

Rétrospective sur l'épizootie d'artérite virale équine de l'été 2007 en France

RÉSUMÉ

Contrairement aux souches isolées en France jusqu'à présent, qui n'avaient jamais conduit à l'apparition d'une épizootie d'artérite virale équine (AVE), la souche du virus de l'artérite virale (VAE) isolée en Normandie en juin 2007 a entraîné l'apparition de plusieurs foyers. Ce sont au total trente foyers qui ont été recensés. Les troubles observés allaient d'un syndrome fébrile à des avortements et à la mortalité de poulains. Des enquêtes épidémiologiques ont été entreprises sur le terrain afin de retracer l'évolution de cet épisode et d'essayer d'en déterminer l'origine. La détection précoce des chevaux suspects (alerte clinique déclenchée par le praticien), l'isolement des animaux malades ainsi que l'envoi de prélèvements pour confirmer la présence du virus par des analyses biologiques ont permis de limiter la crise et de gérer cette forme virulente et particulièrement contagieuse de la maladie.

Mots clés: Artérite virale équine, Virus, Épidémiologie, Épizootie, Normandie

INTRODUCTION

Les virus de l'artérite virale équine isolés ces dernières années en France sur des spermes d'étalons ne présentaient pas ou peu de pouvoir pathogène. D'un point de vue phylogénétique, ils se plaçaient de façon éloignée par rapport à la souche KY84, souche réputée très pathogène depuis son isolement lors de l'épisode abortif majeur survenu aux États-Unis d'Amérique en 1984. Si la situation épidémiologique était relativement bien décrite et la surveillance

sérologique structurée chez le Pur-Sang et pour la semence exportée d'autres races, la grande majorité des autres Stud-Books n'avaient pas mis en place de protocoles standardisés de suivi. D'autre part, bien que l'artérite virale équine ait vu sa situation évoluer du statut de maladie non réglementée à celui de Maladie à Déclaration Obligatoire (MDO) (arrêté ministériel du 29 juin 2006), ce changement ne s'accompagne pas de mesures de police sanitaire organisée par l'État. Le suivi et la prise de décision ont été reportés sur les organisations professionnelles. Au cours de l'été 2007, une épizootie d'artérite virale équine est survenue en Normandie. L'objectif de cet article est de rapporter les événements du point de vue du réseau d'épidémiologie-surveillance en pathologie équine (RESPE).

CHRONOLOGIE DE L'ÉPISODE 2007 (TABLEAU 1)

Mi-juin, un vétérinaire sentinelle normand du réseau d'épidémiologie-surveillance en pathologie équine (RESPE) réalise des prélèvements dans le cadre du sous réseau Syndrome Respiratoire Aigu dans un effectif de chevaux de selle confronté à un épisode fébrile aigu et très contagieux. Les recherches systématiques contre la grippe et la rhinopneumonie se révèlent négatives. Après discussion avec le laboratoire, il est décidé de mettre en place une recherche complémentaire contre l'artérite virale compte tenu des symptômes rencontrés.

La première détection du virus par des analyses biologiques a été faite le 25 juin 2007 au Laboratoire départemental Frank Duncombe

Tableau 1: Chronologie de l'épizootie 2007

Mi-juin: syndrome respiratoire aigu (SRA-RESPE) contagieux négatif en grippe et en rhinopneumonie
25 juin: diagnostic biologique définitif sur analyses complémentaires SRA et simultanément sur organes d'étalon mort avec orchite > Information client et DV concernés
26 juin: information DGAL
27 juin: isolement du virus en culture (< 2 J) > Premier message d'alerte RESPE
28 juin: typage de la souche > Suppression de l'épreuve d'élevage du Pin (réunion ADEP)
9 juillet: 1 ^{re} réunion des comités de suivi normand et national de l'artérite virale équine > Décision d'arrêt des épreuves d'élevage pour 1 mois > Suivi par les comités courant de juillet et août avec conseils de mesures
5 août: dernier cas clinique (séroconversions postérieures à cette date)
21 août: conseil d'allègement progressif des mesures > Limitation des zones géographiques > Reprise des concours d'élevage à partir du 01/09 sous la responsabilité des organisateurs
17 septembre: levée des dernières mesures – Fin « officielle » de l'épisode > 30 foyers déclarés (possible sous déclaration) > 5 départements touchés : Eure (9), Manche (6), Seine-Maritime (3), Orne (8), Calvados (4) > Sans doute plus de 200 chevaux touchés

