

OBJECTIFS

L'objectif général du réseau est la surveillance du syndrome nerveux chez les équidés. Les objectifs spécifiques sont :

⊙ La détection précoce :

- de la ré-émergence de maladies d'importance zoonotique ou économique déjà présentes en France : West Nile Virus et Herpès Virus Équin I (HVE-I) ;
- de l'introduction d'une maladie exotique ou de l'émergence d'une maladie infectieuse, parasitaire ou toxique : encéphalite japonaise, encéphalite Vénézuélienne, encéphalose hépatique...

⊙ La surveillance sanitaire avec :

- L'évaluation du taux d'incidence des maladies à tropisme nerveux. Les maladies d'intérêt sont dans un premier temps les encéphalomyélites infectieuses sévissant actuellement en France : myéloencéphalopathie à HVE-I, la maladie de West Nile ;
- La récolte d'informations épidémiologiques, cliniques et d'échantillons qui doit permettre d'étudier les facteurs de risque des maladies d'intérêt en vue de leur prévention ou encore de développer de nouveaux outils diagnostiques et de nouveaux traitements antiviraux.

⊙ Une aide au diagnostic étiologique des affections nerveuses pour les vétérinaires sentinelles, avec restitution de l'information aux vétérinaires.

⊙ Une aide à la gestion de crise et à la prise de décision pour les autorités sanitaires en cas d'épizootie par la mise en œuvre de protocoles spécifiques.

Remarque : tout doit être mis en œuvre pour exclure l'hypothèse de rage ; lors de maladie de 1^{ère} catégorie telles que la rage ou la maladie de West Nile une déclaration est à faire auprès des DDPP (Direction Départementale de la Protection des Populations) en plus du RESPE.

PROTOCOLE

⊙ Critères d'inclusion

○ Critères cliniques :

- est éligible tout cheval présentant des signes d'atteinte du système nerveux central : ataxie, parésie, paralysie et/ou décubitus et/ou trouble du comportement ;
- Les cas ou groupe de cas inhabituels dans leurs modalités ou circonstances d'expression ou « atypiques » (coliques, boiterie, excitation, chute, amyotrophie...) peuvent être éligibles, après exclusion de l'étiologie la plus fréquente de ces symptômes, dans la mesure où ces signes sont parfois la manifestation clinique d'une atteinte du système nerveux central ;

○ Critères épidémiologiques : NON

- Sont exclus : les affections nerveuses à l'évidence d'origine traumatique ou congénitale, et particulièrement l'ataxie due à une malformation vertébrale cervicale congénitale.

⊙ Les éléments à compléter et à recueillir lors de la sélection d'un cas sont :

- 1) La déclaration en ligne sur www.respe.net ; des photographies ou des films illustrant le cas peuvent être envoyés au RESPE (en pièce jointe directement dans la déclaration en ligne de préférence ou sur CD-Rom)
- 2) Les prélèvements standardisés pour examens de laboratoire

Les propriétaires des chevaux faisant l'objet de la déclaration et les vétérinaires sentinelles sont informés que les informations recueillies dans le cadre du réseau « Syndromes nerveux » sont confidentielles. Les résultats seront conservés et exploités de manière anonyme. Ils disposent d'un droit d'accès et de modification des données les concernant et le droit d'accès s'exerce auprès des référents RESPE. Un contact téléphonique est possible en cas de situation atypique avec les référents praticiens ou le laboratoire (cf. coordonnées téléphoniques en page 4).

⊙ **Les examens proposés dans le cadre du réseau, pris en charge à 50% et effectués systématiquement dans la mesure où les prélèvements reçus et la déclaration sont conformes au protocole d'étude, sont :**

○ **Prélèvements :**

2 tubes de sang sec
+
2 tubes de sang sur EDTA
+
1 écouvillon naso-pharyngé (ENP)
+
2 tubes de LCR sur EDTA
*(non limitant pour la prise en charge de la déclaration
mais prélèvement à privilégier)*

Les prélèvements de sang sont conservés à des fins de recherches rétrospectives sur les causes des troubles neurologiques observées chez les équidés.

Pour rappel, veuillez trouver en annexe I le détail des prélèvements de choix en fonction des maladies et du type d'analyses.

○ **Analyses :**

Sérologie ELISA West Nile sur tube sec
+
PCR HVE I sur ENP
+
PCR HVE I } sur LCR, si présent
+
Examen cytologique et biochimique }

- **Modalités de prélèvement du LCR :** sur tube EDTA pour examen cytologique et biochimique, ponctionnés sur cheval vivant ou mort récemment

LCR : considérations techniques pour améliorer la qualité du prélèvement

- **Pour l'examen cytologique**, le LCR doit être traité le plus rapidement possible après le prélèvement :
 - ▶ EXPEDITION RAPIDE (doit arriver au laboratoire sous 24h00, pas le samedi)

et si possible :

 - ▶ Faire réaliser une cytocentrifugation dans un laboratoire de proximité

ou :

 - ▶ Centrifuger soi-même (1500tr/min, 10min), faire un frottis à l'aide du culot avant expédition

ou encore :

 - ▶ Ajouter du sérum (1 goutte/0,25 ml de LCR) pour la conservation des cellules pendant le transport (*garder du LCR normal pour les autres analyses et bien identifier ce tube destiné exclusivement à la cytologie*)
- **Pour l'interprétation de la biochimie** du LCR, joindre impérativement 1 prélèvement de sang sur tube sec et EDTA (en particulier pour le calcul de l'Index IgG et du Quotient Albumines).

