VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2011 - Thèse n°

ETUDE DE LA MALADIE DE L'HERBE (GRASS SICKNESS) CHEZ LE CHEVAL EN FRANCE

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 17 Novembre 2011
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Géraldine PERTRIAUX

Née le 9 Février 1987
à Auxerre (89)

VetAgro Sup

UNIVERSITÉ DE LYON

VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2011 - Thèse n°

ETUDE DE LA MALADIE DE L'HERBE (GRASS SICKNESS) CHEZ LE CHEVAL EN FRANCE

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 17 Novembre 2011
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Géraldine PERTRIAUX

Née le 9 Février 1987
à Auxerre (89)

CORPS ENSEIGNANT

NOM	Prénom	Grade	Unité Pédagogique
ALOGNINOUWA	Théodore	Professeur 1ere cl	Pathologie du bétail
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences hors cl	Gestion des élevages
ARCANGIOLI	Marie-Anne	Maître de conférences cl normale	Pathologie du bétail
ARTOIS	Marc	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
BECKER	Claire	Maître de conférences cl normale	Pathologie du bétail
BELLI	Patrick	Maître de conférences associé	Pathologie morphologique et clinique
BELLUCO	Sara	Maître de conférences cl normale	Pathologie morphologique et clinique
BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences cl normale	Equine
BENOIT	Etienne	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
BERNY	Philippe	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur 2eme cl	Biologie fonctionnelle
BOULOCHER	Caroline	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
BOURDOISEAU	Gilles	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
BRUYERE	Pierre	Maître de conférences Contractuel	Biotechnologies et pathologie de la reproduction
BUFF	Samuel	Maître de conférences cl normale	Biotechnologies et pathologie de la reproduction
BURONFOSSE	Thierry	Maître de conférences hors cl	Biologie fonctionnelle
CACHON	Thibaut	Maître de conférences Contractuel	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
CADORE	Jean-Luc	Professeur 1ere cl	Pathologie médicale des animaux de compagnie
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
CAROZZO	Claude	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
CHABANNE	Luc	Professeur 1ere cl	Pathologie médicale des animaux de compagnie
CHALVET-MONFRAY	Karine	Maître de conférences hors cl	Biologie fonctionnelle
COMMUN	Loic	Maître de conférences cl normale	Gestion des élevages
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur 2eme cl	Biologie fonctionnelle
DEMONT	Pierre	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire
DESJARDINS PESSON	Isabelle	Maître de conférences Contractuel	Equine
DJELOUADJI	Zorée	Maître de conférences stagiaire	Santé Publique et Vétérinaire
ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences cl normale	Pathologie médicale des animaux de compagnie
FAU	Didier	Professeur 1ere cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
FOURNEL	Corinne	Professeur 1ere cl	Pathologie morphologique et clinique
FRANCK	Michel	Professeur 1ere cl	Gestion des élevages
FRIKHA	Mohamed-Ridha	Maître de conférences cl normale	Pathologie du bétail
GANGL	Monika	Maître de conférences Contractuel	Equine
GARNIER	François	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
GENEVOIS	Jean-Pierre	Professeur cl ex	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur 2eme cl	Biologie Fonctionnelle
GONTHIER	Alain	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
GRAIN	Françoise	Professeur 2eme cl	Gestion des élevages
GRANCHER	Denis	Maître de conférences hors cl	Gestion des élevages
GREZEL	Delphine	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
GUERIN	Pierre	Professeur 2eme cl	Biotechnologies et pathologie de la reproduction
GUERIN-FAUBLEE	Véronique	Maître de conférences hors cl	Biologie fonctionnelle
HUGONNARD	Marine	Maître de conférences cl normale	Pathologie médicale des animaux de compagnie

NOM	Prénom	Grade	Unité Pédagogique
JUNOT	Stéphane	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
KECK	Gérard	Professeur 1ere cl	Biologie fonctionnelle
KODJO	Angeli	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire
LACHERETZ	Antoine	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
LAMBERT	Véronique	Maître de conférences cl normale	Gestion des élevages
LE-GRAND	Dominique	Maître de conférences hors cl	Pathologie du bétail
LEBLOND	Agnes	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences cl normale	Biotechnologies et pathologie de la reproduction
LEPAGE	Olivier	Professeur 1ere cl	Equine
LOUZIER	Vanessa	Maître de conférences cl normale	Biologie Fonctionnelle
MARCHAL	Thierry	Maître de conférences hors cl	Pathologie morphologique et clinique
MIALET	Sylvie	Inspecteur de la santé publique vétérinaire (ISPV) faisant fonction de MC	Santé Publique et Vétérinaire
MOUNIER	Luc	Maître de conférences cl normale	Gestion des élevages
PEPIN	Michel	Professeur 1ere cl	Santé Publique et Vétérinaire
PIN	Didier	Maître de conférences cl normale	Pathologie morphologique et clinique
PONCE	Frédérique	Maître de conférences cl normale	Pathologie médicale des animaux de compagnie
PORTIER	Karine	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
PROUILLAC	Caroline	Maître de conférences cl normale	Biologie fonctionnelle
REMY	Denise	Professeur 2eme cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
ROGER	Thierry	Professeur 1ere cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
SABATIER	Philippe	Professeur 2eme cl	Biologie fonctionnelle
SAWAYA	Serge	Maître de conférences cl normale	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
SERGENTET	Delphine	Maître de conférences cl normale	Santé Publique et Vétérinaire
THIEBAULT	Jean-Jacques	Maître de conférences hors cl	Biologie fonctionnelle
VIGUIER	Eric	Professeur 1ere cl	Anatomie Chirurgie (ACSAI)
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	Maître de conférences Contractuel	Pathologie morphologique et clinique
ZENNER	Lionel	Professeur 2eme cl	Santé Publique et Vétérinaire

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Emmanuel BROUSSOLLE
De la Faculté de Médecine de Lyon,
Qui m'a fait le grand honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse
Hommages respectueux.

A Madame le Professeur Agnès LEBLOND
De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,
Qui m'a permis de mener à bien ce travail et m'a encadrée tout au long de son élaboration.
Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Jean-Luc CADORE
De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,
Qui m'a fait l'honneur de s'intéresser à ce travail et d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.
Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère gratitude.

A Monsieur le Professeur Patrick BELLI
De L'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,
Dont l'aide m'a été très précieuse.
Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

A mes parents,
Toujours là, même s'« il y a des jours avec et des jours sans », merci !

Au Chat Méchant,
J'y ai ri, bu, dormi, pleuré, fait du café, bu de l'eau avec des plantes dedans, gouté des trucs bizarres, râlé, déprimé, ragoté, mangé sur la terrasse, fait des barbec, farnienté dans le hamac, consolé, médit, squatté le canap', dansé, chanté, recueilli un lapin crétin…..et connu les meilleurs des potes, à tous : merci !

A Marie,
Avec qui j'ai partagé bien plus que cinq ans d'école

A Margot,
A Marcy, Gwada, Hanovre, Bern, Freiburg, Pindugangan, Bangkok…la Pointe Percée et tout ce qui viendra encore…à quand l'Everest ?!

A Aurélie,
Parce qu'avoir une coloc comme ça, ça n'a pas de prix !

A Fanny,
Sans qui les mojitos n'ont pas de saveur

A Prachette,
La seule cheval passion dans ma vie

A Max,
Sans qui le Cantal n'aurait pas été aussi ventu et à cause de qui il m'arrive de râler par gourmandise

A Liloute,
La reine du grattage à la buvette ! A toutes nos soirées, devenues trop rares… Liloute, quand est-ce qu'on va en soirée médecine ??

A Gaspard *et ses gaspardises,*
Qui me manquent bien souvent,

A ma poulotte et mon hypo-poulotte,
Qui m'ont pardonné leur accueil arrosé

A Sophie,
Ma coloc' tous terrains

TABLE DES MATIERES

CORPS ENSEIGNANT 3

REMERCIEMENTS 5

TABLE DES MATIERES 7

TABLE DES ILLUSTRATIONS 13

LISTE DES ABREVIATIONS 15

INTRODUCTION 17

1ERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE 19

I. ETIOLOGIE 20
A. Arguments en faveur de l'implication de *Clostridium botulinum* 20
1. Premiers arguments apportés par Tocher et al. 20
2. Apports de la bactériologie 20
a. Dénombrement des populations bactériennes intestinales 20
b. Recherche de la toxine BoNT/C dans le contenu gastro-intestinal et les fèces 21
3. Apports de la sérologie 21
a. Dosage des anticorps sériques 21
b. Dosage des anticorps dans l'iléon 22
B. D'autres hypothèses à l'étude 22
1. Implication d'autres bactéries 22
2. Stress oxydatif 22
a. Déficits plasmatiques en acides aminés 22
b. Modification des concentrations sériques en facteurs antioxydants 23

II. EPIDEMIOLOGIE 23
A. Situation en Europe 23
1. Au Royaume-Uni 23
2. En France 24
B. Facteurs de risque 24
1. Facteurs liés à la gestion du cheval 24
a. Pâturage 24
b. Modification de la ration 24
c. Changement de pâture 24
d. Contact avec un individu atteint 24
e. Fréquence d'administration des anthelminthiques 25
2. Facteurs de risque relatifs à la pâture 25
a. Effectif 25
b. Travaux 25
c. Nature du sol et teneur en azote 25
d. Cas d'EGS antérieurs 25
e. Cohabitation avec d'autres espèces 26
3. Facteurs liés à l'individu 26
a. Age 26
b. Etat d'engraissement 26
c. Statut immunologique 26
4. Facteurs liés à la saison et au climat 26

C. Mécanisme de contamination supposé 27

III. CLINIQUE 27
A. Formes cliniques 27
1. Forme aiguë 27
2. Forme subaiguë 27
3. Forme chronique 28
B. Signes cliniques 28

IV. PATHOGENIE 30
A. Mécanisme d'action des toxines de *Clostridium botulinum* 30
B. Anatomo-pathologie 30
1. Atteinte du système nerveux 30
a. Type de lésions 30
b. Lésions du système nerveux autonome 32
c. Lésions du système nerveux somatique 32
2. Atteinte hépatique 33
a. Type de lésions 33
b. Mécanismes en cause 33
C. Mécanismes à l'origine des signes cliniques observés 34
1. Signes cliniques généraux 34
a. Trémulations musculaires 34
b. Ptose palpébrale 34
c. Rhinite sèche 34
d. Déshydratation 35
e. Tachycardie 35
2. Signes cliniques digestifs 35
a. Dysphagie 35
b. Iléus 36
c. Reflux gastrique 36
d. Palpation transrectale 36
e. Distension abdominale 36

V. DIAGNOSTIC 37
A. Examens complémentaires de première intention 38
1. Test à la phényléphrine 38
a. Intérêt diagnostique 38
b. En pratique… 38
i. Réalisation 38
ii. Avantages 38
iii. Limites 38
c. Résultats attendus en cas d'EGS 38
2. Analyses sanguines 39
a. Modifications sériques 40
i. Protéines totales 40
ii. Catécholamines sanguines, cortisol et ACTH 40
iii. Haptoglobine et orosomucoïde 40
b. Fonction hépatique 40
c. Déficit minéral ou vitaminique 41
i. Magnésium, vitamines E et B12 41
ii. Sélénium 41
3. Paracentèse abdominale 41
a. Intérêt diagnostique 41
b. En pratique … 42
i. Réalisation 42
ii. Avantages 42
iii. Limites 42
c. Caractéristiques du liquide lors d'EGS 42
i. Aspect 42
ii. Composition 42
4. Analyses d'urines 43

a. Paramètres d'intérêt ... 43
i. Densité ... 43
ii. pH ... 43
iii. Protéines ... 43
iv. Glucose ... 43
v. Créatinine et cortisol ... 44
vi. Bilirubine conjuguée ... 44
b. En pratique… ... 44
5. Transit baryté et endoscopie de l'œsophage ... 44
a. Intérêt diagnostique ... 44
i. Transit baryté ... 44
ii. Endoscopie de l'œsophage ... 45
b. Réalisation d'un transit baryté ... 45
c. Avantages et limites sur le terrain ... 46
B. Examens complémentaires de seconde intention ... 46
1. Electromyographie ... 46
a. Intérêt diagnostique ... 46
b. Réalisation ... 46
i. Préparation du cheval ... 46
ii. Réalisation de l'examen ... 46
c. Interprétation ... 46
i. Lecture d'un EMG ... 46
ii. Valeurs de référence ... 47
iii. Modifications observables lors d'EGS ... 47
d. Bilan ... 48
2. Analyses bactériologiques ... 48
a. Recherche de l'agent étiologique potentiel dans les matières intestinales, données bibliographiques ... 48
i. Recherche de la toxine BoNT/C ... 48
ii. Recherche de la bactérie ... 48
b. Recherche de l'agent étiologique potentiel par le laboratoire de référence en France : l'Institut Pasteur ... 49
i. Dans le sérum : recherche des toxines C et D ... 49
ii. Dans le contenu intestinal : recherche de la bactérie ... 49
3. Dosage des anticorps ... 49
4. Exploration de la cavité abdominale ... 50
a. Lésions macroscopiques ... 50
i. Forme aiguë ... 50
ii. Forme subaiguë ... 50
iii. Forme chronique ... 50
b. Techniques disponibles ... 51
i. Laparotomie exploratrice ... 51
ii. Cœlioscopie ... 51
iii. Autopsie ... 52
C. Diagnostic de certitude : histologie ... 52
1. Biopsies iléales, prélèvements *ante-mortem* de référence ... 52
a. Sites de prélèvement ... 52
b. Technique ... 53
2. Biopsie rectale ... 53
a. Intérêt diagnostique ... 53
b. Anomalies mises en évidence lors d'EGS ... 53
i. Etude quantitative ... 53
ii. Etude qualitative ... 54
c. Réalisation ... 54
i. Rappels anatomiques et sites de prélèvement ... 54
ii. Technique ... 54
d. En pratique… ... 55
3. Prélèvements à l'autopsie ... 55
a. Sites ... 55
b. Techniques de prélèvement utilisées par le laboratoire de Pathologie Equine de Dozulé ... 56
i. Prélèvement de la zone incluant le ganglion coeliaco-mésentérique ... 56

ii. Prélèvement du ganglion cervical supérieur 57
c. En pratique… 57
4. Biopsie nasale et immuno-histochimie : méthode d'avenir ? 57
a. Hypothèse de Prince et al. 57
b. Arguments anatomiques et physiologiques 57
c. Résultats de l'étude : intérêt diagnostique encore discuté 58

VI. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL 58
A. Diagnostic différentiel global 58
B. L'EGS : une forme atypique de botulisme ? 59
1. Etiologie comparable 59
2. Principes du diagnostic différentiel 59
a. Arguments épidémiologiques 59
b. Arguments cliniques et lésionnels 59
3. EGS et botulisme : deux entités proches mais distinctes 59
C. Diagnostic différentiel spécifique de la forme aiguë 60
D. Forme chronique : diagnostic différentiel avec la maladie du neurone moteur 62
1. Généralités 62
2. Bases du diagnostic différentiel 62
a. Epidémiologie 62
b. Etio-pathogénie 63
3. Confirmation par histologie 63
a. Lésions du système nerveux somatique 63
b. Lésions des muscles striés squelettiques 63

VII. PRONOSTIC 63

VIII. TRAITEMENT 64
A. Soins de soutien 64
B. Traitement symptomatique 65
1. Analgésiques 65
2. Stimulateurs de la motricité intestinale et de l'appétit 65

IX. PREVENTION 65
A. Gestion des facteurs de risque 65
B. Vaccination 66

X. CONCLUSION 66

2EME PARTIE : LE POINT SUR L'EGS EN FRANCE : MISE EN PLACE D'UNE ETUDE EPIDEMIO-CLINIQUE 69

I. P RESENTATION DE L'ETUDE EPIDEMIO-CLINIQUE 70
A. Les objectifs de l'étude 70
B. Une étude en deux volets 70
1. Etude rétrospective 70
2. Etude prospective 70
C. Les acteurs de l'étude 71
1. Le groupe de travail 71
2. Le RESPE 71

II. ETUDE RETROSPECTIVE 72
A. Elaboration du score épidémio-clinique *(cf annexe 2)* 72
1. Sélection des critères 72
a. Critères épidémiologiques 73
b. Critères cliniques 73
c. Examens complémentaires 74
2. Pondération des critères 74
a. Critères épidémiologiques 74
b. Critères cliniques 75

3. Calcul et interprétation du score final ... 75
4. Récolte d'informations complémentaires ... 75
B. Evaluation du score ... 75
1. Evaluation par le groupe de travail ... 75
2. Etude rétrospective ... 76
a. Recrutement des cas ... 76
b. Evaluation du score épidémio-clinique ... 76
c. Validation de la grille de score ... 76

III. ETUDE PROSPECTIVE ... 76
A. Mise en place de l'étude prospective ... 77
1. Fiche de déclaration (*cf annexe 3*) ... 77
2. Guide de procédure diagnostique (*cf annexe 4*) ... 77
3. Prise en charge des analyses ... 77
B. Evaluation et diffusion de l'étude ... 77
1. Evaluation par le groupe de travail (*cf annexe 5*) ... 77
2. Contacts avec les équipes anglaises ... 78
3. Diffusion auprès des vétérinaires français ... 78

IV. CONCLUSION ... 78

3EME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION ... 79

I. ETUDE RETROSPECTIVE ... 80
A. Composition des groupes ... 80
1. Groupe confirmé ... 80
2. Groupe suspect ... 80
3. Groupe témoin ... 80
B. Etude descriptive ... 81
1. Données épidémiologiques ... 81
2. Etude clinique ... 82
a. Résultats ... 82
b. Commentaires ... 82
3. Score épidémio-clinique ... 83
4. Examens complémentaires ... 83
a. Analyses sanguines ... 83
i. Hématocrite, urée et cortisol ... 83
ii. Leucocytes et polynucléaires neutrophiles (PNN) ... 84
iii. Protéines totales ... 84
iv. Fibrinogène ... 84
b. Analyses urinaires ... 84
c. Paracentèse abdominale ... 84
d. Transit baryté et endoscopie de l'œsophage ... 84
e. Bactériologie ... 85
f. Laparotomie exploratrice ... 85
g. Autopsie ... 85
h. Biopsies et histologie ... 85
C. Discussion du score épidémio-clinique ... 86
1. Pourcentage de mauvais classement ... 86
2. Biais ... 86
a. Biais de recrutement ... 86
b. Biais de mémoire et de méconnaissance ... 87
3. Pertinence des critères ... 87
a. Nombre de critères ... 87
b. Précision des critères ... 87
i. Critères épidémiologiques ... 87
ii. Critères cliniques ... 87
c. Pondérations ... 88
4. Bilan et perspectives ... 88

II. ETUDE PROSPECTIVE 88
A. Etude descriptive *(cf annexe 6)* 89
1. Répartition géographique 89
Figure 8 : Répartition géographique des cas de l'étude rétrospective. 89
2. Données épidémiologiques 89
3. Signes cliniques 90
a. Motif de consultation 90
b. Signes cliniques prépondérants 90
c. Autres signes cliniques 90
4. Examens complémentaires effectués par les praticiens 90
5. Analyses demandées 91
B. Discussion de l'étude prospective 91

III. Conclusion 92

BIBLIOGRAPHIE 95

ANNEXES 101

Annexe 1 : Article paru dans la lettre d'information de l'AVEF n°58 ……102
Annexe 2 : Grille de score épidémio-clinique……...104
Annexe 3 : Fiche de déclaration……....106
Annexe 4 : Guide de procédure diagnostique……...109
Annexe 5 : Compte-rendu de la conférence téléphonique du 13/01/2010……117
Annexe 6 : Synthèse des résultats épidémiologiques (a) et cliniques (b) de l'étude prospective…….121

TABLE DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Signes cliniques associés aux formes aiguë, subaiguë et chronique de l'EGS…29
Tableau 2 : Diagnostic différentiel de l'EGS, quelle que soit la forme clinique……..……. 58
Tableau 3 : Diagnostic différentiel de la forme aiguë de l'EGS……..61
Tableau 4 : Mesures à mettre en place pour gérer les différents facteurs de risque……66
Tableau 5 : Données épidémiologiques de l'étude prospective (exprimées en pourcentages)……81

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Exemple de potentiel d'action musculaire normal enregistré dans le muscle subclavier……..……47
Figure 2 : MUP enregistré dans le muscle subclavier d'un cheval atteint d'EGS, présentant une augmentation de la durée (10,4ms), d'amplitude (600V), du nombre de phases (5) et de changements de direction (5)……...…….47
Figure 3 : Localisation du ganglion coeliaco-mésentérique chez le cheval….……....55
Figure 4 : Localisation du ganglion cervical crânial chez le cheval……56
Figure 5 : Prévalence des signes cliniques généraux (a) et digestifs (b) dans les trois groupes…….……82
Figure 6 : Résultats de la grille de score épidémio-clinique pour chacun des groupes…….. 83
Figure 7 : Prévalence des différentes anomalies classiquement décrites lors d'autopsies de cas d'EGS chez les groupes confirmé, suspect et témoin……...85
Figure 8 : Répartition géographique des cas de l'étude prospective……...89

LISTE DES PHOTOGRAPHIES

Photo 1 : Plexus nerveux intestinal chez un cheval sain, coloration hémalun-éosine…...…..31
Photo 2 : Dégénérescence neuronale observée dans le plexus nerveux intestinal chez un cheval atteint d'EGS, coloration hémalun-éosine……31
Photo 3 : Dégénérescence observée dans un ganglion nerveux de la chaîne paravertébrale chez un cheval atteint d'EGS, coloration hémalun-éosine……...32
Photo 4 : Ptose palpébrale bilatérale chez un cheval atteint d'EGS……34
Photo 5 : Rhinite sèche visualisée à l'examen endoscopique des voies respiratoires supérieures chez un cheval atteint de dysautonomie équine……....35
Photo 6 : Cachexie et abdomen levretté chez un cheval atteint de la forme chronique de l'EGS……37
Photo 7 : Mesure de l'angle des cils avant (a) et après (b) l'instillation de phényléphrine dans l'œil droit chez un cheval atteint d'EGS……..39
Photo 8 : Cliché radiographique réalisé lors d'un transit baryté chez un cheval atteint de la forme chronique de l'EGS : dilatation distale de l'œsophage avec accumulation liquidienne (ligne de niveau) ……..45

Photo 9 : Contenu intestinal impacté, sec et recouvert d'un enduit noirâtre chez un cheval atteint de la forme subaiguë de l'EGS……..50
Photo 10 : Réalisation d'une biopsie de la muqueuse rectale……..54
Photo 11 : Port de tête bas chez un cheval atteint de MND…….62

Crédits photos :
Dr Pierre CIRIER, Clinique Vétérinaire du Chenêt, Milly-la-Forêt (91)
Pr Agnès LEBLOND, professeur à L'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon (69)
Dr Marie NOLF, chargée de consultation à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon (69)
Pr Patrick BELLI, professeur à L'Ecole Natinaole Vétérinaire de Lyon (69)

LISTE DES ABREVIATIONS

EGS : Equine grass sickness
C. botulinum *: Clostridium botulinum*
AVEF : Association Vétérinaire Equine Française
RESPE : Réseau d'Epidémio-Surveillance en Pathologie Equine
ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay
AAS : acides aminés sulfurés
n : nombre
°C : degrés Celsius
MND : maladie du neurone moteur
mL : millilitre
ACTH : adréno cortico trophic hormone
mmol: millimole
nmol : nanomole
g/L : gramme par litre
BnC : bilirubine non conjuguée
BC : bilirubine conjuguée
GLDH : glutamate déshydrogénase
AST : aspartate transaminase
GSH-Px : glutathion peroxydase
µmol/L : micromole par litre
mg/L : milligramme par litre
EMG : électromyogramme
MUP : motor unit potential
ms : milliseconde
V : volt
µV : microvolt
PCR : polymerase chain reaction
cm : centimètre
mm : millimètre
CGRP : calcitonin gene-related peptide
SP : substance P
PTR : palpation transrectale
DGAL : Direction Générale de l'Alimentation
DDPP : Direction Départementale de Protection des Populations
AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
LERPE : Laboratoire d'Etudes et de Recherches en Pathologie Equine
DM : données manquantes
PNN : polynucléaires neutrophiles
UK : United Kingdom
bpm : battements par minute

INTRODUCTION

La maladie de l'herbe, aussi appelée dysautonomie équine ou *equine grass sickness* (EGS), est une affection neuro-dégénérative débilitante souvent fatale, qui touche les chevaux au pré. Elle survient surtout au printemps ou au début de l'été et affecte préférentiellement les animaux âgés de 2 à 7 ans (Wylie and Proudman, 2009).

L'EGS est décrite pour la première fois en Ecosse en 1905 dans un camp militaire et prend la forme d'une épidémie en 1909 dans l'est du pays. L'émergence de la maladie en Ecosse coïnciderait avec l'importation de millions de tonnes de guano (lisier de volailles utilisé comme fertilisant) en provenance d'Argentine, où une affection similaire est décrite sous le nom de « *mal seco* », notamment en Patagonie. L'EGS se propage ensuite rapidement pour atteindre 10 à 20% des chevaux de labeur écossais, puis atteint l'Angleterre dans les années 1920. Depuis, l'ensemble du Royaume-Uni et les pays d'Europe du Nord sont concernés, avec toutefois une incidence variable (Furr and Reed, 2008; RESPE, ; Wylie and Proudman, 2009). Pour la première fois, un cas d'EGS a été rapporté aux Etats-Unis en 2010 (Wright et al., 2010).

Si elle est très répandue au Royaume-Uni et fait l'objet de nombreuses études, l'EGS reste peu connue en France et sa situation épidémiologique largement ignorée. Afin de déterminer l'importance réelle de cette affection sur notre territoire, l'Association Vétérinaire Equine Française a souhaité mener une étude épidémio-clinique. C'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail de thèse.

Dans cette thèse, nous décrirons d'abord la dysautonomie équine à travers une revue bibliographique résumant ses caractéristiques en termes d'étiologie, d'épidémiologie, de présentation clinique, de diagnostic et de pronostic, puis nous évoquerons dans une seconde partie les modalités de mise en place de l'étude épidémio-clinique initiée au cours de ce travail. Enfin, dans une dernière partie, nous en exposerons les résultats.

1ère PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. ETIOLOGIE

L'EGS est une dysautonomie fréquemment mortelle d'étiologie inconnue. L'étude des facteurs de risque de la maladie laisse penser que l'agent étiologique est ingéré au pâturage (Wylie and Proudman, 2009). De nombreuses causes ont été suspectées (Tocher et al., 1923; Wylie and Proudman, 2009): plantes toxiques, bactéries, virus, mollusques, parasites et insectes. Selon les hypothèses actuelles, l'EGS serait causée par une neurotoxine de *Clostridium botulinum*, produite dans le tractus digestif.

A. Arguments en faveur de l'implication de *Clostridium botulinum*.

1. Premiers arguments apportés par Tocher et al.

En 1923, Tocher et al. sont les premiers à avoir apporté une preuve en faveur de l'implication de *Clostridium botulinum (C. botulinum)* dans l'étiologie de la maladie de l'herbe (Hunter et al., 1999), en isolant une bactérie proche, d'un point de vue morphologique et toxique, de *Bacillus botulinus* (aujourd'hui appelé *Clostridium botulinum*) dans le tube digestif, et ultérieurement dans la rate de nombreux chevaux atteints (Tocher et al., 1923).

En 1922 et 1923, des essais vaccinaux ont été menés sur plus de 2000 chevaux, divisés en deux groupes : un groupe témoin non vacciné et un groupe vacciné à l'aide d'une anatoxine botulique. Chez le groupe vacciné, une réduction significative de la mortalité liée à l'EGS a été observée, avec une réponse dose-dépendante (Newton et al., 2010; Tocher et al., 1923). En effet, lors de l'essai réalisé en 1922, le taux de mortalité lié à l'EGS chez le groupe non vacciné était de 9,3%, contre 3,2% chez le groupe vacciné à l'aide d'une unique dose de vaccin humain et 2,3% chez les individus ayant reçu deux doses de ce vaccin. En 1923, un autre vaccin a été utilisé lors des essais, fabriqué à partir de *C. botulinum* isolée chez des cas d'EGS chronique : alors que le taux de mortalité des chevaux non vaccinés était de 8,2%, celui du groupe vacciné (une seule injection) était de 1,5%.

Les résultats des essais vaccinaux ont été rejetés par les contemporains de Tocher et les études ont pris fin. La ré-analyse des données par des méthodes modernes confirme la réduction significative du taux de mortalité grâce au vaccin utilisé (Wylie and Proudman, 2009).

Récemment, l'hypothèse de Tocher a connu un regain d'intérêt et a motivé de nombreuses recherches. En 1994, les travaux de Keith Miller et Jean Robb ont abouti à l'hypothèse selon laquelle l'EGS serait une toxi-infection à *C. botulinum* groupe phénotypique III (sérotype C ou D) (Newton et al., 2010).

2. Apports de la bactériologie

a. Dénombrement des populations bactériennes intestinales

L'étude de Garrett, Brown et Poxton (Garrett et al., 2002) comparant la flore intestinale des chevaux sains et ceux atteints d'EGS a mis en évidence une augmentation du nombre de populations bactériennes aérobies et anaérobies dans le tractus gastro-intestinal des individus atteints et, en particulier, du nombre de clostridies. Cette observation fut confirmée en 2004 par Saeed, qui démontra une augmentation du nombre de *Clostridium perfringens*,

Clostridium tetani et autres clostridies, ainsi que d'*Escherichia coli* dans le contenu intestinal de chevaux atteints d'EGS (Waggett et al., 2010).

b. Recherche de la toxine BoNT/C dans le contenu gastro-intestinal et les fèces

Il existe un lien entre la détection de la toxine BoNT/C dans le contenu gastro-intestinal et les fèces et le diagnostic histologique d'EGS (Hunter et al., 1999; Newton et al., 2010; Wylie and Proudman, 2009): la toxine a pu être détectée *ante-mortem* dans des prélèvements fécaux de cas chroniques et *post-mortem* dans l'iléon et les fèces d'individus atteints, quelque soit la forme clinique. BoNT/C a été mise en évidence dans le contenu iléal de 45% des cas d'EGS et dans les fèces de 44% des cas.

La toxine a aussi pu être détectée dans l'iléon et les fèces de 4% des chevaux sains, en concentration toutefois significativement plus faible que chez les chevaux atteints d'EGS (Hunter et al., 1999). Chez les individus sains, la toxine a été probablement absorbée ou détruite, d'où l'absence de signe clinique.

Ces observations sont en faveur de l'implication d'une toxine de *C. botulinum* type C dans la pathogénie de l'EGS. Deux hypothèses peuvent être formulées :

- soit la bactérie est présente dans le gros intestin ; suite à une modification de l'environnement dans le tractus gastro-intestinal, elle envahit l'iléon et produit une toxine;
- soit elle est absorbée par l'animal sous forme de spore capable de germer et produire la toxine dans l'iléon.

L'espèce équine est particulièrement sensible aux modifications alimentaires, or l'EGS est souvent associée à un changement de pâture. L'élément déclencheur pourrait donc être d'ordre nutritionnel, à l'origine d'une altération de la flore digestive permettant la colonisation de l'intestin par *C. botulinum* type C et la production de toxines.

3. Apports de la sérologie

a. Dosage des anticorps sériques

Les données épidémiologiques évoquent une « résistance » possible vis-à-vis de l'EGS, notamment chez les chevaux ayant déjà été en contact avec un individu atteint. La probabilité de développer la maladie est dix fois moins importante pour ces individus que pour ceux n'ayant jamais été en contact avec un cas (Wood et al., 1998). Cette observation pourrait être expliquée par l'existence d'une réponse immunitaire protectrice.

En 2001, des dosages immunologiques ont été réalisés par Hunter et Poxton (Hunter and Poxton, 2001) : ceux-ci ont révélé que les anticorps dirigés contre les antigènes de surface de *C. botulinum* type C et contre la toxine BoNT/C sont détectables à la fois chez des chevaux sains et malades. Ce résultat suggère l'exposition globale de la population équine à *C. botulinum* type C et à sa neurotoxine. De plus, ces anticorps ont été détectés en concentration significativement plus faible chez les individus atteints d'EGS que chez les chevaux sains et ce, quelle que soit la forme clinique.

Dans la forme chronique, aucune séroconversion n'a été mise en évidence malgré la durée d'évolution. Une diminution de la teneur en immunoglobulines a même été notée dans certains cas. Cette observation pourrait être expliqué par la neutralisation *in vivo* de la bactérie et de la toxine par des anticorps, dès lors «indisponibles » pour le test ELISA (Hunter and Poxton, 2001).

En 2004, l'étude de Mc Carthy et al. (McCarthy et al., 2004b) a confirmé et approfondi les résultats obtenus par Hunter et Poxton, en montrant que les individus possédant une faible concentration sérique en anticorps dirigés contre les antigènes de surface

de *C. botulinum* type C sont plus à risque que les autres, vis-à-vis de l'EGS . Cette faible concentration en anticorps permettrait la prolifération de la bactérie dans le tractus digestif et donc secondairement la production de toxines.

En 2007, Nunn et al. ont complété ces travaux, en étudiant l'influence du statut immun initial sur le pronostic de la forme chronique de l'EGS : la concentration initiale en anticorps dirigés contre les antigènes de surface de *C. botulinum* est significativement plus élevée chez les animaux ayant survécu que chez ceux ayant été euthanasiés en raison de la dégradation de leur état clinique (Nunn et al., 2007b). Ainsi, le statut immun semble influencer à la fois l'apparition et le pronostic de la maladie (Newton et al., 2010).

b. Dosage des anticorps dans l'iléon

L'iléon a été identifié comme le site d'absorption de la toxine BoNT/C. L'immunité locale de la muqueuse est donc probablement activée lors de colonisation de l'intestin par *C. botulinum* type C. L'étude de Nunn, Pirie et al. a montré que les concentrations en immunoglobulines A (IgA) dirigées contre les antigènes de surface de *C. botulinum* types C et D et contre les neurotoxines BoNT/C et BoNT/D sont augmentées dans l'intestin grêle des cas aigus d'EGS par rapport aux témoins (Newton et al., 2010; Nunn et al., 2007a). Cependant, la relation entre le développement de l'EGS et la teneur en anticorps locaux demeure inconnue et l'interprétation de cette étude reste délicate de part le faible nombre de cas recrutés.

B. D'autres hypothèses à l'étude

1. Implication d'autres bactéries

Si l'association entre l'EGS et la présence de *C. botulinum* type C dans le tractus digestif a fait l'objet de nombreuses recherches, l'implication d'autres bactéries anaérobies a été jusqu'ici peu étudiée. En 2010, Waggett et al. ont néanmoins suspecté l'implication d'une autre bactérie, *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*), dans l'étiologie de l'EGS. Ils ont montré que sa prévalence était significativement plus élevée dans les fèces des individus atteints que chez les chevaux sains. Cependant, plusieurs arguments infirment cette hypothèse: les tableaux cliniques et pathologiques des affections causées par *C. perfringens* sont très différents de ceux observables lors d'EGS et la toxine produite lors de la colonisation de l'intestin par cette bactérie est plus probablement responsable d'entérocolite que de dégénérescence neuronale. De plus, des essais vaccinaux à partir de toxines de *C. perfringens* type D n'ont pas apporté de protection contre l'EGS (Greig, 1942; Waggett et al., 2010).

2. Stress oxydatif

L'implication d'un stress oxydatif dans la pathogénie de nombreuses maladies neurologiques a poussé McGorum et al. à examiner le rôle potentiel de ce mécanisme dans le développement de l'EGS.

a. Déficits plasmatiques en acides aminés

En 2001, McGorum et Kirk (McGorum and Kirk, 2001) ont mis en évidence des concentrations plasmatiques en acides aminés sulfurés (AAS) significativement plus faibles chez les chevaux atteints d'EGS que chez les chevaux sains. Deux hypothèses ont été

formulées pour expliquer ce déficit : une carence du sol en soufre ou l'exposition à un xénobiotique. La cystéine est utilisée dans la détoxification de l'organisme lors d'exposition à des glycosides cyanogéniques, contenus notamment dans le trèfle blanc sauvage (*Trifolium repens*). Or expérimentalement, un déficit des neurones en cystéine a permis de reproduire *in vitro* une mort oxydative des neurones.

Par ailleurs, un déficit en acides aminés peut potentialiser l'action de mycotoxines, considérées comme éventuelle cause de la maladie de l'herbe (McGorum and Kirk, 2001).

b. Modification des concentrations sériques en facteurs antioxydants

Une étude menée en 2003 par McGorum et al. a mis en évidence des différences significatives concernant les concentrations plasmatiques en antioxydants entre des chevaux sains et des chevaux atteints de la forme aiguë de l'EGS. Les résultats de cette étude ne permettent néanmoins pas de déterminer si ces variations sont des facteurs de risques de la maladie, la conséquence d'un stress oxydatif ou de complications métaboliques secondaires de l'EGS, ou encore sans rapport avec celle-ci (McGorum et al., 2003).

Par ailleurs, si aucune altération oxydative macromoléculaire (acides gras, protéines, acides aminés et acides nucléiques) systémique n'a été mise en évidence dans cette étude, un processus oxydatif localisé ne peut être exclu et d'autres investigations sont nécessaires pour pouvoir conclure sur l'implication d'un processus oxydatif dans l'étio-pathogénie de l'EGS (McGorum et al., 2003).