(LDFD) par la mise en évidence concomitante du génome du VAE (signaux de RT-PCR positifs) sur les prélèvements respiratoires (écouvillons pharyngés) adressés par le vétérinaire sentinelle du RESPE, et sur les organes (testicules) d'un étalon percheron autopsié au Laboratoire d'études et de recherches en pathologie équine de l'Afssa (Dozulé). Compte tenu des symptômes observés associés parfois à la mortalité et des conditions de culture du virus *in vitro* (effet cytopathogène d'apparition rapide), il est possible d'affirmer qu'il s'agit d'une souche particulièrement virulente. Du fait du caractère réglementaire de cette maladie (MDO), les autorités sanitaires des départements concernés ainsi que la DGAL ont été averties ainsi que les vétérinaires traitants. La souche virale a été isolée par culture cellulaire 48 heures plus tard et typée génétiquement après séquençage le 28 juin 2007. Cette date marque aussi la première décision d'annulation de compétition d'élevage par les organismes socioprofessionnels. L'ensemble de la situation a ensuite été géré par un comité de suivi national et local respectivement créé à l'initiative des Haras Nationaux et du conseil des chevaux de Normandie, réunissant l'ensemble des intervenants de la filière équine. Le comité national s'est réuni pour une dernière fois le 17 septembre estimant que plus d'un mois s'était écoulé après le dernier cas clinique déclaré et que la crise était donc achevée. Ce comité a décidé de rester en veille, mobilisable en cas de besoin, se rangeant sous l'égide du RESPE en cours de refonte par l'AVEF, suite à l'épisode d'artérite virale équine, afin de mieux répondre encore à d'éventuelles crises sanitaires à venir.

SYMPTÔMES

Juments, poulains et étalons ont été touchés avec des symptômes variés déjà décrits dans la plupart des rapports internationaux mentionnant des épisodes cliniques d'artérite virale. Ainsi ont pu être observés des avortements et des naissances prématurées chez les poulinières. Chez les poulains, des cas mortels ont été observés chez des jeunes de moins d'une semaine nés prématurément et présentant œdèmes, hyperthermie et pneumonie. Ces poulains sont en général contaminés en fin de gestation *in utero* conduisant à la naissance d'animaux infectés. Les lésions anatomopathologiques

de type artérite nécrosante au niveau hépatique et pulmonaire, ainsi qu'une inflammation interstitielle des poumons et des reins ont pu être observées (D' Le Net, Laboratoire d'anatomie pathologique vétérinaire d'Amboise).

Chez les poulains plus âgés, des symptômes respiratoires modérés ont été notés ainsi que de l'hyperthermie marquée (jusqu'à 40,5 °C), des œdèmes du fourreau chez les jeunes mâles, et rétro ombilicaux chez les jeunes femelles, mais aussi des œdèmes des salières et des membres. Deux cas de mortalité ont été rapportés dans cette classe d'âge. Chez les mâles adultes, outre les œdèmes de la sphère ORL (associés ponctuellement à des conjonctivites et des jetages séreux discrets) et l'hyperthermie, des œdèmes du fourreau et des orchites ont été observés ainsi que la présence du virus dans le sperme. Pendant la phase d'hyperthermie chez les mâles, on a noté une baisse de la fertilité par diminution de la qualité du sperme. Il semble que pendant la phase clinique, et juste après, la fertilité des juments soit altérée. Des cas présentant des éruptions cutanées de type urticaire post hyperthermique ont aussi été identifiés dans certains foyers. Cependant des cas avérés d'infection quasiment asymptomatique ont également pu être répertoriés. L'excrétion asymptomatique par les étalons (et les futurs étalons) infectés au cours de cet épisode constitue un des risques majeurs de persistance de l'infection dans les mois qui suivent cette épizootie.