OU ADRESSER LES FICHES ET PRELEVEMENTS ?

⊙ **Déclarer en ligne sur www.respe.net le(s) cas.** Transmettre dans le(s) colis à destination du laboratoire la fiche imprimable à la fin de la déclaration en ligne.

⊙ Organisation des envois :

Les prélèvements doivent être envoyés rapidement et sous régime du froid positif (4°C) au laboratoire LABÉO Frank Duncombe - 1 route de Rosel - 14053 CAEN Cedex 4 - Tél. : 02 31 47 19 19 - Fax : 02 31 47 19 00 (analyses prises en charge) ou à tout autre laboratoire spécialisé en biologie équine (analyses non prise en charge).

AUTRES ANALYSES DISPONIBLES NON PRISES EN CHARGE PAR LE RESPE

La liste ci-dessous n'est pas exhaustive mais permet une orientation sur les possibles causes de troubles nerveux chez le cheval. Ces analyses peuvent être demandées par le vétérinaire mais la facturation sera à la charge du propriétaire.

Analyses demandées	Prises de sang (et techniques d'analyse)	Autres types de prélèvements (et techniques d'analyse)
Borna	<u>tube sec</u> pour sérologie	<u>Encéphale</u> (cortex + hippocampe) pour PCR, envoi congelé
Borréliose	<u>tube sec</u> pour ELISA	<u>LCR sur tube sec</u> pour sérologie ELISA et/ou PCR
Encéphalomyélites à Protozoaires (EPM)	<u>tube sec</u> pour Western Blot <i>Sarcocystis</i> , sérologie <i>Neospora</i>	<u>LCR sur tube sec</u> pour PCR <i>Neospora</i> et Western Blot <i>Sarcocystis</i> <u>Encéphale ou moelle épinière</u> à 4°C pour PCR <i>Neospora</i>
Leptospirose	<u>tube EDTA</u> pour PCR <u>tube sec</u> pour sérologie (Microagglutination)	<u>urine, lait, LCR, organes</u> pour PCR, envoi frais ou congelé (sauf lait)
Encéphalites exotiques (EEE, EEJ, EEV, EEO)	<u>Tube sec</u> pour séroneutralisation <u>Tube EDTA</u> pour PCR	<u>Encéphale</u> pour PCR, envoi congelé
HVE I	Cf. Protocole RESPE ci-dessus	<u>Encéphale, tronc cérébral</u> pour PCR
West Nile	Cf. Protocole RESPE ci-dessus	<u>Encéphale</u> pour PCR, envoi congelé
Rage	Cf. Protocole RESPE ci-dessus	<u>Encéphale</u> pour IF
Listériose	<u>Tube sec</u> pour sérologie	<u>Organes (Foie, tronc cérébral)</u> pour bactériologie et PCR

Au-delà des maladies listées ci-dessus, un examen nécropsique est également possible et permet d'orienter le diagnostic en cas de lésions typiques ou évocatrices lors de l'autopsie. Pour tous renseignements concernant cet examen, contactez l'ANSES Dozulé - Site de Dozulé. Une partie des organes prélevés lors de l'examen nécropsique pourra être fixé dans du formol, afin de décrire les lésions observables au niveau microscopique. Ces organes prélevés pour histologie ou immunohistochimie seront envoyés à température ambiante au laboratoire prenant en charge les analyses PCR.

CONTACTS RESEAU

Pour toutes informations complémentaires, joindre l'une des personnes suivantes :

- **Référents praticiens :**

- DMV Pierre Tritz, tél. : 06 08 54 11 85, pitritz@wanadoo.fr
- Pr Agnès Leblond, tél. : 06 32 63 06 14, agnes.leblond@vetagro-sup.fr

- **Référent RESPE :**

- DMV Christel Marcillaud-Pitel, c.marcillaud-pitel@respe.net
RESPE - 3 rue Nelson Mandel - 14280 SAINT-CONTEST
Tél. : 02 31 57 24 88 - Fax : 09 70 63 37 93 - Site web : www.respe.net

