

OBJECTIFS

L'objectif général du réseau est la surveillance de la maladie de l'herbe chez les équidés. Les objectifs spécifiques sont :

- ⊙ La réalisation d'un état des lieux pour recenser les cas en France ;
- ⊙ La détection précoce des cas et l'appel à la vigilance selon les zones touchées ;
- ⊙ L'amélioration des connaissances sur cette maladie à travers le recueil de données épidémiologiques ;
- ⊙ Une aide au diagnostic de la maladie pour les vétérinaires sentinelles, avec restitution de l'information aux vétérinaires.

PROTOCOLE

⊙ Critères d'inclusion

- **Critères cliniques, est éligible tout cheval présentant les symptômes suivants :**

- pour la forme aiguë ou subaiguë : coliques permanentes ou intermittentes, sudation, tremblements musculaires et dysphagie et/ou mortalité rapide.
- pour la forme chronique : même symptômes que la forme aiguë mais plus insidieuse et accompagnée d'amaigrissement.

- **Critères épidémiologiques** : équidé ayant accès à l'herbe.

- **Sont exclus** : les coliques dont l'étiologie est certaine.

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

- 1) La déclaration en ligne sur <https://docs.google.com/forms/d/1cOsgc9LGvPavWF-2LM27IORMZywwplb-yCDEtd7s6gY/viewform> ; des photographies ou des films illustrant le cas peuvent être envoyés au RESPE (en pièce jointe directement à contact@respe.net 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 « Grass Sickness » 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 fin de protocole).

⊙ Les examens proposés dans le cadre du réseau, pris en charge à 100% et effectués systématiquement dans la mesure où les prélèvements reçus et la déclaration sont conformes au protocole d'étude, sont :

○ **Prélèvements :**

Sur cheval vivant :

6 tubes de sang sec
+
Biopsie rectale sous formol à 10% ou biopsie de l'iléon prélevé lors de chirurgie
+
Reflux gastrique à l'abri de l'air, dans un pot à coproculture

Sur cheval mort :

6 tubes de sang sec
+
Biopsie sous formol à 10%
(iléon, ganglions du système nerveux autonome principalement le ganglion coeliacomésentérique ou rectum)
+
Contenu intestinal (anse intestinale ou reflux gastrique) à l'abri de l'air, dans un pot à coproculture

○ **Méthodes de prélèvements pour le sérum, les matières intestinales, le reflux gastrique et les biopsies**

Sang sur tube sec :

- 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 envoyés 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.
- Conditions d'envois du sang :
 - Optimale : sérum congelé (du transport à la réception)
 - Idéale : sérum gardé au frigo et gardé au frais jusqu'à réception (24h)
 - Valable : sang total sur tube sec gardé et gardé au frais jusqu'à réception (12h)
 - Non valable : toutes les conditions favorisant l'hémolyse (sang > 30°C ; long délai avant réception etc.)

Echantillon de reflux gastrique ou contenu intestinal d'animal euthanasié ou mort récemment (maximum 6h) : prélever du contenu intestinal immédiatement après ouverture de l'anse ou récupération du reflux et le placer dans un pot à coproculture ou tube. Remplir un tube (5 ou 15 ml) à ras bord et le fermer rapidement avec un bouchon.

- Le prélèvement 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.
- 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. : Éviter 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.
- Si non, les milieux recommandés pour l'ensemencement sont : gélose profonde, boîte au sang sous sachet de type *Anaerogen Compact (Oxoid)*, *Anaerocult P (Merk)* ou système similaire, milieux pré-réduits.
- 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>).

○ **Analyses réalisées selon le prélèvement**

- Histologie (prise en charge à 100% par le RESPE)
- Dosage des acylcarnitines sur sérum (gratuit) : Les analyses se feront quand les échantillons de plusieurs cas auront été collectés.
- Recherche la toxine botulique de type C ou D dans le sérum (gratuit) - Principe : Les neurotoxines de *Clostridium botulinum* type C ou D sont fortement suspectées d'être la cause de l'EGS.
- Recherche la bactérie et de la neurotoxine de *Clostridium botulinum* type C (BoNT/C) sur matières intestinales (culture d'enrichissement, test de létalité et PCR) (gratuit)

OU ADRESSER LES FICHES ET PRELEVEMENTS ?

⊙ **Déclarer le(s) cas en ligne en remplissant le formulaire suivant :**

<https://docs.google.com/forms/d/1cOsgc9LGvPavWF-2LM27IORMZywwplb-vCDEtd7s6gY/viewform>
et joindre, aux colis des prélèvements, une copie du mail récapitulatif envoyé en fin de déclaration.

⊙ **Organisation des envois :**

- 2 tubes de sang secs + biopsie : Envoi des prélèvements à : LABÉO Frank Duncombe - 1 route de Rosel - 14053 CAEN Cedex 4. Les prélèvements doivent être envoyés rapidement (sous 24h).
- 4 tubes de sang secs + reflux gastrique ou matières intestinales : Envoi des prélèvements à : Institut Pasteur - CNR des Bactéries Anaérobies et du Botulisme - Unité des Toxines et pathogénies bactériennes - Zone anaérobie - 25-28 rue du Docteur Roux - 75724 PARIS Cedex 15.