GESTION DE LA CRISE

Compte tenu du statut de MDO de cette maladie, la gestion sanitaire a été reportée sur les professionnels de la filière équine. La mobilisation des uns et des autres a conduit à l'arrêt des rassemblements d'élevage de chevaux en Normandie au cours des mois de juillet et août. Des sites retenus pour certaines manifestations ont également été fermés. La restriction conseillée de déplacement d'animaux même sains vers ou à partir de foyers déclarés a globalement été bien respectée. Cette situation sanitaire a été suivie et le risque estimé chaque semaine en fonction de l'évolution des foyers par un comité de suivi national et un autre local (normand) rassemblant les principaux acteurs de la filière (représentants de races, ministère de l'agriculture, Haras Nationaux, laboratoires, AVEF, RESPE). Il est vraisemblable qu'à l'avenir la réglementation sur les contrôles sanitaires imposés lors d'insémination soit renforcée par chaque Stud-Book. Cette mesure sans conduire à une protection totale, permettrait de limiter la dissémination de l'infection par la semence d'étalons excréteurs asymptomatiques. Cet épisode relance aussi la discussion sur l'intérêt de la vaccination des étalons séronégatifs et ou des protocoles de « blanchiment » d'étalon actuellement en expérimentation.

Enfin, cet épisode « artérite virale » montre la nécessité d'une politique sanitaire concertée entre les différents acteurs de la filière équine.

ÉPIDÉMIOLOGIE

Les enquêtes épidémiologiques, menées par le RESPE en partenariat avec les professionnels de la filière (vétérinaires, éleveurs, Haras Nationaux et laboratoires), ont permis d'identifier avec certitude 30 foyers d'artérite virale dans les 5 départements normands: Eure (9 foyers); Seine-Maritime (3 foyers); Calvados (4 foyers); Manche (6 foyers) et Orne (8 foyers). De nombreux autres foyers ont été suspectés dans plusieurs autres régions sans qu'ils ne soient confirmés. Seules des races lourdes et des chevaux de selle ont été touchés. Les premiers foyers ont été observés en élevage puis dans des structures de type mixtes « élevage/compétition » après le retour de juments suitées dans ces structures. Les contaminations ont eu lieu par voie sexuelle (vénérienne ou insémination artificielle), par voie respiratoire, mais aussi très probablement pour un cas, par voie indirecte (vecteur humain fortement suspecté). Ces différents modes de contamination ont pu coexister au sein d'une même structure.