Si l'étiologie de l'EGS reste inconnue, plusieurs études ont apporté des arguments en faveur de l'implication de la toxine BoNT/C de *C. botulinum* type C. De nombreuses incertitudes persistent cependant quant au rôle exact joué par la bactérie dans le développement de l'EGS. L'hypothèse prépondérante est celle d'une perturbation d'ordre nutritionnel à l'origine d'une altération de la flore digestive chez les individus ayant une faible concentration en immunoglobulines permettant la colonisation de l'intestin par *C. botulinum* type C et la production de toxines, responsables de la forme clinique de l'EGS.

II. EPIDEMIOLOGIE

A. Situation en Europe

La maladie de l'herbe a été décrite pour la première fois en Ecosse dans les années 1900. Depuis, même si des cas d'EGS ont été rapportés dans différents pays de l'Europe de l'Ouest, c'est au Royaume-Uni que la prévalence reste la plus élevée.

1. Au Royaume-Uni

2572 cas d'EGS ont été rapportés en Grande-Bretagne entre 1942 et 2009, dont 1398 depuis 2000. Le nombre annuel de cas semble varier de manière sinusoïdale. En 2007, un projet national de surveillance de l'EGS a été mis en place par l'association *The Horse Trust* (The Horse Trust), en collaboration avec l'*Animal Health Trust*, les universités d'Edinburgh et de Liverpool et l'*Equine Grass Sickness Fund*. Il repose sur la collecte d'informations sur les cas d'EGS depuis 2000, en vue d'étudier l'évolution de la répartition et de la fréquence de la maladie en Grande-Bretagne (Newton et al., 2010).

2. En France

Entre 2003 et 2007, 19 cas suspects d'EGS ou d'intoxication botulinique ont été enregistrés par le Réseau d'Epidémio-Surveillance en Pathologie Equine (RESPE) dont quatre ont été confirmés par histologie. La Basse-Normandie et la Bretagne comptabilisent le plus grand nombre de déclarations, mais la région Poitou-Charentes ne semble pas épargnée non plus. En 2008 et pour la première fois, des suspicions ont également été déclarées dans le sud et le sud-est du territoire. L'interprétation de la répartition des cas doit cependant être reliée à celle de l'effectif équin sur le territoire français.

B. Facteurs de risque

Bien que l'agent étiologique n'ait pas été précisément déterminé, un certain nombre de facteurs de risque ont été identifiés (Wood et al., 1998).

1. Facteurs liés à la gestion du cheval

a. Pâturage

L'accès au pâturage est un facteur de risque prépondérant (Gilmour and Jolly, 1974; Wylie and Proudman, 2009), même si de rares cas d'EGS ont été décrits chez des chevaux n'ayant pas accès à l'herbe . La coupe de l'herbe réduit significativement le risque de survenue de la maladie (Newton et al., 2004; Pirie, 2006).

b. Modification de la ration

Tout changement alimentaire -en quantité ou qualité- est dangereux, parce qu'il provoque un bouleversement de la flore digestive et peut ainsi favoriser la multiplication d'une bactérie pathogène et donc la libération de toxine (Lyle and Pirie, 2009; McCarthy et al., 2004b; Pirie, 2006).

c. Changement de pâture

L'importance de ce facteur est maximale dans les deux semaines suivant le changement de pâture et diminue au cours du temps qui suit le changement de pâture (Newton et al., 2010). En effet, dans l'étude de Wood et al. menée au Royaume-Uni entre 1992 et 1995, 50% des cas rapportés avaient changé de pré dans le mois précédent l'apparition de la maladie, dont 20% dans les deux semaines (Wood et al., 1998).

Outre la qualité de la pâture peuvent être mis en cause un défaut d'immunité vis-à-vis de l'agent pathogène et/ou à une modification de la flore gastro-intestinale.

d. Contact avec un individu atteint

L'étude de Wood, Doxey et Milne menée en 1998 au Royaume-Uni (Wood et al., 1998) a montré que la probabilité d'apparition de la maladie chez un individu ayant été en contact avec un cheval atteint d'EGS est dix fois moins importante que chez un cheval n'ayant jamais été en contact (Newton et al., 2010). Cette observation suggère la mise en place d'une réponse immunologique systémique (Hunter and Poxton, 2001) .

e. Fréquence d'administration des anthelminthiques

L'utilisation d'anthelminthiques (notamment à base d'ivermectine) à haute fréquence constituerait un facteur de risque de la dysautonomie équine, par altération de la flore digestive ou de l'immunité locale de la muqueuse. Cependant, d'autres investigations sont nécessaires pour valider et préciser cette corrélation, notamment en termes de fréquence et posologie d'administration (McCarthy et al., 2004b; Wood et al., 1998; Wylie and Proudman, 2009).

2. Facteurs de risque relatifs à la pâture

a. Effectif

Un nombre important de chevaux, en particulier jeunes, est un facteur de risque (Newton et al., 2004).

b. Travaux

La réalisation de travaux (tranchées, constructions…) sur la pâture dans les douze mois précédents majore considérablement le risque de développement de l'EGS en favorisant la remontée à la surface d'agents pathogènes présents dans la terre. En 2004, l'étude menée par Mc Carthy et al. (McCarthy et al., 2004a) au Royaume-Uni a montré que le risque d'apparition de la maladie est plus de trois fois supérieur lorsque des travaux ont été réalisés sur la pâture. Ce risque varie cependant selon le type de travaux : alors que les constructions (implantation de poteaux téléphoniques, fosses septiques…) majorent ce risque, la mise en place de drainages ne semble pas l'influencer (Pirie, 2006), (Newton et al., 2004).

Le retrait mécanique des crottins est, pour les mêmes raisons, associé à un risque plus élevé de survenue de la maladie de l'herbe, contrairement au ramassage manuel (Pirie, 2006), (Newton et al., 2004).

c. Nature du sol et teneur en azote

En 2004, Newton et al. ont mis en évidence une variation significative de l'incidence de l'EGS selon le type de sol des pâtures (Newton et al., 2004). D'après leurs résultats, les sols sableux et le terreau sont plus à risque comparés aux terrains argileux. D'autre part, la prévalence de la maladie est significativement plus faible sur les sols crayeux et les autres types de sol. Les caractéristiques physiques des sols peuvent constituer une explication à ces observations : selon leur structure et leur compacité, les sols sont plus ou moins facilement remaniés, par les vers de terre ou encore lors de travaux, et donc plus ou moins propices à la remontée de *C. botulinum* à la surface et donc à la contamination des chevaux au pré.

Une concentration élevée en azote est associée à une augmentation de la pousse de l'herbe, donc une modification du régime alimentaire, lui aussi-facteur de risque.

d. Cas d'EGS antérieurs

L'existence de cas antérieur(s) d'EGS dans la pâture est reconnue comme facteur de risque dans les deux ans après le dernier cas (Lyle and Pirie, 2009; McCarthy et al., 2004a; Wood et al., 1998). Son importance est inversement proportionnelle à l'ancienneté du dernier cas (Newton et al., 2010).

e. Cohabitation avec d'autres espèces

Les oiseaux domestiques ou sauvages augmenteraient le risque. La présence de ruminants dans la même pâture semble être un élément protecteur, en réduisant par compétition la quantité d'herbe ingérée par les chevaux ; un mécanisme indirect d'élimination des parasites, bactéries et toxines par les ruminants pourrait aussi être impliqué (Newton et al., 2004).

3. Facteurs liés à l'individu

a. Age

Les chevaux les plus touchés sont âgés de deux à sept ans. Au-delà, les individus développent plus rarement la maladie, probablement à cause de la mise en place d'une immunité (Wood et al., 1998). Les poulains sont exceptionnellement touchés, vraisemblablement grâce au régime alimentaire pauvre en herbe et grâce aux anticorps colostraux (Wylie and Proudman, 2009).

Parmi les 1219 cas d'EGS rapportés au Royaume-Uni entre 2000 et 2009, l'âge moyen est de 7,5 ans, la médiane de 6 ans et le mode de 5 ans. Si seuls les animaux âgés de 9 ans ou moins sont pris en compte (n= 878), la moyenne et la médiane sont inférieures (5 ans), ce qui précise la répartition des cas, dont la grande majorité appartient à une tranche d'âge centrée sur 5 ans (Newton et al., 2010).

b. Etat d'engraissement

Selon l'étude de Doxey et al. menée en Ecosse en 1991 (Doxey et al., 1991a), les chevaux dont l'état d'embonpoint est bon voire excessif seraient plus à risque de développer l'EGS (Lyle and Pirie, 2009). Cependant, la significativité de cette association n'a pu être validée par Wood et al. lors de leur étude de cas menée au Royaume-Uni en 1998 (Wood et al., 1998). Pour expliquer ces différences, Wood et al. soulignent que dans l'étude de Doxey et al., la récolte des données relatives au cas n'a pas été réalisée lors de la déclaration du cas mais après, d'où un biais possible lié aux variations de la gestion du cheval et de son score corporel au cours des saisons.

c. Statut immunologique

Le risque de développer la maladie serait plus grand pour les individus ayant un faible taux d'anticorps vis-à-vis de *C. botulinum* type C et de la toxine BoNT/C. La faible quantité d'anticorps dirigés contre les antigènes de surface permettrait la prolifération de la bactérie, capable de produire la toxine BoNT/C dans certaines conditions. Cette toxine serait responsable de la destruction neuronale observée dans les ganglions du système nerveux autonome (McCarthy et al., 2004b).

4. Facteurs liés à la saison et au climat

L'incidence de la maladie est maximale d'avril à juin. Des cas ont cependant été rapportés tout au long de l'année, avec un second pic d'incidence en automne (Newton et al., 2010; Wylie and Proudman, 2009). Un épisode de températures froides (entre 7 et 11°C) et un temps sec avec des gelées dans les deux semaines précédentes semblent favoriser l'émergence de l'EGS (Lyle and Pirie, 2009).

L'identification de ces facteurs de risque a des applications pratiques pour la prévention de l'EGS par les propriétaires : identifier les pâtures à risque (ayant récemment été occupées par un ou plusieurs cas de dysautonomie équine) et prendre des précautions avec les chevaux destinés à occuper ces parcelles :

- ✓ éviter les changements alimentaires pendant le printemps et le début de l'été ;
- ✓ éviter les travaux sur la pâture ;
- ✓ bannir l'utilisation trop fréquente d'anthelminthiques.

Cependant, aucune méthode de prévention n'a été scientifiquement validée (Newton et al., 2010).

C. Mécanisme de contamination supposé

Parmi les facteurs de risque identifiés, certains peuvent être associés à un « retournement » du sol avec une contamination de l'herbe par de la terre, favorisant l'exposition des chevaux qui pâturent, à *Clostridium botulinum* qui réside dans le sol (Lyle and Pirie, 2009).

Différents paramètres peuvent favoriser l'exposition des chevaux à la bactérie :

- les sols à base de terreau, plus facilement travaillés que les sols crayeux
- des pluies récentes et le ravinement
- l'activité des espèces vivant dans le sol, comme les taupes ou les vers de terre
- le retrait mécanique des crottins
- le pâturage intensif (herbe rase)
- les travaux de terrassement.

III. CLINIQUE

A. Formes cliniques

Il existe trois formes cliniques d'EGS : aiguë, subaiguë et chronique. Bien que cette distinction soit basée sur la durée d'évolution, elle reflète en réalité davantage la sévérité des symptômes, en lien avec le degré d'atteinte neuronale. Exception faite des trémulations musculaires, les signes cliniques de la dysautonomie équine résultent majoritairement d'un dysfonctionnement du système nerveux autonome (incluant le système nerveux entérique). Actuellement, les facteurs déterminant la sévérité et la durée d'évolution de la maladie restent incompris (Lyle and Pirie, 2009).

1. Forme aiguë

D'évolution très rapide, elle conduit à la mort ou à l'euthanasie (pour des raisons économiques ou médicales) dans les quarante-huit heures suivant l'apparition des symptômes (Pirie, 2006).

2. Forme subaiguë

Les signes cliniques sont similaires mais de sévérité moindre : cette forme résulte probablement une atteinte neuronale moins importante que dans la forme aiguë. Le pronostic

vital est sombre et requiert souvent l'euthanasie dans les deux à sept jours suivant l'apparition des symptômes (Lyle and Pirie, 2009; Wylie and Proudman, 2009).

3. Forme chronique

Plus insidieuse, cette forme évolue généralement sur plus de sept jours, avec dans certains cas, une rémission complète grâce à des soins intensifs. Les individus atteints adoptent rapidement une posture caractéristique : diminution du polygone de sustentation et abdomen levretté (Lyle and Pirie, 2009).

B. Signes cliniques

Dans le tableau 1 sont mentionnés en italique les éléments distinguant la forme subaiguë de la forme aiguë.

Tableau 1 : Signes cliniques associés aux formes aiguë, subaiguë et chronique d'EGS, d'après (Lyle and Pirie, 2009; Pirie, 2006; Wylie and Proudman, 2009).

	forme aiguë/*subaiguë*	**forme chronique**
- SYMPTOMES GENERAUX -		
Posture	normale	diminution du polygone de sustentation
Abattement	profond	modéré
Paraphimosis	absent	fréquent chez les entiers
Sudation (*)	localisée ou généralisée	localisée
Trémulations musculaires	triceps, quadriceps et flancs	triceps, quadriceps et flancs
Piloérection	peu fréquente	peu fréquente
Ptose palpébrale	bilatérale	bilatérale
Rhinite sèche	rare	fréquente
Congestion des muqueuses	présente, avec un pouls jugulaire faible	absente
Déshydratation	marquée	légère
Température rectale	normale à augmentée	normale (voire faiblement augmentée)
Tachycardie	marquée (70 à 120 bpm)	légère à modérée (50 à 60 bpm)
- SYMPTOMES DIGESTIFS -		
Silhouette abdominale	parfois distension abdominale	émaciation, abdomen levretté
Douleur abdominale	coliques continues ou intermittentes, douleur légère à modérée	absente ou intermittente et peu marquée
Anorexie	totale	partielle
Dysphagie	marquée	degré variable
Hypersalivation	fréquente et importante	rare
Bruits digestifs (iléus)	souvent totalement absents	diminués
Reflux gastrique	très abondant, *rare dans la forme subaiguë*	absent
Palpation transrectale	distension généralisée de l'intestin grêle*; impaction secondaire du gros côlon*; présence de boules de matières fécales sèches avec enduit blanchâtre dans le rectum	anses digestives souples et vides ; fèces rares, déshydratées et couvertes de mucus dans le rectum

(*) La sudation concerne avant tout la base des oreilles, l'encolure, les flancs et la base de la queue ; elle s'intensifie en cas d'excitation ou d'anxiété (Lyle and Pirie, 2009).

IV. PATHOGENIE

A. Mécanisme d'action des toxines de *Clostridium botulinum*

Le sérotype C produit trois toxines : C1 ou « BoNT/C », C2 et C3. BoNT/C inhibe la libération d'acétylcholine dans les synapses cholinergiques (Hunter et al., 1999). Sa toxicité a été démontrée *in vitro* sur des neurones de souris (Williamson and Neale, 1998) et de rats (Osen-Sand et al., 1996). Alors que les autres neurotoxines clostridiennes ne font que bloquer la transmission neuronale, BoNT/C peut induire une véritable dégénérescence (Williamson et al., 1995). Les toxines C2 et C3 sont capables de provoquer des désordres structuraux en agissant sur le cytosquelette des cellules. Des études ont montré qu'*in vitro*, C3 pourrait aussi engendrer une dégénérescence neuronale (Williamson and Neale, 1998).

B. Anatomo-pathologie

1. Atteinte du système nerveux

a. Type de lésions

Les neurones des systèmes nerveux périphérique (incluant le système entérique) et central sont touchés. La perte de la substance de Nissl, responsable d'une éosinophilie cytoplasmique, est caractéristique de l'EGS (chromatolyse). Elle est généralement accompagnée de modifications nucléaires : excentricité, pycnose et caryorrhexie. La présence de corps d'inclusion éosinophiliques dans ou adjacents au périkaryon et la vacuolisation du cytoplasme sont également rapportées (Pirie, 2006), (Hahn et al., 2001).

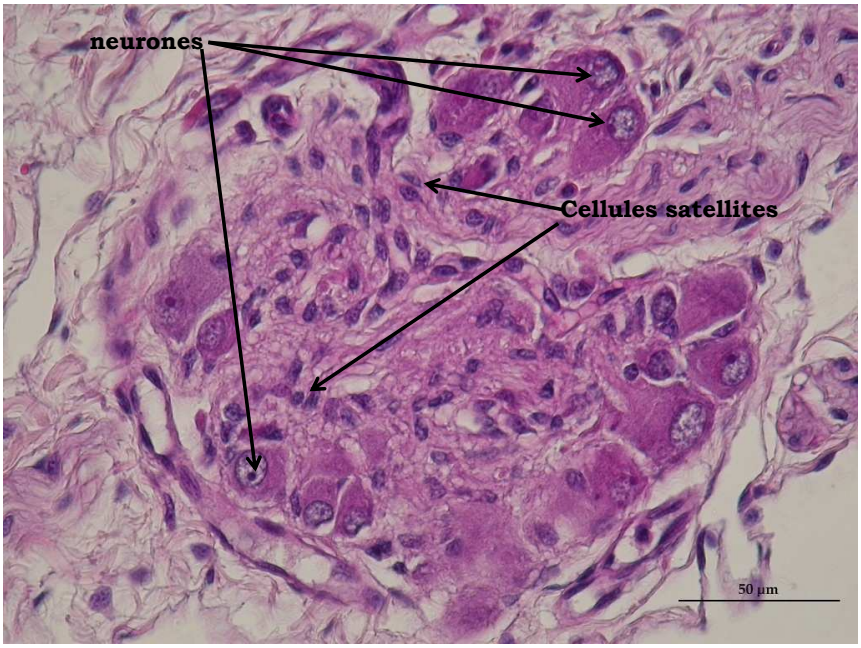


Photo 1 : Plexus nerveux intestinal chez un cheval sain, coloration hémalun-éosine. (photo : Pr. P. BELLI)

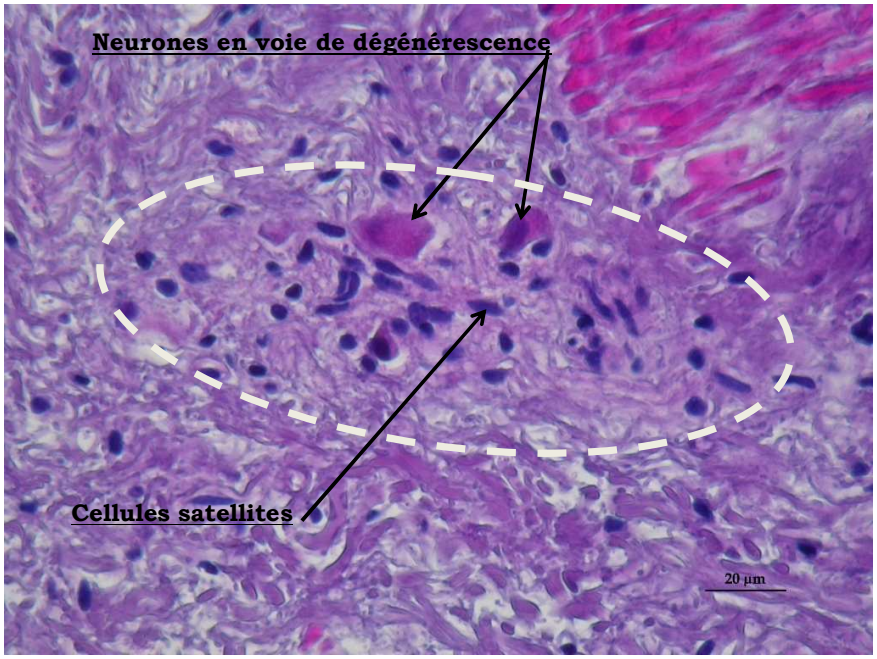


Photo 2 : Dégénérescence neuronale observable dans le plexus nerveux intestinal chez un cheval atteint d'EGS, coloration hémalun-éosine. (photo : Pr P. BELLI)

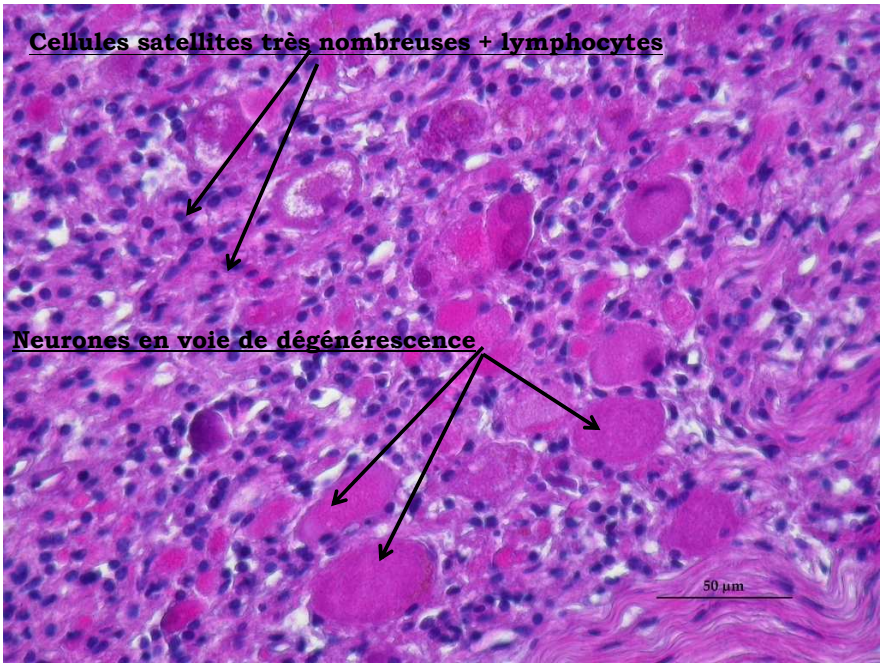


Photo 3 : Dégénérescence observable dans un ganglion nerveux de la chaîne paravertébrale chez un cheval atteint d'EGS, coloration hémalun-éosine. (photo : Pr. P. BELLI)

b. Lésions du système nerveux autonome

Les lésions concernent en premier lieu les ganglions du système nerveux autonome : ganglions pré-vertébraux (coeliaco-mésentérique, mésentériques crânial et caudal) et para-vertébraux (étoilé, cervical crânial et caudal, chaîne sympathique thoracique), ainsi que les neurones entériques (plexus muqueux et myentériques) (Pirie, 2006), (Cottrell et al., 1999).

En 2001, Hahn et ses collaborateurs ont décrit la distribution très spécifique des lésions du cerveau et de la moelle épinière chez les chevaux atteints : neurones de la corne intermédio-latérale de la moelle épinière (83% des cas), noyaux moteurs somatique (58% des cas) et autonome (44% des cas) du nerf crânien III, noyau moteur du nerf V (39% des cas), noyau du nerf VI (31% des cas), noyau moteur somatique du nerf VII (51% des cas), noyau moteur autonome du nerf X (28% des cas), noyau du nerf XII (34% des cas), neurones moteurs périphériques médullaires (35% des cas) (Hahn et al., 2001), (Pirie, 2006).

Une analyse quantitative a mis en évidence que le degré d'altération neuronale des ganglions coeliaco-mésentériques était moindre dans les formes de courte durée (Pogson et al., 1992), (Doxey et al., 1992), (Pirie, 2006). Par ailleurs, la corrélation entre la sévérité des dommages neuronaux dans les plexus myentériques et sous-muqueux du jéjunum et la gravité du dysfonctionnement gastro-intestinal a été démontrée (Pogson et al., 1992; Scholes et al., 1993b), (Pirie, 2006) .

c. Lésions du système nerveux somatique

Des lésions des neurones moteurs périphériques somatiques sont fréquemment rapportées. Elles suggèrent l'implication du système somatique (ou système moteur périphérique) dans la pathogénie de l'EGS (Hahn et al., 2001; Pirie, 2006), . De plus, certains signes cliniques sont communs à l'EGS et à la maladie du neurone moteur (MND) : amaigrissement marqué, amyotrophie, tremblements musculaires et abdomen levretté. Or la MND est liée à un dysfonctionnement du système nerveux somatique, objectivable par

électromyographie. En observant des anomalies du tracé de l'EMG des muscles d'individus atteints d'EGS, Wijnberg et al. ont apporté un argument supplémentaire en faveur de l'implication du système nerveux somatique dans la pathogénie de l'EGS (Wijnberg et al., 2006).

Ainsi, d'un point de vue purement neuro-anatomique, la maladie de l'herbe ne peut être considérée comme une simple dysautonomie, mais constitue une atteinte à la fois des systèmes nerveux périphériques autonome et somatique.

2. Atteinte hépatique

Bien que l'étio-pathogénie de l'EGS repose essentiellement sur des anomalies des systèmes nerveux autonome et périphérique, le foie semble être aussi touché. Marrs et al. ont confirmé l'existence de d'anomalies histologiques du foie et des voies biliaires lors d'EGS, quelle que soit la forme clinique.

a. Type de lésions

Différentes lésions ont été mises en évidence (Marrs et al., 2001):

- augmentation de la taille des hépatocytes et de leur noyau, conséquences potentielles de l'action d'une hépato-toxine.
- vacuolisation, témoin d'une stéatose. Celle-ci pourrait avoir plusieurs causes :
  - inhibition de la synthèse des lipoprotéines par altération du réticulum endoplasmique, à l'image des lésions observées dans les neurones
  - hyperlipémie : lors d'EGS, la douleur liée à la distension gastrique, la faim due à la paralysie du tractus gastro-intestinal et l'augmentation massive de la concentration plasmatique en adrénaline sont probablement responsables d'une hyperlipémie.
  - action d'une hépatotoxine
- dépôts intrahépatocytaires de pigments bruns/dorés, thrombi canaliculaires et dépôts dans les cellules de Kuppfer, indicateurs d'une cholestase.
- infiltration lymphocytaire notamment en région péri-portale et présence de neutrophiles, en faveur d'une cholestase extra-hépatique.
- présence de neutrophiles (cholangite).

b. Mécanismes en cause

Différentes hypothèses peuvent être avancées pour expliquer l'atteinte hépatique lors d'EGS : action d'une hépato-toxine primaire, production d'une hépato-toxine secondaire aux perturbations du tractus gastro-intestinal (hépatite réactionnelle non spécifique) ou encore dysfonctionnement du foie secondaire à une altération de son innervation. En effet, le foie est innervé par des fibres sympathiques et parasympatiques provenant des ganglions coeliaques et du nerf vague antérieur et postérieur, respectivement. L'innervation autonome contrôle notamment le flux sanguin circulant dans le foie et influe donc sur son métabolisme. Ainsi, les variations de l'atteinte hépatique selon les individus pourraient être expliquées par le degré d'altération du ganglion coeliaco-mésentérique.

C. Mécanismes à l'origine des signes cliniques observés

1. Signes cliniques généraux

a. Trémulations musculaires

Les trémulations musculaires sont généralement continues lors du décubitus (Divers et al., 1997). Elles pourraient être dues à une légère myasthénie, mais leur étiologie précise reste inconnue (Pirie, 2006) .

b. Ptose palpébrale

La ptose palpébrale résulte d'une incapacité à maintenir la paupière dans sa position normale. Deux mécanismes peuvent en être à l'origine : une parésie des muscles palpébraux ou un déplacement du globe dans l'orbite. Parmi les muscles palpébraux, le muscle de Müller est le principal muscle lisse ; il est innervé par des fibres sympathiques post-ganglionnaires et participe au relever de la paupière supérieure (Hahn and Mayhew, 2000).

La ptose palpébrale est fréquemment bilatérale lors d'EGS, quelle que soit la forme clinique. Au vu des modifications histologiques sévères observées dans le ganglion cervical crânial des chevaux atteints, la ptose palpébrale semble due à une altération de l'innervation sympathique, provoquant une parésie du muscle de Müller (Hahn and Mayhew, 2000).

Elle ne persisterait pas chez les individus qui parviennent à guérir (Hahn and Mayhew, 2000).

Photo 4: Ptose palpébrale bilatérale chez un cheval atteint d'EGS
(photo : G. PERTRIAUX)

c. Rhinite sèche

La rhinite sèche se définit par une sécheresse des muqueuses et une inflammation des cavités nasales ; elle est couramment observée dans les formes chroniques d'EGS et en constitue un signe d'appel (Pirie, 2006; Wylie and Proudman, 2009). Elle se caractérise par un jetage nasal bilatéral de mucus solide, ou par l'accumulation de moulages de mucus sec adhérents à la muqueuse du septum et des cornets nasaux. Lorsque l'atteinte est sévère, l'obstruction des cavités nasales peut entraîner une augmentation des bruits inspiratoires et expiratoires. L'étiologie de la rhinite sèche est mal connue, mais semblerait liée à une interférence avec le contrôle autonome des sécrétions nasales (Pirie, 2006; Prince et al., 2003). Les individus atteints de formes aiguë ou subaiguë présentent parfois un léger dessèchement de la muqueuse nasale (Lyle and Pirie, 2009).

Photo 5: Rhinite sèche visualisée à l'examen endoscopique des voies respiratoires supérieures chez un cheval atteint de dysautonomie équine (photo : Dr M. NOLF)

d. Déshydratation

La déshydratation serait due à la fois à la diminution de la prise de boisson liée à la dysphagie (Lyle and Pirie, 2009; Marrs et al., 1999) et à l'iléus, qui empêche la progression des matières et des fluides jusque dans le caecum et le côlon, sites majeurs de réabsorption d'eau (Doxey et al., 1991b).

e. Tachycardie

Une tachycardie persistante peut être observée dans toutes les formes d'EGS, moins sévère dans la forme chronique que dans les formes aiguë ou subaiguë (Hudson and Pirie, 2005; Pirie, 2002). La pathophysiologie sous-jacente reste obscure : le rôle de l'hypovolémie et de la douleur a été suggéré (Hudson and Pirie, 2005; Sharp, 1987). Cependant, la douleur abdominale chez les chevaux atteints d'EGS aiguë est faible à modérée, sans rapport avec le degré de tachycardie (Lyle and Pirie, 2009; Pirie, 2002). Dans les formes chroniques, la douleur peut être présente mais reste faible et intermittente ; de légers signes de colique peuvent se manifester après la prise de nourriture (Lyle and Pirie, 2009; Pirie, 2002).

Par ailleurs, la faible amélioration clinique fréquemment observée après la décompression gastrique suggère une probable altération des mécanismes de la nociception (Cottrell et al., 1999). La tachycardie pourrait donc être une conséquence des dysfonctionnements nerveux décrits (Barlow, 1969; Gilmour, 1973; John et al., 2001; Obel, 1955)

Le taux élevé de catécholamines dans le sang pourrait également contribuer à maintenir une fréquence cardiaque élevée (Hudson and Pirie, 2005).

2. Signes cliniques digestifs

a. Dysphagie

La dysphagie peut être difficile à objectiver dans les formes aiguës, car une anorexie est souvent présente. Certains chevaux « jouent » avec l'eau par frustration. Dans les cas d'EGS chronique, le degré de dysphagie est un indicateur pronostique intéressant (Lyle and

Pirie, 2009). Le mécanisme neuro-pathologique à l'origine de la dysphagie fréquemment observée lors d'EGS est peu connu. Des études basées sur l'utilisation de la radiographie avec produit de contraste suggèrent que cette anomalie est liée à un dysfonctionnement de l'œsophage, résultant probablement de lésions du noyau du nerf vague (Greet and Whitwell, 1986; Pirie, 2006). Cependant, la difficulté à déglutir et l'écoulement de salive observés dans les cas de dysphagie majeure suggèrent l'existence d'une composante pharyngée supplémentaire, elle aussi imputable à des lésions des noyaux des nerfs X et/ou IX (Pirie, 2006). Des complications peuvent apparaître (pneumonie par fausse déglutition, obstruction oesophagienne…).

b. Iléus

L'absence de bruits digestifs -ou ileus- est un élément important à considérer. Il résulte d'un dysfonctionnement du système nerveux entérique (Wylie and Proudman, 2009) : la baisse de la motilité gastro-intestinale observée lors d'EGS peut être expliquée par la perte du contrôle nerveux intrinsèque et/ou extrinsèque, résultant de lésions des noyaux du nerf vague et de la destruction de neurones des plexus entériques. De plus, la perte de neurones dans les ganglions para-vertébraux et pré-vertébraux contribuerait également à perturber la motilité gastro-intestinale (Pirie, 2006).

c. Reflux gastrique

Dans les formes aiguës de dysautonomie, de grands volumes de reflux sont généralement produits (supérieurs à 12L de liquide à odeur fétide). Le reflux peut être spontané ou provoqué par le sondage naso-gastrique. Attention, l'absence de reflux lors de l'intubation ne doit pas conduire à exclure l'hypothèse d'EGS, notamment dans les cas aigus pour lesquels l'obstruction intestinale est très récente. En effet, le volume de reflux reflète la durée d'évolution et le degré de l'iléus (Lyle and Pirie, 2009; Wylie and Proudman, 2009)

d. Palpation transrectale

La forme aiguë de la dysautonomie équine est caractérisée par un iléus de l'intestin grêle, avec une dilatation des anses papable lors de l'examen transrectal. La difficulté est alors de différencier l'EGS des autres causes d'obstruction de l'intestin grêle. Lorsque la maladie évolue sur quelques jours, des matières fécales dures et sèches s'accumulent dans le côlon, donnant la sensation « ondulée » du côlon à la palpation transrectale (Wylie and Proudman, 2009). Dans les formes chroniques, la palpation transrectale ne révèle pas de distension de l'intestin grêle, ni d'impaction du gros intestin (Lyle and Pirie, 2009).

e. Distension abdominale

La distension abdominale qui accompagne parfois les formes aiguës de maladie de l'herbe peut être expliquée par le tympanisme du gros intestin secondaire à l'iléus (Pirie, 2006).

Dans les formes chroniques, l'émaciation est en général rapide et marquée. Le cheval présente alors un abdomen levretté.

Photo 6 : Cachexie et abdomen levretté chez un cheval atteint de la forme chronique de l'EGS (photo : G. PERTRIAUX)

V. DIAGNOSTIC

Le diagnostic *ante-mortem* de l'EGS est généralement un diagnostic de suspicion, fondé sur la combinaison d'éléments épidémiologiques, anamnestiques et cliniques. La réalisation d'un examen clinique complet est indispensable, de part la diversité des signes potentiellement observables chez les animaux atteints. Cet examen doit inclure une palpation transrectale et un sondage nasogastrique en cas de coliques. Il n'existe cependant aucun tableau clinique typique de l'EGS. Certains signes sont évocateurs des formes subaiguë et chronique : la rhinite sèche, pathognomonique de la forme chronique selon certains auteurs (Pirie, 2006) ; l'abdomen fortement levretté, la pseudo-impaction du côlon par des matières sèches et dures, lui donnant un aspect ondulé à la palpation dans la forme subaiguë. L'observation de fèces noirâtres coiffées de mucus est un indice intéressant.

A l'heure actuelle, l'analyse histologique *post-mortem* des ganglions autonomes représente le *gold standard* pour le diagnostic de certitude. En *ante-mortem*, la lecture histologique des plexus entériques de biopsies iléales réalisées lors de laparotomie est la méthode diagnostique la plus fiable (Milne et al., 2010).

Ainsi, c'est souvent l'expérience professionnelle qui permet au praticien d'émettre une suspicion d'EGS, au regard des seuls éléments anamnestiques et cliniques (Milne et al., 1991; Pirie, 2006).

A. Examens complémentaires de première intention

1. Test à la phényléphrine

a. Intérêt diagnostique

Lors d'EGS, l'administration de phényléphrine dans l'oeil provoque une contraction des muscles lisses, et lève la ptose palpébrale fréquemment observée. En effet, la contraction de ces muscles résulte principalement de l'activation d'un adréno-récepteur α-1. Or la phényléphrine est un agoniste α-1-adrénergique, dont l'utilisation permet d'objectiver les dysfonctionnements du système nerveux autonome (Hahn and Mayhew, 2000).

b. En pratique…

i. Réalisation

Ce test consiste à instiller 0,5 mL d'une solution de phényléphrine (Néosynéphrin® 10%) diluée à 0,5% dans les sacs conjonctivaux de l'un des deux yeux. Des clichés photographiques sont réalisés avant le test et après 30 minutes ; deux critères sont à évaluer :

- l'ouverture palpébrale
- l'angle formé entre les cils et la cornée, en comparant avec l'œil non traité.

ii. Avantages

Ce test non invasif est facile à réaliser, et ne nécessite pas de matériel particulier. Il peut permettre de mettre en évidence la ptose palpébrale lorsque celle-ci n'a pas été notée lors de l'examen clinique.