AUTRES ANALYSES ET EXAMENS 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 cette maladie chez le cheval. Ces analyses peuvent être demandées par le vétérinaire mais la facturation sera à la charge du propriétaire.

Analyses complémentaires	Paramètres ou observations	Prélèvements et méthodes
Sondage gastrique	Présence de reflux	/
Palpation transrectale	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	/
Test à la phényléphrine	Mesurer la différence angulaire d'ouverture entre les deux paupières	/
Endoscopie	Présence d'une dilatation de l'œsophage, d'ulcérations œsophagiennes ou encore de reflux alimentaire	/
Transit baryté	Vérifier l'accumulation de produit à l'entrée du thorax	/
Analyse d'urine	Densité urinaire - pH - glucose - protéines – créatinine à mettre en lien avec l'examen d'un témoin	Urine
Prise de sang	Protéines totales associées aux mesures suivantes : Hématocrite > 40% ; Urée > 10 mmol/L ; Cortisol > 400 nmol/L à mettre en lien avec l'examen d'un témoin	1 tube EDTA + 1 tube hépariné
Paracentèse abdominale	Protéines - PAL - Isoenzyme intestinale de la PAL	
Autopsie		Anses Laboratoire de pathologie équine de Dozulé (l'autopsie peut être réalisée dans un autre centre)

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 Mandela - 14280 SAINT-CONTEST
Tél : 02 31 57 24 88 ; Fax : 09 70 63 37 93*

- **Référents laboratoire :**

- DMV Pierre-Hugues Pitel, pierre-hugues.pitel@calvados.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*

- Michel-Robert POPOFF

*Institut Pasteur - Unité des Toxines et pathogénies bactériennes - Zone anaérobie - 25-28 rue du Docteur Roux -
75724 PARIS Cedex 15
Tél : 01 45 68 80 00*

- **Référent anatomo-pathologiste :**

- DMV Jackie Tapprest, jackie.tapprest@anses.fr

Annexe I : Score clinique et épidémiologique Grass Sickness

Pour un cheval, la grille de score attribue une note pour chaque critère. Le score est obtenu par l'addition des notes puis pondéré en divisant la note obtenue par la note maximale possible pour les critères relevés en cas de données manquantes. Le score pondéré permet de classer un cas suspect d'EGS en cas plutôt « confirmé » si la valeur obtenue est supérieure à 21 ou « infirmé » si la valeur est inférieure à 19.

I/ EPIDEMIOLOGIE (entourer le chiffre correspondant)	
Le cheval vit-il au pré ou a-t-il un accès quotidien à de l'herbe ?	
oui	5
non	0
Quel âge a-t-il ?	
8 ans ou moins	4
autre	0
En quelle saison s'est déclarée la maladie ?	
printemps / début été (avril à juin)	4
autre	0
Le cheval a-t-il été changé de pré récemment ?	
oui	1
non	0
Y a-t-il déjà eu une suspicion de cas de Grass Sickness sur la pâture ?	
oui	1
non	0
Score épidémiologie :	/15
Score épidémiologique pondéré :	
2/ SIGNES CLINIQUES (entourer le chiffre correspondant)	
Symptômes majeurs :	
tachycardie (>50 bpm)	1
coliques (diminution de la motilité intestinale, reflux, diminution ou absence de bruits digestifs)	2
tremblements musculaires	2
sudation généralisée ou localisée (flanc, encolure, base des oreilles ou de la queue)	1
dysphagie (mange lentement)	2
ptose palpébrale	3
à la palpation transrectale : présence de fèces dures avec du mucus dans le rectum et/ou dilatation des anses intestinales sans étranglement et/ou impaction du gros intestin ou <i>flaccidité du tractus gastro-intestinal</i>	2
<i>amaigrissement</i>	1
<i>rhinite sèche</i>	3
<i>abdomen levretté, polygone de sustentation diminué</i>	2
<i>Remarque : Les symptômes en italique sont rencontrés dans la forme chronique de l'EGS</i>	
Symptômes mineurs :	
hypersalivation	1
mort subite	1
abattement	1
Score examen clinique :	/22
Score examen clinique pondéré :	
3/ EXAMENS COMPLEMENTAIRES (entourer le chiffre correspondant)	
Test à la phényléphrine	
positif	4
négatif	0
Endoscopie ou sondage naso-gastrique	
dilatation, stase alimentaire, bouchon oesophagien, reflux de liquide, ulcérations	3
dans les normes	0
Autopsie	
absence d'étranglement ou d'obstruction intestinale	1
fèces très dures et très noires en surface+ empreintes des haustrations intestinales	3
rupture gastrique due au reflux (forme aiguë) ou surcharge intestinale (autres formes)	1
Score examens complémentaires :	/12
Score examens complémentaires pondéré :	
Score clinique total :	
Score clinique total pondéré :	/49