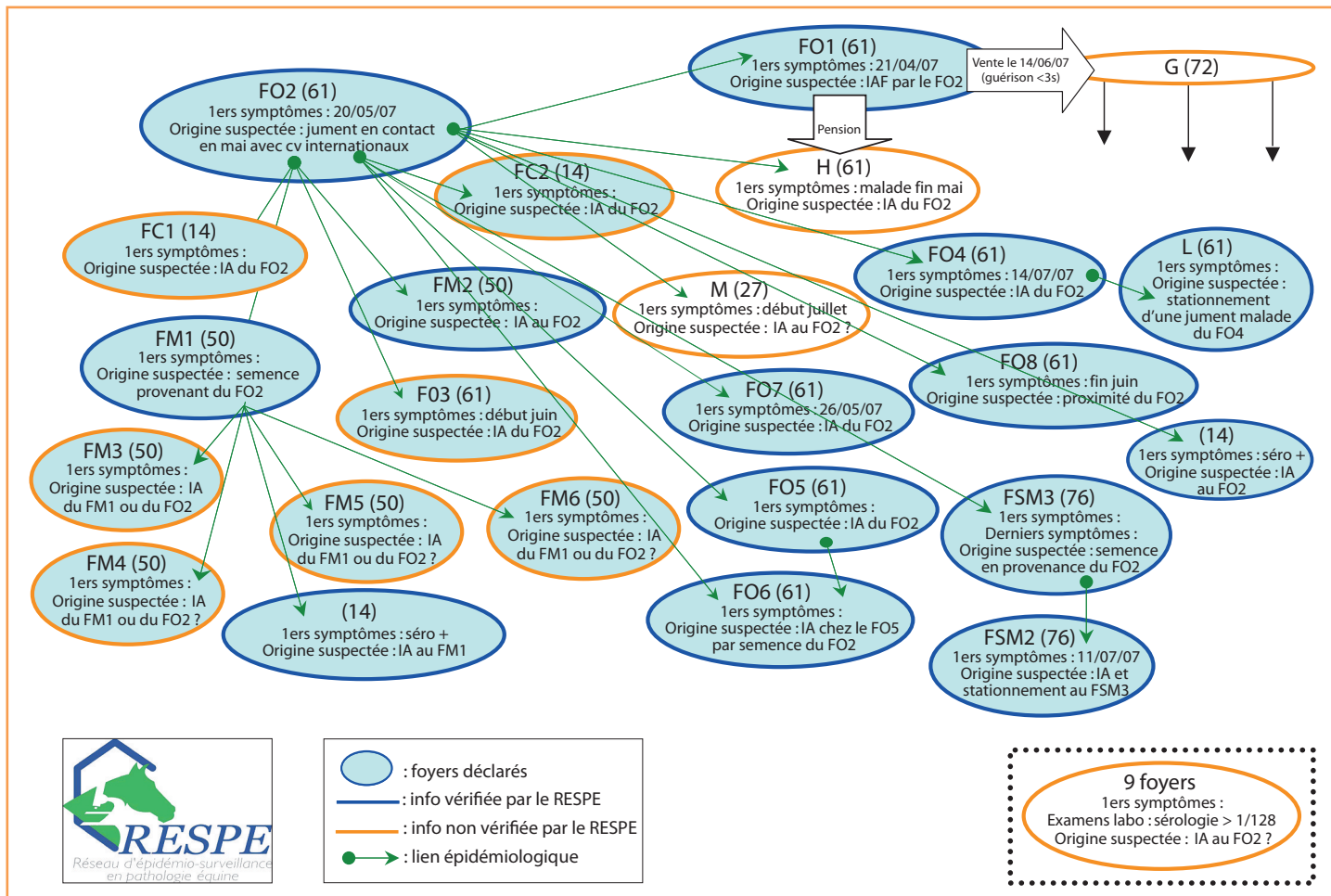


Figure 1: Logigramme épidémiologique des foyers à partir d'un foyer principal dans l'Orne.