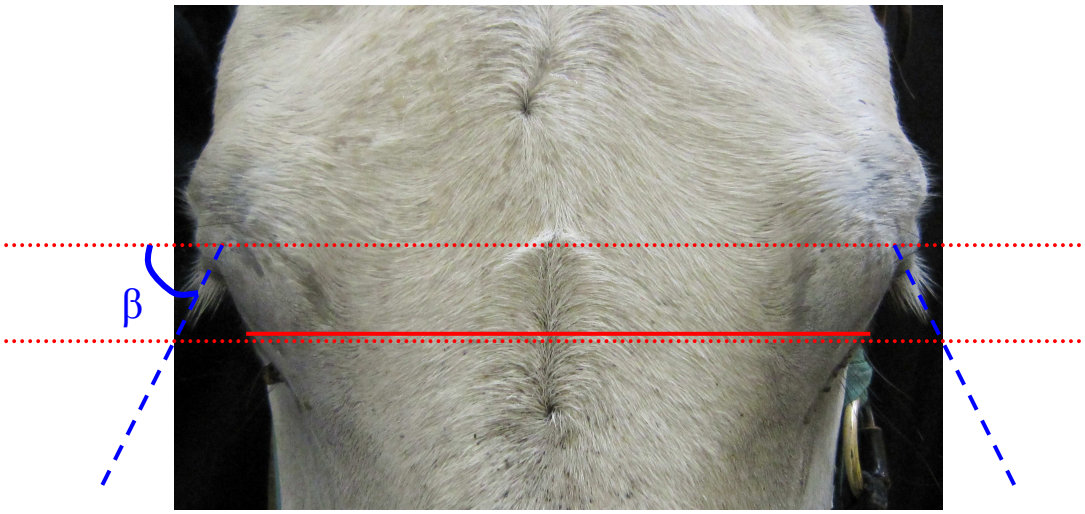
iii. Limites

Ce test n'est pas spécifique de la maladie de l'herbe, puisqu'il est également positif chez les animaux atteints de botulisme, ou encore chez les chevaux sédatés, même plusieurs heures avant (Duong, 2010).

c. Résultats attendus en cas d'EGS

La réponse au test à la phényléphrine s'évalue par la mesure de l'angle des cils (*cf photo 7,* angle β : formé entre la ligne passant par les canthi médiaux des yeux et les cils). La comparaison de l'œil traité avec l'œil témoin montre une différence significative : l'ouverture palpébrale est plus importante pour l'oeil traité (angle β') que pour l'œil « témoin » (angle β). Hahn et Mayhew suggèrent comme valeur de référence une différence minimale de 22° entre les angles mesurés entre les deux yeux.

(a)



(b)

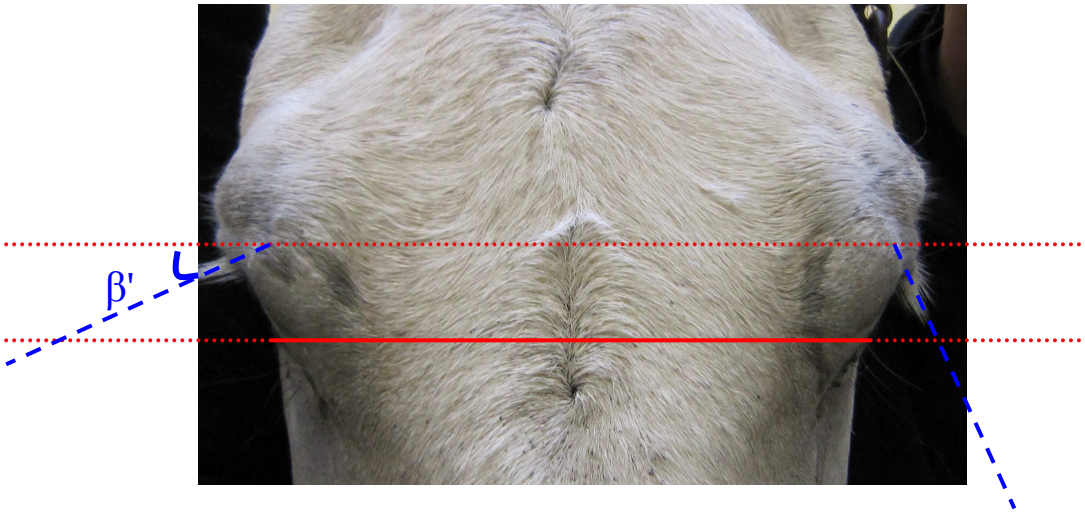


Photo 7 : Mesure de l'angle des cils avant (a) et après (b) l'instillation de phényléphrine dans l'œil droit chez un cheval atteint d'EGS. (photo : G.PERTRIAUX)

Il n'existe pas de lien entre la sévérité et/ou la durée d'évolution de la maladie de l'herbe et la réponse à l'application locale de phényléphrine (Hahn and Mayhew, 2000).

La différence significative de réponse à l'administration locale de phényléphrine entre les individus atteints d'EGS et les chevaux sains (Hahn and Mayhew, 2000) permet de conclure à l'utilité diagnostique de cet examen complémentaire, dont les résultats doivent toujours être remis dans le contexte clinique.

2. Analyses sanguines

Face à la difficulté du diagnostic de l'EGS sur des critères purement cliniques, les analyses sanguines pourraient constituer un outil diagnostic simple et rapide, à condition d'identifier des paramètres sensibles et spécifiques. Un certain nombre d'éléments ont été testés, relatifs à :

- la modification des protéines sériques,
- la destruction tissulaire, au stress et à la déshydratation,
- au déficit minéral ou vitaminique.

a. Modifications sériques

i. Protéines totales

La teneur en protéines sériques est intimement liée à l'état d'hydratation ; elle n'apporte aucune aide dans le diagnostic (Doxey et al., 1991b).

ii. Catécholamines sanguines, cortisol et ACTH

Certains signes cliniques observables lors d'EGS sont compatibles avec l'hyperactivité du système sympathico-adrénergique et le stress : sudation, fasciculations musculaires et tachycardie. La réponse à un stress peut être évaluée en dosant l'hormone corticotrope (ACTH), le cortisol et les catécholamines sériques. L'étude menée en 1986 par Hodson, Wright et Hunt a révélé une augmentation de ces paramètres chez les chevaux atteints des formes aiguë et subaiguë de l'EGS. Le stress est probablement responsable de l'hyperactivité de ce système mais il reste difficile de savoir s'il est une simple conséquence ou un acteur dans la pathogénie de l'EGS (Hodson et al., 1986).

iii. Haptoglobine et orosomucoïde

L'haptoglobine est une glycoprotéine qui se complexe à l'hémoglobine lors d'hémolyse intra-vasculaire pour limiter la perte en fer. Sa concentration est nettement augmentée chez les chevaux atteints d'EGS, mais aussi lors d'inflammation.
L'orosomucoïde (ou alpha1-glycoprotéine acide) a une fonction immuno-modulatrice qui a été étudiée chez l'homme et chez le chien. Chez ce dernier, elle augmente après une intervention chirurgicale par exemple. Sa valeur est majorée lors d'EGS ou d'inflammation chez le cheval. Cependant, son rôle n'a pas été étudié dans l'espèce équine, donc l'interprétation du dosage reste limitée (Milne et al., 1991).
L'augmentation des concentrations en haptoglobine et en orosomucoïde pourraient être expliquées par l'élévation de la cortisolémie observée lors d'EGS, par analogie avec les mécanismes étudiés dans les espèces canine et porcine (Milne et al., 1991). Des investigations supplémentaires seraient nécessaires pour pouvoir confirmer ces hypothèses et faciliter l'interprétation de ces dosages.
A l'heure actuelle, les catécholamines, l'haptoglobine et l'orosomucoïde ne sont pas dosés en pratique dans l'espèce équine.

L'association d'un hématocrite supérieur à 40%, d'une concentration sanguine en urée supérieure à 10mmol/L (0,6g/L) et d'une cortisolémie supérieure à 400nmol/L est très en faveur d'une forme aiguë de maladie de l'herbe (Doxey et al., 1991b; Greig, 1942; Holman, 1940; Wylie and Proudman, 2009). Ces paramètres sont moins fiables lorsqu'ils sont utilisés individuellement.

b. Fonction hépatique

Alors qu'aucun témoin de destruction tissulaire hépatique ou intestinale n'avait été identifié par Doxey et al. en 1991 (Doxey et al., 1991b), des concentrations en enzymes hépatiques nettement supérieures à la normale ont été détectées chez un petit nombre d'animaux atteints d'une forme aiguë très sévère d'EGS. Dix ans après, Marrs et al. ont mis en évidence une augmentation significative des concentrations sériques en enzymes hépatiques et en bilirubine, témoins d'un dysfonctionnement du foie, même dans les premiers stades de l'EGS (Marrs et al., 2001) :

- concentration en bilirubine non conjuguée (BnC) significativement augmentée, quelle que soit la forme clinique. Deux mécanismes peuvent expliquer cette modification :

une crise hémolytique ou une atteinte hépatique. Cette dernière hypothèse semble être la plus probable, puisqu'il n'existe aucun argument en faveur d'une hémolyse.

- concentration plasmatique en bilirubine conjuguée (BC) significativement supérieures chez les animaux atteints de formes aiguë et subaiguë
- teneur en acides biliaires augmentée chez quelques cas (quelle que soit la forme clinique), indicateurs de cholestase.
- concentration en glutamate déshydrogénase (GLDH) significativement plus élevée chez les individus atteints de formes aiguë et subaiguë, témoin d'une cytotoxicité hépatocellulaire.
- concentration plasmatique en aspartate transaminase (AST) significativement majorée chez les individus atteints de forme subaiguë. L'AST étant présente dans presque tous les tissus, l'hypothèse d'une origine extra-hépatique ne doit pas être négligée, comme une crise hémolytique ou des dommages musculaires squelettiques et/ou cardiaque. Compte tenu de l'absence d'arguments en faveur de ces deux mécanismes, l'atteinte hépatique semble être la cause de l'élévation des AST lors d'EGS.

c. Déficit minéral ou vitaminique

i. Magnésium, vitamines E et B12

Aucun déficit en magnésium n'a été constaté ; il en est de même pour les vitamines E et B12 chez les chevaux atteints de la forme aiguë de l'EGS (Doxey et al., 1991b). Cette observation confirme l'hypothèse selon laquelle l'EGS touche les individus en bon état général, plutôt que les chevaux mal entretenus ou débilités.

ii. Sélénium

Le dosage de la glutathion peroxydase (GSH-Px), enzyme séléno-dépendante, constitue une méthode de dosage indirecte du sélénium, basée sur la relation linéaire entre l'activité GSH-Px et la teneur en sélénium dans le sang. Il existe une différence marquée entre les chevaux en box et ceux qui pâturent, chez lesquels sa valeur est plus faible.

Cependant, aucun lien n'a été mis en évidence entre le statut d'un animal vis-à-vis de l'EGS et la valeur de GSH-Px (Doxey et al., 1991b). Ce dosage n'a donc aucune utilité dans le diagnostic d'EGS.

Au bilan, aucun de ces paramètres biochimiques n'est pathognomonique de la maladie de l'herbe. L'association de modifications de l'hématocrite, de l'urée et du cortisol sanguins peut renforcer une suspicion, basée avant tout sur les observations anamnestiques, épidémiologiques et cliniques.

3. Paracentèse abdominale

a. Intérêt diagnostique

Le liquide péritonéal est un ultra-filtrat sanguin : chez les individus sains, il est jaune pâle voire jaune paille et limpide (Krawiecki and Arnauld des Lions, 1999) ; les valeurs du pH et des électrolytes sont similaires à celles du plasma, tandis que le taux protéique est plus faible (Milne et al., 1990a).

Son aspect macroscopique et sa composition sont modifiés en cas de lésions des viscères abdominaux, notamment de la paroi intestinale (Krawiecki and Arnauld des Lions, 1999; Milne et al., 1990a). A cet égard, l'analyse du liquide péritonéal aide au diagnostic différentiel des affections abdominales du cheval (Milne et al., 1990a) et permet de

différencier les coliques médicales des coliques chirurgicales. En première intention, l'aspect macroscopique et le taux protéique sont les deux paramètres à étudier.

b. En pratique …

i. Réalisation

La paroi abdominale ventrale est ponctionnée un travers de main en arrière de l'appendice xiphoïde, sur la ligne blanche (ou légèrement plus à droite), après tonte et préparation chirurgicale de la zone. Le liquide doit être recueilli dans un tube sec.

ii. Avantages

La paracentèse abdominale est un examen simple, peu invasif et facile à mettre en œuvre.

iii. Limites

Le praticien doit veiller à ne pas ponctionner les intestins (notamment le côlon ou le caecum). A cet égard, un contrôle échographique préalable peut être utile pour repérer une zone de présence de liquide et donc le site de ponction.

Une ponction sèche doit être interprétée avec prudence : elle peut être due à un matériel inadapté (longueur insuffisante de l'aiguille) ou à la présence de graisse péritonéale abondante gênant la ponction Par ailleurs, il est souvent impossible de recueillir du liquide lors d'EGS, à cause de la stase intestinale ou encore lorsque le liquide péritonéal est présent en faible quantité (Krawiecki and Arnauld des Lions, 1999).

c. Caractéristiques du liquide lors d'EGS

i. Aspect

Chez les chevaux atteints de maladie de l'herbe, le liquide de paracentèse est en général jaune foncé voire orangé, mais non sanguinolent, à la différence de cas de coliques chirurgicales (Milne et al., 1990a). Cette coloration pourrait être associée à l'augmentation de la concentration sérique en bilirubine observée lors d'EGS et, dans une moindre mesure, à l'état de déshydratation. L'aspect macroscopique doit cependant être interprété avec précaution, notamment parce que la contamination par du sang lors de la ponction est fréquente.

ii. Composition

L'étude de Milne, Doxey et Gilmour (Milne et al., 1990a) révèle une augmentation de la densité et du taux protéique du liquide péritonéal dans les formes aiguë et subaiguë d'EGS (respectivement supérieurs à 1,015 et 25g/L) avec des valeurs non significativement différentes de celles observées dans les cas de coliques chirurgicales. La cause de cette modification reste indéterminée, même si la déshydratation joue certainement un rôle.

L'activité de la phosphatase alcaline et de son iso-enzyme intestinale, mesurée dans le sérum ou dans le liquide péritonéal, est un indicateur de destruction cellulaire ' : elle est significativement plus élevée dans les cas de coliques chirurgicales que dans les cas d'EGS (Milne et al., 1990a).

Par ailleurs, le comptage des globules blancs n'est d'aucune utilité pour différencier les cas d'EGS des autres cas de coliques : le comptage ne révèle en effet aucune différence significative (Milne et al., 1990a).

Le liquide péritonéal des chevaux atteints d'EGS (forme aigue ou subaiguë) se distingue de celui des chevaux présentant des coliques chirurgicales par son apparence et la

plus faible activité de la PAL. L'augmentation de son taux protéique et de sa densité le différencie des cas de coliques médicales (Milne et al., 1990a). Par conséquent, la paracentèse abdominale apparaît comme un examen complémentaire intéressant à réaliser, à la suite d'un examen clinique complet et attentif. Cependant, ces résultats ne concernent que les formes aiguë et subaiguë, et l'intérêt de cet examen dans le diagnostic de la forme chronique n'a pas été évalué.

4. Analyses d'urines

a. Paramètres d'intérêt

L'étude de Fintl, Milne et McGorum (Fintl et al., 2002) montre que les valeurs de la densité urinaire, des protéines et de la créatinine urinaires sont significativement supérieures dans les formes aiguë et subaiguë d'EGS à celles des chevaux sains, tandis que le pH urinaire est significativement plus bas. Les chevaux atteints de la forme aiguë présentent également des concentrations urinaires en glucose plus élevées. Ces données peuvent aider au diagnostic de maladie de l'herbe, mais ne sont pas spécifiques de cette affection.

Nota bene : Les données suivantes ne concernent que les formes aiguë et subaiguë.

i. Densité

La déshydratation et l'augmentation des concentrations urinaires en protéines et en glucose lors d'EGS contribuent vraisemblablement à majorer la valeur de la densité urinaire (Fintl et al., 2002; Marrs et al., 1999),. Aucune valeur seuil de ce paramètre lors d'EGS n'est disponible.

ii. pH

L'abaissement du pH urinaire observable dans les cas d'EGS aigus et subaigus peut être expliqué par une alcalose métabolique hypochlorémique associée à une acidurie paradoxale, résultant de la séquestration de fluide acide riche en chlorures dans le tractus gastro-intestinal antérieur. Cette hypothèse est soutenue par la découverte d'une légère alcalose métabolique dans des cas d'EGS (Fintl et al., 2002).

iii. Protéines

La teneur urinaire en protéine est supérieure à 0,5g/L chez les chevaux atteints d'EGS. Cependant, la protéinurie peut avoir de multiples causes (glomérulonéphrites, inflammation du tractus urinaire….).

Lors d'EGS, la protéinurie être expliquée par la destruction tissulaire et la cachexie. La diminution de la perfusion rénale liée à la déshydratation peut également être impliquée , en permettant une fuite de macromolécules à travers les capillaires glomérulaires par ralentissement du flux sanguin (Fintl et al., 2002) . D'autres éléments peuvent intervenir : la modification de la pression hydrostatique dans les capillaires glomérulaires, la perméabilité du glomérule, ou la néphrose observée dans certains cas d'EGS (Whitwell, 1997).

iv. Glucose

La glycosurie pourrait être secondaire à une hyperglycémie (Fintl et al., 2002). Celle-ci peut être associée à une augmentation du cortisol et des catécholamines sanguins (Doxey et al., 1991a; Hodson et al., 1986), à une insulinorésistance périphérique (Milne et al., 1990b) et/ou à une néphrose (Whitwell, 1997). Bien que les valeurs de la glycosurie chez les chevaux sains et les cas d'EGS soient parfois proches, la valeur seuil de 28mmol/L (5g/L) peut être retenue : une teneur en glucose urinaire supérieure ou égale à cette valeur, associée à un

tableau clinique évocateur est un argument en faveur d'une forme aiguë d'EGS (Fintl et al., 2002).

v. Créatinine et cortisol

L'augmentation de la créatinine urinaire (supérieure à 37000 µmol/L soit 4.2mg/L) est probablement due à la déshydratation fréquemment observée lors d'EGS, mais aussi à l'augmentation du catabolisme musculaire. Il convient toutefois de préciser que cette valeur « seuil » est également atteinte chez des chevaux indemnes d'EGS, et que d'autres affections peuvent s'accompagner d'une élévation de la teneur urinaire en créatinine (Fintl et al., 2002).

L'étude de Chandler et Dixon (Chandler and Dixon, 2002) portant sur le ratio cortisol/créatinine urinaire chez des individus atteints d'hyper-adrénocorticisme en comparaison avec des chevaux sains et des cas d'EGS, a mis en évidence des concentrations en cortisol et en créatinine urinaires significativement plus élevées chez les cas d'EGS que dans les deux autres groupes. Le rapport cortisol/créatinine n'était cependant pas significativement différent entre les trois groupes.

vi. Bilirubine conjuguée

L'étude de Marrs et al (Marrs et al., 2001) a montré que la concentration en bilirubine conjuguée est significativement plus élevée chez les animaux atteints de formes aigue et subaiguë.

b. En pratique…

Les modifications décrites ci-dessus ne sont pas spécifiques de la maladie de l'herbe et n'ont été démontrées que dans les formes aiguës et subaiguës. Le praticien doit donc être prudent dans l'interprétation des résultats des dosages. Ces paramètres peuvent néanmoins apporter des arguments supplémentaires lors de suspicion.

Pratiques, les bandelettes urinaires sont très utilisées en pratique courante ; cependant, leur interprétation est à nuancer. En effet, les valeurs de densité, pH et protéines sont significativement plus basses lorsqu'elles sont ainsi mesurées, comparées aux valeurs rendues par les laboratoires.

Une phase préclinique de la maladie de l'herbe durant de deux à quinze jours a été suspectée; si tel était le cas, les paramètres urinaires cités ci-dessus, bien que non spécifiques de la maladie, pourraient constituer un signe d'appel précoce. L'analyse d'urine serait alors un outil de surveillance simple et rapide, permettant aux propriétaires de chevaux de prendre des mesures visant à limiter l'exposition à la toxine (retrait de la pâture) avant l'apparition des signes cliniques (Marrs et al., 1999). Cette hypothèse a cependant été remise en question et reste toujours discutée à l'heure actuelle.

5. Transit baryté et endoscopie de l'œsophage

a. Intérêt diagnostique

i. Transit baryté

L'EGS s'accompagne d'un dysfonctionnement oesophagien (Greet, 1982). Dans sa portion crâniale, la paroi de l'oesophage renferme du muscle strié, innervé par le « nucleus ambiguus ». Sa portion caudale, quant à elle, contient du muscle lisse, innervé par le noyau moteur dorsal du nerf vague. Ces deux portions ont de plus un plexus myentérique intra-pariétal. Lors d'EGS, la dégénérescence neuronale est susceptible de toucher tout ou partie de ces zones (Gilmour, 1973).

Greet et Whitwell ont étudié la nature et les conséquences de cette anomalie, en utilisant le transit baryté et l'endoscopie. Une étude antérieure (Greet, 1982) a permis

d'estimer à 4 à 10 secondes le temps de transit du produit de contraste dans l'œsophage. Dans l'étude de Greet et Whitwell (Greet and Whitwell, 1986), les résultats du transit baryté sont étroitement corrélés au diagnostic de certitude *post-mortem*. Deux types de dysfonctionnements sont observables grâce au transit baryté : soit le produit de contraste passe rapidement jusqu'à l'entrée du thorax où il s'accumule, parfois plus de dix minutes (dans certains cas, le produit s'accumule d'abord à mi-hauteur de l'œsophage cervical) ; soit la baryte chemine très lentement comme si seule la gravité intervenait, sans péristaltisme normal. Lors du passage de l'entrée du thorax jusqu'à l'estomac, la baryte passe directement ou s'accumule dans l'œsophage juste crânialement au diaphragme.
Un passage rétrograde de baryte est souvent observable depuis la portion distale jusqu'à l'entrée du thorax, ainsi qu'une dilatation de l'œsophage, mais pas de dysfonctionnement du pharynx (Greet and Whitwell, 1986).

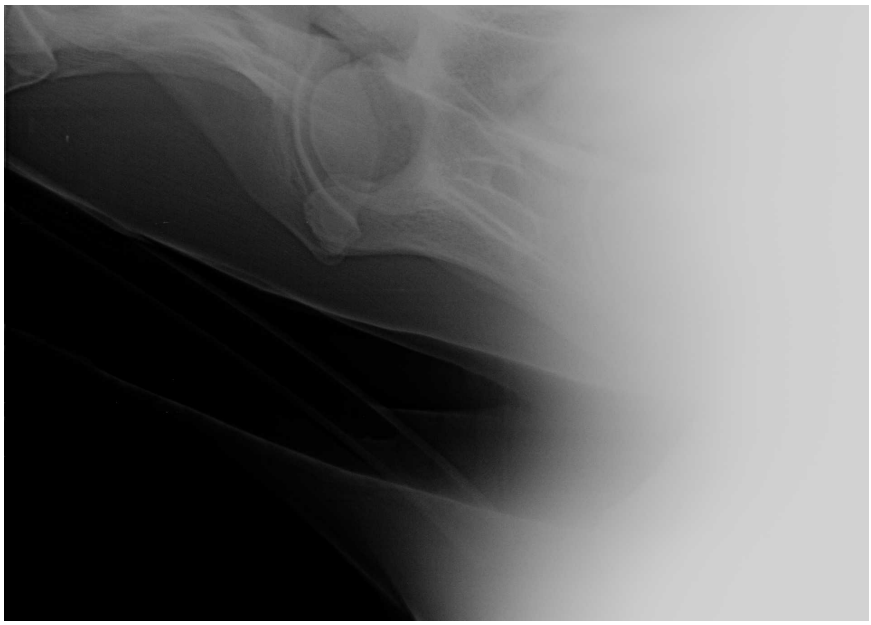


Photo 8 : Cliché radiographique réalisé lors d'un transit baryté chez un cheval atteint de la forme chronique de l'EGS : dilatation distale de l'œsophage avec accumulation liquidienne (ligne de niveau).
(photo : Service d'imagerie équine de VetAgro Sup)

ii. Endoscopie de l'œsophage

Les images endoscopiques corroborent les résultats du transit baryté quant à la motilité et au contenu de l'œsophage. Elles permettent également de visualiser directement les ulcérations liées au reflux, fréquentes lors d'EGS (Greet and Whitwell, 1986).

Le transit baryté semble donc être un outil intéressant face à une suspicion d'EGS, même si d'autres études seraient nécessaires pour préciser l'utilité diagnostique de cette technique.

b. Réalisation d'un transit baryté

Après administration *per os* de 60 mL de sulfate de baryum, suivre la progression du bolus jusqu'à l'estomac grâce à des clichés radiographiques de profil incluant le pharynx et les parties cervicale de l'œsophage jusqu'à l'entrée du thorax ; si l'appareil est suffisamment puissant, inclure des radiographies du thorax.

c. Avantages et limites sur le terrain

Le transit baryté et l'endoscopie sont des actes qui nécessitent d'avoir un matériel d'imagerie sur le terrain ou d'amener le cheval à la clinique. Peu invasifs, ils sont généralement bien tolérés ; toutefois, une bonne contention et une tranquillisation sont nécessaires pour assurer la sécurité des manipulateurs et du matériel. Cette dernière peut néanmoins compliquer l'interprétation des clichés.

L'interprétation du transit baryté peut être délicate et nécessite une certaine habitude afin de détecter les artéfacts liés au produit de contraste.

B. Examens complémentaires de seconde intention

1. Electromyographie

a. Intérêt diagnostique

L'analyse quantitative d'électromyogrammes (EMG) est utilisée en médecine vétérinaire depuis les années 1970 dans le diagnostic des neuropathies et myopathies comme la MND (Wijnberg et al., 2006).

L'électromyographie permet d'explorer l'activité électrique des cellules musculaires au repos ou en contraction, d'évaluer les lésions des neurones moteurs périphériques ou de la plaque motrice et enfin de préciser la localisation des altérations et donc d'affiner le pronostic (Furr and Reed, 2008).

Lors d'EGS, certains signes cliniques sont liés à une atteinte des neurones moteurs périphériques : amaigrissement, amyotrophie et trémulations musculaires. La réalisation d'EMG semble donc pouvoir être un outil diagnostic intéressant.

b. Réalisation

i. Préparation du cheval

L'électromyographie se réalise sur cheval debout, maintenu dans un travail. Une légère tranquillisation est recommandée (alpha2-agonistes associés ou non à du butorphanol). Une anesthésie générale peut toutefois être nécessaire si les mouvements du cheval gênent l'enregistrement de l'EMG. Attention, les risques de chute au réveil sont majorés lors d'atteinte neuromusculaire, de part la parésie généralement présente (Furr and Reed, 2008).

ii. Réalisation de l'examen

Le recueil préalable de l'anamnèse, l'examen clinique et neurologique complets permettent de cerner les groupes musculaires à explorer. Lors de faiblesse musculaire généralisée, il est recommandé d'explorer les principaux muscles extrinsèques des membres thoraciques et pelviens, ainsi que des muscles paravertébraux (Duong, 2010).

Dans leur étude (Wijnberg et al., 2006), Wijnberg et al. ont choisi de pratiquer l'électromyographie sur les muscles subclavier, triceps et vaste latéral.

c. Interprétation

i. Lecture d'un EMG

Le tracé de l'EMG se compose de potentiels d'action d'unité motrice ou MUP (Motor Unit action Potentials). Les MUP sont des contractions musculaires réflexes ou volontaires

qui surviennent après insertion de l'électrode dans le muscle. Ils représentent la somme de plusieurs potentiels de fibres musculaires appartenant à la même unité motrice. La description des MUP repose sur cinq critères : durée, amplitude, phases, changements de direction et modalités de recrutement (Wijnberg et al., 2006).

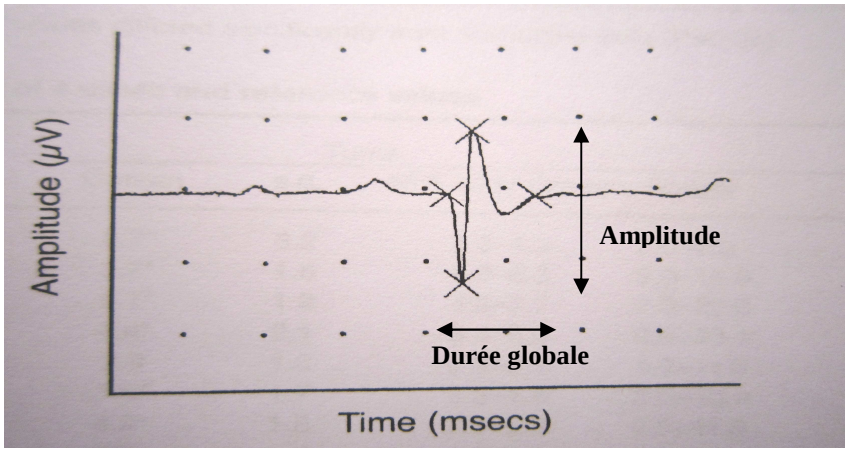


Figure 1 : Exemple de potentiel d'action musculaire normal enregistré dans le muscle subclavier, d'après (Wijnberg et al., 2006).

ii. Valeurs de référence

Les valeurs de référence des MUP diffèrent selon les muscles.
Cliniquement, la durée et le nombre de phases des MUP sont des critères plus intéressants que l'amplitude, car celle-ci varie selon les muscles, mais aussi selon la position de l'électrode et l'âge de l'individu. Les MUP « normaux » durent 3 à 10ms, ont une amplitude d'environ 1500µV (de 500 à 3000µV) et sont mono-, bi-, ou tri-phasiques. Physiologiquement, quelques MUP ayant plus de 4 phases peuvent être observés dans les muscles squelettiques (Furr and Reed, 2008).

iii. Modifications observables lors d'EGS

L'étude de Wijnberg (Wijnberg et al., 2006) révèle des anomalies sur l'EMG de chevaux atteints d'EGS :

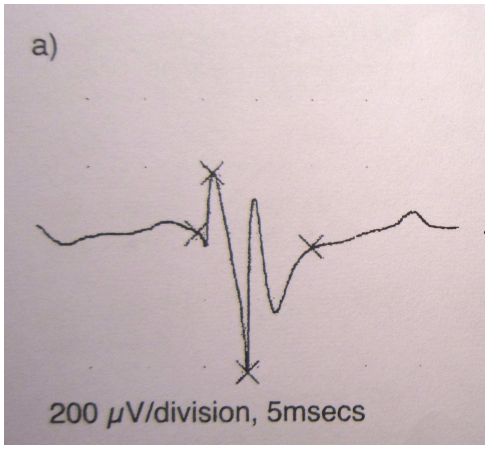


Figure 2 : MUP enregistré dans le muscle subclavier d'un cheval atteint d'EGS, présentant une augmentation de durée (10,4ms), d'amplitude (600V), du nombre de phases (5) et de changements de direction (5), d'après (Wijnberg et al., 2006).

➢ Durée des MUP et nombre de changements de direction significativement plus élevés, témoins d'une hyper-irritabilité et d'une instabilité de la membrane cellulaire. Ces anomalies semblent suggérer un phénomène de dénervation précoce ; elles peuvent également être observées lors de myopathies (Furr and Reed, 2008).

➢ Nombre de MUP poly-phasiques plus important ; ces MUP résultent d'une perte diffuse de fibres musculaires et témoignent du recrutement d'un nombre de potentiels d'action supérieur à la normale. Chez l'homme, ces MUP sont observables lors de certaines myopathies et parfois lors de dénervation précoce incomplète. Malheureusement, peu de données sont disponibles sur les MUP poly-phasiques lors d'affections musculaires chez le cheval (Furr and Reed, 2008).

Ces anomalies ne sont pas spécifiques de l'EGS et sont plus fréquemment observées lors de MND : l'extension des lésions des neurones moteurs périphériques est en effet plus importante dans cette affection que lors d'EGS (Wijnberg et al., 2006).

d. Bilan

Face à un amaigrissement ou à un syndrome colique, l'association de signes cliniques caractéristiques d'une atteinte du système nerveux autonome et la mise en évidence de modifications musculaires neurogènes grâce à un EMG permettraient de distinguer une origine nerveuse d'une cause alimentaire primaire. Le caractère peu invasif de cet examen le rend particulièrement intéressant. Cependant, d'autres recherches sont nécessaires pour préciser l'implication du système somatique dans la pathogénie de l'EGS et ainsi confirmer ou infirmer l'utilité de l'EMG dans le diagnostic de la maladie, sachant que cet examen complémentaire requiert un matériel et une compétence particulière pour son interprétation, qui le rendent peu accessible en pratique courante (Wijnberg et al., 2006).

2. Analyses bactériologiques

a. Recherche de l'agent étiologique potentiel dans les matières intestinales, données bibliographiques

i. Recherche de la toxine BoNT/C

L'étude de Hunter, Miller et Poxton a montré qu'il existe une forte association entre la présence de la neurotoxine BoNT/C dans le tractus gastro-intestinal et le diagnostic clinique de la maladie de l'herbe (Hunter et al., 1999). La toxine peut être recherchée par la méthode ELISA dans le contenu iléal ou les fèces.

L'interprétation des résultats doit être nuancée ; d'abord parce que la toxine BoNT/C peut être détectée dans les matières fécales d'animaux sains et ensuite parce qu'il existe des faux-négatifs (Hunter et al., 1999). La sensibilité du test ELISA employé peut être incriminée : compte-tenu de la grande sensibilité des chevaux aux toxines botuliques, une très faible dose pourrait suffire à engendrer des signes cliniques, sans être détectable expérimentalement. D'autre part, une absorption rapide, une destruction par des protéases ou encore une neutralisation de BoNT/C par des anticorps localement présents dans la muqueuse peuvent être suspectées. Enfin, le stade évolutif de la maladie lors du prélèvement pourrait influencer les résultats, notamment dans les formes chroniques dont la durée peut être de quelques semaines à plusieurs mois.

Malgré ces limites d'interprétation, la recherche *ante- ou post-mortem* de la toxine dans les matières fécales ou le contenu iléal semble être un outil diagnostic intéressant.

ii. Recherche de la bactérie

La difficulté de la culture et de l'isolement de *C. botulinum* type C dans le contenu intestinal limitent l'utilisation de la bactériologie dans le diagnostic de la maladie (Hunter et al., 1999).

b. Recherche de l'agent étiologique potentiel par le laboratoire de référence en France : l'Institut Pasteur

Lors de suspicion de botulisme, le laboratoire de référence utilise une méthode différente du test ELISA évoquée précédemment pour rechercher *C. botulinum* types C et D et ses toxines. Par analogie, la même méthode - décrite ci-dessous - est employée lors de suspicion d'EGS.

i. Dans le sérum : recherche des toxines C et D

Un groupe de souris saines (groupe 1) est inoculé avec le sérum équin suspect et un second groupe (groupe 2) est inoculé avec un mélange composé du même sérum équin suspect et de sérum neutralisant C ou D. Dans le groupe 1, on observe l'apparition de symptômes du botulisme. Dans le groupe 2, aucun symptôme n'est observé si la toxine a été neutralisée, c'est-à-dire si le « bon » sérum neutralisant (C ou D) a été utilisé.
Il faut toutefois noter que lorsque les quantités de toxines C ou D sont très faibles, il existe une neutralisation « croisée » et l'identification du type de toxine est faussée.

ii. Dans le contenu intestinal : recherche de la bactérie

- ✓ Technique

La culture de *C. botulinum* ne constitue pas une difficulté majeure pour l'Institut Pasteur et, contrairement aux conclusions de Hunter, Miller et Poxton (Hunter et al., 1999), la recherche de la bactérie est tout à fait utilisable comme outil diagnostique.

Les matières intestinales sont mises en culture trois ou quatre jours en conditions anaérobies, puis une recherche de la bactérie par PCR est réalisée. Le surnageant est utilisé pour détecter la présence de la toxine, (et donc indirectement, de la bactérie) selon la méthode décrite ci-dessus pour le sérum.

Les toxines C2 et C3 produites spécifiquement par *C. botulinum* type C ne sont pas recherchées par l'Institut Pasteur.

- ✓ Prélèvement

Il doit être effectué de façon à éliminer tout risque de contamination par la flore commensale. Il doit être maintenu à l'abri de l'air, et être mis en culture le plus rapidement possible. Le temps de transport au laboratoire devra donc être réduit au maximum. Les milieux recommandés pour l'ensemencement sont la gélose profonde, la boite au sang sous sachet de type *Anaerogen Compact, Anaerocult P (Merk)* ou système similaire (Institut Pasteur).

La recherche peut également être réalisée *post-mortem*, à condition que l'animal soit mort depuis moins de six heures. Il est recommandé de prélever environ 20 ml de contenu d'une anse d'intestin grêle dans une seringue. Si le contenu n'est pas suffisamment liquide, il est possible de prélever les matières avec une spatule et les disposer dans un pot à coproculture, un milieu de transport, ou un milieu de culture pour anaérobies. Les conditions de conservation et d'envoi sont identiques à celles présentées ci-dessus.

3. Dosage des anticorps

Le dosage d'anticorps sériques dirigés contre les antigènes de surface de *C. botulinum* type C ou contre la neurotoxine BoNT/C est possible. Cependant, ces anticorps sont détectables à la fois chez des chevaux sains et malades (Hunter and Poxton, 2001; Wylie and Proudman, 2009), et l'interprétation des valeurs reste difficile.