- **Référents laboratoires :**

- DMV Pierre-Hugues Pitel, Dr Stéphane Pronost (HVE-I), Dr Loïc Legrand (HVE-I)
Email : pierre-hugues.pitel@laboratoire-labeo.fr ; stephane.pronost@laboratoire-labeo.fr ;
loic.legrand@laboratoire-labeo.fr
Laboratoire LABEO site Frank Duncombe - I, route de Rosel - 14280 SAINT-CONTEST
Tél : 02 31 47 19 19 ; Fax : 02 31 47 19 00
- DMV Sylvie Lecollinet (WN), DMV Cécile Beck (WN), Dr Muriel Coulpier (Borna)
Email : sylvie.lecollinet@anses.fr ; cecile.beck@anses.fr ; muriel.coulpier@anses.fr
ANSES Alfort Laboratoire de Santé Animale- 22, rue Pierre et Marie Curie - 94 703 MAISONS-ALFORT
Tél : 01 43 96 71 11 ; Fax : 01 43 96 73 96

Annexe I : Rappel sur les maladies et les prélèvements de choix

Myéloencéphalopathie herpétique (MEH)

La PCR quantitative est l'outil de choix pour diagnostiquer la forme neurologique des infections à EHV-1 (EHV-1 consensus statement, J Vet Intern Med 2009 23 :450-461). Les prélèvements à privilégier sont : l'écouvillon naso-pharyngé et le sang (tube EDTA). Il est essentiel de réaliser ces prélèvements dès l'apparition des signes cliniques. Noter le délai entre les premiers signes cliniques et le prélèvement peut s'avérer d'une aide précieuse lors de l'interprétation des résultats. Le prélèvement de LCR peut être analysé par PCR mais du fait du faible nombre de particules virales généralement détectées dans ce compartiment biologique, un résultat négatif ne permettra pas d'exclure avec certitude un cas de MEH.

Du fait de la cinétique caractéristique de l'infection à EHV-1, un échange avec le laboratoire sur 1/ la signification de la charge virale et 2/ l'intérêt de prélever des chevaux au contact est à privilégier.

(L'implication potentielle d'autres herpèsvirus équins sera recherchée dans le cadre de travaux de recherche)

- Ecouvillon nasopharyngé pour PCR HVE-1

Laboratoire d'analyse : LABEO Frank Duncombe, Caen ; délai de réponse : 24-48h

- Sang sur tube EDTA pour PCR EHV-1 et PCR autre herpèsvirus équins

Laboratoire d'analyse : LABEO Frank Duncombe, Caen ; dans le cadre d'études rétrospectives

- Liquide céphalo-rachidien sur tube EDTA pour PCR EHV-1 et PCR autre herpèsvirus équins

- **Laboratoire d'analyse :** LABEO Frank Duncombe, Caen ; délai de réponse : 24-48h

- Organes en cas d'autopsie : Cerveau frais et/ou tronc cérébral et/ou moelle épinière pour PCR

Laboratoire d'analyse : LABEO Frank Duncombe, Caen ; délai de réponse : 24-48h

Flavivirus dont West Nile (WN)

La sérologie est classiquement utilisée dans le diagnostic des infections à virus West Nile et permet d'identifier des infections récentes (par mise en évidence de la présence d'IgM, détectables dès lors que des symptômes neurologiques sont observés sur un cheval infecté). En effet, le virus est difficile à mettre en évidence du vivant de l'animal :

- virémie faible et de courte durée dans les jours suivants la piqûre du moustique infectant, soit au moment du premier pic d'hyperthermie et avant l'apparition des éventuels symptômes neurologiques, gênant l'identification du pathogène par PCR lorsqu'on ne dispose que de sang EDTA

- le virus peut être identifié avec plus de succès dans le liquide céphalo-rachidien ou les urines (protocole expérimental à ce stade faisant suite à l'identification de virus ou du génome viral dans les urines de patients humains infectés), mais une recherche PCR sera tentée uniquement si la sérologie est positive

- si l'animal décédait, une PCR à partir de l'encéphale permet de confirmer ou d'écarter une infection à virus West Nile et de caractériser plus finement le virus responsable de l'infection

Les prélèvements pour PCR seront acheminés congelés (impératif pour l'encéphale) ou sous régime du froid positif (sous 48h maximum dans ce dernier cas).

- Sang sur tube sec pour sérologie ELISA IgG ; si positif, sérologie ELISA IgM pour confirmer une infection récente et envoi à l'ANSES pour recherche sérologique des autres Flavivirus (Encéphalite Japonaise (EJ), encéphalite à tiques (TBE), ...)

Laboratoire d'analyse : LABEO Frank Duncombe, Caen ; délai de réponse : 8 jours

- Sang sur EDTA pour PCR en début de phase clinique (hyperthermie)

Laboratoire d'analyse : ANSES Alfort ; délai de réponse : 8 jours

- Liquide céphalo-rachidien sur EDTA pour PCR ponctionné sur cheval vivant ou mort récemment

Laboratoire d'analyse : ANSES Alfort ; délai de réponse : 8 jours

- Organes en cas d'autopsie : Cerveau frais pour PCR

Laboratoire d'analyse : ANSES Alfort ; délai réponse : 8 jours