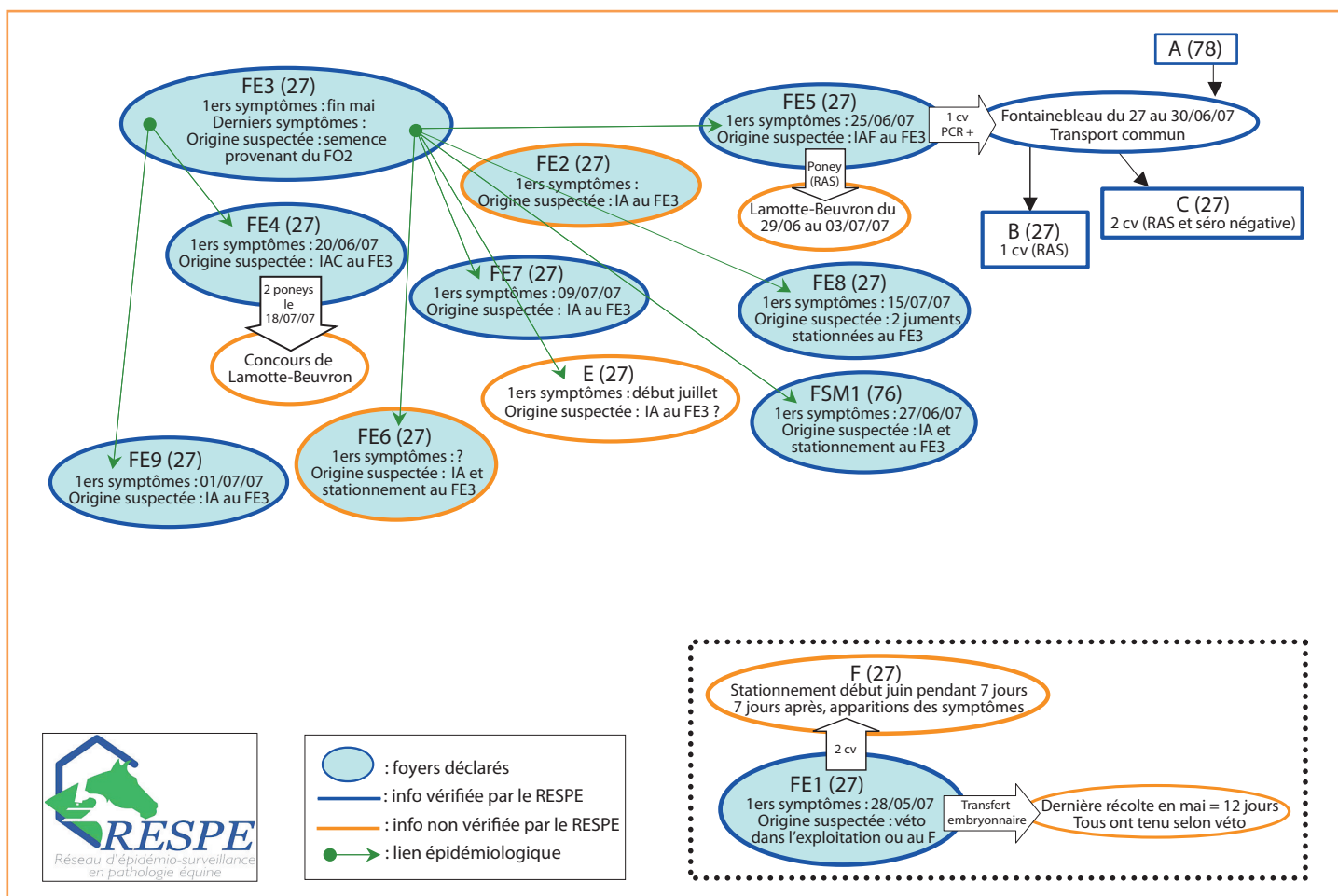


Figure 2: Logigramme épidémiologique à partir d'un foyer principal dans l'Eure.

Il existe des liens épidémiologiques identifiés entre tous les foyers (figures 1 et 2). Les logigrammes en étoile sont caractéristiques des maladies infectieuses contagieuses avec diffusion de l'agent pathogène par vecteur (ce n'est pas le cas de l'artérite virale) ou par transport d'animaux (le cas qui nous intéresse ici). Le dernier animal symptomatique identifié date du 5 août 2007 bien que des foyers aient pu être décelés par séroconversion plus tardivement. Une estimation a permis d'établir que plus de 200 chevaux ont été atteints avec au moins 5 poulains morts ou euthanasiés, un avortement confirmé et de nombreux suspectés. Il est cependant probable qu'une sous déclaration ait eu lieu tant dans les foyers répertoriés que sur l'existence de foyers.

Les enquêtes épidémiologiques et phylogénétiques n'ont pas encore permis de déterminer si l'origine des foyers est étrangère avec importation de la maladie (importation d'un animal infecté et excréteur, l'hypothèse d'importation de semence congelée contaminée ne semble pas retenue dans cette crise) ou s'il s'agit plus de l'émergence d'un nouveau variant pathogène par mutation de la souche hébergée chez un étalon excréteur asymptomatique (cas souvent décrit comme le plus probable).

TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC

Après une suspicion clinique, des examens biologiques non spécifiques peuvent être mis en œuvre comme ce fut le cas durant l'épisode 2007. Il s'agit le plus souvent d'analyses hématobiochimiques qui révèlent dans un premier temps une leucopénie avec lymphocytose qui peut ultérieurement devenir neutrophilique. Une sub-anémie hémolytique (augmentation de la bilirubine) régénérative (augmentation du VGM) modérée est fréquemment observée ainsi qu'une thrombocytopénie modérée. D'un point de vue biochimique, l'hémolyse s'accompagne d'une élévation modérée de la bilirubinémie totale (celle-ci peut aussi être associée à l'anorexie pendant le pic de fièvre). Une augmentation des marqueurs de l'inflammation (fibrinogène, SAA) a pu être notée le plus souvent. Cependant le diagnostic de certitude repose sur la mise en œuvre d'analyses biologiques spécifiques du virus de l'AVE.