4. Exploration de la cavité abdominale

a. *Lésions macroscopiques*

Les observations diffèrent selon les formes cliniques (Wylie and Proudman, 2009).

i. Forme aiguë

Les lésions macroscopiques observables dans la forme aiguë de l'EGS résultent d'un dysfonctionnement gastro-intestinal majeur, avec dilatation importante de l'estomac et de l'intestin grêle par un liquide malodorant de couleur vert-marron en l'absence d'obstruction physique, ainsi qu'une accumulation de matières déshydratées dans le caecum et le côlon (empreintes des haustrations intestinales). Des érosions longitudinales et des ulcérations de la paroi oesophagienne distale peuvent être également observées, en lien avec le reflux (Pirie, 2006; Whitwell, 1997).

ii. Forme subaiguë

Les chevaux atteints de la forme subaiguë présentent un état d'embonpoint diminué, une distension modérée de l'estomac et de l'intestin grêle, ainsi qu'une impaction sévère du gros intestin (notamment du côlon ventral gauche) (Pirie, 2006). Le contenu du caecum et du côlon est très ferme, généralement recouvert d'un enduit noir et adhérent à la muqueuse superficielle (pseudo-impaction) (Whitwell, 1997; Wylie and Proudman, 2009) (*cf photo 9*).

Photo 9 : Contenu intestinal impacté, sec et recouvert d'un enduit noirâtre chez un cheval atteint de la forme subaiguë de l'EGS. (photo : Dr M. NOLF)

L'examen de la muqueuse nasale révèle fréquemment la présence de blocs de mucus solides, caractéristiques de la rhinite sèche. Une bronchopneumonie par fausse déglutition est parfois observable, conséquence de la dysphagie (Pirie, 2006).

iii. Forme chronique

Les lésions sont généralement discrètes dans les cas chroniques ; mis à part la rhinite sèche, l'élément le plus évocateur est la cachexie, souvent associée à la vacuité du tractus digestif (Pirie, 2006). D'autres lésions non spécifiques peuvent être présentes (splénomégalie, adénomégalie…) (Whitwell, 1997).

b. Techniques disponibles

L'observation des lésions décrites ci-dessus peut être faite en *ante-mortem* grâce à une laparotomie exploratrice voire une coelioscopie, ou *post-mortem*, à l'autopsie.

i. Laparotomie exploratrice

✓ Intérêt :

La forme aiguë de la maladie de l'herbe a souvent un tableau clinique très proche d'autres causes de coliques aiguës nécessitant une intervention chirurgicale précoce (notamment l'obstruction de l'intestin grêle). Le vétérinaire dispose de peu de temps pour émettre un diagnostic. La laparotomie exploratrice permet de visualiser directement l'état de la cavité abdominale et les éventuelles altérations : à ce titre, elle est principalement indiquée afin d'exclure d'autres hypothèses diagnostiques (Hudson and Pirie, 2005; Lyle and Pirie, 2009; Wylie and Proudman, 2009).

✓ Limites :

Cet examen reste peu employé dans le diagnostic *ante-mortem*, notamment lors de formes subaiguës ou chroniques : contrairement à la forme aiguë, leurs tableaux cliniques ressemblent peu à celui d'affections pouvant nécessiter une intervention chirurgicale immédiate. De plus, elles présentent souvent des signes cliniques spécifiques facilitant le diagnostic différentiel (Hudson and Pirie, 2005): rhinite sèche, abdomen levretté, palpation transrectale ondulée avec impaction du gros intestin (Pirie, 2002).

Par ailleurs, certains praticiens demeurent réticents à l'égard de la laparotomie exploratrice, dont le caractère invasif pourrait assombrir le pronostic vital des animaux. En effet, une intervention chirurgicale constitue un risque supplémentaire (Hudson and Pirie, 2005; Lyle and Pirie, 2009; Milne et al., 1994), notamment au regard des complications possibles : déhiscence de plaies, hernies, adhérences abdominales…Cependant, selon l'étude de Hudson et Pirie (Hudson and Pirie, 2005), la réalisation d'une biopsie de l'iléon par laparotomie est de courte durée et ne semble pas altérer le potentiel de guérison des individus (Proudman, 2005).

Enfin, le coût d'une intervention chirurgicale peut être un frein pour le propriétaire.

ii. Cœlioscopie

✓ Intérêts :

Chez l'homme, cette technique chirurgicale est utilisée pour réaliser des biopsies intestinales, nécessaires au diagnostic de nombreuses affections. Par analogie, cette technique a été expérimentée et développée chez le cheval (Bracamonte et al., 2008).

La coelioscopie exploratrice offre une excellente observation de la cavité abdominale. A cet égard, elle est utilisée comme aide au diagnostic lors de coliques aiguës ou chroniques, lorsque les investigations cliniques (palpation transrectale, hématologie, échographie, paracentèse abdominale, gastroscopie) ne suffisent pas. Cette technique permet d'obtenir un diagnostic précis ou d'écarter des hypothèses diagnostiques (rupture intestinale, torsion…), tout en limitant l'effraction abdominale, les complications per et postopératoires, la durée de convalescence et le coût (Bracamonte et al., 2008).

Face à une suspicion de forme aiguë d'EGS, la coelioscopie semble être une alternative de choix à la laparotomie. L'état clinique étant souvent précaire, le risque lié à l'anesthésie est important et dissuade de nombreux praticiens. La coelioscopie pouvant être réalisée sur cheval couché ou debout, elle rend possible l'observation de la cavité abdominale et la réalisation de biopsies, à moindre risque.

✓ Limites :

Cette technique requiert une très grande technicité du chirurgien et nécessite un matériel spécialisé et onéreux, c'est pourquoi elle reste peu utilisée.

iii. Autopsie

Le vétérinaire est fréquemment amené à procéder à l'euthanasie de l'animal, face à la dégradation rapide de son état, notamment dans les formes aiguës ou subaiguës. Dans certains cas, le praticien est directement confronté à un animal mort. L'établissement du diagnostic d'EGS *post-mortem* est utile, afin de mettre en place des mesures visant à limiter l'exposition des autres chevaux aux éventuels facteurs de risque.

L'autopsie est alors la première étape : l'observation directe des grandes cavités permet soit d'exclure l'hypothèse d'EGS par l'observation d'anomalies autres expliquant la mort de l'animal, soit au contraire de renforcer la suspicion.

Si l'observation de lésions macroscopiques évocatrices grâce à une laparotomie, une coelioscopie ou encore lors de l'autopsie renforce une suspicion, elle ne suffit pas à établir le diagnostic d'EGS. Dans un second temps, des prélèvements doivent être réalisés en vue d'une analyse histologique, permettant d'obtenir un diagnostic de certitude.

C. Diagnostic de certitude : histologie

A l'heure actuelle, la mise en évidence de lésions de chromatolyse du système nerveux autonome constitue l'unique méthode diagnostique de référence de l'EGS (Wylie and Proudman, 2009). Différents prélèvements *ante-* et/ou *post-mortem* ont été proposés.

1. Biopsies iléales, prélèvements *ante-mortem* de référence

L'analyse histologique des plexus entériques à partir de biopsies iléales est aujourd'hui la méthode diagnostique *ante-mortem* la plus fiable.

a. Sites de prélèvement

Vis-à-vis de l'hypothèse selon laquelle l'EGS serait associée à la colonisation du tractus intestinal par *C. botulinum* type C avec production locale de toxines responsables de dommages neuronaux sévères dans le système nerveux entérique (Hunter et al., 1999), il paraît intéressant de pratiquer des biopsies dans cette région (Scholes et al., 1993a; Whitwell, 1997). Cependant, les altérations neuronales associées à l'EGS ne sont pas uniformément réparties le long du tractus digestif. Bien que l'iléon soit généralement le plus sévèrement touché (Scholes et al., 1993b), quelques cas ont été rapportés, chez lesquels la portion du tractus digestif la plus gravement atteinte était le jéjunum (Doxey et al., 1995b; Milne et al., 2010).

Face à l'existence de quelques cas pour lesquels cette méthode diagnostique s'est révélée incertaine, Milne et al. ont mené une étude en 2010, portant sur la valeur diagnostique des biopsies iléales et jéjunales dans le diagnostic *ante-mortem* de l'EGS. Celle-ci a montré que l'analyse histologique de coupes d'iléon de 1cm de longueur fixées dans le formol a une sensibilité et une spécificité de 100% et confirme ainsi la valeur diagnostique de cet examen (Milne et al., 2010).

Les biopsies jéjunales ont une valeur diagnostique inférieure : même si la sensibilité de l'analyse histologique de coupes de jéjunum de 1cm de longueur fixées dans le formol est de 100%, la spécificité reste inférieure à 87%, même en augmentant la taille ou le nombre de coupes.

b. Technique

La technique décrite par Scholes et al. (Scholes et al., 1993a) consiste à réséquer une ellipse d'environ 15mm*10mm à l'extrémité proximale de la jonction iléo-caecale, à mi-distance des bords mésentérique et anti-mésentérique. Le prélèvement doit être immédiatement placé dans un fixateur.

Selon l'étude de Milne *et al (Milne et al., 2010)*, la taille optimale des coupes histologiques est de 1cm et le fixateur optimal est le formol. La rapidité est une caractéristique essentielle pour qu'un examen complémentaire soit intéressant sur le terrain ; or la fixation par le formol est relativement lente, comparée à la cryogénie par exemple. L'étude de Milne et al. a comparé ces deux méthodes de fixation. Si la sensibilité de l'analyse histologique de coupes d'iléon fixées par cryogénie est identique à celle de coupes fixées par le formol (100%), sa spécificité reste inférieure et n'excède pas 82%. Dans les plexus entériques, les artéfacts de congélation peuvent être difficiles à différencier des altérations cellulaires liées à la dégénérescence, d'où le manque de spécificité de la fixation par cryogénie. Ainsi cette méthode plus rapide engendre des faux-positifs, et peut mener à des euthanasies par excès. Par ailleurs, des procédés utilisant les micro-ondes ont été mis au point pour accélérer la fixation par le formol, désormais possible en moins de 3 heures. Celle-ci semble ainsi être la meilleure méthode en vue du diagnostic de l'EGS.

La coloration utilisée est l'hémalun-éosine (Scholes et al., 1993a).

La réalisation de biopsies iléales fixées dans le formol est donc la méthode de choix pour obtenir un diagnostic de certitude et permet notamment de différencier une impaction primaire de l'iléon d'une impaction secondaire à l'EGS, et enfin de reconnaître les formes atypiques de la maladie (Scholes et al., 1993a).

Un prélèvement supplémentaire de jéjunum n'a aucun intérêt.

2. **Biopsie rectale**

a. Intérêt diagnostique

Des lésions de chromatolyse ont été observées dans les plexi nerveux de la sous-muqueuse rectale de chevaux atteints d'EGS (Doxey et al., 1995b; Scholes et al., 1993b; Wales and Whitwell, 2006). L'analyse histologique de biopsies rectales a été proposée comme outil diagnostique *ante-mortem*, aux vues de ses nombreux avantages : rapidité, caractère peu invasif et faible coût (Wales and Whitwell, 2006).

b. Anomalies mises en évidence lors d'EGS

i. Etude quantitative

Contrairement à ce qui est observé dans l'intestin grêle ou le gros intestin des chevaux atteints d'EGS (Scholes et al., 1993b), aucune perte neuronale importante ne semble être notable dans les plexus de la sous-muqueuse rectale (Wales and Whitwell, 2006). Le nombre de neurones n'est donc pas un critère intéressant à considérer.

ii. Etude qualitative

Une étude morphologique pourrait en revanche être intéressante : la chromatolyse complète aurait une valeur diagnostique. Il faut cependant être prudent et éviter les faux-positifs, car un diagnostic d'EGS positif aboutit généralement à l'euthanasie de l'animal. L'observation de vacuolisation ou de pâleur du cytoplasme, d'hyperchromatisme nucléaire ou de caryopycnose sont caractéristiques d'une dégénérescence neuronale, mais non spécifiques de la maladie de l'herbe, sauf en cas de chromatolyse complète (Schusser and White, 1997; Wales and Whitwell, 2006). D'après l'étude Wales et Whitwell (Wales and Whitwell, 2006), l'observation d'au moins trois neurones en chromatolyse complète serait diagnostique avec une sensibilité de 71% et une spécificité de 100%.

Il n'existerait pas de lien entre la sensibilité de cette méthode et la forme de la maladie : des faux-négatifs sont présents dans chacune des formes aiguë, subaiguë et chronique (Wales and Whitwell, 2006).

c. Réalisation

i. Rappels anatomiques et sites de prélèvement

Il existe deux plexus nerveux dans la sous-muqueuse rectale (Scholes et al., 1993b). La biopsie permet de prélever le plexus interne, adjacent à la muqueuse et, moins fréquemment, le plexus externe accolé à la musculeuse.

L'étude de Wales et Whitwell (Wales and Whitwell, 2006) montre qu'il n'existe pas de répartition systématique des neurones dans la sous-muqueuse rectale. Ainsi aucun site préférentiel n'est indiqué pour maximiser le nombre de neurones observables par champ, mais la qualité du prélèvement doit être optimale. L'étude histologique d'un seul échantillon de paroi rectale prélevé *post-mortem* s'est révélée décevante. Ainsi, il est conseillé de réaliser au minimum deux biopsies, afin d'augmenter la probabilité d'observer des lésions neuronales.

ii. Technique

Aucune anesthésie n'est nécessaire en principe, mais une légère sédation est recommandée.

Après avoir vidangé le rectum, l'opérateur saisit entre le pouce et l'index les replis de muqueuse situés à 10h00 et à 14h00 et effectue les prélèvements 10 à 20cm crânialement aux marges de l'anus, à l'aide d'une pince à biopsie utérine. Celle-ci doit être neuve ou bien aiguisée, afin de limiter le risque de déchirure de la muqueuse.

Photo 10 : Réalisation d'une biopsie de muqueuse rectale.
(photo : Pr. A. LEBLOND, VetAgroSup)

Les prélèvements doivent être placés immédiatement dans le formol, puis envoyés au laboratoire pour analyse histologique après coloration à l'hémalun-éosine.

d. En pratique…

L'étude de Wales et Whitwell montre que la biopsie rectale a une valeur diagnostique inférieure à celle de la biopsie iléale, avec une sensibilité de 71%. Cependant, l'association des deux méthodes paraît intéressante : en effet, la laparotomie exploratrice nécessaire au prélèvement de biopsies iléales est un acte invasif, coûteux et chronophage, contrairement à la biopsie rectale. Dotée d'une excellente spécificité, celle-ci pourrait être envisagée en première intention et complétée par une biopsie iléale en cas de résultat négatif (Milne et al., 2010). Cependant, le manque de recul sur cette méthode impose la prudence dans l'interprétation des résultats (Wylie and Proudman, 2009).

En pratique, bien que sa réalisation n'exige aucune compétence particulière, la biopsie rectale est peu pratiquée par les vétérinaires, en raison du risque de déchirure de la muqueuse rectale.

3. <u>Prélèvements à l'autopsie</u>

a. Sites

Lors d'EGS, l'altération des neurones concerne l'ensemble du système nerveux *(cf IV. B.1.).* Ainsi, différents sites de prélèvement sont possibles. Le Laboratoire de Pathologie Equine de Dozulé (ANSES : Agence Nationale Sanitaire et l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail) utilise classiquement :

- l'iléon,
- le ganglion coeliaco-mésentérique

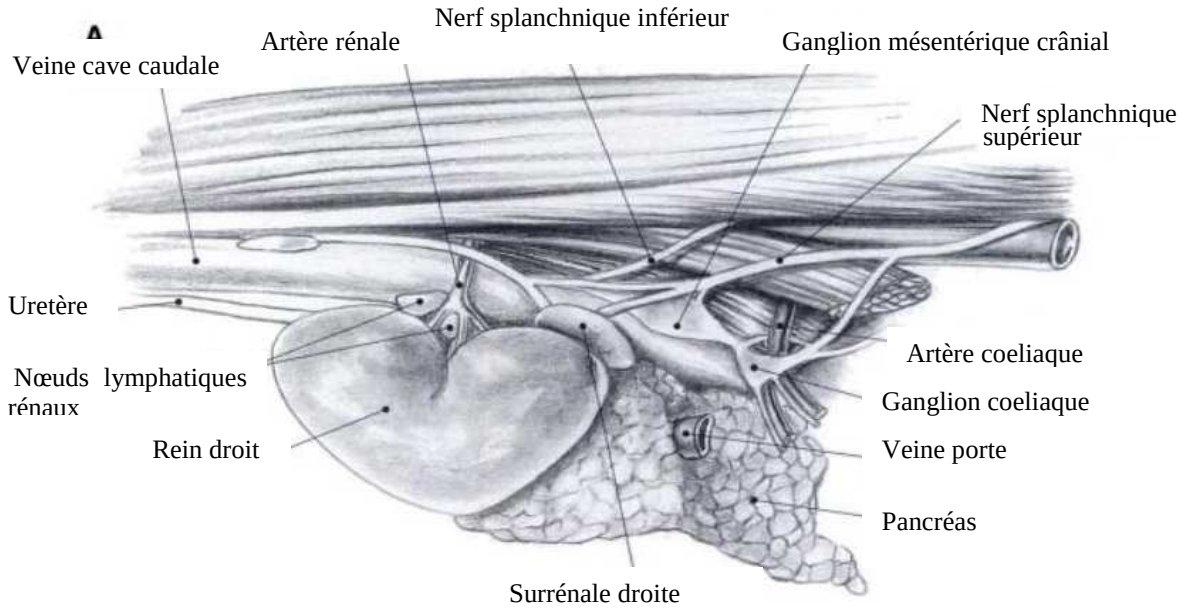
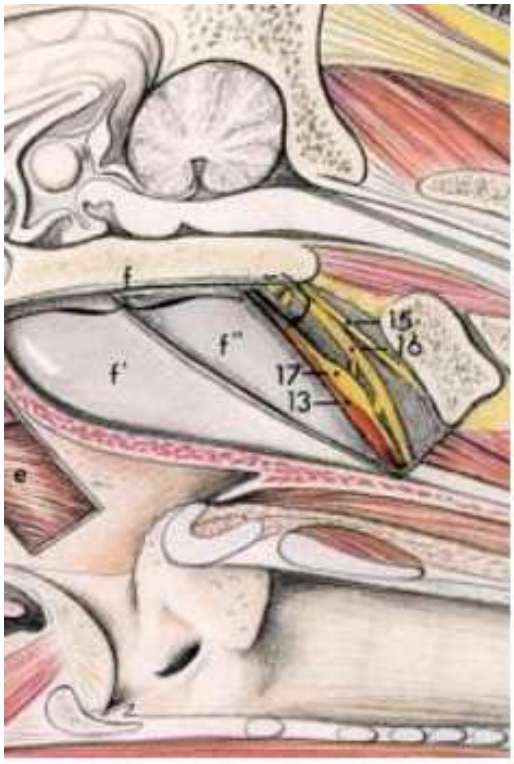


Figure 3 : <u>Localisation du ganglion coeliaco-mésentérique chez le cheval, d'après (Constantinescu and Constantinescu, 2004).</u>

- le ganglion cervical crânial, même si ce prélèvement offre moins de chances de trouver des lésions neuronales que le ganglion cœliaco-mésentérique. Ce ganglion est situé contre la paroi caudale de chacune des poches gutturales.



e : muscle palato-pharyngien
f : poches gutturales
f' : septum médian
f '' : compartiment médial

13 : artère carotide interne
15 : nerf accessoire (XI)
16 : nerf vague (X)
17 : tronc sympathique et ganglion cervical crânial

Figure 4 : Localisation du ganglion cervical crânial chez le cheval, d'après (Budras et al., 2003).

- Le Laboratoire d'Anatomie Pathologique de Vetagro-sup (Lyon) prélève systématiquement la chaîne para-aortique et la paroi du caecum pour des raisons de commodité.

b. Techniques de prélèvement utilisées par le laboratoire de Pathologie Equine de Dozulé

i. Prélèvement de la zone incluant le ganglion coeliaco-mésentérique

1. Après avoir retiré le tube digestif sans aller profondément entre les reins, éviscérer ceux-ci ensemble en longeant le rachis de façon à prélever en même temps les muscles petits psoas

2. Couper transversalement jusqu'au rachis en avant et en arrière des reins

3. Dégager un rein puis poursuivre entre les reins en profondeur en longeant le rachis pour terminer en dégageant l'autre rein

4. Disposer les reins à plat, les surrénales face à vous (le rein droit à gauche et le rein gauche à droite) afin de prélever la zone incluant le ganglion nerveux cœliaco-mésentérique qui se trouve sous le pôle crânial de la glande surrénale gauche

5. Inciser de la façon suivante :

- horizontalement à mi-hauteur de la glande surrénale gauche
- en suivant longitudinalement l'aorte abdominale à gauche de la glande surrénale gauche

- au sein du rein gauche en préservant uniquement 3 à 4 cm de celui-ci à droite de la glande surrénale gauche.

ii. Prélèvement du ganglion cervical supérieur

Pour prélever l'un des deux ganglions, il est nécessaire de désarticuler la tête du cadavre au niveau de l'articulation atlanto-occipitale. Le bord ventral de la paroi caudale de la poche gutturale est ensuite incisé. Le ganglion mesure entre 15 et 20mm de long ; il peut être repéré à mi-hauteur de la paroi en introduisant l'index par l'ouverture créée. Le ganglion cervical crânial et les tissus voisins sont retirés puis séparés. Enfin, le ganglion est placé dans un fixateur et envoyé pour analyse histologique.

Les prélèvements doivent être placés immédiatement dans un fixateur ; les conditions d'envoi sont à préciser avec le laboratoire d'analyse histologique.

c. *En pratique…*

Ces prélèvements sont d'une grande importance, puisqu'elles permettent d'obtenir un diagnostic de certitude. Cependant, la réalisation d'une autopsie sur le terrain est parfois délicate et les techniques détaillées ci-dessus requièrent une certaine habitude. Ainsi, il peut être utile d'envoyer le cadavre dans un laboratoire de pathologie.

4. Biopsie nasale et immuno-histochimie : méthode d'avenir ?

a. *Hypothèse de Prince et al.*

Jusqu'à aujourd'hui, les études visant à comprendre les implications fonctionnelles de la dysautonomie ont surtout porté sur le tractus gastro-intestinal, puisque les manifestations cliniques concernent principalement cet appareil (Doxey et al., 1995b; Prince et al., 2003). Néanmoins, la rhinite sèche est un signe clinique très fréquemment rencontré dans la forme chronique de maladie de l'herbe, considéré comme pathognomonique par certains auteurs (Pirie, 2006; Wylie and Proudman, 2009). Prince, Corcoran et Mayhew (Prince et al., 2003) ont émis l'hypothèse selon laquelle la rhinite sèche serait une autre conséquence de l'altération de l'innervation autonome. Ils ont cherché à mettre en évidence des modifications des neurones de la muqueuse nasale par immuno-histochimie.

b. *Arguments anatomiques et physiologiques*

L'innervation autonome des cavités nasales a été décrite chez les chevaux sains (Prince et al., 2003). Des études menées chez le rat ont montré l'existence d'un réseau de fibres nerveuses sensitives CGRP (fibres marquées en immuno-histochimie par le Calcitonin Gene-Related Peptide) et SP (fibres marquées par la Substance P) dans la muqueuse nasale, dont le corps cellulaire est situé dans le ganglion trigéminal. Les fibres CGRP sont principalement représentées dans les zones directement exposées à l'air inhalé ; cette répartition laisse penser que ces fibres auraient un rôle dans la réponse à une irritation nasale. Elles sont généralement associées à des vaisseaux sanguins et des glandes muqueuses et auraient un rôle dans le contrôle de la vasodilatation et de la sécrétion de mucus. Ainsi, l'altération de fibres CGRP et/ou SP pourrait affecter la réponse de la muqueuse nasale à des stimuli nocifs, aboutissant au dessèchement de la muqueuse (Prince et al., 2003).

c. Résultats de l'étude : intérêt diagnostique encore discuté

L'étude de Prince et al. a mis en évidence une diminution de la sécrétion des neuropeptides SP et CGRP dans la muqueuse nasale des chevaux atteints d'EGS. Cette observation pourrait être expliquée selon l'hypothèse précédente par une perte neuronale, à l'origine de la rhinite sèche. Cependant, l'altération des neurones CGRP dans le ganglion trigéminal ou l'implication de fibres autres que CGRP et SP dans la muqueuse nasale demeurent inconnus (Prince et al., 2003), d'où la difficulté dans l'interprétation des résultats de l'immuno-histochimie.

La biopsie nasale constitue une nouvelle approche dans la compréhension du mécanisme de l'EGS, mais des investigations supplémentaires seraient nécessaires pour pouvoir l'utiliser comme outil diagnostique *ante-mortem* (Wylie and Proudman, 2009).

VI. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

De part la variété des signes observables lors d'EGS, le diagnostic différentiel doit prendre en compte toutes les causes de coliques, dysphagie ou d'amaigrissement (Wylie and Proudman, 2009). Ces affections sont présentées sur le tableau 2.

A. Diagnostic différentiel global

Quelle que soit la forme, le diagnostic différentiel doit toujours inclure le botulisme et l'engouement oesophagien.

Tableau 2 : Diagnostic différentiel de l'EGS, quelle que soit la forme clinique, d'après (Duong, 2010; Lyle and Pirie, 2009).

Maladie	Signes cliniques communs avec l'EGS	Signes cliniques distincts	Examens complémentaires permettant de différencier les 2 affections
Bouchon oesophagien	Dysphagie Abattement Sudation Salivation Tachycardie Diminution des bruits digestifs	Dysphagie avec jetage alimentaire	Sondage naso-gastrique (résistance au passage de la sonde)
Botulisme	Abattement Anorexie, dysphagie Salivation Tachycardie Coliques, ileus Ptose palpébrale Fasciculations musculaires Abdomen levretté	Paralysie flasque progressive puis décubitus prolongé Port de tête bas Mydriase Détresse respiratoire Pas de reflux	Analyses bactériologiques et immunologiques (mise en évidence de *Clostridium botulinum* ou de sa toxine dans les fèces, le contenu digestif ou les aliments)

B. L'EGS : une forme atypique de botulisme ?

1. Etiologie comparable

Le botulisme est une affection neuromusculaire généralement fatale causée par les toxines de *Clostridium botulinum* types A, B et C. Il est caractérisé par une paralysie flasque. La contamination se fait le plus souvent par ingestion d'une toxine préformée dans l'aliment (botulisme classique). Il existe cependant deux autres modes de contamination (Whitlock and McAdams, 2006):

- contamination d'une plaie par des spores
- ingestion de spores avec production de toxine dans le tube digestif : « botulisme toxi-infectieux », uniquement décrit chez le poulain (Wylie and Proudman, 2009).

Hypothèse : En admettant la colonisation de l'intestin par *C. botulinum* avec production de toxine(s) *in vivo* comme cause de l'EGS, peut-on envisager cette affection comme une forme atypique de botulisme toxi-infectieux ?

2. Principes du diagnostic différentiel

a. Arguments épidémiologiques

Le botulisme toxi-infectieux affecte majoritairement les poulains : dans 70% des cas, cette forme touche des individus âgés de 2 à 5 semaines (Whitlock and McAdams, 2006). La flore intestinale des adultes inhibe la germination des spores et donc la production de toxine dans le tube digestif.
L'EGS quant à elle concerne le plus souvent les chevaux âgés 2 et 7 ans et aucun cas n'a été rapporté chez des animaux de moins de 4 mois. Cet argument épidémiologique infirme l'hypothèse avancée ; l'EGS pourrait néanmoins être considérée comme une forme particulière de botulisme toxi-infectieux touchant les individus plus âgés, grâce à l'intervention d'un facteur perturbateur de la flore intestinale (Wylie and Proudman, 2009) .

b. Arguments cliniques et lésionnels

Les différences en termes de présentation clinique apportent un élément supplémentaire en défaveur de cette hypothèse. Il existe des signes cliniques communs à l'EGS et au botulisme : anorexie, coliques, dysphagie, hypersalivation, iléus, fasciculations musculaires, tachycardie et amaigrissement. De plus, l'abdomen levretté souvent présent dans les formes subaiguës et chroniques d'EGS évoque la « taille de guêpe » observée chez des souris inoculées avec des toxines botuliques. Cependant, la plupart des signes neuromusculaires caractéristiques du botulisme (myasthénie profonde et détresse respiratoire) sont absents lors d'EGS (Hunter et al., 1999).

Par ailleurs, peu de lésions macroscopiques ou histologiques sont visibles lors d'autopsie de cas de botulisme, contrairement à l'EGS (Wylie and Proudman, 2009).

3. EGS et botulisme : deux entités proches mais distinctes

Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ces différences. En 1999, Hunter et al. (Hunter et al., 1999) suggèrent l'existence, lors d'EGS, d'un gradient de concentration à partir du lieu de production de la toxine, généré par un transport axonal. Selon cette hypothèse, la quantité de neurotoxine atteignant les synapses cholinergiques périphériques dans les jonctions neuromusculaires serait insuffisante pour engendrer des signes

neuromusculaires lors d'EGS. Lors de botulisme classique au contraire, la toxine préformée est rapidement absorbée après ingestion et circule par voie systémique jusqu'aux synapses.
Les différences de répartition géographique de l'EGS et du botulisme de type C en Europe apportent d'autres hypothèses : implication d'une toxine supplémentaire lors d'EGS, existence de facteur(s) déclenchant(s) ou de types bactériens spécifiques nécessaires au développement de l'EGS (Wylie and Proudman, 2009).

C. Diagnostic différentiel spécifique de la forme aiguë

Le diagnostic différentiel de cette forme comprend des affections digestives et des affections provoquant de la tachycardie et/ou des fasciculations musculaires.

Tableau 3 : Diagnostic différentiel de la forme aiguë de l'EGS, d'après (Duong, 2010).

Maladie	Signes cliniques communs avec l'EGS	Signes cliniques distincts	Examens complémentaires permettant de différencier les 2 affections
Affections digestives se manifestant par un syndrome abdominal aigu (Hudson and Pirie, 2005; Lyle and Pirie, 2009; Nout, 2004)			
Duodénite ou jéjunite proximale	Reflux gastrique PTR : intestin grêle distendu Douleur abdominale Iléus	Retour à une fréquence cardiaque normale après sondage nasogastrique Douleur abdominale sévère	Analyses hématologiques (leucocytose) Echographie abdominale (absence de motilité des anses intestinales) Laparotomie exploratrice
Lésion obstructive étranglée ou non de l'intestin grêle	Sudation Tachycardie Douleur abdominale Ileus Reflux gastrique PTR : intestin grêle distendu	Retour à une fréquence cardiaque normale après sondage nasogastrique Douleur abdominale sévère Signes d'endotoxémie	Paracentèse abdominale (liquide séro-hémorragique) Echographie abdominale (absence de motilité des anses intestinales) Laparotomie exploratrice
Affections aiguës se manifestant par des fasciculations musculaires et/ou de la tachycardie			
Myopathie atypique (Vercauteren et al., 2007; Votion et al., 2007) (1)	Jeunes chevaux au pâturage Affections saisonnières Faiblesse, fasciculations musculaires Décubitus	Tachypnée, dyspnée Myoglobinémie Myoglobinurie Créatinine kinases augmentées Hypocalcémie sévère	Biopsie des muscles posturaux
Hypocalcémie (Lyle and Pirie, 2009)	Dysphagie Iléus Fasciculations musculaires	Hyperesthésie Flutter diaphragmatique	Dosage sérique de la calcémie (diminuée)
Hémopéritoine (Lyle and Pirie, 2009)	Sudation Transit anormal Fasciculations musculaires	Muqueuses pâles	Abdominocentèse (sang en nature) Numération formule (anémie) Echographie abdominale (épanchement)

(1) Des points communs en termes de facteurs de risque et de signes cliniques ont été récemment décrits dans la littérature entre la forme aiguë de la maladie de l'herbe et la myopathie atypique (Vercauteren et al., 2007) ; ces deux entités pathologiques causent notamment des morts subites chez des chevaux au pré. L'existence d'une cause commune à ces deux entités est suspectée. Cependant, les lésions observables sont différentes et actuellement, EGS et myopathie atypique sont considérées comme deux entités distinctes (Wylie and Proudman, 2009).

D. Forme chronique : diagnostic différentiel avec la maladie du neurone moteur

1. Généralités

Le diagnostic différentiel doit être fait avec la maladie du neurone moteur (MND), caractérisée cliniquement par de l'amaigrissement, de l'amyotrophie et une faiblesse musculaire généralisée sévère. Les similitudes cliniques avec la forme chronique de l'EGS ont amené certains à considérer la forme chronique de l'EGS et la MND comme deux stades distincts d'une même maladie. Cependant, les différences significatives en termes d'épidémiologie et de pathogénie qui ont été mises en évidence permettent d'écarter cette hypothèse (Cottrell et al., 1999; Milne, 1997; Wylie and Proudman, 2009).

Photo 11: Port de tête bas chez un cheval atteint de MND, d'après (Duong, 2010), (photo : Dr P. CIRIER)

2. Bases du diagnostic différentiel

a. Epidémiologie

L'hypothèse de MND sera préférentiellement avancée face à un cheval de plus de 2 ans, n'ayant pas accès au pâturage depuis plus de 18 mois et étant nourri à base de fourrages de mauvaise qualité, de concentrés, et d'une complémentation minérale et vitaminée pauvre en vitamine E (Duong, 2010).

b. Etio-pathogénie

La MND, comme l'EGS, est une affection neuro-dégénérative. Cependant, son étio-pathogénie s'en distingue. Les symptômes observés sont dus à une altération des neurones moteurs, imputable à un stress oxydatif qui résulterait d'un déséquilibre entre les facteurs antioxydants, protecteurs des membranes (dont fait partie la vitamine E), et les facteurs pro-oxydants Un déficit alimentaire en vitamine E est considéré comme étant le facteur de risque principal, mais d'autres hypothèses impliquant variations des variations métaboliques individuelles, notamment relatives à l'équilibre entre facteurs antioxydants et facteurs pro-oxydants, sont évoquées (Duong, 2010).

3. Confirmation par histologie

A l'autopsie, une atrophie marquée et une pâleur anormale des muscles pectoraux sont classiquement observables, en plus de l'état de cachexie de la carcasse. Cependant, comme pour l'EGS, seule l'histologie permet d'obtenir un diagnostic de certitude pour la MND : soit *ante-mortem*, grâce à biopsies musculaires et/ou nerveuses (muscle sacro-coccygien dorsal médial et branche ventrale du nerf accessoire) (Lyle and Pirie, 2009), soit *post-mortem* (tronc cérébral, nerfs crâniens, moelle épinière et nerfs périphériques) (Duong, 2010).

a. Lésions du système nerveux somatique

Dans la forme aiguë de la MND, des lésions de dégénérescence et une perte diffuse des corps cellulaires sont observées dans les neurones moteurs la substance grise des cornes ventrales de la moelle épinière et dans les noyaux des nerfs crâniens du tronc cérébral. Les neurones sont tuméfiés, pâles et présentent de la chromatolyse. Sur les nerfs crâniens et les nerfs périphériques, une dégénérescence axonale est visible.

Dans les formes plus chroniques, des cicatrices gliales sont observées dans le système nerveux central, ainsi qu'une diminution du nombre de neurones moteurs. Sur les nerfs périphériques, des bandes de Büngner sont mises en évidence. Des lésions sont observables sur tous les nerfs crâniens, sauf les nerfs III, IV et VI (Divers and *al*, 2006; Duong, 2010).

b. Lésions des muscles striés squelettiques

Les fibres musculaires de type I sont principalement touchées par l'augmentation de l'activité glycolytique au profit d'une diminution de l'activité oxydative. Ainsi, une diminution du nombre de mitochondries est observable et une coloration histoenzymatique pour l'ATP-ase musculaire révèle une augmentation de celle-ci (Duong, 2010).

VII. PRONOSTIC

Seules les formes chroniques modérées peuvent évoluer vers la guérison : leur taux de survie est estimé à environ 70% (Doxey et al., 2000; Wylie and Proudman, 2009). Il est indispensable de donner un pronostic réaliste aux propriétaires. Certains signes cliniques sont à associer à un mauvais pronostic (Milne et al., 1994; Wylie and Proudman, 2009):

- dysphagie sévère nécessitant une intubation nasogastrique ou une fluidothérapie intraveineuse,
- anorexie totale,
- coliques sévères,
- iléus avec absence totale de bruits digestifs et aucune émission de crottins,

- rhinite sèche sévère,
- abattement marqué avec décubitus prolongé.

Par contre, l'importance de la perte de poids en début d'évolution ne conditionne pas le pronostic et l'âge de l'animal ne doit pas être un argument dans la décision de traiter ou non (Wylie and Proudman, 2009).

Si le traitement est envisagé, les propriétaires doivent être conscients de l'implication nécessaire, de la durée des soins et de la probabilité de survie. De plus, chaque cas est particulier et l'évolution est très variable d'un individu à l'autre (Doxey et al., 1995a; Wylie and Proudman, 2009).

