LABIE, I. MARENGA, B. MURGUE, H. ZELLER, S. ZIENTARA. 2002. West Nile outbreak in horses in Southern France : results of a serosurvey. *Emerging Infectious diseases*, 8(8), 777-782.
- 3 RENE QUIRIN, MICHEL SALAS, STEPHAN ZIENTARA, HERVE ZELLER, JACQUES LABIE, SEVERINE MURRI, THIERRY LEFRANÇOIS, MARTIAL PETITCLERC and DOMINIQUE MARTINEZ. 2004. First serological occurrence of West Nile virus in Guadeloupe (French West Indies). *Emerging Infectious diseases*, 10(4), 706-708.
- 4 G. DAUPHIN, S. ZIENTARA, H. ZELLER, B. MURGUE. 2004. West Nile : worldwide current situation in animals and humans. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 27(5):343-355.
- 5 THIERRY LEFRANÇOIS, BRADLEY BLIVITCH, JENNIFER PRADEL, SOPHIE MOLIA, NATHALIE VACHÉRY, GUILLAUME PALLAVICINI, STEPHAN ZIENTARA, MARTIAL PETITCLERC, DOMINIQUE MARTINEZ. 2005. West Nile virus surveillance, Guadeloupe, 2003-2004. *Emerging Infectious diseases*, 11(7), 1100-3.
- 6 DUQUESNE F., PRONOST S., LAUGIER C. and PETRY S. (2006) Identification of *Taylorella equigenitalis* responsible for contagious equine metritis in equine genital swabs by direct polymerase chain reaction. *Res. Vet. Sci.* (article in press).
- 7 CAUCHARD J., SEVIN S., BALLEST J.-J. and TAOUJ S. (2004) Foal IgG and opsonizing anti-*Rhodococcus equi* antibodies after immunization of pregnant mares with a protective *YapA* candidate vaccine. *Vet. Microbiol.* 104, 73-81.