On établit l'infection par le virus de l'artérite virale équine soit par la mise en évidence du virus soit par la détection des anticorps induits par ce dernier.

Sérologie

La technique de référence reconnue par l'Office International des Epizooties est la séroneutralisation. Un cas d'infection ne peut être établi par sérologie qu'après recours à deux prises de sang espacées de 15 jours (une précoce et une tardive) afin de mettre en évidence une séroconversion: apparition ou augmentation significative (deux titres minimum, par exemple de 1/16 à 1/64) dans le sérum d'anticorps séroneutralisants dirigés contre le virus de l'AVE. Le seuil de positivité est de 1/4. Un mois environ après une infection, le taux d'anticorps des animaux atteint un plateau et ce taux restera stable pendant plusieurs mois voire plusieurs années. Il n'est donc pas possible de conclure de façon certaine à une infection par le virus de l'artérite virale équine sur la base d'une seule prise de sang ou même de deux prises de sang tardives par rapport à l'infection supposée (plus d'un mois après le début des symptômes). La technique de séroneutralisation ne permet pas de distinguer les anticorps naturels des anticorps vaccinaux. La vaccination n'est donc entreprise que chez des animaux initialement séronégatifs.

Une jument ou un poulain positif stable (titre en anticorps identique: par exemple 1/16 et 1/16, ou augmentation de moins de deux titres: par exemple passage de 1/16 à 1/32) ne présentent pas ou plus de risque de contamination par voie respiratoire pas plus que par voie vénérienne au moment du second prélèvement. Il est par contre possible que ces animaux aient présenté des symptômes et aient été contagieux dans les semaines précédant le premier prélèvement.

Les anticorps colostraux dirigés contre le virus de l'artérite virale équine peuvent être transmis via le colostrum et persister jusqu'à quelques mois chez le poulain comme toutes les immunoglobulines G sériques maternelles, ce qui rend le diagnostic sérologique difficilement utilisable chez le poulain de moins de 6 mois. Le recours à la sérologie chez le poulain nécessitera systématiquement deux prises de sang successives.

Pour les étalons, la situation est plus complexe. Un cheval mâle positif de manière stable ne présente pas de risque de contamination par voie respiratoire, par contre une recherche d'excrétion dans le sperme doit être entreprise pour connaître son statut potentiel d'excréteur asymptomatique par la semence (porteur sain).

D'autre part, ces dernières années un phénomène de cytotoxicité lors des tests de séroneutralisation est apparu, notamment lié à une survaccination contre la rhinopneumonie. Cette cytotoxicité peut gêner le recours à la sérologie. Il existe une alternative par la mise en œuvre de sérologie par méthode ELISA reconnue par certains Stud-books et certains pays étrangers et utilisée dans le cadre de transactions de droit privé ou de suivi de la monte. Très récemment, une technique de séroneutralisation alternative a été proposée. Elle permet de réduire la cytotoxicité de 7,7 % à 0,9 % des sérums examinés selon Legrand et al.