En général, les chevaux qui guérissent reprennent du poids dans les cinq semaines suivant le diagnostic d'EGS ; le délai de retour à un poids idéal est de neuf mois en moyenne. Après une longue convalescence, les chevaux guéris peuvent retourner à une activité normale et 81% d'entre eux retrouvent leur niveau sportif initial. Dans certains cas, des séquelles sont observées : manque d'appétit, dysphagie, coliques légères, sudation et modifications du pelage : piloérection, changement de texture et/ou de couleur (Doxey et al., 1998; Wylie and Proudman, 2009).

Des complications peuvent survenir, assombrissant alors le pronostic : choc, diarrhée ou pneumonie par fausse déglutition (Doxey et al., 1995c; Wylie and Proudman, 2009).

VIII. TRAITEMENT

Lors de formes aiguës ou subaiguës d'EGS, les altérations neuronales sont irréversibles et seule l'euthanasie est recommandée (Lyle and Pirie, 2009). Cependant, face à une suspicion, un traitement de soutien peut être mis en place dans un premier temps, basé sur une fluidothérapie, une décompression gastrique et l'administration d'analgésiques.

Dans certaines formes subaiguës très modérées, il peut être utile d'observer l'animal pendant sept jours, pour détecter une éventuelle évolution vers la chronicité. En effet, l'option « traiter » n'est à considérer que dans les formes chroniques. La gestion de ces cas repose sur des soins intensifs et du nursing et demeure purement symptomatique (Pirie, 2002).

A. Soins de soutien

L'alimentation est un point essentiel : la prise alimentaire est indispensable pour minimiser la perte de poids. Des aliments appétents riches en énergie et en protéines sont à privilégier. La valeur énergétique de la ration peut être majorée en incorporant graduellement jusqu'à 500mL d'huile de maïs par jour. Cependant, l'appétit est généralement capricieux chez les individus atteints ; ainsi, l'appétence de la ration doit être optimisée (ajout de carottes, de pommes ou d'herbe fraîchement cueillie). La prise de nourriture peut être encouragée manuellement. Par ailleurs, face à la dysphagie, il peut être utile de fractionner les repas en quatre à cinq fois par jour et de tremper préalablement les aliments pour en faciliter la déglutition (Pirie, 2002).

Mettre à disposition un box propre et confortable est important ; par ailleurs, il est utile de faire marcher le cheval régulièrement et le laisser brouter, pour stimuler l'appétit et la motilité intestinale.

Le retrait manuel des fèces du le rectum et l'administration de fluides par voie entérale (sonde) sont parfois nécessaires pour faciliter le transit (Wylie and Proudman, 2009).

B. Traitement symptomatique

1. Analgésiques

Des coliques légères sont parfois observables après la prise de nourriture. Elles peuvent être traitées par l'administration de phénylbutazone (2,2 à 4,4mg/kg, per os, deux fois par jour) ou de flunixine de méglumine (0,5 à 1,1mg/kg, IV, deux fois par jour). L'oméprazole peut être utilisé chez les individus atteints pour limiter le risque de développer des ulcères gastriques (4,4mg/kg, per os, une fois par jour) (Lyle and Pirie, 2009). De l'huile de paraffine peut être utilisée pour lubrifier le tractus digestif, notamment en début d'évolution (Wylie and Proudman, 2009).

2. Stimulateurs de la motricité intestinale et de l'appétit

L'utilisation de stimulateurs de la motilité intestinale (cisapride) et de stimulateurs de l'appétit (diazépam, brotizolam) a été proposée mais se révèle décevante (Lyle and Pirie, 2009; Wylie and Proudman, 2009).

Le cisapride favorise la libération d'acétylcholine dans les synapses et stimulerait ainsi la motilité intestinale l'administration (0,5 à 0,8mg/kg per os, trois fois par jour pendant sept jours). Cependant, il est susceptible d'engendrer des coliques environ deux heures après et donc de perturber le comportement et l'appétit de l'animal. De plus, cette molécule est onéreuse et très difficilement disponible. Ainsi, le cisapride n'est pas employé en pratique courante (Pirie, 2002).

La prise alimentaire détermine largement la survie des animaux atteints de formes chroniques. Il est indispensable toutefois de déterminer si l'inappétence est liée à une véritable anorexie ou à une dysphagie. Le brotizolam (benzodiazépine) a été proposé comme stimulateur de l'appétit, avec davantage de succès qu'une molécule de la même classe : le diazépam, sans qu'aucun essai clinique ne le confirme cependant. De plus, aucune AMM n'existe pour cette utilisation chez le cheval (Pirie, 2002).

IX. PREVENTION

A. Gestion des facteurs de risque

Dans le II. de cette étude ont été détaillés les différents facteurs de risque de la maladie de l'herbe : ceux liés aux pâturages d'une part et ceux associés à la gestion du cheval d'autre part. Il paraît donc utile de prendre en compte ces facteurs dans les stratégies de prévention de cette affection dont l'étiologie reste par ailleurs inconnue. Les mesures préventives sont à adapter à chaque situation, mais doivent tout particulièrement viser les individus à haut risque, par exemple les jeunes chevaux nouvellement introduits sur une pâture. Elles doivent également tenir compte de différents facteurs comme la saison (le printemps et le début de l'été étant les périodes de risque maximal) et les conditions climatiques (notamment les périodes froides et sèches) (Lyle and Pirie, 2009).

Tableau 4 : Mesures à mettre en place pour gérer les différents facteurs de risque, d'après (Lyle and Pirie, 2009).

	EVITER, MINIMISER….	FAVORISER…
Gestion de la pâture	Pâtures trop rases Travaux (assolement, drainage) Retrait mécanique des crottins	Coupe régulière de l'herbe Pâturage avec des ruminants Retrait manuel des crottins
Gestion du cheval	Pâturage Pâtures ayant déjà hébergé un cas d'EGS Changements de pâture Changements alimentaires (quantité/type) Utilisation fréquente d'anthelminthiques à base d'ivermectine	Mise à disposition de foin au pré

B. Vaccination

Aucun vaccin n'est disponible à l'heure actuelle. Cependant, l'efficacité de la vaccination contre le botulisme laisse penser qu'il serait possible d'utiliser la vaccination pour protéger les chevaux contre l'EGS. Basées sur le succès apparent des essais vaccinaux réalisés par Tocher dans les années 1920 et sur les preuves récentes en faveur de l'implication de *Clostridium botulinum* type C dans l'étio-pathogénie de l'EGS, des études sont actuellement menées pour évaluer l'efficacité et l'innocuité d'un vaccin recombinant dirigé contre les toxines botuliques (Hedderson and Newton, 2004; Lyle and Pirie, 2009; Wylie and Proudman, 2009).

X. CONCLUSION

De nos jours, l'EGS reste une affection méconnue en France, dont la diversité des formes cliniques et l'issue rapidement fatale rendent le diagnostic particulièrement difficile. Même si son étiologie demeure inconnue, l'implication de la neurotoxine produite par *Clostridium botulinum* type C est fortement suspectée et de nombreuses preuves renforcent cette hypothèse.

De nombreuses méthodes diagnostiques ont été proposées dans la littérature ; celles-ci sont généralement peu spécifiques et leur interprétation demeure délicate et controversée. Seule l'histologie fournit un diagnostic de certitude. Les sites de prélèvement sont très spécifiques (iléon, ganglion coeliaco-mésentérique) et nécessitent une intervention chirurgicale et/ou une autopsie, c'est pourquoi cet examen complémentaire est rarement utilisé en pratique. Ainsi, les erreurs de diagnostic, par excès ou par défaut, sont probablement très fréquentes.

Le pronostic est sombre, sauf dans certaines formes chroniques. Le traitement est alors long et les résultats très variables. Il repose essentiellement sur des soins de soutien. Le

manque de certitudes sur l'étiologie de la maladie de l'herbe est un véritable obstacle au développement d'un traitement spécifique et de moyens de prévention (vaccins).

Les différentes études menées sur l'EGS ont permis de progresser dans la connaissance de cette affection ; cependant, leurs résultats restent peu précis et souvent controversés, et rendent délicate leur interprétation et leur application sur le terrain.

2ème PARTIE : LE POINT SUR L'EGS EN FRANCE : MISE EN PLACE D'UNE ETUDE EPIDEMIO-CLINIQUE

Très répandue et objet de nombreuses recherches au Royaume-Uni, l'EGS demeure peu connue sur notre territoire. Afin de déterminer si cette maladie est réellement peu présente en France ou mal diagnostiquée, l'Association Vétérinaire Equine Française (AVEF) a souhaité mettre en place une étude épidémio-clinique. Cette étude constitue le second volet de ce travail de thèse.

I. PRESENTATION DE L'ETUDE EPIDEMIO-CLINIQUE

A. Les objectifs de l'étude

Le but de cette étude est d'évaluer l'importance de l'EGS en France et de mieux en connaître les aspects épidémiologiques et cliniques. Evaluer son incidence et sa répartition sur le territoire, ainsi que ses caractéristiques, permettrait en effet d'évaluer le risque réel auquel sont exposés les chevaux selon les régions. Une meilleure connaissance de cette maladie est indispensable pour améliorer le diagnostic et la gestion des cas par les vétérinaires et répondre aux attentes des propriétaires, souvent démunis lorsqu'ils sont confrontés à cette maladie méconnue.

B. Une étude en deux volets

1. Etude rétrospective

Jusqu'à aujourd'hui, l'EGS a été probablement sous-diagnostiquée ou au contraire suspectée à tort, face à un syndrome colique dont la cause n'est pas aisément identifiable, ou face à un tableau clinique atypique. Il semblait donc nécessaire de clarifier la démarche diagnostique à adopter.

La première étape de ce travail consistait donc à élaborer une grille de score permettant à tout praticien confronté à une suspicion d'EGS de tester la vraisemblance de son hypothèse diagnostique. Pour être validée, cette grille devait ensuite être testée sur trois types de cas : confirmés, témoins et suspects. Une étude rétrospective a donc été mise en place afin de collecter ces cas.

2. Etude prospective

Afin de mieux connaître la prévalence de cette affection sur le territoire, une étude prospective a été mise en place, encadrée par la Commission Maladies infectieuses de l'AVEF. Cependant, ce type d'étude implique que le diagnostic de la maladie soit fiable et maîtrisé par les vétérinaires, or ceux-ci disposent bien souvent de peu d'informations sur l'EGS. Face à une suspicion, le choix des examens complémentaires est d'autant plus délicat que la valeur diagnostique de nombre d'entre eux n'a pas été véritablement établie dans la littérature. Si l'histologie est connue comme étant la méthode diagnostique de référence, les sites de prélèvements sont souvent ignorés. De plus, le caractère invasif de cet examen dissuade généralement les praticiens et les propriétaires.

Pour aider les praticiens à reconnaître la maladie et ainsi favoriser les déclarations pour l'étude prospective, une fiche synthétique sur l'EGS devait être conçue, résumant les principaux éléments épidémiologiques, cliniques et la démarche diagnostique à mettre en place face à une suspicion.

Afin de confronter les données du terrain à celles de la littérature, il semblait nécessaire de récolter des informations sur les facteurs de risque supposés grâce à une fiche de déclaration, sur laquelle les éléments épidémiologiques, cliniques et les résultats des examens complémentaires mis en œuvre pouvaient être reportés.

C. Les acteurs de l'étude

1. Le groupe de travail

Deux membres de l'AVEF ont dirigé cette étude, le Pr. Agnès LEBLOND (INRA-VetAgro Sup) et le Dr. François VALON, Président de la Commission Maladies infectieuses de l'AVEF et Directeur scientifique du RESPE.

Neuf praticiens ont été intégrés au groupe de travail, afin de bénéficier de leur expérience et être alerté en cas de suspicion : Dr. Xavier d'ABLON, Dr. Jacques BARDIES, Dr. Christian BUSSY, Pr Jean-Luc CADORE (VetAgro Sup), Dr. Thierry COCHARD, Dr. Philippe GARCIA, Dr. Michel LEVY, Dr. Pierre LOSFELD, Dr. Pierre TRITZ (Responsable du réseau Syndrome Nerveux du RESPE).

Un partenariat avec le Laboratoire de Pathologie Equine de Dozulé, représenté par Claire LAUGIER, a permis de bénéficier d'une expertise dans les techniques de prélèvement et de dissection de la région du ganglion coeliaco-mésentérique. Le diagnostic définitif de l'EGS ne pouvant être réalisé que par analyse histologique, il était indispensable d'intégrer au groupe de travail un laboratoire d'histologie: le laboratoire VetDiagnostics a été contacté à ce titre, représenté par le Dr. Alexandra NICOLIER.

Enfin, une expertise bactériologique était nécessaire à cette étude, pour la recherche de l'agent étiologique suspecté : *Clostridium botulinum* type C et sa neurotoxine BoNT/C. Ainsi, une collaboration avec le Dr. Michel Robert POPOFF de l'Unité des toxines et pathogénie bactériennes en zone anaérobie de l'Institut Pasteur a été établie.

Au bilan, le groupe de travail était constitué de onze vétérinaires et de trois laboratoires : Laboratoire de Pathologie Equine de Dozulé, Vetdiagnostics et l'Institut Pasteur. Il s'est réuni le 13 Janvier 2010 au cours d'une conférence téléphonique ayant pour objectif de présenter l'étude, préciser son organisation et mettre en relation les différents membres du groupe *(cf annexe 5)*.

2. Le RESPE

Fondé en 1999 sur un réseau de vétérinaires sentinelles, le RESPE est le premier réseau national d'épidémio-surveillance des maladies infectieuses du cheval mis en place en Europe. Issu du travail bénévole de la commission « Maladies Infectieuses et parasitaires » de l'AVEF, il est devenu indépendant le 8 avril 2008 (association loi 1901). Ce réseau de veille et d'alerte sanitaire en pathologie équine réunit en son sein l'ensemble de la filière et travaille à son service.

Le RESPE a un quadruple objectif :

✓ Assurer une veille sanitaire des maladies équines en particulier celles présentant une contagiosité importante, occasionnant des pertes économiques majeures ou présentant un risque pour la santé publique. Cette veille sanitaire est assurée par quatre sous réseaux (Syndrome respiratoire aigu, Avortement, Myopathie atypique et Syndrome neurologique) et un comité de gestion de crise.

✓ Développer un réseau de compétences vétérinaires permettant une collecte rapide d'informations épidémiologiques en cas de crise et leur diffusion à l'ensemble de la filière.

✓ Alerter les autorités sanitaires et socioprofessionnelles ; les pouvoirs publics le cas échéant.

✓ Gérer les crises sanitaires hors maladies réglementées grâce à un réseau d'alerte et la constitution d'une cellule de crise.

Sur le terrain, le réseau dispose de 200 vétérinaires sentinelles, qui sont des praticiens volontaires. Leur principal rôle est d'informer le RESPE lors d'une suspicion et d'effectuer les prélèvements requis. Ceux-ci sont définis dans un protocole clairement établi et diffusé pour chacun des sous réseaux. Les prélèvements sont ensuite adressés à un laboratoire partenaire avec une fiche de déclaration standardisée disponible sur le site internet et faxée au RESPE. En cas de résultat positif, le RESPE est prévenu dans les meilleurs délais. Il diffuse alors une alerte à l'ensemble de ses contacts pour informer, appeler à la vigilance et proposer des mesures sanitaires si besoin.

Lors d'épizootie, le RESPE assure un suivi renforcé du ou des foyers et en informe régulièrement la filière. Des enquêtes sur le terrain peuvent être réalisées, avec mise en place d'une cellule de crise dans les cas extrêmes.

Le RESPE est également une plateforme relayant les informations sur les maladies réglementées et est, à ce titre, le relai officiel de la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) et des Directions Départementales de Protection des Populations (DDPP, ex-Directions Départementales des Services Vétérinaires).

II. ETUDE RETROSPECTIVE

A. Elaboration du score épidémio-clinique *(cf annexe 2)*

Ce document devait répondre à deux exigences : pouvoir être complété au chevet du patient d'une part, et être simple et rapide à remplir d'autre part.

Pour évaluer la vraisemblance de l'hypothèse d'EGS face à une suspicion, il semblait nécessaire de prendre en compte des critères épidémiologiques, cliniques et les résultats d'examens complémentaires. Pour que la grille soit rapide à remplir, ils ont été sélectionnés parmi les éléments les plus pertinents rapportés dans la littérature.

1. Sélection des critères

La symptomatologie de l'EGS étant peu spécifique, les critères épidémiologiques sont importants dans le diagnostic. Un même nombre de critères épidémiologiques et cliniques a été choisi.

a. Critères épidémiologiques

Les critères ont été choisis *a priori* à partir de l'étude bibliographique ; les éléments épidémiologiques les plus caractéristiques de l'EGS chez nos voisins anglo-saxons ont été sélectionnés :

- ✓ Facteurs relatifs à la gestion du cheval :
  - accès à l'herbe (permanent ou temporaire)
  - changement de pâture dans les 15 jours à 1 mois précédent l'apparition des signes cliniques
  - modification récente de la ration alimentaire
- ✓ Facteurs liés à l'individu : âge du cheval compris entre 2 et 7 ans (inclus)
- ✓ Facteurs relatifs à la saison/climat : apparition de la maladie au cours de la période à risque maximale (avril-juin)
- ✓ Facteurs relatifs à la pâture :
  - existence d'un cas d'EGS dans la même pâture au cours des 2 ans précédents (afin de limiter le biais de mémoire et compte tenu de la diminution de l'importance de ce facteur au cours du temps, la période a été réduite à 1 an).
  - réalisation de travaux dans la pâture au cours de l'année précédente
  - épandage de lisier sur la pâture ou en bordure. Ce critère n'est pas cité dans la littérature et a été ajouté à la demande des membres du groupe de travail.

Les autres facteurs de risque cités dans le II. B de la partie 1 ont été éliminés, soit parce que leur rôle ne fait pas l'objet d'un consensus dans la littérature et/ou nécessite des recherches supplémentaires (état d'embonpoint, contact avec un individu atteint, cohabitation avec d'autres espèces ou encore utilisation fréquente d'anthelminthiques), soit parce qu'ils auraient nécessité des investigations poussées non réalisées en routine (statut immunologique de l'animal, nature du sol et teneur en azote). Enfin, certains critères relatifs à l'établissement d'hébergement du cheval (type d'établissement, nombre de chevaux partageant la pâture, nombre de jeunes chevaux parmi eux,) cités dans seulement quelques références bibliographiques ont été exclus de cette grille de score, pour limiter le nombre de critères. Ils seraient à inclure dans un questionnaire spécifique destiné au propriétaire, dans le cadre d'une étude orientée sur les conditions de vie des cas lors de leur apparition. Cet aspect n'a pas été traité dans ce travail.

b. Critères cliniques

Ces critères ont été choisis parmi les éléments symptomatiques majeurs des différentes formes décrites dans la littérature. Seuls huit signes cliniques ont été sélectionnés, selon leur fréquence et leur spécificité.

- ✓ Symptômes généraux :
  - abattement
  - tremblements musculaires
  - ptose palpébrale et réponse positive au test à la phényléphrine
  - rhinite sèche
- ✓ Symptômes digestifs :
  - amaigrissement
  - dysphagie et/ou hypersalivation : ces deux signes étant probablement liés, ils ont été regroupés

- coliques (diminution de la motilité intestinale, reflux, diminution voire absence de bruits digestifs)
- à la palpation transrectale : présence de fèces dures avec du mucus dans le rectum et dilatation des anses intestinales sans étranglement et/ou impaction du gros intestin ou flaccidité du tractus gastro-intestinal

La durée d'évolution des signes cliniques permet de classer les cas en aigus (durée évolution inférieure à 48 heures), subaigus (durée d'évolution comprise entre 2 et 7 jours) ou chroniques (évolution sur plus de 7 jours).

c. Examens complémentaires

Pour être inclus dans la grille de score, un examen complémentaire devait satisfaire à plusieurs exigences :

- ✓ avoir une valeur diagnostique reconnue dans la littérature et être aisément interprétable
- ✓ être réalisable au chevet du patient par le vétérinaire
- ✓ être peu onéreux.

Parmi les nombreux examens décrits dans la littérature, seule l'histologie fournit un diagnostic de certitude. De plus, la grille de score a pour but d'aider tout praticien confronté à une suspicion d'EGS sur le terrain ; à ce titre, elle doit reposer sur des critères basiques, susceptibles d'être évalués dans tous les cas, quels que soient les conditions et le matériel à disposition. Un seul examen complémentaire a été retenu : le test à la phényléphrine. Généralement effectué lors de l'examen clinique, il a été assimilé aux critères cliniques.

Ainsi, la grille de score se compose d'un volet épidémiologique et d'un volet clinique.

2. Pondération des critères

Afin de rendre compte de l'importance relative des différents critères, une pondération a été attribuée à chacun. La symptomatologie de la maladie de l'herbe étant peu spécifique, le vétérinaire doit bien souvent s'appuyer sur l'épidémiologie autant que sur la clinique. Les deux types de critères ont donc été considérés comme d'égale importance dans la détermination du score, et les coefficients ont été attribués tels que leur total soit égal pour chacune des parties épidémiologique et clinique.

a. Critères épidémiologiques

Chaque critère est énoncé sous forme d'une question fermée. L'utilisateur entoure la réponse sélectionnée.

Les coefficients ont été choisis arbitrairement, en essayant de refléter au mieux la pertinence de chaque critère. Le pâturage étant l'élément épidémiologique majeur cité dans tous les articles, le poids la plus fort lui a été attribué : 5. Les autres coefficients ont été estimés en relation avec ce premier critère :

- âgé compris entre 2 et 7 ans (inclus) : pondération = 4,
- apparition de la maladie au cours de la période à risque maximale (avril-juin) : pondération = 3
- autres critères, pondération = 1.

b. Critères cliniques

L'attribution des coefficients a été effectuée selon la fréquence relative des différents critères cliniques et telle que le total soit aussi compris entre 0 et 17. Ainsi, la rhinite sèche, considérée comme un signe d'appel, a reçu le coefficient 4 ; la ptose palpébrale avec réponse positive au test à la phényléphrine, les coliques et les anomalies à la palpation transrectale ont été dotées d'un coefficient égal à 3 et les autres critères du coefficient 1.

3. Calcul et interprétation du score final

L'utilisateur additionne les réponses et obtient un score, compris entre 0 et 34.

La valeur du score doit permettre au praticien d'évaluer la vraisemblance de l'hypothèse d'EGS face à une suspicion. Il convient de souligner que cette grille ne permet pas de confirmer un cas, puisque seule l'histologie apporte le diagnostic de certitude. Ainsi, cette grille permet de classer les cas comme « peu probables », « probables » ou « très probables », en fonction du score obtenu :

- Si le score est inclus dans l'intervalle [0 ; 11], le cas est dit « peu probable » ;
- S'il appartient à l'intervalle [12 ; 22], le cas est classé comme « probable » ;
- Si le score est contenu dans l'intervalle [23 ; 34], le cas est dit « très probable ».

Basée sur un nombre limité d'éléments épidémiologiques et cliniques, cette grille de score est à interpréter avec précaution et des investigations complémentaires sont indispensables. Lorsque le cas est probable ou très probable, le vétérinaire pourra néanmoins informer le propriétaire de la difficulté du diagnostic définitif de l'EGS et du pronostic souvent sombre, en gardant toutefois en mémoire qu'il s'agit d'une première estimation et non d'un diagnostic.

4. Récolte d'informations complémentaires

Une partie « Examens complémentaires » permettant de reporter les résultats des outils diagnostiques utilisés par les praticiens a été ajoutée à la grille de score, afin d'obtenir plus de détails sur les examens mis en œuvre dans les cas de l'étude.

B. Evaluation du score

La grille de score est destinée à être un outil d'orientation diagnostique simple et pratique à utiliser. Conçue *a priori* à partir de l'étude bibliographique, il était nécessaire de la soumettre au jugement du groupe de travail, puis de la tester sur des cas cliniques, pour pouvoir ensuite la mettre à disposition des praticiens. Une étude rétrospective a donc été mise en place pour valider le score.

1. Evaluation par le groupe de travail

La grille de score a d'abord été soumise aux membres du groupe de travail. Une conférence téléphonique a été organisée le 13/01/2010 pour recueillir leurs suggestions. Certains participants ont suggéré d'ajouter le paramètre « changement météorologique récent » dans la partie épidémiologique. Après discussion, il a été décidé de ne pas l'inclure dans la grille de score mais plutôt dans un questionnaire adressé au propriétaire, centré sur les facteurs de risque liés à la météorologie et la pâture (nature du sol, teneur en azote, …). Ces aspects épidémiologiques environnementaux ne font pas l'objet de notre travail mais pourront

être envisagés dans une étude complémentaire. Par ailleurs, il a été demandé de mentionner clairement la palpation d'empreintes coliques importantes lors de la palpation transrectale dans la partie clinique.

2. Etude rétrospective

a. Recrutement des cas

Pour valider la grille de score, il était nécessaire de disposer de trois types de cas :

- des cas « confirmés », ayant fait l'objet d'une analyse histologique confirmant l'EGS
- des cas « témoins », dont le tableau clinique était proche de l'EGS, mais pour lesquels l'hypothèse a été exclue de manière certaine (colique de stase, amaigrissement, maladie du neurone moteur, dysphagie, empyème des poches gutturales)
- des cas suspects, pour lesquels l'EGS avait été évoquée comme hypothèse diagnostique, mais pour lesquels aucune analyse histologique n'a été effectuée.

Les vétérinaires du groupe de travail ont été recontactés individuellement par mail ou par téléphone et les archives du laboratoire d'anatomie pathologique de Vetagro Sup des années 1997 à 2009 ont été consultées. La campagne d'information sur l'EGS a incité des vétérinaires n'appartenant pas au groupe de travail à rapporter des cas, diversifiant ainsi les sources. Pour faciliter la collecte des données, aucune limite d'antériorité n'a été fixée.

b. Evaluation du score épidémio-clinique

Pour chaque cas de l'étude rétrospective, la grille de score a été complétée par mes soins lors d'un entretien téléphonique ou à partir d'un compte-rendu papier envoyé par courrier postal ou électronique. Pour la plupart des cas, les critères ont été renseignés par les praticiens. Pour quelques cas cependant, le contexte épidémiologique était inconnu du vétérinaire : les propriétaires ont alors été contactés avec l'accord du praticien, afin de compléter la grille de score.

c. Validation de la grille de score

La validité de la grille repose sur une bonne classification des cas, c'est-à-dire la concordance entre le résultat du score et le statut réel de l'animal vis-à-vis de l'EGS.

III. ETUDE PROSPECTIVE

L'étude prospective a été menée entre mars 2010 et avril 2011, afin d'évaluer l'incidence de la maladie sur cette période.

A. Mise en place de l'étude prospective

1. Fiche de déclaration (*cf annexe 3*)

La fiche de déclaration a été conçue sur le modèle des fiches de déclaration préexistantes pour d'autres maladies faisant l'objet d'une surveillance par le RESPE. Elle est composée de quatre parties :

- ✓ Coordonnées du vétérinaire, du propriétaire et du cheval ; commémoratifs et éléments épidémiologiques majeurs
- ✓ Symptomatologie
- ✓ Examens complémentaires réalisés au chevet du patient
- ✓ Analyses demandées.

2. Guide de procédure diagnostique (*cf annexe 4*)

Un guide de procédure diagnostique a été rédigé : dans une première partie, ont été brièvement résumés les éléments épidémiologiques majeurs, les caractéristiques des trois formes cliniques, ainsi que le diagnostic différentiel face à une suspicion. Dans une seconde partie, la démarche diagnostique a été détaillée.

De nombreux examens ont été présentés dans la partie 1 : ceux dont la faisabilité en pratique est limitée et/ou dont l'interprétation reste très délicate ont été exclus du guide de procédure. Par exemple, peu de praticiens possèdent le matériel nécessaire à la réalisation d'une électromyographie et la lecture des tracés est réservée à des spécialistes. Les biopsies nasales et les dosages d'anticorps sériques quant à eux, posent problème pour leur interprétation. Ainsi, ces examens ont été exclus du guide de procédure.

Afin de guider le praticien dans son choix, le principe, la méthode, les avantages et les limites de chaque examen ont été brièvement rappelés dans le guide.

3. Prise en charge des analyses

La réalisation et l'analyse de biopsies iléales, ainsi que la recherche de l'agent étiologique représentent un coût important. La méconnaissance de cette maladie, l'absence de test diagnostic de certitude non invasif et le pronostic sombre annoncé lors de sa suspicion sont souvent un frein à l'investissement financier des propriétaires. Pourtant, des investigations supplémentaires sont indispensables pour mieux connaître l'affection et définir la démarche à adopter.

Afin d'inciter les propriétaires et les praticiens à procéder à davantage d'investigations, la prise en charge de certains examens a été proposée, grâce aux partenariats avec les différents laboratoires.

B. Evaluation et diffusion de l'étude

1. Evaluation par le groupe de travail (*cf annexe 5*)

Les documents présentés ci-dessus ont été soumis au groupe de travail. La conférence téléphonique du 13/01/2010 a permis de recueillir les suggestions relatives au fond et à la forme de ces documents. Après corrections, la fiche de déclaration et le guide de procédure diagnostique ont été mis en ligne sur le site du RESPE le 01/03/2010 (RESPE).

Lors de cette conférence téléphonique, les modalités de prise en charge des analyses histologiques par le laboratoire VetDiagnostics ont été reprécisés et un devis théorique pour

l'exploration d'un cas a été présenté, selon les tarifs appliqués par les laboratoires de VetAgro Sup.

Enfin, les membres du groupe de travail ont suggéré qu'il serait intéressant d'avoir une idée des études menées en Angleterre, compte tenu de la grande prévalence de l'EGS Outre Manche.

2. Contacts avec les équipes anglaises

Un contact a été établi avec un membre de l'*Equine Grass Sickness Fund*, Joyce McIntosh, et avec Richard Newton et Claire Wylie, de l'*Animal Health Trust*. Ces deux organisations ont mis en place une épidémiosurveillance de l'EGS en 2007, basée sur des données rétrospectives entre 2000 et 2007 et une étude prospective depuis 2007. Les déclarations sont faites par les propriétaires, via internet. Un questionnaire « propriétaire » et un questionnaire « élevage » sont disponibles sur ces sites. Aucune analyse n'est demandée/financée.

Il serait intéressant de comparer les données cliniques et épidémiologiques des deux pays, car à ce jour, rien ne dit que la maladie est comparable Outre Manche. Une collaboration étroite serait donc à envisager, avec échange de données. Cela permettrait par ailleurs de tester la grille de score sur les cas rencontrés au Royaume-Uni.

3. Diffusion auprès des vétérinaires français

Une campagne d'information a été mise en œuvre pour sensibiliser les praticiens et faciliter le recrutement des cas. Différents supports ont été utilisés : internet (sites du RESPE et de l'AVEF) et la presse spécialisée. Un article est paru dans la lettre d'information trimestrielle de l'AVEF *(cf annexe 1)* et dans un hebdomadaire vétérinaire généraliste (Leblond et al., 2010), afin de sensibiliser un public le plus large possible.

Les résultats des déclarations ont été regroupés dans un tableau *(cf annexe 6).*

IV. CONCLUSION

Encore peu décrite en France de nos jours, la maladie de l'herbe reste méconnue des vétérinaires et des propriétaires de chevaux. Souvent évoquée face à un syndrome colique de cause indéterminée ou face à un tableau clinique atypique, elle est probablement sous-diagnostiquée ou suspectée à tort. Pour répondre à la demande de l'AVEF et progresser dans la connaissance de cette affection, une étude épidémio-clinique a été mise en place dans ce travail de thèse. Deux objectifs ont été définis : aider les praticiens à reconnaître l'EGS grâce à une grille de score épidémio-clinique et dresser un portrait de la situation épidémiologique de l'affection sur le territoire français. Pour cela, deux études ont été mises en place : une étude rétrospective pour récolter des cas permettant de tester la grille de score conçue *a priori* à partir des données bibliographiques, et une étude prospective menée de mars 2010 à avril 2011. Pour favoriser le recrutement des cas, une campagne d'information a été réalisée via la presse écrite et internet. Une fiche de déclaration et un guide de procédure diagnostique ont été mis à disposition des vétérinaires afin de faciliter les déclarations dans le cadre de l'étude prospective.

3ème PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION

Les études rétrospectives et prospectives ont été menées en parallèle. Les données ont été recueillies par téléphone, par fax ou par courrier électroniques ou papier et ont été centralisées.

I. ETUDE RETROSPECTIVE

A. Composition des groupes

Au total, trente trois cas ont été collectés, entre 1997 et 2009. Les cas déclarés en 2010 ont été exclus de cette étude, parce que déjà utilisés dans la partie prospective.

1. Groupe confirmé

Ce groupe comporte neuf cas d'EGS confirmés par histologie. Parmi eux, trois formes chroniques et une forme aiguë sont avérées. La durée d'évolution est inconnue pour les cinq autres cas.

Tous les cas confirmés sont morts ; une mort « naturelle » est rapportée pour l'un des individus atteints d'une forme chronique. Pour deux cas, aucune donnée n'est disponible sur la nature du décès.

2. Groupe suspect

Ce groupe se compose de treize cas ayant fait l'objet d'une suspicion d'EGS sans confirmation par histologie. Deux individus présentent une symptomatologie aiguë, cinq connaissent une évolution subaiguë et cinq autres une évolution chronique. Les données sont manquantes pour le cas restant.

Parmi les treize chevaux, douze sont morts : neuf ont été euthanasiés et trois sont morts « naturellement ». Aucune précision n'est disponible sur l'issue du treizième cas.

3. Groupe témoin

Ce groupe comporte onze individus dont le tableau clinique est proche de l'EGS mais pour lesquels cette hypothèse est exclue de manière certaine :

- deux cas de maladie du neurone moteur, un cas de myopathie atypique et un cas de myopathie dégénérative subaiguë, tous confirmés par histologie
- un cas d'entérite subaiguë confirmé par histologie
- cinq cas de coliques d'origine digestive (stase, impaction, volvulus, incarcération de l'intestin grêle, péritonite), diagnostiqués lors d'une laparotomie ou par autopsie.

Parmi ces cas, quatre sont d'évolution aiguë et trois d'évolution chronique. Pour les autres, les données sont manquantes.

Ces affections ont provoqué la mort de huit des onze témoins, dont cinq par euthanasie.

B. Etude descriptive

Du fait du faible nombre de cas collectés dans l'étude rétrospective entre 1997 et 2009, aucun traitement statistique des données ne peut être effectué et seule une étude descriptive est réalisée.

1. Données épidémiologiques

Au total, 19% des données sont manquantes, c'est-à-dire non renseignées par le propriétaire ou le vétérinaire lors de l'enquête. Dans le groupe confirmé, 56% des données manquent, contre 10% et 13% dans les groupes suspects et témoins respectivement.

Tableau 5 : Données épidémiologiques de l'étude rétrospective (exprimées en pourcentages).

	Groupe confirmé			Groupe suspect			Groupe témoin		
	OUI	NON	DM*	OUI	NON	DM*	OUI	NON	DM*
Accès à l'herbe (permanent ou non)	100	0	0	92	8	0	82	9	9
Age entre 2 et 7 ans	33	67	0	54	38	8	36	64	0
Saison (avril à juin)	56	44	0	15	85	0	36	64	0
Changement de pré dans le mois précédent	22	11	67	54	38	8	9	82	9
Modification de la ration	0	33	67	8	77	15	9	73	18
Cas d'EGS antérieur dans la même pâture	11	22	67	0	85	15	0	67	33
Travaux dans les 12 mois précédents	0	33	67	8	77	15	18	64	18
Epandage de lisier	0	33	67	0	85	15	0	82	18

*DM : données manquantes.

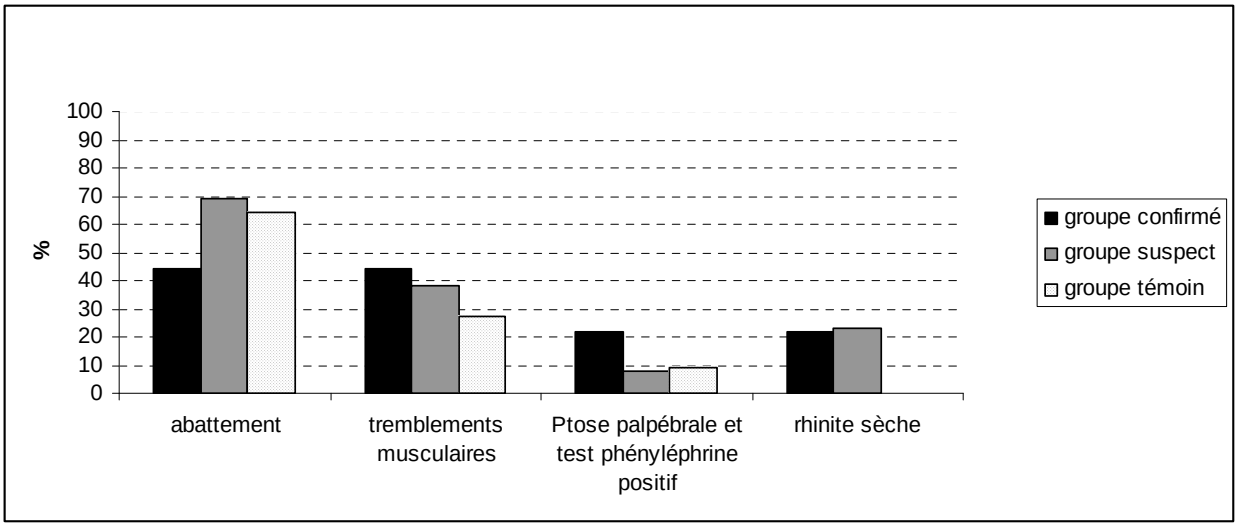
Si aucune conclusion ne peut être tirée de la lecture de ce tableau à cause du nombre insuffisant de cas d'une part, et du pourcentage important de données manquantes d'autre part, quelques observations peuvent être dégagées : s'ils avaient tous accès à l'herbe lors de la survenue de la maladie ; les cas confirmés ne présentent pas toutes les autres caractéristiques épidémiologiques de l'EGS classiquement décrites (âge, saison, changement de pré, cas antérieur d'EGS dans la même pâture…). Aucune modification de la ration n'a été rapportée dans le groupe confirmé. L'épandage de lisier n'a été rapporté pour aucun cas de l'étude.