Détection virale

Les techniques de détection virale reposent sur la mise en culture des échantillons (organes, spermes, écouvillons...) afin d'isoler la souche virale et d'observer sa vitesse de pousse, ou par des techniques de biologie moléculaire (RT-PCR). Ces dernières sont plus rapides que les techniques de culture ce qui est un avantage en cas de crise ou d'urgence sanitaire mais elles ne permettent pas d'identifier les souches ou d'observer un pouvoir pathogène *in vitro*. En cas de forme clinique, il est important de recueillir les commémoratifs du cas, car le choix des prélèvements dépendra du délai entre l'apparition des symptômes et la date de prélèvement. Pour les étalons, il est important de pouvoir récolter un éjaculat complet. La seule fraction pré spermatique risque d'entraîner des résultats faussement négatifs. L'envoi se fait dans un pot stérile (type pot à urine), sous couvert du froid (les conditions pour la culture sont les mêmes avec un délai d'acheminement réduit à 24 heures, 48 heures maximum). Pour ce qui est de la recherche sur sperme congelé, il est recommandé de soumettre à l'analyse un volume minimum de 3 paillettes (4 ou 5 sont même préférables). Compte tenu du caractère hormono-dépendant de l'excrétion virale, une analyse en période d'activité sexuelle est fortement recommandée avant de pouvoir statuer sur l'état sanitaire de l'étalon vis-à-vis de cette maladie. Ce n'est que rarement le cas pour les contrôles avant monte, cependant sur la population d'étalons excréteurs suivie au laboratoire, nous n'avons pas mis en évidence d'extinction de l'excrétion en phase de repos sexuel mais une forte baisse de la charge virale pouvant atteindre les limites de détection par les méthodes d'analyse chez certains individus. Sur les étalons excréteurs suivis par PCR dans le sperme au laboratoire depuis plusieurs saisons, quelques cas de blanchiments naturels (arrêts d'excrétion spontanés) ont été observés, soit chez des excréteurs chroniques asymptomatiques, soit après guérison d'une forme aiguë, dans des proportions précédemment décrites dans la littérature. Les autres étalons sont restés excréteurs dont certains plus de 6 ans. Des essais de blanchiment chimiques ont aussi été entrepris (molécules anti-GnRH ou « vaccins » anti-GNRH), et ont donné des résultats prometteurs tant sur leur efficacité que sur la durée.

Typage génétique des souches

Des outils de biologie moléculaire disponibles en France ont aussi permis de rapidement typer génétiquement les souches identifiées au cours de l'épizootie de l'été 2007 et de les replacer et comparer par rapport aux souches isolées dans d'autres pays (Figure 3). Cette