2. Etude clinique

Dans cette partie, il n'existe aucune donnée manquante.

a. Résultats

(a)



(b)

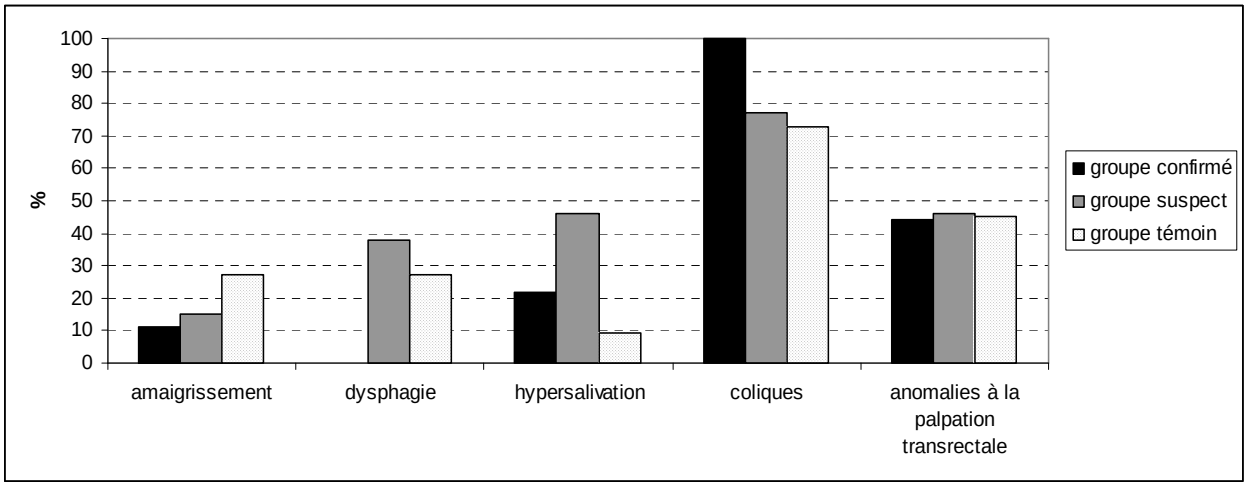


Figure 5: Prévalence des signes cliniques généraux (a) et digestifs (b) dans les trois groupes.

b. Commentaires

Aucun signe clinique n'est spécifique de l'EGS. Dans cette étude, les critères cliniques les plus caractéristiques cités dans la littérature ne sont pas observés chez tous les cas d'EGS.

Parmi les signes cliniques généraux, la ptose palpébrale n'a été rapportée que chez 22% des cas confirmés, mais a été notée chez 9% des témoins. La rhinite sèche n'a été observée que chez deux cas atteints de la forme chronique de l'EGS et chez 23% des suspects. Il semble intéressant de noter que ce signe clinique n'a pas été rapporté dans le groupe témoin.

Les signes cliniques digestifs sont dominés par les coliques dans les trois groupes. Pour rappel, les anomalies à la palpation transrectale regroupent la présence de fèces dures

avec du mucus dans le rectum, une dilatation des anses intestinales sans étranglement, une impaction du gros intestin, et/ou une flaccidité du tractus gastro-intestinal. Ce critère a été rapporté pour 44%, 46% et 45% des cas confirmés, suspects et témoins respectivement.

Dans la grille de score, la dysphagie et l'hypersalivation ont été regroupés dans un même critère. Au cours de l'étude rétrospective, les deux signes ont été rapportés seuls ou associés, c'est pourquoi ils ont été séparés dans la *Figure 5*. On observe par ailleurs qu'aucun cas confirmé ne présentait de dysphagie.

3. Score épidémio-clinique

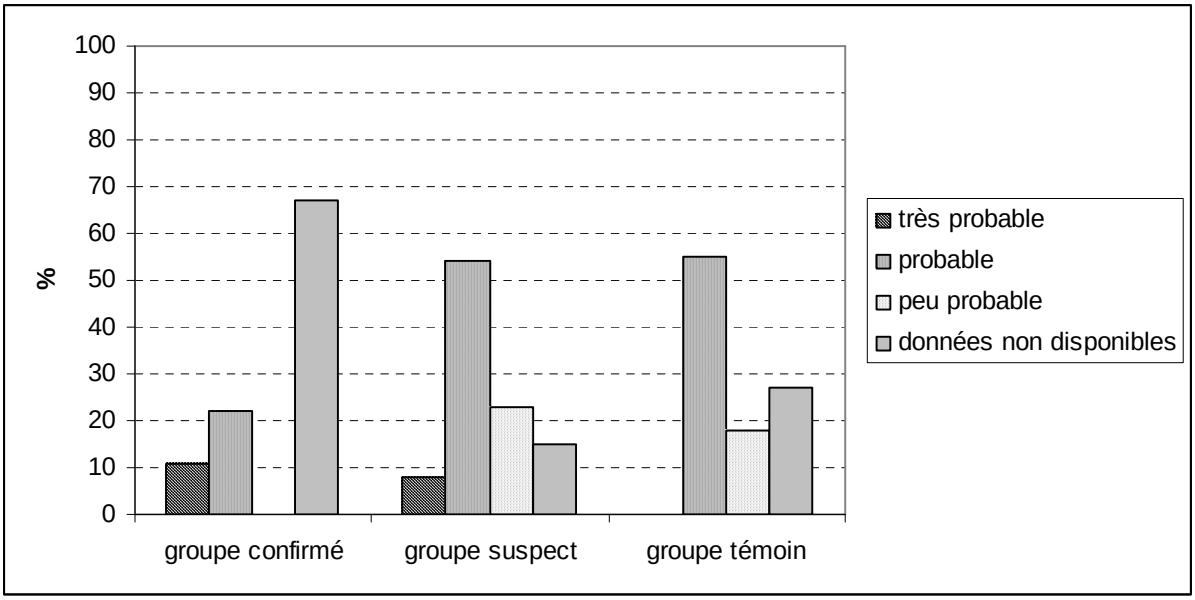


Figure 6 : Résultats de la grille de score épidémio-clinique pour chacun des groupes.

Le score classe 11% des cas confirmés comme « très probables » et 22% comme « probables ». Aucun cas n'est classé comme « non probable ».

54% des cas suspects obtiennent la mention « probables » grâce à la grille de score.

18% des témoins sont classés comme « peu probables » d'après leur score ; aucun n'est considéré comme « très probable ».

4. Examens complémentaires

a. Analyses sanguines

i. Hématocrite, urée et cortisol

Selon les données bibliographiques, une valeur de l'urée supérieure à 0,6g/L (soit 10mmol/L), en association avec un hématocrite supérieur à 40% et une cortisolémie supérieure à 400nmol/L sont en faveur de l'EGS (cf Partie 1. V.A.2.a.).

Aucune augmentation de ces paramètres n'a été enregistrée dans le groupe confirmé, sachant que 44% des données sont manquantes.

Dans le groupe suspect, 70% des données manquent. Aucune élévation simultanée des trois paramètres n'est rapportée : un cas avec élévation isolée de l'hématocrite (égal à 46,6%) et un autre cas avec élévation isolée de l'urée (égale à 1,31g/L) ont été rapportés.

Dans le groupe témoin, 46% des données sont manquantes. 27% des témoins présentaient une augmentation simultanée de l'hématocrite et de l'urée, avec des valeurs moyennes de 55% [46 ; 60] et de 1,2g/L [0,65 ; 2,17] respectivement. Aucune donnée sur le cortisol n'est disponible pour les cas témoins.

ii. Leucocytes et polynucléaires neutrophiles (PNN)

Les valeurs usuelles de ces comptages sont : 5500 à 12500 leucocytes/µL et 2700 à 6700 PNN/ µL.

Parmi les cas confirmés, 44% des cas présentaient une leucocytose neutrophilique et une leucopénie légère sans anomalie du comptage des neutrophiles a été rapportée chez un cas.

Une leucopénie légère a été rapportée chez deux individus suspects.

Dans le groupe témoin, un hémogramme blanc a été réalisé chez huit individus. Les comptages se sont révélés anormaux dans 63% des cas : une leucocytose et/ou une neutrophilie a été rapportée chez quatre cas et une leucopénie chez un individu.

iii. Protéines totales

Les valeurs de référence utilisées dans cette étude sont 52 à 72g/L.

Parmi les cas confirmés, deux valeurs étaient disponibles, dont l'une était supérieure aux valeurs usuelles en l'absence de déshydratation, puisque l'hématocrite était dans les valeurs usuelles. Il en était de même pour le groupe suspect.

60% des témoins chez lesquels les protéines totales avaient été mesurées présentaient une augmentation. Celle-ci était probablement liée à une déshydratation, car ces individus présentaient un hématocrite supérieur à 40%.

iv. Fibrinogène

Les valeurs de référence utilisées dans cette étude sont 1 à 4g/L.

Aucune augmentation du fibrinogène n'a été rapportée dans le groupe confirmé, sachant que les dosages ont été réalisés chez seulement deux des neuf cas.

Dans le groupe suspect, trois valeurs étaient disponibles, dont l'une était discrètement augmentée.

Cinq dosages du fibrinogène étaient rapportés dans le groupe témoin, dont deux révélaient une augmentation.

b. Analyses urinaires

Aucune donnée n'était disponible.

c. Paracentèse abdominale

Dans le groupe confirmé, des résultats de paracentèse étaient disponibles chez deux cas chroniques. Le liquide récolté était trouble, de couleur jaune voire orangée. Le taux protéique avait été mesuré dans les deux cas, sans révéler d'anomalie (valeurs usuelles inférieures à 25g/L).

Dans le groupe suspect, aucune anomalie n'a été rapportée.

Parmi les cinq témoins atteints de coliques d'origine digestive, deux présentaient un liquide de paracentèse séro-hémorragique avec un taux protéique supérieur aux valeurs usuelles. Dans deux autres cas, un liquide d'entérocentèse avait été prélevé.

La densité et l'activité de la PAL n'ont été mesurées dans aucun cas de l'étude.

d. Transit baryté et endoscopie de l'œsophage

Dans 79% des cas de l'étude, ces examens n'ont pas été réalisés. Pour les autres, les données étaient manquantes.

e. Bactériologie

Dans 79% des cas de l'étude, aucune bactériologie n'avait été réalisée. Seul un cas suspect avait fait l'objet d'une recherche bactériologique sur contenu intestinal : aucune flore dominante de *Clostridium sp.* n'a été mise en évidence.

f. Laparotomie exploratrice

Dans le groupe confirmé, aucun résultat n'était disponible. Dans le groupe suspect, une impaction du côlon avec distension de l'intestin grêle a été observée. Pour les témoins, les observations faites lors de la laparotomie et/ou de l'autopsie ont été détaillés dans le I.A.3. de cette partie.

g. Autopsie

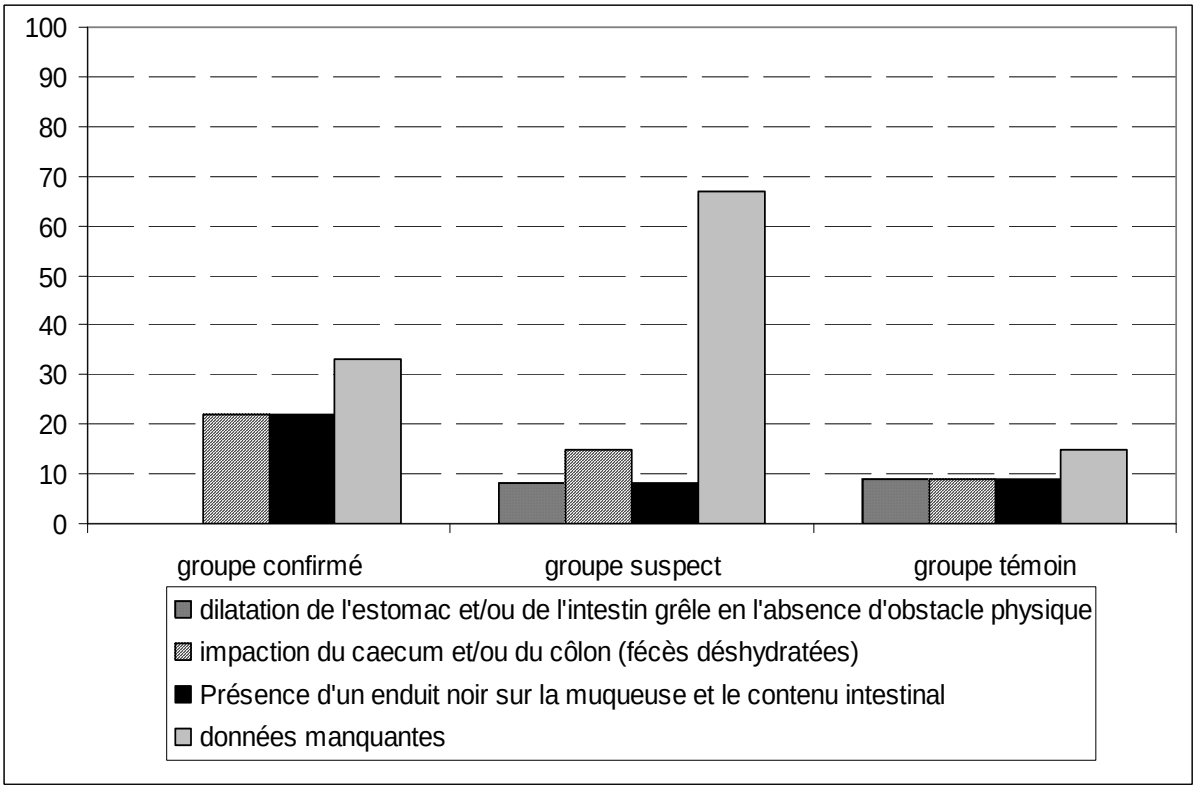


Figure 7 : Prévalence des différentes anomalies classiquement décrites lors d'autopsies de cas d'EGS chez les groupes confirmé, suspect et témoin.

Un pourcentage élevé de données manquantes est observable. La lecture de cet histogramme montre par ailleurs qu'aucune dilatation gastrique ou intestinale en l'absence d'obstruction physique n'a été rapportée chez les cas atteints d'EGS.

La présence d'un enduit noir sur le contenu intestinal et la muqueuse a été observée dans les trois groupes.

Aucune flaccidité gastro-intestinale ni aucune splénomégalie n'a été rapportée, quel que soit le groupe.

h. Biopsies et histologie

Par définition, tous les cas du groupe confirmé avaient fait l'objet de prélèvements et d'analyses histologiques. Pour quatre d'entre eux, les sites de biopsies ont été détaillés : iléon,

ganglions coeliaco-mésentériques, ganglions cervicaux profonds et chaîne paravertébrale.

Une biopsie musculaire a été réalisée chez un cas d'évolution chronique, afin d'exclure une autre hypothèse, telle que la maladie du neurone moteur.

Des biopsies avec analyses histologiques ont été réalisées chez deux des treize cas suspects : iléon et chaîne paravertébrale chez l'un et duodénum, muqueuse rectale et muscles sacro-coccygiens chez l'autre. Dans les deux cas, les lésions étaient trop discrètes pour pouvoir conclure.

C. Discussion du score épidémio-clinique

Le faible nombre de cas de l'étude rétrospective et le pourcentage important de données manquantes ne permettent pas de valider la grille de score, car aucune analyse statistique ne peut être effectuée. Cependant, la description des résultats met en évidence certaines faiblesses du score.

1. Pourcentage de mauvais classement

Un score discriminant classerait les individus témoins comme « peu probables », les individus du groupe confirmé comme « très probable » et les individus suspects comme « probables ». Or le calcul des scores des différents cas de l'étude aboutit à des mauvais classements : parmi les cas du groupe confirmé pour lesquels le score a pu être calculé, le pourcentage de mauvais classement est de 67%. Ce pourcentage s'élève à 36% et 75% pour les groupes suspects et témoins respectivement. Plusieurs éléments peuvent expliquer ces résultats.

2. Biais

a. Biais de recrutement

Malgré la multiplicité potentielle des sources et la présentation de l'étude aux praticiens via la presse, la collecte des cas s'est révélée difficile. Le premier obstacle rencontré a été la prise de contact avec les personnes concernées, notamment lorsque les vétérinaires référents n'ont pas gardé de traces des cas ni les coordonnées des propriétaires, ou encore lorsque celles-ci n'ont pas été mises à jour. Une étude rétrospective fait appel à la mémoire des personnes impliquées et leur gestion des données (archivage ou non) ; cela s'est révélé être très variable selon les personnes interrogées, vétérinaires comme propriétaires. Ainsi, la grille de score n'a pu être dûment complétée pour chaque cas. Ceux pour lesquels trop peu de renseignements étaient disponibles ont été exclus de l'étude.

La difficulté de recrutement des cas n'a pas permis de constituer des groupes de taille suffisante. De plus, la proportion de données manquantes dans la partie épidémiologique est importante. Le score n'a ainsi pu être calculé que pour trois cas confirmé et huit témoins et 11 suspects.

Les modalités du recrutement sont également un biais considérable à prendre en compte, notamment pour la partie clinique de la grille. Les témoins choisis présentaient un tableau clinique proche de l'EGS, car en pratique, c'est face à ces symptômes que le diagnostic différentiel avec l'hypothèse d'EGS devra être fait.

Ainsi, la validation de la grille de score épidémio-clinique est entravée par le trop faible nombre de cas.

b. Biais de mémoire et de méconnaissance

Parmi les critères épidémiologiques, la majorité est relative à la gestion du cheval ou de la pâture dans les semaines voire les mois précédents l'apparition des signes cliniques : changement de pré ou de ration dans les semaines précédant l'apparition du cas, cas d'EGS dans l'année précédente, …Une bonne mémoire est donc nécessaire pour répondre. Les réponses sont donc souvent approximatives. Dans certains cas, les propriétaires ont été contactés pour compléter la grille de score, or la précision de leurs réponses dépend de leur degré d'implication dans la gestion de son cheval : dans les cas où celui-ci est en pension chez un tiers, les propriétaires n'ont pas une connaissance suffisante du contexte pour répondre aux questions telles que la réalisation de travaux ou d'épandage de lisier dans la pâture… Le cas échéant et dans la mesure du possible, les personnes tiers sont contactées (responsable du centre équestre, entraîneur…), afin de préciser les réponses aux questions.

Source d'imprécision voire d'erreur, le biais de mémoire semble inévitable dans une étude rétrospective.

3. Pertinence des critères

Le choix des critères utilisés dans la grille de score a été basé sur des données bibliographiques. Cependant, le nombre de critères et leur importance relative ont été estimés arbitrairement.

a. Nombre de critères

Un nombre limité de critères a été choisi pour que la grille soit rapide à remplir par le vétérinaire sur le terrain, mais aussi pour faciliter sa conception et le choix des pondérations. Certains éléments pertinents ont donc potentiellement été écartés à tort.

b. Précision des critères

Parmi les nombreuses caractéristiques épidémiologiques et cliniques décrites dans la littérature, beaucoup restent peu précises, de part les nombreuses inconnues concernant l'étiologie de l'EGS d'une part, et la variabilité de ses formes cliniques d'autre part.

i. Critères épidémiologiques

L'accès à l'herbe est considéré comme le principal facteur de risque, or l'agent causal peut être l'herbe elle-même ou le fait de pâturer, autrement dit le contact avec le sol et/ou la terre. Selon cette hypothèse, les situations dans lesquelles le cheval ne pâture pas mais est à l'extérieur et peut ingérer de la terre, par exemple un cheval au paddock avec quelques brins d'herbe, devraient aussi être considérées comme étant à risque. Par ailleurs, le pâturage peut être permanent ou non : le critère « accès à l'herbe » ne précise pas s'il inclut les chevaux les chevaux qui broutent seulement en main occasionnellement.

Dans la grille, seule la période pendant laquelle le risque d'apparition de l'EGS est maximal -d'avril à juin- a été considérée comme période à risque, or des cas ont néanmoins été décrits toute l'année dans la littérature, avec un second pic en automne.

Si le changement de ration alimentaire est cité dans la littérature comme facteur de risque, aucune donnée n'est disponible sur le délai entre la modification de la ration et l'apparition des symptômes, d'où une source d'imprécision notable.

ii. Critères cliniques

Le manque de spécificité des signes cliniques de l'EGS a rendu difficile le choix des critères. De plus, la grille de score doit permettre d'aider les praticiens à reconnaître l'EGS,

quelle qu'en soit la forme (aiguë, subaiguë ou chronique). Les critères ont donc été choisis parmi les signes cliniques les plus caractéristiques de chaque forme. Or il semble peu probable qu'un même cheval présente simultanément les signes cliniques des différentes formes. Il semblerait peut-être judicieux que les critères cliniques proposés soient adaptés à la forme clinique suspectée selon la durée d'évolution du cas, autrement dit d'élaborer une grille de score différente selon la forme suspectée. Cependant, certains individus présentent des formes « mixtes » voire atypiques, pour lesquels le choix de la grille serait problématique.

L'intitulé des critères peut aussi limiter leur pertinence : certains critères (coliques, palpation transrectale anormale, dysphagie et/ou hypersalivation) regroupent plusieurs signes et sont donc moins pertinents.

c. Pondérations

L'attribution des coefficients aux différents critères a été basée sur l'hypothèse selon laquelle les arguments cliniques et épidémiologiques sont de même importance dans le diagnostic. Cette hypothèse peut être discutée au vu de l'imprécision de certains critères épidémiologiques et des nombreuses incertitudes qui subsistent quant à leur pertinence.

D'autre part, au sein de chacune des parties épidémiologiques et cliniques, les pondérations ont été attribuées *a priori,* selon leur importance relative dans la littérature. La valeur des coefficients peut donc être discutée.

4. Bilan et perspectives

L'étude rétrospective a été mise en place pour tester la grille de score. Le pourcentage de mauvais classement des cas par le score épidémio-clinique laisse penser que des corrections sont nécessaires. Cependant, même si des faiblesses intrinsèques ont été identifiées (précision des critères, nombre,….), la validité de la grille ne peut être estimée, à cause du manque de données disponibles dans cette étude. En effet, la pertinence des critères épidémiologiques et cliniques ne peut être évaluée que par un traitement statistique avec calcul de Chi2 pour chaque critère. Or le nombre de cas collecté ne le permet pas. Il semble donc nécessaire de poursuivre par une étude prospective afin d'augmenter la taille des échantillons et pouvoir appliquer une méthode statistique telle qu'une analyse multivariée. Celle-ci permettrait de définir quels critères sont pertinents et, d'estimer leurs pondérations relatives dans un deuxième temps.

Il serait intéressant de tester la grille de score ainsi validée sur les cas déclarés au Royaume-Uni, afin de mettre en évidence d'éventuelles différences entre les deux pays.

L'étude rétrospective a permis de plus de collecter des données sur les cas confirmés, relatives à l'épidémiologie, la clinique et aux outils diagnostiques utilisés. Il semble en effet intéressant de pouvoir comparer ces données issues du terrain à celles tirées de la littérature. Cette comparaison n'est pas envisageable ici à cause de la trop petite taille de l'échantillon.

II. ETUDE PROSPECTIVE

L'étude a été menée sur 14 mois, de mars 2010 à avril 2011. Huit déclarations ont été enregistrées. Le faible nombre de cas collectés ne permet pas de réaliser une analyse statistique des données, c'est pourquoi seule une étude descriptive est proposée.

A. Etude descriptive *(cf annexe 6)*

1. Répartition géographique

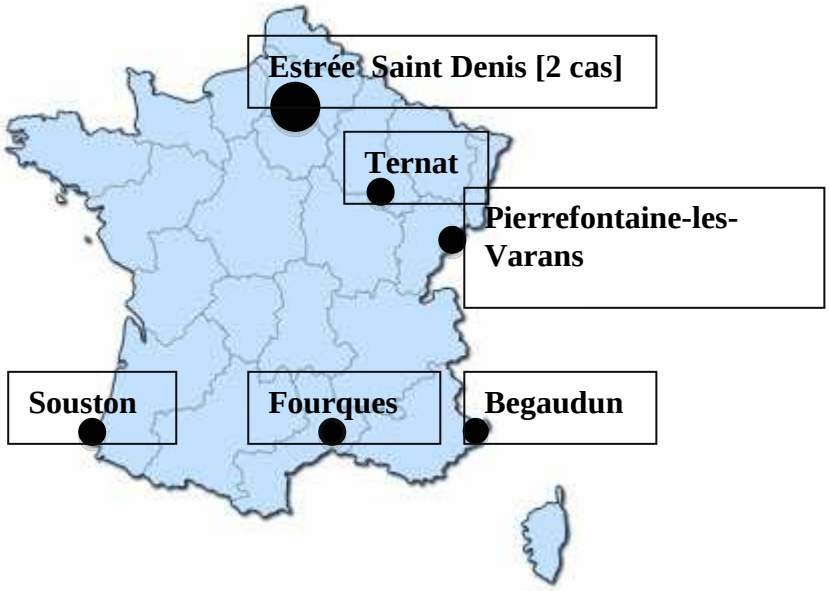


Figure 8 : Répartition géographique des cas de l'étude rétrospective**.**

Les déclarations proviennent de six cabinets vétérinaires différents, répartis dans différentes régions de France. Trois cas ont été enregistrés dans des élevages ; les autres sont des chevaux de loisir.

2. Données épidémiologiques

Les cas enregistrés sont de races variées (camargue, lusitanien, percheron, cheval de selle) ; sont concernés quatre femelles, deux hongres et un mâle, âgés de 1 à 19 ans avec un âge moyen de 10,3 ans. Un cheval a fait l'objet de deux visites donc deux déclarations, ce qui explique que le nombre de cas soit égal à huit pour sept individus.

Sept cas vivent au pré (soit 88%). Un changement de pré dans le mois précédant la maladie est rapporté pour deux cas.

L'effectif total partageant le même habitat est supérieur à un dans quatre cas, dont deux avec un effectif de trente individus ou plus. Parmi ces effectifs, des individus malades sont signalés, ainsi que de la mortalité. Une cohabitation avec d'autres espèces (bovins, caprins) est rapportée pour trois cas.

Pour 75% des déclarations, d'autres cas similaires ont été décrits dans l'effectif au cours des cinq dernières années.

Dans 63% des cas, les signes sont apparus dans la période de risque maximal, c'est-à-dire entre avril et juin (inclus). Les autres cas sont apparus en hiver : décembre, février et mars.

3. Signes cliniques

a. Motif de consultation

Dans 63% des cas, les coliques étaient le motif de consultation. Pour les autres cas, la sudation, l'ataxie, la mortalité, les difficultés locomotrices, ou la dégradation brutale de l'état général constituaient le motif de la consultation.

b. Signes cliniques prépondérants

Huit signes cliniques sont majoritairement rapportés : certains sont rapportés dans plus de 60% des cas :

- abattement
- anomalies de la posture (port de tête bas, dos voussé et/ou diminution du polygone de sustentation)
- tremblements musculaires
- amaigrissement
- diminution des bruits digestifs

50% des chevaux de l'étude présentent un abdomen levretté, de la sudation (localisée ou généralisée) et/ou des coliques.

c. Autres signes cliniques

Aucune hyperthermie n'est rapportée.

Trois cas présentent de la tachycardie, chez l'un d'eux, elle est majeure, avec une fréquence cardiaque de 140 battements par minute. La persistance du pli de peau, reflet de l'état d'hydratation, est augmentée chez 38% des cas de l'étude.

Aucune piloérection n'est rapportée.

Une ptose palpébrale est observée chez 38% des cas. Un seul cas, d'évolution chronique, présente une rhinite sèche.

Deux individus présentent une dysphagie, associée à une hypersalivation pour l'un.

L'aspect des crottins est modifié chez 38% des cas ; deux chevaux présentent des crottins coiffés de mucus.

4. Examens complémentaires effectués par les praticiens

Des résultats d'examens complémentaires sont rapportés pour cinq cas.

Le test à la phényléphrine est positif chez deux individus.

Huit litres de reflux par sondage nasogastrique ont été relevés chez l'un d'eux. Une obstruction oesophagienne est observée chez un autre individu : l'endoscopie de l'œsophage révèle une hypomotilité avec un bouchon oesophagien à 130cm. Aucun résultat de transit baryté n'est disponible. Les données sont manquantes pour les autres cas.

Des fèces très dures avec dilatation des anses intestinales sont notées à la palpation transrectale chez l'un des cas de l'étude.

Aucun résultat de paracentèse ni d'analyse urinaire n'est disponible. Dans l'un des cas, une hémoglobinurie est rapportée chez un individu de la même pâture.

Les paramètres sanguins sont rapportés chez un cas, chez lequel l'hématocrite et la cortisolémie sont dans les valeurs usuelles (respectivement 35,6% et 131nmol/L) et l'urée s'élève à 10,1mmol/L.

5. Analyses demandées

Seul un cas a fait l'objet de prélèvements pour rechercher les toxines BoNT/C ou D dans le sérum et dans le contenu intestinal, ainsi que la bactérie *Clostridium botulinum* type C dans le contenu intestinal.

Un seul des huit cas a fait l'objet d'une analyse histologique, après prélèvement de la paroi intestinale et de la chaîne sympathique para-aortique, confirmant l'hypothèse d'EGS (forme chronique).

B. Discussion de l'étude prospective

Un très faible nombre de déclarations a été récolté au cours des quatorze mois de l'étude. Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce constat : soit la prévalence de l'EGS est faible, soit les résultats ne sont pas représentatifs de la situation réelle. On peut en effet penser que toutes les suspicions n'ont pas fait l'objet d'une déclaration par les praticiens, par manque de motivation ou d'information, malgré la campagne de sensibilisation par la presse et par internet.

La faible prévalence apparente de l'EGS et les difficultés de son diagnostic peuvent expliquer un faible intérêt de la part des vétérinaires, peu enclins à procéder à des investigations lors de suspicion. Si des informations m'ont fréquemment été demandées par mail ou téléphone, peu de cas ont fait l'objet d'une déclaration, bien que la démarche ait été rendue aussi simple que possible, par téléchargement de la fiche de déclaration sur le site du RESPE. Des professionnels (centres équestres, élevages) et plus rarement des particuliers m'ont en effet contactée par mail ou par téléphone suite à une suspicion d'EGS dans leur effectif : souvent démunis face à cette maladie méconnue, ils étaient désireux d'en connaître la cause et les mesures de prévention, pour protéger le reste des chevaux. Dans d'autres cas, ce sont des praticiens qui m'ont contactée directement afin d'en savoir plus sur la démarche à suivre. De nombreux praticiens ignoraient l'existence d'un guide de procédure diagnostique et d'une fiche de déclaration sur le site du RESPE. Il semble donc que de la campagne d'information n'ait pas rempli entièrement ses objectifs. Le plus souvent, ces contacts n'ont pas donné suite à des déclarations.

Chez les cas déclarés, parmi les examens complémentaires de « routine » proposés, très peu ont été réalisés : par exemple un seul résultat d'analyses sanguines est disponible, aucune analyse urinaire n'a été effectuée et seuls deux individus ont fait l'objet d'un test à la phényléphrine. Malgré la prise en charge financière proposée, peu d'analyses ont été demandées : par exemple, une seule analyse bactériologique a été réalisée.

Les paramètres hépatiques sanguins décrits dans la littérature parmi les analyses sanguines d'intérêt (BnC, BC, GLDH, AST et acides biliaires) n'ont pas été inclus dans cette première version du guide de procédure diagnostique car ils ne sont pas cités dans les articles de synthèse les plus récents sur l'EGS. Il serait intéressant de les ajouter pour compléter le document.

Ainsi, les résultats de l'étude prospective ne permettent pas d'avoir une idée de la situation épidémiologique réelle de l'EGS en France aujourd'hui et offrent très peu de renseignements sur les cas. La comparaison entre les données de terrain et celles de la littérature serait intéressante, mais elle n'est pas envisageable à ce stade de l'étude.

D'autre part, peu de commentaires ont été recueillis à propos du guide de procédure et de la fiche de déclaration, d'où la difficulté d'y apporter des améliorations. Pour atteindre les objectifs définis lors de sa mise en place, l'étude prospective doit donc être prolongée. Afin

de pallier au manque de déclarations, de nouvelles campagnes d'informations et une meilleure accessibilité des documents (guide de procédure diagnostique et fiche de déclarations) doivent être envisagées : sensibilisation de l'ensemble des praticiens par des dépliants distribués sous forme papier ou électronique (moins coûteux) ou encore conférences aux congrès de l'AVEF ou des SNGTV (Société Nationale des groupements techniques Vétérinaires).

III. Conclusion

L'étude épidémio-clinique menée dans le cadre de ce travail de thèse avait deux objectifs majeurs : créer une grille de score facilitant la reconnaissance de l'EGS dès la première visite et dresser un bilan de la situation épidémiologique en France. L'étude rétrospective mise en œuvre n'a pas permis de récolter suffisamment de données pour valider la grille de score ; l'étude prospective quant à elle n'a pas rencontré le succès escompté auprès des vétérinaires et ne permet pas de connaître la situation actuelle de la maladie sur notre territoire. Initiée, l'étude prospective demande maintenant à être poursuivie. Une nouvelle campagne de sensibilisation, de plus grande ampleur, semble nécessaire auprès des vétérinaires. Cette augmentation de la durée de l'étude pourra permettre de recruter un nombre suffisant de cas pour procéder à une analyse statistique. Parallèlement, une collecte de cas témoins doit être envisagée, afin de pouvoir soumettre la grille de score épidémio-clinique à des analyses statistiques et ainsi la valider.

De plus, cette étude pourrait permettre de constituer une banque de données regroupant les éléments épidémiologiques, cliniques et les résultats d'examens complémentaires des cas rencontrés. Ces données pourraient être confrontées à celles de la littérature d'une part et aux résultats des travaux d'épidémio-surveillance menés au Royaume-Uni d'autre part, afin d'identifier d'éventuelles variations.

CONCLUSION

La maladie de l'herbe (ou « *Equine Grass Sickness, EGS* ») est une affection neuro-dégénérative débilitante souvent fatale, qui survient préférentiellement entre avril et juin, chez les jeunes chevaux vivant au pré. Son étiologie reste inconnue, même si plusieurs études tendent à montrer l'implication de la neurotoxine BoNT/C produite par *Clostridium botulinum* type C. La diversité des formes cliniques et l'évolution souvent rapide rendent le diagnostic particulièrement difficile, d'autant plus que le diagnostic de certitude ne peut être établi que par l'histologie. Le développement d'un traitement et de moyens de prévention spécifiques est entravé par les incertitudes sur l'étiologie de l'EGS.

L'AVEF a souhaité mettre en place une étude épidémio-clinique, pour déterminer l'importance de l'EGS en France. Objet de ce travail de thèse, cette étude se compose de deux volets : une étude rétrospective permettant de tester une grille de score épidémio-clinique élaborée à partir de données bibliographiques, et une étude prospective auprès des praticiens en France. Trente trois cas d'EGS ont été collectés dans l'étude rétrospective : neuf cas confirmés, onze témoins et treize suspects. Le petit nombre de cas et le pourcentage élevé de données manquantes permettent de présenter des résultats descriptifs. Parmi les cas confirmés, 100% étaient à l'herbe et environ 60% de ces cas se déclarent au printemps. Contrairement aux autres résultats de la littérature, seuls 33% des cas ont entre 2 et 7 ans. Dans le cadre de l'étude prospective menée de mars 2010 à avril 2011, un guide de procédure diagnostique a été mis à disposition des praticiens. Huit cas ont été déclarés auprès des responsables de l'étude. Les coliques ont représenté le motif de consultation dans 60% des cas et environ 90% des chevaux étaient au pré. Un cas d'EGS a été confirmé par analyse histologique. Cependant, de nombreuses suspicions ont été rapportées sans faire l'objet d'une déclaration par les vétérinaires et peu de résultats d'examens complémentaires ont été communiqués.

Ce travail de thèse a permis d'initier une étude épidémio-clinique qui doit être poursuivie et faire l'objet d'une nouvelle campagne de sensibilisation auprès des praticiens. Une collaboration avec les équipes anglaises est également à envisager afin de compléter et élargir la portée de l'étude menée en France par le RESPE.

Le Professeur responsable
VetAgro Sup campus vétérinaire

A. Leblanc

Le Président de la thèse

Pr. Emmanuel Broussolle

Vu et permis d'imprimer

Lyon, le 05 OCT. 2011

Pour le Président de l'Université,
Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,
Professeur F.N GILLY

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

Le Président du Comité de
Coordination des Etudes Médicales

François-Noël GILLY

Le Directeur général
VetAgro Sup

Par délégation
Pr F. Grain - DEVE

VetAgro Sup
Campus Vétérinaire

BIBLIOGRAPHIE

Barlow, R., 1969, Neuropathological observations in grass sickness of horses: Journal of Comparative Pathology, v. 79, p. 407-411.

Bracamonte, J., L. Bouré, R. Geor, J. Runciman, S. Nykamp, A. Cruz, M. Teeter, and H. Waterfall, 2008, Evaluation of a laparoscopic technique for collection of serial full-thickness small intestinal biopsy specimens in standing sedated horses: Am J Vet Res, v. 69, p. 431-439.

Budras, K., W. Sack, and S. Röck, 2003, Anatomy of the horse. An illustrated text. Fourth edition: Hannover, 135p.

Chandler, K., and R. Dixon, 2002, Urinary cortisol:creatinine ratios in healthy horses and horses with hyperadrenocorticism and non-adrenal disease: Vet Rec, v. 150, p. 773-776.

Constantinescu, G., and I. Constantinescu, 2004, Clinical Dissection Guide for Large Animals. Horse and Large Ruminants, Blackwell Publishing, 461 p.

Cottrell, D., B. Mcgorum, and G. Pearson, 1999, The neurology and enterology of equine grass sickness : a review of basic mechanisms: Neurogastroenterol Mot, v. 11, p. 79-92.

Divers, T., and *e. al*, 2006, Equine Motor Neuron Disease : A Review of Clinical and Experimental Studies: Clin Tech Equine Pract, v. 5, p. 24-29.

Divers, T., J. Cummings, H. Mohammed, and e. al, 1997, Equine motor neuron disease in the eastern United States : clinical and laboratory findings: Proceedings of the 1st International Workshop on Grass Sickness. EMND and related disorders, p. 9-11.

Doxey, D., J. Gilmour, and E. Milne, 1991a, A comparative study of normal equine populations and those with grass sickness (dysautonomia) in eastern Scotland: Equine veterinary journal, v. 23, p. 365-369.

Doxey, D., P. Johnston, C. Hahn, and *e. al*, 2000, Histology in recovered cases of grass sickness: Vet Rec, v. 146, p. 645-646.

Doxey, D., E. Milne, J. Ellison, and e. al., 1998, Long-term prospects for horses with grass sickness (dysautonomia): Vet Rec, v. 142, p. 207-209.

Doxey, D., E. Milne, J. Gilmour, and D. Pogson, 1991b, Clinical and biochemical features of grass sickness (equine dysautonomia): Equine veterinary journal, v. 23, p. 360-364.

Doxey, D., E. Milne, and A. Harter, 1995a, Recovery of horses from dysautonomia (grass sickness): Vet Rec, v. 137, p. 585-588.

Doxey, D., E. Milne, M. Woodman, J. Gilmour, and H. Chisholm, 1995b, Small intestine and small colon neuropathy in equine dysautonomia (grass sickness): Vet Res Commun, v. 19, p. 529-543.

Doxey, D., D. Pogson, E. Milne, and e. al., 1992, Clinical equine dysautonomia and autonomic neuron damage: Research in Veterinary Science, v. 53, p. 106-109.

Doxey, D., S. Tothill, E. Milne, and e. al, 1995c, Patterns of feeding and behaviour in horses recovering from dyautonomia (grass sickness): Vet Rec, v. 137, p. 181-183.

Duong, S., 2010, Diagnostic différentiel des affections neuromusculaires du cheval : maladie du neurone moteur, dysautonomie équine et botulisme: Thèse de doctorat vétérinaire thesis, Université Claude Bernard, Lyon, 122p p.

Equine Grass Sickness Surveillance. (Page consultée le 10 Avril 2011).
The Equine Grass Sickness Surveillance Scheme website [en ligne].
Adresse URL : http://www.equinegrasssickness.co.uk/.

Fintl, C., E. Milne, and B. McGorum, 2002, Evaluation of urinalysis as an aid in the diagnosis of equine grass sickness: The veterinary record, p. 721-724.

Furr, M., and S. Reed, 2008, Equine neurology, Blackwell Publishing, 412 p.

Garrett, L., R. Brown, and I. Poxton, 2002, A comparative study of the intestinal microbiota of healthy horses and those suffering from equine grass sickness: Vet Microbiol, v. 87, p. 81-88.

Gilmour, J., 1973, Observations on neuronal changes in grass sickness of horses: Research in Veterinary Science, v. 15, p. 197-200.

Gilmour, J., and G. Jolly, 1974, Some aspects of the epidemiology of equine grass sickness: Vet Rec, v. 95, p. 77-81.

Greet, T., 1982, Observations of the potential role of oesophageal radiography in the horse: Equine veterinary journal, v. 14, p. 73-79.

Greet, T., and K. Whitwell, 1986, Barium swallow as an aid to the diagnosis of grass sickness: Equine veterinary journal, v. 18, p. 294-297.

Greig, J., 1942, Grass sickness in horses. A review of present knowledge of the disease with particular reference to the nature of the causal agent: Transactions of the Royal Highland Agricultural Society of Scotland, v. 54, p. 1-28.

Hahn, C., and I. Mayhew, 2000, Phenylephrine eyedrops as a diagnostic test in equine grass sickness: Vet Rec, v. 147, p. 603-606.

Hahn, C., I. Mayhew, and A. de Lahunta, 2001, Central neuropathology of equine grass sickness: Acta Neuropathol, v. 102, p. 153-159.

Hedderson, E., and J. Newton, 2004, Prospects for vaccination against equine grass sickness: Equine veterinary journal, v. 36, p. 186-191.

Hodson, N., J. Wright, and J. Hunt, 1986, The sympatho-adrenal system and plasma levels of adrenocorticotropic hormone, cortisol and catecholamines in equine grass sickness: Vet Rec, v. 118, p. 148-150.

Holman, H., 1940, A haematological study of horses suffering from grass sickness: Vet Rec, v. 52, p. 195-200.

Hudson, N., and R. Pirie, 2005, Four cases of equine grass sickness: acute, subacute, chronic and surviving chronic grass sickness: Equine veterinary education, v. 17, p. 19-26.

Hunter, L., J. Miller, and I. Poxton, 1999, The association of *Clostridium botulinum* type C with equine grass sickness : a toxicoinfection?: Equine veterinary journal, v. 31, p. 492-499.

Hunter, L., and I. Poxton, 2001, Systemic antibodies to *Clostridium botulinum* type C : do they protect horses from grass sickness (dysautonomia) ?: Equine veterinary journal, v. 33, p. 547-553.

Institut Pasteur, (Page consultée le 1er Janvier 2010)
Site de l'Institut Pasteur, [en ligne]
Adresse URL : http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/sante/centres-nationaux-de-reference-et-centres-collaborateurs-de-l-oms/cnr-et-ccoms/cnr-des-bacteries-anaerobies-et-du-botulisme/activites-de-service.

John, H., A. Creighton, and A. Baird, 2001, Thoracic sympathetic chain ganglion neuronal abnormalities that may explain some of the clinical signs of grass sickness: Vet Rec, v. 148, p. 180-182.

Krawiecki, J., and J. Arnauld des Lions, 1999, Intérêt de la paracentèse abdominale dans le diagnostic des coliques chez le cheval en pratique courante: Bulletin mensuel Société Vétérinaire Praticiens de France, v. 83, p. 117-127.

Leblond, A., G. Pertriaux, P. Tritz, C. Laugier, and F. Valon, 2010, Dysautonomie équine. L'approche diagnostique de la maladie de l'herbe évolue lentement: Semaine vétérinaire, v. 1400, p. 44-45.

Lyle, C., and R. Pirie, 2009, Equine grass sickness: In practice, v. 31, p. 26-32.

Marrs, J., H. John, E. Milne, and R. Irvine, 1999, Urine analysis in equine grass sickness: The veterinary record, p. 734-735.

Marrs, J., J. Small, E. Milne, and H. John, 2001, Liver and biliary system pathology in equine dysautonomia (grass sickness): J Vet Med A, v. 48, p. 243-255.

McCarthy, H., N. French, G. Edwards, K. Miller, and C. Proudman, 2004a, Why are certain premises at increased risk of equine grass sickness? A matched case-control study: Equine veterinary journal, v. 36, p. 130-134.

McCarthy, H., N. French, G. Edwards, I. Poxton, D. Kelly, C. Payne-Johnson, K. Miller, and C. Proudman, 2004b, Equine grass sickness is associated with low antibody levels to Clostridium botulinum : a matched case-control study: Equine veterinary journal, v. 36, p. 123-129.

McGorum, B., and J. Kirk, 2001, Equine dysautonomia (grass sickness) is associated with altered plasma amino acid levels and depletion of plasma sulphur amino acids: Equine veterinary journal, v. 33, p. 473-477.

McGorum, B., R. Wilson, R. Pirie, I. Mayhew, H. Kaur, and O. Aruoma, 2003, Systemic concentrations of antioxidants and biomarkers of macromolecular oxidative damage in horses with grass sickness: Equine veterinary journal, v. 35, p. 121-126.

Milne, E., 1997, Grass sickness : an update: In practice, v. 19, p. 128-133.

Milne, E., D. Doxey, and J. Gilmour, 1990a, Analysis of peritoneal fluid as a diagnostic aid in grass sickness (equine dysautonomia): The veterinary record, v. 127, p. 162-165.

Milne, E., D. Doxey, and J. Gilmour, 1990b, Serum lipids and lipoproteins in equine colic and grass sickness: Research in Veterinary Science, v. 48, p. 170-174.

Milne, E., D. Doxey, J. Kent, and e. al, 1991, Acute phase proteins in grass sickness (equine dysautonomia): Research in Veterinary Science, v. 50, p. 273-278.

Milne, E., R. Pirie, B. McGorum, and D. Shaw, 2010, Evaluation of formalin-fixed ileum as the optimum method to diagnose equine dysautonomia (grass sickness) in simulated intestinal biopsies: J Vet Diagn Invest, v. 22, p. 248-252.

Milne, E., M. Woodman, and D. Doxey, 1994, Use of clinical measurements to predict the outcome in chronic cases of grass sickness (equine dysautonomia): Vet Rec, v. 134, p. 438-440.

Newton, J., E. Hedderson, V. Adams, B. McGorum, C. Proudman, and J. Wood, 2004, An epidemiological study of risk factors associated with the recurrence of equine grass sickness (dysautonomia) on previously affected premises: Equine veterinary journal, v. 36, p. 105-112.

Newton, J., C. Wylie, C. Proudman, B. McGorum, and I. Poxton, 2010, Equine grass sickness : Are we any nearer to answers on cause and prevention after a century of research ?: Equine veterinary journal, v. 42, p. 477-481.

Nout, Y., 2004, Equine Grass Sickness (Equine dysautonomia): Equine Internal Medicine 2nd edition. WB Saunders, p. 652-656.

Nunn, F., R. Pirie, B. McGorum, and e. al., 2007a, Preliminary study of mucosal IgA in the equine small intestine: specific IgA in cases of acute grass sickness and controls: Equine veterinary journal, v. 39, p. 457-460.

Nunn, F., R. Pirie, B. McGorum, U. Wernery, and I. Poxton, 2007b, Comparison of IgG antibody levels to *Clostridium botulinum* antigens between euthanased and surviving cases of chronic grass sickness: Research in Veterinary Science, v. 83, p. 82-84.

Obel, A., 1955, Studies on grass disease : the morphological picture with special reference to the vegetative nervous system: J Comp Pathol, v. 65, p. 334-346.

Osen-Sand, A., J. Staple, E. Naldi, G. Schiavo, O. Rossetto, S. Petitpierre, A. Malgaroli, C. Montecucco, and S. Catsicas, 1996, Common and distinct fusion proteins in axonal growth and transmitter release: J. comp. Neurol., v. 367, p. 222-234.

Pirie, R., 2002, Grass sickness: Manual of Equine Gastroenterology, 343-348 p.

Pirie, R., 2006, Grass sickness: Clinical Technique Equine Practice, v. 5, p. 30-36.

Pogson, D., D. Doxey, J. Gilmour, E. Milne, and H. Chisholm, 1992, Autonomic neurone degeneration in equine dysautonomia (grass sickness): Journal of Comparative Pathology, v. 107, p. 271-283.

Prince, D., B. Corcoran, and I. Mayhew, 2003, Changes in nasal mucosal innervation in horses with grass sickness: Equine veterinary journal, v. 35, p. 60-66.

Proudman, C., 2005, Clinical commentary. Equine grass sickness: Equine veterinary education, v. 17, p. 25-26.

RESPE, Réseau d'EpidémioSurveillance en Pathologie Equine. (Page consultée le 10 Octobre 2011).
Etude "Maladie de l'herbe", [en ligne]
Adresse URL : http://www.respe.net/info/%C3%A9tude-maladie-de-lherbe.

Scholes, S., C. Vaillant, P. Peacock, G. Edwards, and D. Kelly, 1993a, Diagnosis of grass sickness by ileal biopsy: Vet Rec, v. 133, p. 7-10.

Scholes, S., C. Vaillant, P. Peacock, G. Edwards, and D. Kelly, 1993b, Enteric neuropathy in horses with grass sickness: Vet Rec, v. 132, p. 647-651.

Schusser, G., and N. White, 1997, Morphologic and quantitative evaluation of the myenteric plexuses and neurons in the large colon of horses: Journal of the American Veterinary Medical Association, v. 210, p. 928-934.

Sharp, N., 1987, Factors relating to the aetiology and pathogenesis of feline and equine dysautonomias: J Small Anim Pract, v. 28, p. 397-401.

The Horse Trust, Equine grass sickness surveillance.(Page consultée le 10 Octobre 2011).
Equine grass sickness surveillance scheme [en ligne].
Adresse URL : http://www.equinegrasssickness.co.uk/.

Tocher, J., W. Brown, W. Tocher, and J. Buxton, 1923, "Grass sickness" investigation report: Vet Rec, v. 3, p. 37-45, 75-89.

Vercauteren, G., S. Van der Heyden, L. Lefere, and e. al, 2007, Concurrent atypical myopathy and equine dysautonomia in two horses: Equine veterinary journal, v. 39, p. 463-465.

Votion, D., C. Hahn, and E. Milne, 2007, Concurrent conditions in single cases : the need to differentiate equine dysautonomia (grass sickness) and atypical myopathy: Equine veterinary journal, v. 39, p. 390-392.

Waggett, B., B. McGorum, U. Wernery, D. Shaw, and R. Pirie, 2010, Prevalence of *Clostridium perfringens* in faeces and ileal contents from grass sickness affected horses : comparisons with 3 control populations: Equine veterinary journal, v. 42, p. 494-499.

Wales, A., and K. Whitwell, 2006, Potential role of multiple rectal biopsies in the diagnostic of equine grass sickness: Vet Rec, v. 158, p. 372-377.

Whitlock, R., and S. McAdams, 2006, Equine botulism: Clin Tech Equine Pract, v. 5, p. 37-42.

Whitwell, K., 1997, Histopathology of grass sickness : comparative aspects of dysautonomia in various species (equine, feline, canine, leporids): Proceedings of the 1st International Workshop on Grass Sickness. EMND and related disorders. Equine Veterinary Journal Supplement, p. 18-20.

Wijnberg, I., H. Franssen, G. Jansen, T. Van den Ingh, M. Van der Harst, and J. Van der Kolk, 2006, The role of quantitative electromyography (EMG) in horses suspected of acute and chronic grass sickness: Equine veterinary journal, v. 38, p. 230-237.

Williamson, L., J. Halpern, V. Dunlap, and E. Neale, 1995, Botulinum neurotoxin C acts on syntaxin and SNAP-25 and is cytotoxic to neurons: Mol. Biol. Cell, v. 6, p. 61a.

Williamson, L., and E. Neale, 1998, Syntaxin and 25kDa synaptosomal-associated protein : differential effects of botulinum neurotoxins C1 and A on neuronal survival: J. Neurosci. Res., v. 52, p. 569-583.

Wood, J., D. Doxey, and E. Milne, 1998, A case-control study of grass sickness (equine dysautonomia) in the United Kingdom: Veterinary journal, v. 156, p. 7-14.

Wright, A., L. Beard, B. Bawa, and J. Bras, 2010, Dysautonomia in a six-year-old mule in the United States: Equine veterinary journal, v. 42, p. 170-173.

Wylie, C., and C. Proudman, 2009, Equine grass sickness : epidemiology, diagnosis, and global distibution: Vet. Clin. North America equine practice, v. 25, p. 381-399.

ANNEXES

Annexe 1 : Article paru dans la lettre d'information de l'AVEF n°58

vie des commissions

La maladie de l'herbe, des certitudes à réviser ou des incertitudes à élucider ?

La maladie de l'herbe, ou dysautonomie équine, ou *grass sickness* (GS), est une affection neurodégénérative débilitante souvent fatale qui touche les chevaux à l'herbe, surtout au printemps. Les animaux âgés de deux à sept ans sont les plus fréquemment atteints. La maladie est due à une polyneuropathie, associée à une atteinte du système nerveux autonome, notamment dans le tractus digestif.

De nombreuses théories ont été proposées pour en expliquer l'étiologie et la pathogénie, qui demeurent inconnues. Selon l'hypothèse qui prévaut actuellement, la maladie de l'herbe serait une forme de toxi-infection botulinique, liée à la production d'une neurotoxine par *Clostridium botulinum* de type C dans le tube digestif.

Trois formes sont décrites, selon leur durée d'évolution et leur sévérité. Les signes cliniques observés sont la conséquence d'un dysfonctionnement du tractus gastro-intestinal.

- La forme aiguë est mortelle en moins de deux jours. Elle est caractérisée par des coliques permanentes ou intermittentes, une sudation, des tremblements musculaires, une dysphagie et parfois une salivation (photo 1) ;
- La forme subaiguë, qui évolue sur deux à sept jours, est également fatale. La présentation clinique est semblable à celle de la forme aiguë, mais atténuée.
- La forme chronique, d'installation plus insidieuse, est caractérisée surtout par un amaigrissement ou une rhinite sèche, accompagnée parfois de dysphagie (photo 2). Elle dure généralement plus de sept jours, mais mène le plus souvent à la mort du cheval.

© Département hippique, VetAgroSup

1 - Tremblements musculaires et plages de sudation chez un cheval suspect de maladie de l'herbe.

© Département hippique, VetAgroSup

2 - Aspect et posture caractéristiques d'un cheval atteint d'une maladie de l'herbe chronique.

La suspicion est fondée généralement sur des critères cliniques et épidémiologiques, mais le diagnostic *ante-mortem* reste difficile à établir. En principe, seule l'observation à l'histologie de lésions caractéristiques dans les ganglions du système nerveux autonome, cœliaco-mésentérique ou cervical par exemple, permet le diagnostic de certitude. Or ces prélèvements sont malaisés à réaliser au cours d'une autopsie effectuée en pratique courante et les suspicions sont donc rarement confirmées.

La plupart des cas ont été détectés au Royaume-Uni. Cependant, quelques-uns ont aussi été répertoriés en Europe de l'Ouest (notamment en Allemagne et en Belgique). En France, trente-trois cas ont été recensés, localisés surtout en Normandie et diagnostiqués par l'Afssa Lerpe de Goustranville. En cinq ans, de 2003 à 2007, sur 160 déclarations, le réseau "syndrome nerveux" du Respe a enregistré 19 cas suspects de GS ou d'intoxination botulinique (12 % des déclarations), dont 4 ont été confirmés à l'histologie. La Basse-Normandie et la Bretagne sont les plus touchées (12 suspicions), mais le Poitou-Charentes n'est pas épargné (4 déclarations). Pour la première fois en 2008, des suspicions ont également été déclarées dans le sud et le sud-est de la France, sans qu'elles aient pu être confirmées.

Malgré le faible nombre de cas rapportés en France, la maladie de l'herbe représente un réel défi thérapeutique. Tout d'abord parce que le diagnostic reste difficile à établir. Il est fondé sur la clinique et l'épidémiologie ; or la clinique est peu caractéristique et l'évolution vers la mort est souvent bien trop rapide pour que des examens complémentaires en vue d'un diagnostic précis soient mis en œuvre. Ensuite, le petit nombre de cas ne permet pas de poser des conclusions validées par une analyse statistique, ni d'améliorer nos connaissances pour rationaliser notre approche diagnostique sur les critères cliniques et épidémiologiques uniquement. Enfin, les examens complémentaires à effectuer pour confirmer une suspicion clinique sont mal connus.

Tout laisse à penser que la maladie de l'herbe, encore mal définie, est généralement sous-diagnostiquée en France, ou parfois suspectée à tort par certains praticiens. Pour progresser dans la connaissance de cette affection, la commission Maladies infectieuses de l'Avef a souhaité mettre en place un protocole spécifique de collecte de données cliniques et épidémiologiques. Dans ce cadre, une thèse vétérinaire a été initiée par Géraldine Pertriaux, étudiante à l'École nationale vétérinaire de Lyon. L'objectif de ce travail est, en premier lieu, d'établir et de valider, à partir de données rétrospectives, un guide de procédure diagnostique qui permette de classer un individu vis-à-vis de cette maladie selon que le cas est "suspect", "probable" ou "confirmé", en tenant compte de cri-

tères épidémiologiques, cliniques, et des examens complémentaires. Dans un second temps, un recueil de cas prospectifs va débuter en mars 2010 pour une durée d'un an et permettra de collecter des données complémentaires par l'envoi d'un questionnaire spécifique aux propriétaires, relatif aux conditions d'élevage des chevaux et aux facteurs de risque liés à la gestion des pâtures. Nous espérons que cette initiative recevra de votre part un bon accueil. Elle devrait permettre d'améliorer notre procédure de suspicion et de diagnostic de la maladie, et de préconiser des mesures adéquates de prévention aux propriétaires, souvent désemparés par la brutalité d'apparition de l'affection, la gravité des cas et la possibilité d'une résurgence dans leur exploitation. Si vous souhaitez déclarer un cas ou obtenir des renseignements complémentaires, vous pourrez télécharger les documents relatifs à cette étude sur le site du Respe, de l'Avef ou des groupements techniques vétérinaires très prochainement, ou bien contacter directement Géraldine Pertriaux à l'adresse g.pertriaux@vet-lyon.fr ou encore l'un des responsables du réseau "syndrome nerveux" du Respe, Pierre Tritz (pitritz@wanadoo.fr) ou Agnès Leblond (a.leblond@vet-lyon.fr).

Géraldine PERTRIAUX (ENVL),
François VALON (Clinique vétérinaire du parc de Brières, commission Maladies infectieuses de l'Avef),
Claire LAUGIER (Afssa Lerpe),
Pierre TRITZ (Clinique vétérinaire Faulquemont)
et Agnès LEBLOND (Inra-ENVL)

Annexe 2 : Grille de score épidémio-clinique

SCORE EPIDEMIO-CLINIQUE EGS

Date de la visite : …….. Localité : .....……
PROPRIETAIRE : …… Tél :……..……....
CHEVAL :……. N° d'identification : ……..……...
Age :…… Sexe : …… Race : ……....

Mort de l'animal ? □ Non □ Mort naturelle □ Euthanasie
Evolution : □ aiguë (moins de 48h) □ subaiguë (de 2 à 7jours) □chronique (plus de 7 jours)

EPIDEMIOLOGIE (entourez la réponse)	OUI	NON
Le cheval a-t-il accès à l'herbe (en permanence ou transitoirement) ?	5	0
Le cheval a-t-il entre 2 et 7 ans (inclus)?	4	0
La maladie s'est-elle déclarée entre avril et juin ?	3	0
Le cheval a-t-il été changé de pré dans les 15 jours à 1 mois précédents ?	1	0
La ration alimentaire a-t-elle été modifiée récemment (quantitativement ou qualitativement)?	1	0
Y a-t-il déjà eu un cas d'EGS dans la pâture dans les 12 derniers mois ?	1	0
La pâture a-t-elle fait l'objet de travaux dans les 12 derniers mois ?	1	0
Y a-t-il eu épandage de lisier sur la pâture ou en bordure ?	1	0
CLINIQUE (entourez la réponse)		
Abattement	1	0
Tremblements musculaires	1	0
Ptose palpébrale et réponse positive au test à la phényléphrine	3	0
* Rhinite sèche	4	0
* Amaigrissement	1	0
Dysphagie et/ou hypersalivation	1	0
Coliques (diminution de la motilité intestinale, reflux, diminution voire absence de bruits digestifs)	3	0
Palpation transrectale anormale : présence de fèces noires et dures avec du mucus dans le rectum et dilatation des anses intestinales sans étranglement et/ou impaction du gros intestin (empreintes coliques importantes) ou flaccidité du tractus gastro-intestinal.	3	0
SCORE =		

$0 \leq SCORE \leq 11$ => cas peu probable
$12 \leq SCORE \leq 22$ => cas probable
$23 \leq SCORE \leq 34$ => cas très probable

* : signes cliniques rencontrés dans la forme chronique de l'EGS.

EXAMENS COMPLEMENTAIRES

Analyses sanguines

Hématocrite :…… Leucocytes : …… Neutrophiles : ……
Protéines totales. : …….. Fibrinogène : …… Urée : ……...
Cortisol : ……... .... Autre(s) : …….....

Analyses d'urines

Densité :…… pH : …… Protéines : ……
Créatinine : …… Glucose : ……

Paracentèse abdominale

Aspect : ……
Densité : ……. Protéines : ……
Activité de la phosphatase alcaline ou de son isoenzyme intestinale : ……

Transit baryté/ oesophagoscopie

…….....
……...

Laparotomie exploratrice

…… …….
……

Bactériologie

□ recherche des toxines BoNT/C et D dans le sérum : ……
□ recherche de *Clostridium botulinum* type C et/ou de BoNT/C dans le contenu intestinal : ……

Biopsie(s) : □ iléon □ rectum

Autopsie

□ Absence d'étranglement ou d'obstruction intestinale
□ Fèces très dures et très noires en surface + empreintes des haustrations intestinales
□ Rupture gastrique due au reflux (forme aiguë) ou surcharge intestinale (autres formes)

Autre : …….....
……..
Prélèvement(s) pour histologie : □ iléon □ caecum □ rectum
□ ganglion coeliaco-mésentérique □ ganglion cervical crânial □ chaîne para-aortique

Histologie : □ EGS confirmée □ EGS non confirmée : …….

Annexe 3 : Fiche de déclaration

Fiche de déclaration

GS

1/2 Maladie de l'herbe

Une fiche/cheval à g.pertriaux@vetagro-sup.fr (ou fax ENVL 04 78 87 26 75) et à joindre à l'envoi des prélèvements

▸ **Date de déclaration : __/__ / 20___** ▸ **Tampon du Vétérinaire (lisible) :** Téléphone fixe / portable : Email :	▸ **Nom et adresse complète du Propriétaire :** ▸ **Accord du propriétaire pour être contacté et répondre au questionnaire** : ❑ OUI ❑ NON ▸ **Stationnement du cheval** (si différent) **:** Adresse complète :

▸ Nom du cheval : **N°SIRE ou transpondeur :**

Race : **Âge :** **Sexe :**

▸ **Activité(s) :** ☐ Centre Eq. ☐ Entraînement ☐ Elevage ☐ Loisirs ☐ Sport

☐ Autre : .....

▸ **Cheval au pré :** ☐ OUI ☐ NON Depuis (nombre de semaines ou mois) : .....

▸ **Date de début des signes :** ▸ **Motif d'appel :** ▸ **Premier cas ?** ☐ Oui ☐ Non

VACCINATION DU CHEVAL

	O	N	Dernier rappel
Grippe			/ /
Tétanos			/ /
EHV habituel			/ /
EHVplus (x3)			/ /
West-Nile			/ /
Autre :			/ /

EFFECTIF PARTAGEANT LE MEME HABITAT

	Présents	Malades	Morts
TOTAL			
Autres équidés			
Autres espèces			

DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

Dans le mois précédent :	O	N
Cheval déplacé		
Chevaux de l'effectif déplacés		
Nouveaux chevaux dans l'effectif		
Autres cas similaires dans l'effectif(5 ans) :		

Remarques :

SIGNES CLINIQUES : DATE D'EXAMEN : ….. / …… / 20…..

◗ Température : …… °C ◗ Fréquence cardiaque :…… bat/min.

◗ Fréquence respiratoire :……. Mvts/min.

◗ Abattement : NON ❑ ; OUI modéré ❑ ; OUI sévère ❑

◗ Amaigrissement		◗ Ptose palpébrale	
◗ Abdomen levretté	❑	◗ Hypersalivation	❑
◗ Tremblements musculaires	❑	◗ Dysphagie (jetage nasal alimentaire, difficultés de déglutition, mange lentement)	❑
◗ Piloérection	❑		❑
◗ Tête basse	❑	◗ Rhinite sèche (croûtes, saigne très facilement au passage de la sonde)	❑
◗ Dos voussé	❑		❑
◗ Polygone de sustentation diminué	❑	◗ Diminution voire absence de bruits digestifs	❑
		◗ Mort subite	

◗ Sudation généralisée ❑ ; localisée (flanc, encolure, base des oreilles ou de la queue) ❑

◗ Etat de déshydratation (persistance du pli de peau à la base de l'encolure):

2-3 sec (normal) ❑ ; 3-5 sec et pouls filant ❑ ;

>5 secondes, muqueuses sèches et TRC 4-5 sec, pouls très faible ❑ ; Coma ❑

◗ Coliques : sourdes, gratte le sol ❑ ; se regarde les flancs ❑ ; se couche ❑ ; se roule ❑ ; incontrôlables ❑

◗ Nature des crottins : normaux ❑ ; humides ❑ ; secs ❑ ; coiffés ❑ ; présence de grains non digérés ❑ ; parasites ❑

◗ Autres remarques :

EXAMENS COMPLEMENTAIRES EFFECTUES SUR PLACE OU EN CLINIQUE

◗ **Sondage nasogastrique** : ❑ NE[1] – ❑ RAS - ❑ reflux :

quantité (L) et pH : ……

◗ **Palpation transrectale** : ❑ NE - ❑ RAS - ❑ présence de fèces dures, mucus dans le rectum et dilatation des anses intestinales sans étranglement et/ou impaction du gros intestin ou flaccidité du tractus gastro-intestinal ; ❑ Autre : ……...

◗ **Paracentèse abdominale** (d>1,015 et TP = >25mg/L favorables à EGS) **(1 tube sec)** :

❑ NE - ❑ sèche - ❑ RAS - ❑ jaune foncé à orangé ; d =……. – TP = …… g/L

◗ **Test à la phényléphrine** : ❑ NE – ❑négatif – ❑ positif : différence angulaire d'ouverture entre les 2 paupières : ……

◗ **Endoscopie** : ❑ NE – ❑ dilatation de l'œsophage (distance = ……. cm) –

❑ ulcérations œsophagiennes (distance = ……. cm)

❑ reflux alimentaire – ❑ Autre : ……

◗ **Transit baryté** : ❑ NE – ❑ RAS – ❑ accumulation de produit à l'entrée du thorax

▸ **Bandelette urinaire** : ❑ NE – densité urinaire : …… - pH : …… - glucose (nombre de croix) : ….. – protéines (nombre de croix) : …….

▸ **Prise de sang** (Hématocrite>40%, Urée>10 mmol/L et cortisol>400 nmol/L favorables à EGS, **à associer avec mesure de taux de protéines totales**) **(1 tube EDTA + 1 tube hépariné + 6 tubes secs de 5mL)** :

❑ NE – Hématocrite = …….% – Prot tot = ……. g/L – Urée = ……. mmol/L –

Cortisol = ……. nmol/L

▸ **Examen d'un témoin de la même pâture (si possible, âge et sexe identiques également)** :

❑ NE – ❑ examen clinique - ❑ pour la prise de sang – ❑ pour l'analyse d'urine

Résultats : ……

ANALYSES DEMANDEES (PAYANTES SAUF INSTITUT PASTEUR, VETDIAGNOSTICS ET AUTOPSIE AFSSA DOZULE)

▸ **Paracentèse abdominale** : ❑ protéines - ❑ PAL - ❑ isoenzyme intestinale de la PAL

▸ **Prise de sang** : ❑ hématocrite – ❑ urée – ❑ cortisol

▸ **Analyses d'urine** : ❑ densité urinaire - ❑ pH - ❑ glucose – ❑ protéines – ❑ créatinine

▸ **Recherche toxine BoNT/C ou D sur sérum (au moins 10 ml de sérum)** (Institut Pasteur) : ❑

Date prélèvement (tube sec) : …../…../……..

▸ **Recherche de *C. botulinum* C et toxine BoNT/C sur contenu intestinal (20ml)** (Institut Pasteur) : ❑ Date de prélèvement : ……/……/…….

▸ **Laparotomie exploratrice en centre référé : ❑**

▸ **Analyse histologique de biopsies (2 biopsies par site)** (VetDiagnostics,) :

❑ rectales ❑ iléales ❑ ganglion coeliacomésentérique ❑ ganglion cervical

❑ Autre : ……..

Date de prélèvement : ……/……/…….

▸ **Autopsie (AFSSA Dozulé ou ENVL) : ❑ Dissection du ganglion coelicao-mésentérique: ❑**

▸ **Autres prélèvements (reflux gastrique,…) :** Date : ……/……/…….

Analyse(s)demandée(s) : ……..……

Envoi prélèvements	***Contacts***
LDFD14 - 1 route de Rosel - 14053 CAEN Cedex 4	Géraldine PERTRIAUX : g.pertriaux@vetagro-sup.fr
VetDiagnostics, Dr. Alexandra NICOLIER, 14 av. Rockefeller, 69008 LYON	Agnès LEBLOND : a.leblond@vetagro-sup.fr
Institut Pasteur, Unité des toxines et pathogénie bactériennes Zone anaérobie, Dr. Michel-Robert POPOFF, 25-28 rue du Docteur Roux, 75724 PARIS cedex 15	Pierre TRITZ : pitritz@wanadoo.fr Claire LAUGIER : c.collobert@afssa.fr Jackie TAPPREST : j.tapprest@afssa.fr Alexandra NICOLIER : a.nicolier@vetdiagnostics.fr

Annexe 4: Guide de procédure diagnostique

Etude « Maladie de l'Herbe » - Commission « Maladies Infectieuses de l'AVEF

– 01/03/2010 –

GUIDE DE PROCEDURE DIAGNOSTIQUE DE LA MALADIE DE L'HERBE (EGS) OU DYSAUTONOMIE EQUINE

RAPPELS ET DEFINITIONS…

La Maladie de l'herbe (*Equine Grass Sickness* = EGS ou dysautonomie équine) est une affection neuro-dégénérative (polyneuropathie) débilitante souvent fatale, elle touche surtout les jeunes chevaux (2 à 7 ans) à l'herbe, au printemps/début été.

Sa cause est inconnue, l'hypothèse qui prévaut actuellement est qu'il s'agirait d'une forme de toxi-infection botulinique, causée par la production d'une neurotoxine par *Clostridium botulinum* type C dans le tube digestif.

Trois formes cliniques sont reconnues et sont la conséquence d'un dysfonctionnement du tractus gastro-intestinal (tableau 1). Les formes aiguës et subaiguës sont considérées comme systématiquement fatales.

Aspect et posture caractéristiques d'un cas d'EGS chronique

Fasciculations musculaires et sudation en nappes

Tableau 1 : Présentations cliniques des différentes formes de maladie de l'herbe (d'après Scott Pirie, Royal (Dick) School of Veterinary Studies, University of Edinburgh)

F. AIGUË	F. SUBAIGUË	F. CHRONIQUE
• Dépression/somnolence • Distension abdominale • Ileus (absence de bruits digestifs) • Tachycardie • Salivation • Reflux gastrique • Tremblements musculaires • Ptose (paupières tombantes) • Sudation localisée à généralisée • Dysphagie (difficultés de déglutition) • Distension de l'intestin grêle • Coliques (pas toujours) • Impaction du côlon(pas toujours)	• Abdomen relevé • Perte de poids • Dysphagie (difficultés de déglutition) • Tachycardie • Coliques (avec la progression de la maladie) • Reflux gastrique • Sudation en plages • Tremblements musculaires • Impaction du colon • Diminution de motilité intestinale • Rhinite sèche (sècheresse des muqueuses et inflammation des voies nasales)	• Amaigrissement sévère • Abdomen très levretté • Diminution du polygone de sustentation • Rhinite sèche (croûtes et inflammation des voies nasales) • Ptose palpébrale • Légère tachycardie (généralement reste <60 bat.min.) • Tremblements musculaires • Sudations localisées • Coliques sourdes • Diminution de motricité intestinale • Œsophagite

Le diagnostic différentiel est à faire avec les coliques chirurgicales dans les formes aiguës et subaiguës, et principalement avec le botulisme et la maladie du neurone moteur dans la forme chronique (tableaux 2 et 3).