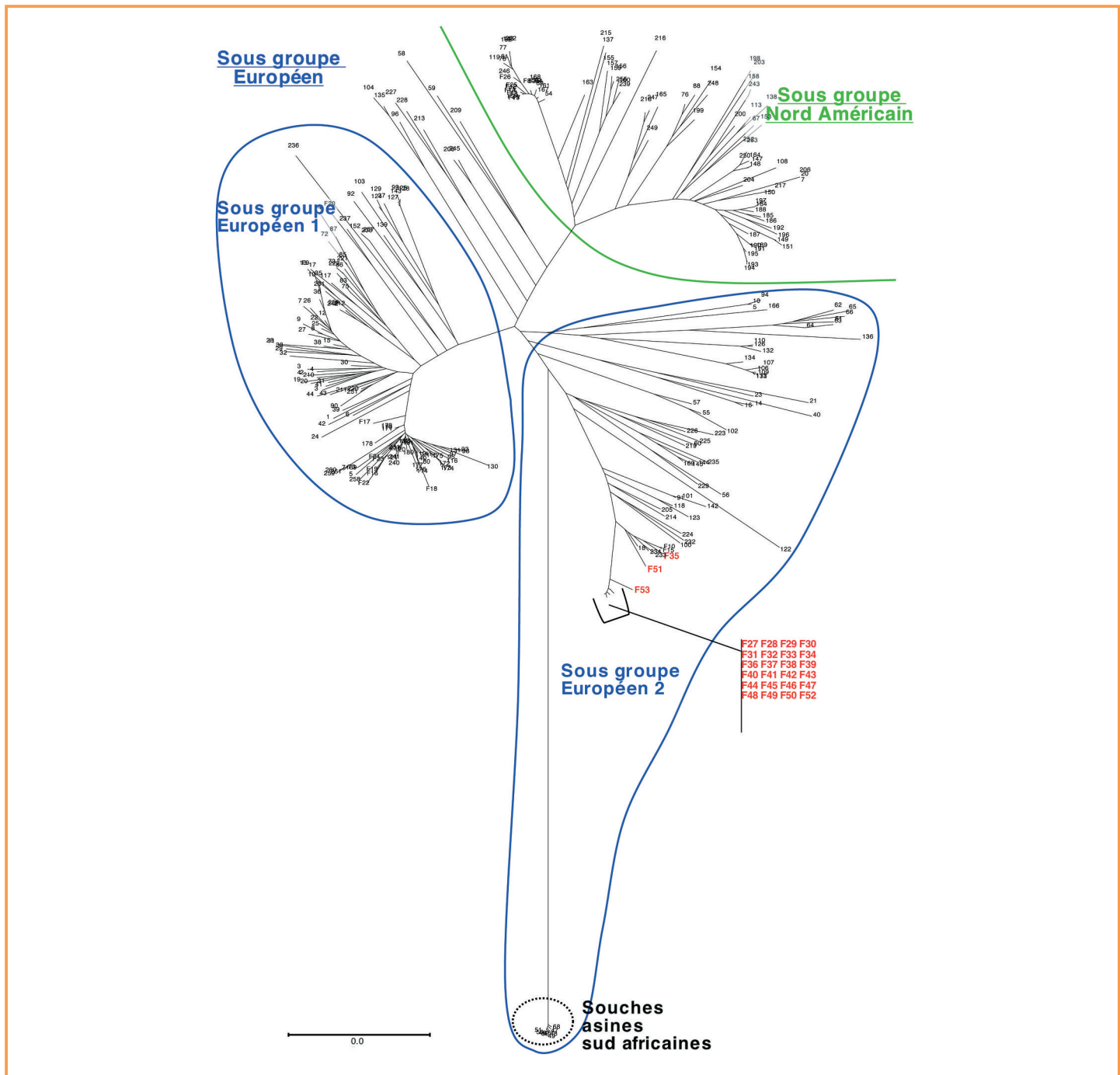


Figure 3: Analyse phylogénétique de 308 souches de virus de l'artérite virale équine. Analyse effectuée sur une séquence partielle (518 paires de base) de l'ORF5 de 47 isolats français (F5 à F53) incluant 27 souches isolées durant l'épisode français 2007 (F27 à F53).

analyse phylogénétique montre que cette souche appartient au Type Européen, sous type 2, et présente des similitudes avec des souches isolées en Allemagne en 1994 et en Pologne en 2006, ainsi qu'avec deux souches avirulentes isolées en France en 2001 et 2003 (Figure 3). Si le typage permet de comparer génétiquement des souches entre elles, ou l'évolution génétique d'une souche dans le temps, elle ne donne qu'une approche partielle de son pouvoir pathogène. Celui-ci ne peut malheureusement être appréhendé dans sa totalité que par l'analyse génomique complète de la souche, son comportement *in vitro* et surtout son agressivité *in vivo* (intensité des symptômes, pouvoir contagieux, lésions macroscopiques et histologiques induites).

CONCLUSION

Si la circulation, l'identification du virus et le typage moléculaire des souches de l'épisode d'artérite virale survenu en Normandie au cours de l'été 2007 sont bien décrits, il reste encore à déterminer l'origine de ce virus (mutation spontanée à partir d'un excréteur

chronique ou souche d'origine étrangère). Cette crise a montré que la filière équine dans son ensemble avait les capacités à gérer un tel phénomène même si sensibilisation, circulation de l'information et qualité de la collecte d'information sont toujours perfectibles. Elle a par ailleurs témoigné de l'importance d'un maillage de vétérinaires sanitaires praticiens prompts à se mobiliser. Dans ce contexte, l'existence d'un réseau d'épidémiosurveillance structuré tel que le RESPE représente un atout. Ainsi, dès le début du mois de juillet, il a été décidé en collaboration avec les laboratoires partenaires d'inclure systématiquement la recherche de l'artérite virale dans le protocole de surveillance du syndrome respiratoire aigu. Le suivi de ce virus dans les avortements sera bientôt renforcé par la mise en place, au RESPE, d'un protocole « avortements ».

Remerciements: Vétérinaires sentinelles (et notamment les D^{rs} Hamon, Defline, Glingani et Barbazange) et éleveurs qui nous ont ouvert les portes de leur structure, avec qui les contacts ont permis de suivre au mieux cet épisode, les Haras Nationaux et France Galop pour son soutien financier dans la réalisation des génotypages.