Tableau 2 : Etiologie et épidémiologie comparée du botulisme, de la Maladie du Neurone Moteur (EMND) et de la maladie de l'herbe

	Botulisme	**EMND**	**Maladie de l'herbe**
Etiologie	Le plus souvent ingestion toxine préformée *C. botulinum* type A, B, C1, D dans l'ensilage mal conservé	Carence en vitamine E	Toxi-infection par la neurotoxine de *C. botulinum type C ?*
Epidémiologie	• Sporadique ou foyer • Pas de prédisposition de sexe ni de race • Adultes et poulains (6j à 8m)	• Sporadique • QH, Appaloosas, PS • Pas de prédisposition de sexe • Risque augmente avec âge (max à 16 ans) • Pas d'accès à l'herbe, foin de mauvaise qualité	• Sporadique • Pas de prédisposition de sexe ni de race • Chevaux au pré • Chevaux de 2 à 7 ans • Saisonnière (avril-juin)

Tableau 3 : Comparaison clinique de la Maladie de l'herbe avec le botulisme et l'EMND

	Botulisme	**EMND**
Points communs avec la Maladie de l'herbe	• Abattement • Tremblements musculaires • Dysphagie, anorexie • Coliques, iléus • Ptose palpébrale	• Abattement • Tremblements musculaires • Amaigrissement • Cheval sous lui • Sudation
Signes cliniques différents	• Paralysie flasque progressive puis décubitus • Dyspnée puis arrêt respiratoire • Port de tête bas • Mydriase • Pas de reflux	• Amyotrophie neurogène • Hyperesthésie • Décubitus • Port de tête bas • Port de queue haut • Mydriase, dépôt de lipofuscine sur la rétine • Appétit normal ou augmenté • Crottins normaux • Pas de reflux

1ère ETAPE : FAIRE UN EXAMEN CLINIQUE COMPLET

- ✓ Envisager la réalisation d'un sondage nasogastrique et d'une palpation transrectale

2ème ETAPE : EXAMENS COMPLEMENTAIRES FAITS « SUR PLACE »

- ✓ **Paracentèse abdominale :**

Principe : analyse du liquide péritonéal : bon indicateur de lésions des viscères abdominaux, notamment de la paroi intestinale ; permet surtout d'écarter d'autres hypothèses diagnostiques surtout lors de coliques.

Méthode : Ponctionner la paroi abdominale ventrale un travers de main en arrière de l'appendice xiphoïde, sur la ligne blanche (ou légèrement plus à droite), après avoir tondu et préparé chirurgicalement la zone. Recueillir le liquide dans un tube sec.

Paramètres à mesurer :

- Aspect général à l'œil nu (couleur, turbidité)

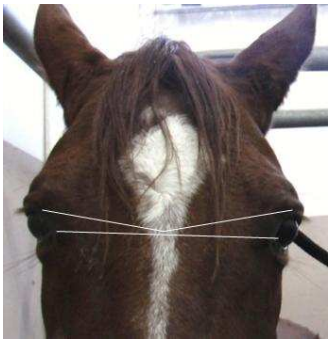
- Taux protéique (TP) – réfractomètre -
- Densité - réfractomètre -
- Activité de la phosphatase alcaline (PAL) et son iso-enzyme intestinale

Résultats attendus dans un cas d'EGS : liquide jaune foncé/orangé non sanguinolent, de densité (>1,015) et de TP (> 25g/L) augmentés, sans augmentation marquée d'activité de la PAL : arguments en faveur de l'EGS.
Avantages : simple, peu invasif, facile à mettre en œuvre
Limites : souvent impossibilité de recueillir du liquide en cas d'EGS (peu de liquide, stase intestinale) ; risque de ponction intestinale ; faux négatifs (aiguille trop courte ou graisse péritonéale ; il peut être utile de réaliser cet examen après contrôle échographique pour repérer une zone de présence de liquide et donc le site de ponction.

✓ **Test à la phényléphrine :**

Principe : la ptose palpébrale bilatérale est un symptôme fréquemment rencontré dans les cas d'EGS ; résulte de la paralysie d'un muscle lisse releveur de la paupière supérieure. On teste ici la réponse à l'application d'un agoniste α-adrénergique (phényléphrine).
Méthode : instiller 0,5 mL de phényléphrine 5% (Néosynéphrine FAURE 5% collyre unidose ND) sur la conjonctive d'1 oeil. Attendre 30 min, évaluer l'ouverture palpébrale et l'angle formé entre les cils et la cornée, en comparant avec l'œil non traité (une photo de face peut être utile).
Résultats attendus dans un cas d'EGS : la fente palpébrale est plus grande et l'angle plus important dans l'oeil traité, par rapport à l'œil sain.
Avantage : non invasif
Limites : Ne pas faire sur animal tranquillisé (même plusieurs heures avant) car interférence (la sédation amplifie la réponse) ! Ne permet pas de différencier les différentes formes d'EGS et absence de corrélation significative entre l'effet de la molécule et la durée d'évolution de la maladie.

Ptose palpébrale : avant



Après instillation de phényléphrine dans l'œil G

✓ **Endoscopie :**

Doit être faite **avant** le transit baryté.
Méthode : endoscope souple de 2m ou plus
Résultats attendus dans un cas d'EGS : dilatation de l'œsophage distal et ulcérations ; stase alimentaire ou de liquide à l'entrée du thorax
Avantages : arguments diagnostiques précoces et précis
Limites : matériel nécessaire (doit être également adapté à la taille du cheval)

✓ **Transit baryté :**

Principe : mettre en évidence un dysfonctionnement oesophagien.
Méthode : faire avaler 60 mL de sulfate de baryum (suspension ou pâte, à répéter 2 à 3 fois si besoin*). A la suite de l'administration, suivre la progression du bolus jusqu'à l'estomac en prenant des radiographies de profil incluant le pharynx et les parties cervicale de l'œsophage jusqu'à l'entrée du thorax ; si l'appareil est suffisamment puissant, inclure des radiographies du thorax. Théoriquement, le passage du produit à travers l'œsophage prend 4 à 10 secondes.
Résultats attendus dans un cas d'EGS : dysfonctionnement signalé soit par accumulation du produit de contraste dans l'œsophage à l'entrée du thorax, soit par écoulement très lent du bolus dans

l'œsophage, comme si seule la gravité intervenait sans péristaltisme normal. En plus, on observe souvent une remontée rétrograde de baryte, une dilatation de l'œsophage, mais pas de dysfonctionnement du pharynx.
Avantages : non invasif
*Limites : l'administration répétée augmente la durée d'opacification de l'œsophage mais ne doit pas être interprétée comme une conséquence de la maladie ; les images thoraciques peuvent être difficiles à interpréter.

Exemple de mégaoesophage dans la portion cervicale

- ✓ **Analyses d'urine**

Principe : lors d'EGS destruction tissulaire, cachexie, déshydratation, séquestration de fluide dans le tractus digestif et hyperglycémie susceptibles de modifier les paramètres urinaires.
Méthode : recueil d'urines fraîches par miction naturelle si possible, à défaut par sondage, dans un tube stérile.
Paramètres à mesurer et résultats attendus dans un cas d'EGS (formes aiguë ou subaiguë) :

- Protéines >0,5g/L
- Créatinine > 4.200 mg/L (37.000 µmol/L)
- Densité augmentée mais pas de valeur seuil disponible
- pH diminué
- Glucose > 5 g/L (28mmol/L)**,** dans forme aiguë de l'EGS

Limites : autres causes possibles ; pas valables pour formes chroniques ; attention, sur le terrain, les bandelettes urinaires donnent des valeurs (protéines, densité, pH) plus basses que les analyses de laboratoire.
»» Pour comparer : prélever les urines d'au moins 1 cheval de la même pâture, si possible même race, âge, sexe et réaliser les mêmes mesures.

- ✓ **Analyses sanguines**

Méthode : prélèvement à la veine jugulaire, 1 tube EDTA + 1 tube hépariné + 6 tubes secs.
Paramètres à mesurer et résultats attendus dans un cas d'EGS :

- Hématocrite
- Urée
- Cortisol

Si **hématocrite > 40% + urée > 10 mmol/L (0,6 g/L) + cortisol > 400nmol/L** : très en faveur d'EGS dans sa forme aiguë.
Limite : tests moins fiables si réalisés individuellement, c'est l'association des 3 qui compte.
»» Pour comparer : prélever au moins 1 cheval de la même pâture, si possible même race, âge, sexe et réaliser les mêmes mesures.

- Les tubes secs sont réservés à la recherche de la toxine botulique de type C ou D : cf paragraphe suivant.

✓ **Recherche la toxine botulique de type C ou D dans le sérum**

Principe : Les neurotoxines de *Clostridium botulinum* type C ou D sont fortement suspectées d'être la cause de l'EGS.

Méthode : Prélever **20 à 30 mL de sang par cheval sur tubes secs** à la veine jugulaire (pour recueillir au moins 10mL de sérum) ; ils peuvent être placés une nuit au frais, puis envoi au laboratoire ; si possible, centrifuger et séparer le sérum avant envoi. Pour les prélèvements de sang ou sérum, la réfrigération n'est pas indispensable pour le transport.

✓ **Recherche la bactérie et de la neurotoxine de *Clostridium botulinum* type C (BoNT/C) sur matières intestinales :**

Méthodes : Le prélèvement doit être effectué de façon à éliminer tout risque de contamination par la flore commensale. En particulier lors d'infections près d'une muqueuse. Il doit être maintenu en permanence à l'abri de l'air, et être mis en culture le plus rapidement possible. Le temps de transport au laboratoire devra donc être réduit au maximum. Si non, les milieux recommandés pour l'ensemencement sont : gélose profonde, boite au sang sous sachet de type *Anaerogen Compact (Oxoid)*, *Anaerocult P (Merk)* ou système similaire, milieux préréduits.

Alternative : des géloses profondes (type VF). **Sont à proscrire le transport sur écouvillon** et d'une façon générale tout milieu permettant un contact avec l'air (http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/anaer/anaer-pratique.html) .

- Contenu intestinal d'animal euthanasié ou mort récemment (maximum 6 h) : à l'autopsie, sélectionner dans l'intestin grêle une anse intestinale congestionnée ou ayant un contenu liquide. Ponctionner l'anse, prélever environ 20 ml de contenu intestinal dans une seringue, si le contenu n'est pas suffisamment liquide, prélever avec une spatule ou autre et les disposer dans un pot à coproculture, un milieu de transport, ou un milieu de culture pour anaérobies.
- Acheminement : Le laboratoire d'analyses est l'Institut Pasteur, CNR des Bactéries Anaérobies et du Botulisme.
- S'assurer de l'étanchéité et de l'identification des tubes et/ou pots à coproculture contenant les prélèvements. Disposer les échantillons dans un emballage contenant des sacs réfrigérants et un matériel absorbant en cas de fuite. Utiliser de préférence un emballage isotherme en polystyrène.
- **N.B**. : **Eviter un envoi en fin de semaine** risquant un retard d'acheminement et une rupture de réfrigération. Les prélèvements peuvent être stockés 3 à 4 jours à + 4°C avant envoi.
- La fiche de déclaration doit être correctement remplie et jointe à l'envoi.

Limites : culture et isolement de *Clostridium botulinum* type C délicats ; possible non détection de la toxine liée au stade d'évolution de la maladie lors du prélèvement ou à l'absorption rapide de la toxine, sa neutralisation par les anticorps ou destruction par des protéases. Le prélèvement de fèces n'est pas approprié chez les autres espèces et donne beaucoup de négatifs.

»» **Pour comparer : prélever au moins 1 cheval de la même pâture**, si possible même race, âge, sexe, alimentation.

✓ **Laparotomie exploratrice, cœlioscopie et biopsies iléales :**

Principe : la laparotomie exploratrice permet surtout d'exclure d'autres hypothèses diagnostiques (obstruction intestinale…). Elle peut être cependant très significative, notamment, dans la forme aiguë d'EGS si les signes suivants sont observés :

- distension sans obstruction physique et spasmes incoordonnés de l'intestin grêle
- distension gastrique,
- impaction sévère secondaire du gros intestin (dilaté et moulé sur les fèces) notamment côlon ventral gauche ; empreintes des haustrations intestinales, enduit noir observé sur la muqueuse et le contenu.

Si le cheval est référé en chirurgie pour coliques, penser à **demander au moins 2 biopsies iléales** (avec une seule, le risque d'avoir des faux négatifs est important) et **prélever du liquide intestinal pour recherche de *Clostridium***. L'analyse anatomopathologique offre un diagnostic de certitude en cas d'observation de chromatolyse avec pycnose, caryorrhexie et excentricité nucléaire dans les corps neuronaux des plexus sous muqueux.

Envoi des prélèvements :

- CNR Institut Pasteur, Unité des toxines et pathogénie bactériennes Zone anaérobie, Dr. Michel-Robert POPOFF, PARIS
- VetDiagnostics, Dr. Alexandra NICOLIER, 14 av. Rockefeller, 69008 LYON

Avantage : diagnostic de certitude ; la coelioscopie bien maîtrisée peut permettre de visualiser les mêmes éléments et remplacer la laparotomie exploratrice et est moins invasive qu'une laparotomie ;
Limites : invasif, coûteux, faux négatifs possibles ; matériel et technicité requises pour la coelioscopie

- ✓ **Biopsie rectale :**

Principe : étude histologique de sous-muqueuse rectale : l'observation de 2 neurones au minimum en chromatolyse complète par cas serait en faveur de l'EGS. Les résultats d'une biopsie unique sont décevants car les faux négatifs sont nombreux : au moins 2 biopsies rectales sont nécessaires.
Méthode : Vidanger le rectum ; effectuer 2 prélèvements, 10 à 20 cm crânialement aux marges de l'anus, en pinçant avec le pouce et l'index les replis de muqueuse situés à 10h00 et à 14h00 ; effectuer la biopsie avec une pince à biopsie utérine **bien aiguisée (ou neuve)**. Aucune anesthésie n'est nécessaire en principe, éventuellement une légère sédation. Plonger les prélèvements dans le formol.
Envoi des prélèvements : VetDiagnostics, Dr. Alexandra NICOLIER, 14 av. Rockefeller, 69008 LYON
Avantages : non invasif, simple, peu onéreux
Limites : risque de déchirure de la muqueuse si matériel insuffisamment aiguisé ; nécessité de faire au moins 2 biopsies, qualité de la biopsie (doit inclure la sous-muqueuse !), interprétation encore discutée : aide au diagnostic mais ne permet pas d'exclure la maladie, pas de diagnostic de certitude.

Réalisation d'une biopsie de muqueuse rectale à l'aide d'une pince à biopsie utérine

- ✓ **A l'autopsie, prélèvement de la zone incluant le ganglion nerveux cœliaco-mésentérique :**

Après avoir retiré le tube digestif sans aller profondément entre les reins, éviscérer ceux-ci ensemble en longeant le rachis de façon à prélever en même temps les muscles petits psoas (1. couper transversalement jusqu'au rachis en avant et en arrière des reins, 2. Dégager un rein puis poursuivre entre les reins en profondeur en longeant le rachis pour terminer en dégageant l'autre rein).
Disposer les reins à plat, les surrénales face à vous (le rein droit à gauche et le rein gauche à droite) afin de prélever la zone incluant le ganglion nerveux cœliaco-mésentérique qui se trouve sous le pôle crânial de la glande surrénale gauche, en incisant de la façon suivante :

- horizontalement à mi-hauteur de la glande surrénale gauche
- en suivant longitudinalement l'aorte abdominale à gauche de la glande surrénale gauche
- au sein du rein gauche en préservant uniquement 3 à 4 cm de celui-ci à droite de la glande surrénale gauche.

Le prélèvement du ganglion cervical supérieur est une autre possibilité, même si elle offre moins de chances de trouver des lésions neuronales que le ganglion cœliaco-mésentérique

Envoi des prélèvements :

- L'ensemble des tissus prélevés dans la zone telle que décrite dans le guide doit être plongé dans le formol puis envoyé à l'AFSSA Dozulé, qui réalisera une dissection du ganglion cœliaco-mésentérique et reconditionnera pour envoi au laboratoire d'anatomo-pathologie ;
- Si le prélèvement est « propre » d'emblée, alors envoyer directement au laboratoire d'anatomo-pathologie : VetDiagnostics, Dr. Alexandra NICOLIER, 14 av. Rockefeller, 69008 LYON
- Délai de réponse : 1 semaine à dater de la réception du prélèvement

Avantages : diagnostic de certitude

Limites : difficultés de réaliser une autopsie sur le terrain, prélèvements qui nécessitent une certaine habitude.

4ème ETAPE : REMPLIR LA FICHE DE DECLARATION ET LA TRANSMETTRE

- ✓ Les documents sont téléchargeables sur le site du RESPE (www.respe.net), de l'AVEF (www.avef.org) et de la SNGTV (www.sngtv.org) ; sous **format Word (pour une saisie « en ligne »)** ou PDF ; ils peuvent également être obtenus sur demande à la **responsable de l'étude**, Géraldine PERTRIAUX (g.pertriaux@vatagro-sup.fr), ou aux **gestionnaires du collège « syndrome nerveux »** du RESPE, Agnès LEBLOND (a.leblond@vetagro-sup.fr) ou Pierre TRITZ (pitritz@wanadoo.fr);

- ✓ Les fiches doivent être **envoyées par mail à la responsable de l'étude Géraldine PERTRIAUX (g.pertriaux@vetagro-sup.fr),** ou bien faxées à l'ENVL (VetAgroSup) (fax : 04 78 87 26 75); elles seront transmises aux responsables du « collège nerveux » et examinées et classifiées selon le même protocole que les autres déclarations effectuées dans le cadre dudit collège ;

- ✓ Les laboratoires partenaires de l'étude et adresse d'envoi des prélèvements sont :

  - o Pour tout renseignement complémentaire sur les techniques de prélèvement et les résultats de l'autopsie et pour la dissection de la région du ganglion coeliaco-mésentérique :
    AFSSA LERPE, La Fromagerie, 14430 Goustranville,
    tel : 02 31 79 22 76 ; fax : 02 31 39 21 37
    Directeur d'unité : Claire LAUGIER
  - o Pour les analyses histologiques de biopsies d'iléon, de rectum et de ganglion coeliacomésentérique

    VetDiagnostics, Dr. Alexandra NICOLIER, 14 av. Rockefeller, 69008 LYON
    Tél : 04.78.34.95.24 ; mail : a.nicolier@vetdiagnostics.fr
  - o Pour les recherches de *Clostridium botulinum* et de la neurotoxine :
    Institut Pasteur, Unité des toxines et pathogénie bactériennes Zone anaérobie,
    25-28 rue du Docteur Roux, 75724 PARIS cedex 15,
    Tél standard 01 45 68 80 00
    Directeur d'unité : Dr. Michel-Robert POPOFF

- ✓ Géraldine PERTRIAUX est responsable de la production du rapport d'étude (thèse vétérinaire ENVL) ; échéance fin 2011 ;

- ✓ La **commission « maladies infectieuses » de l'AVEF** est à l'initiative de ce travail et tout renseignement complémentaire peut-être demandé à son président, **François VALON** (francois.valon@wanadoo.fr), ou à l'une des personnes responsables du suivi de l'étude citées ci-dessus

- ✓ Toutes les données recueillies dans le cadre de cette étude seront traitées dans le respect de l'anonymat ; toute personne incluse dans l'étude a un droit d'accès et de rectification des données

le concernant ; pour exercer ce droit, il suffit d'envoyer un mail à la responsable de l'étude, Géraldine PERTRIAUX.

- ✓ Les photos présentées dans le présent document sont la propriété de la Clinique équine de VetAgroSup, Campus de Lyon, et sont soumises à des droits d'utilisation ;

- ✓ Ce document a été rédigé grâce à un groupe de travail constitué des Drs. Vet. J. Bardiès, C. Bussy, J.L. Cadoré, T. Cochard, X. d'Ablon, P. Garcia, C. Laugier, A. Leblond, M. Lévy, P. Losfeld, A. Nicolier, J. Tapprest, P. Tritz (responsable du réseau « syndrome nerveux » du RESPE), F. Valon (commission Maladies Infectieuses de l'AVEF et Directeur Scientifique du RESPE), et avec la collaboration du Dr. M.R. Popoff (CNR Institut Pasteur), de V. Maisonnier (RESPE), de PF Mazeaud (SNGTV), des Drs. Vet. R. Newton et C. Wylie (*Animal Health Trust*) et de J. McIntosh (Secrétaire de *l'Equine Grass Sickness Fund*) .

Annexe 5: Compte-rendu de la conférence téléphonique du 13/01/2010

COMPTE RENDU CONFERENCE TELEPHONIQUE DU 13/01/2010

Participants : Christian Bussy, Philippe Garcia, Agnès Leblond, Pierre Losfeld, Géraldine Pertriaux, Jackie Tapprest (en remplacement de Claire Laugier), Pierre Tritz, Francois Valon

Excusés : Jacques Bardiès, Jean Luc Cadoré, Michel Lévy

Lors de cette réunion téléphonique, l'organisation de l'étude a été reprécisée : deux parties sont à distinguer. Une étude rétrospective d'une part, ayant pour but de tester le score clinique et épidémiologique sur les cas rencontrés auparavant par les vétérinaires ; d'autre part, une étude prospective sur un an, qui débutera en mars 2010 : les vétérinaires pourront télécharger la fiche de déclaration de *l'Equine Grass Sickness* (EGS) et le guide procédure sur le site du RESPE, de l'AVEF et éventuellement des GTV.
Lors de la réunion, ont été évoqués :

- l'article de présentation
- le score épidémiologique et clinique
- le guide procédure
- la fiche de déclaration

I. Concernant l'article de présentation :

Il fait un rapide rappel sur la maladie de l'herbe (épidémiologie, clinique, diagnostic) et présente le projet. Il semble nécessaire de bien distinguer les deux facettes de l'étude : rétrospective d'une part, afin de tester le score et le modifier si besoin (il ne sera pas à disposition des vétérinaires pour le moment) ; et prospective sur un an (à compter de mars 2010) d'autre part, qui permettra de dresser un bilan de la situation épidémio-clinique en France et d'affiner le guide de procédure et la fiche de déclaration, en fonction des résultats et des commentaires des utilisateurs au fur et à mesure.

II. Concernant le score clinique et épidémiologique (étude rétrospective) :

Pour tester ce score, la responsable de l'étude, Géraldine Pertriaux, recontactera chacun par mail (de préférence) ou par téléphone, pour recueillir les données correspondant aux cas suspects ou confirmés rencontrés depuis deux à trois ans, ou plus si les données cliniques et épidémiologiques ne sont pas biaisées par la mémoire (sachant que les cas disponibles au RESPE datent de 2003).

Certains vétérinaires aimeraient que le paramètre « chute brutale de pression atmosphérique » soit pris en compte dans la partie épidémiologie : cet élément sera plutôt dans un questionnaire adressé aux propriétaires. En effet, ce type de donnée est trop subjectif et trop de paramètres peuvent être pris en compte, si l'on étudie la météo (température, vent, pluie,…), pour que cette information soit valablement interprétée par une simple question.

Par ailleurs, il a été suggéré de bien mentionner la palpation d'empreintes fécales volumineuses dans le colon lors de la palpation transrectale dans la partie « signes cliniques ».

III. Concernant le guide de procédure :

Il s'agit d'une étude descriptive de la dysautonomie équine, le but étant donc d'obtenir la meilleure définition possible du cas à partir du faible de nombre de cas à disposition, d'où la grande variété d'examens complémentaires proposés. Le guide de procédure présenté lors de la réunion n'est qu'un premier jet, qui sera modifié selon les remarques et suggestions apportées lors de cette réunion. La version corrigée sera à la disposition des vétérinaires sur le site du RESPE à partir de début mars. Les remarques qui ont été faites sont les suivantes :

Le guide rappelle l'utilité d'un examen clinique complet, avec notamment un sondage naso-gastrique ; il paraîtrait intéressant de pouvoir rechercher *Clostridium botulinum* dans le liquide obtenu (par analogie aux salmonelles), reste à savoir si cela est possible.

Il faut préciser que, la plupart du temps, la paracentèse abdominale ne donne aucun liquide dans les cas d'Equine Grass Sickness (EGS) et qu'à cet égard, il paraît intéressant d'envisager ce prélèvement sous contrôle échographique pour voir s'il y a un contenu liquidien dans la cavité abdominale ou non et, le cas échéant, pouvoir choisir le site de ponction.

Concernant le test à la phényléphrine, il convient de préciser le nom déposé du produit utilisé.

Pour l'examen de l'œsophage, la nécessité d'avoir un endoscope adapté à la taille du cheval est soulignée.

Selon l'Institut Pasteur, il est inutile de rechercher des anticorps anti-*Clostridium botulinum* ou anti-toxine BoNT/C, de par la difficulté d'interprétation des résultats. Il est par contre intéressant de rechercher la toxine ou la bactérie dans le sérum et/ou le liquide intestinal (en cas d'autopsie). Le prélèvement d'une portion d'anse fermée est déconseillé. Selon le CNR, les fèces ne sont pas un prélèvement intéressant dans les autres espèces, rarement positif, donc semble peu approprié. Cependant, dans une publication de l'Equine Vet J. 44% des chevaux à EGS auraient été positifs en UK.

- dans le sérum : i**l est nécessaire de prélever 20 à 30 mL de sang par cheval, pour recueillir au moins 10mL de sérum** (à préciser clairement dans le guide de procédure)
- pour le prélèvement de liquide intestinal lors de l'autopsie, il est recommandé de le recueillir dans l'intestin grêle, plutôt dans une anse d'aspect hémorragique. 20 ml suffisent, prélever à la seringue, mais si le contenu n'est pas suffisamment liquide, prélever avec une spatule ou autre dans un pot à coproculture.

NB : pour l'AFSSA, chaque envoi doit être fait par transporteur et revient à environ 150 euros, donc ne sera pas financé ; le CNR Institut Pasteur ne dispose pas d'un réseau de ramassage de prélèvements pour les vétérinaires ; est-il possible d'envisager une **solution de remplacement avec envoi par le laboratoire FD ?**

Ces analyses sont coûteuses (~150 euros/ prélèvement) mais seront prises en charge par l'Institut Pasteur. Il est nécessaire que les prélèvements envoyés soient accompagnés d'une déclaration en bonne et due forme.

La question de l'intérêt éventuel d'un raclage de la muqueuse rectale a été soulevée ; elle sera posée à l'Institut Pasteur : pas d'expérience. Cf. remarques précédentes sur la pertinence d'un prélèvement de fèces.

En ce qui concerne la laparotomie exploratrice, il paraît important de préciser que cet « examen complémentaire » est très significatif : l'observation d'un gros intestin dilaté et moulé sur les matières fécales sur toute sa longueur est très en faveur d'EGS. Cette observation peut également être faite lors d'une cœlioscopie ou d'une autopsie. La cœlioscopie pourrait donc être ajoutée dans le guide de procédure et le score modifié en conséquence.

Pour la biopsie rectale, il a été rappelé qu'il est impératif que **la pince à biopsie rectale doit être neuve ou parfaitement aiguisée,** sous peine de déchirer la muqueuse rectale.

Le paragraphe sur l'autopsie décrit une technique de prélèvement de la région du ganglion cœliaco-mésentérique pour les vétérinaires qui n'ont pas l'habitude de prélever ce ganglion, parfois difficile à trouver. Il est également possible – et plus facile – de prélever le ganglion cervical supérieur, en disséquant la région des poches gutturales. Les deux techniques pourraient donc être proposées ; cependant, selon Claire Laugier, la fréquence des lésions dans le ganglion cervical supérieur serait moindre que dans le ganglion cœliaco-mésentérique. **Le guide de procédure sera complété par l'AFSSA LERPE pour décrire le prélèvement du ganglion cervical supérieur**. Par ailleurs, l'utilité d'un « stage » de formation à ces techniques ou d'un support visuel (photographies ou film) a été suggérée par les participants : contacter C. Laugier ou J. Tapprest.

IV. Concernant la fiche de déclaration :

Il paraît nécessaire d'y rappeler les quantités à prélever (notamment **la quantité de sérum : 6 tubes de 5mL**), les types de tubes à utiliser et adresses exactes des laboratoires partenaires.

Il semblerait intéressant, d'un point de vue pratique, de faire un devis pour la totalité de la procédure diagnostique (en coût réel), afin de pouvoir préciser aux propriétaires que certains examens coûteux sont pris en charge par les laboratoires.

Il serait plus rapide et plus simple que les vétérinaires renvoient par mail la fiche de déclaration dûment complétée à la responsable de l'étude (g.pertriaux@vetagro-sup.fr) ainsi qu'en copie à Agnès Leblond (a.leblond@vetagro-sup.fr) et Pierre Tritz (pitritz@wanadoo.fr) ou par fax à l'école vétérinaire (fax : 04 78 87 26 75). En pratique, les documents devront être disponibles pour téléchargement à la fois en format word (pour pouvoir être complété « en ligne ») et *.pdf sur les sites du RESPE et AVEF.

V. En plus :

- Situation en UK :

Compte tenu de la grande prévalence de l'EGS en Angleterre, il serait judicieux de connaître la démarche diagnostique employée ; un contact a été établi avec Joyce McIntosh (*Equine Grass Sickness Fund* ; www.grasssickness.org.uk) et Richard Newton et Claire Wylie (*Animal Health Trust* ; www.equinegrasssickness.co.uk). Ces derniers sont en charge de l'épidémiosurveillance de l'EGS. Celle-ci a été établie depuis 2007, elle inclue des données rétrospectives jusqu'en 2000, puis prospectives à partir de 2007. Les déclarations sont faites par les propriétaires, et aucune analyse n'est demandée/financée. Un questionnaire « propriétaire » et un questionnaire « élevage » sont disponibles sur ces sites et nous pouvons nous en inspirer pour recueillir des données comparables. Une collaboration avec échange de données est donc envisageable : leurs données nous seraient utiles pour tester notre score d'une part, d'autre part il serait intéressant de comparer les données cliniques et épidémiologiques des deux pays car, à ce jour, rien ne dit que la maladie est comparable Outre-Manche.

Concernant la recherche de *Clostridium* et/ou de la toxine, ils n'ont pas d'expérience sur des prélèvements tels que le reflux œsophagien, le raclage de muqueuse rectale ou le liquide péritonéal. On sait seulement que Gilmour, en 1973, a pu reproduire la maladie par administration intrapéritonéale de sérum de chevaux atteints d'EGS aigu à des chevaux sains. Par ailleurs, Hunter et al. (1999) ont isolé *C. botulinum* type C dans les fèces chez 44% de chevaux atteints d'EGS aiguë contre seulement 8% de chevaux sains et dans le contenu iléal de 48% de chevaux malades contre 7% de chevaux sains.

- Laboratoire d'anatomie pathologique :

Le Dr. Alexandra NICOLIER (VetDiagnostics – 14 avenue Rockefeller – 69008 Lyon ; Tel : 04.78.34.95.24 ; Mail : a.nicolier@vetdiagnostics.fr) accepte le principe d'une collaboration scientifique à objectif de recherche.

Un forfait de 30 € HT par cheval sera facturé à l'ENVL pour 20 à 30 analyses (unité INRA-EpiA, Agnès LEBLOND) ; voir avec l'ENVL si une refacturation partielle au client serait possible (par exemple 15 € par cheval). Cette « cotisation » permettrait d'augmenter le nombre de cas inclus dans l'enquête, sachant qu'on attend entre 20 et 50 prélèvements maximum pour l'étude prospective.

Le laboratoire peut fournir les kits de prélèvement et d'envoi sur demande. Dans ce cas, le laboratoire prend en charge les frais d'envoi, mais il faut être sûr d'avoir un nombre minimum de cas car 6 kits sont envoyés à chaque fois (pourrait résoudre les problèmes de l'AFSSA Dozulé ?).

Ne seront validées que les demandes accompagnées de la fiche de déclaration et pour lesquelles les prélèvements seront jugés conformes (au moins deux biopsies par site par exemple).

- Devis théorique pour l'exploration d'un cas (selon tarifs VetAgro Sup)

◗ **Bilan hématologique et biochimique de base**	45 €
◗ **Biochimie urinaire** : densité urinaire, glucose, protéines, créatinine	35 €
◗ **Recherche de la neurotoxine *Clostridium botulinum* type C et D sur sérum**[1]	300 €
◗ **Recherche de *C. botulinum* C et toxine BoNT/C sur liquide d'anse intestinale**[1]	300 €
◗ **Laparotomie exploratrice en centre référé**	3.500 €
◗ **Analyse histologique de biopsies**	65 €
◗ **Autopsie (AFSSA Dozulé ou ENVL)**	
◗ **Envoi de prélèvements (chronopost) à 3 laboratoires**	60 €
TOTAL	

[1] Institut Pasteur, Unité des toxines et pathogénie bactériennes Zone anaérobie, Dr. Michel-Robert POPOFF, 25-28 rue du Docteur Roux, 75724 PARIS cedex 15

Annexe 6 : Synthèse des résultats épidémiologiques (a) et cliniques (b) de l'étude prospective.

(a)

Cas n °	Date	Lieu	Race	Age (ans)	Sexe	Activité	Au pré	Nb de chevaux dans le pré	Nb de malades dans le pré	Nb de morts dans le pré	Autres espèces	Changement de pré	Cas similaires dans l'effectif dans les 5 ans
1	01/04/10	13	Camargue	10	F	Elevage	Oui	30	6	4			5
2	06/04/10	06	Lusitanien	1	M	Elevage	Oui	42	8	5	1 vache		8
3	03/05/10	60	Cheval de selle	12	F	Loisir	Oui	1		1	3 chèvres	oui	0
4	03/05/10	60	Cheval de selle	13	H	Loisir	Oui	1		1	3 chèvres	oui	1
5	15/06/10	25	Percheron	19	H	Loisir	Oui						
6	10/12/11	13	Camargue	10	F	Elevage	Oui	30					5
7	10/02/11	52		5	F	Elevage							
8	12/03/11	40	Croisé Camargue	12	F	Loisir	Oui	3	2	1			1

(b)

Cas n°	Motif de consultation	Température (°C)	Fréquence cardiaque (bpm*)	Déshydratation (persistance du pli de peau)	Abattement	Anomalies de la posture	Abdomen levretté	Tremblements musculaires	Piloérection	Sudation	Ptose palpébrale	Rhinite sèche	Amaigrissement	Hypersalivation	Dysphagie	Diminution des bruits digestifs	Coliques	Crottins
1	ataxie mortalité			oui non	oui non	oui non	oui non	oui non			oui non		oui non	oui non	oui non	oui non	oui non	mucus
2	coliques	37,5	70		oui non	oui non		oui non		oui non	oui non					oui non	oui non	secs
3	coliques	36				oui non	oui non	oui non		oui non			oui non			oui non	oui non	normaux
4	sudation, problèmes locomoteurs	36,5			oui non		oui non	oui non		oui non					oui non	oui non		humides
5	coliques	37,7	60	oui non	oui non	oui non	oui non	oui non			oui non	oui non	oui non			oui non		humides
6	coliques				oui non								oui non					
7	coliques				oui non								oui non					
8	dégradation de l'état général	38	140	oui non	oui non	oui non				oui non						oui non	oui non	mucus

(*) battements par minute

NOM PRENOM : PERTRIAUX GERALDINE

TITRE : ETUDE DE LA MALADIE DE L'HERBE (*GRASS SICKNESS*) CHEZ LE CHEVAL EN FRANCE

Thèse Vétérinaire : Lyon, *le 17 Novembre 2011*

RESUME :

La maladie de l'herbe (*« ou Equine Grass Sickness, EGS »*) est une affection neuro-dégénérative débilitante souvent fatale, qui survient préférentiellement entre avril et juin, chez les jeunes chevaux vivant au pré. Son étiologie reste inconnue, même si plusieurs études tendent à montrer l'implication de la neurotoxine BoNT/C produite par *Clostridium botulinum* type C. Trois formes cliniques sont reconnues (aiguë, subaiguë et chronique), conséquences d'une dégénérescence des systèmes nerveux autonome et périphérique, se traduisant le plus souvent par un dysfonctionnement du tractus gastro-intestinal. Le diagnostic de certitude ne peut être établi que par l'histologie. Le développement d'un traitement et de moyens de prévention spécifiques est entravé par les incertitudes sur l'étiologie de l'EGS.

Très répandue au Royaume-Uni, l'EGS reste peu connue en France et sa situation épidémiologique largement ignorée. L'AVEF a donc souhaité mettre en place une étude épidémio-clinique pour déterminer son importance. Objet de ce travail de thèse, cette étude se compose de deux volets : une étude rétrospective permettant de tester une grille de score épidémio-clinique élaborée à partir de données bibliographiques, et une étude prospective auprès des praticiens en France. Le petit nombre de cas et le pourcentage élevé de données manquantes permettent de présenter des résultats descriptifs.

L'étude épidémio-clinique initiée par ce travail doit être poursuivie et faire l'objet d'une nouvelle campagne de sensibilisation auprès des praticiens. Une collaboration avec les équipes anglaises est également à envisager afin de compléter et élargir la portée de cette étude.

MOTS CLES :

- maladie de l'herbe
- dysautonomie
- dégénérescence nerveuse
- cheval
- épidémiologie descriptive

JURY :

Président :	Monsieur le Professeur Broussolle
1er Assesseur :	Madame le Professeur Leblond
2ème Assesseur :	Monsieur le Professeur Cadoré
Membre invité :	Monsieur le Professeur Belli

DATE DE SOUTENANCE : 17 Novembre 2011

ADRESSE DE L'AUTEUR :

2 Les Lombards, 89120 SAINT DENIS sur OUANNE