

Sérodiagnostic de l'anémie infectieuse des équidés par précipitation en gélose. II. Premiers résultats d'une enquête épidémiologique en France

par B. TOMA, G.-E. LUKA ISKANDER et P. GORET (*)
avec la collaboration technique de M^{lle} Annie FIOUX.

A l'heure actuelle, à notre connaissance, le test de précipitation en gélose est utilisé pour le diagnostic ou le dépistage de l'anémie infectieuse des équidés dans quatre pays : Etats-Unis d'Amérique, Canada, Japon et France.

Dans les deux premiers pays cités, l'emploi du test de précipitation a considérablement facilité le diagnostic et révélé, par ailleurs, un aspect de l'épidémiologie de cette maladie jusque-là inconnu, à savoir l'existence d'une majorité d'animaux infectés de façon inapparente par rapport aux animaux exprimant cliniquement leur infection.

Ainsi, aux Etats-Unis, sur 100.000 sérums de chevaux, en provenance des Etats du Nord-Est et surtout de l'Etat de New York, COGGINS a obtenu une réponse positive dans 3 p. 100 des cas (3).

Au Canada, sur 30.000 tests déjà réalisés, le pourcentage de positivité est de six (4).

Au Japon une enquête épidémiologique a commencé récemment (6).

Après avoir mis au point un test de précipitation en gélose à base d'antigène splénique liquide (7), nous avons entrepris un sondage épidémiologique sur les chevaux français. Dans les lignes qui suivent, nous exposons les premiers résultats obtenus au cours de cette enquête.

1. *Animaux soumis au sondage épidémiologique.*

Nous nous sommes adressés à des chevaux provenant de diverses régions de France, de race et d'utilisation différentes, apparemment sains ou malades et entretenus dans des effectifs d'importance très variée.

(*) Travail subventionné par la Société d'Encouragement, 11, rue du Cirque, Paris 8^e (Directeur, J. ROMANET) et par l' I. N. R. A.

On peut distinguer trois catégories pour les sérums étudiés ** :

- ceux provenant d'effectifs en général importants et soumis en totalité ou en partie au test de précipitation,

- ceux envoyés à des fins de diagnostic au cours de ces dernières années et qui ont été soumis au test de précipitation après une conservation à — 30 °C d'une durée variant entre 5 ans et quelques mois,

- enfin ceux reçus récemment pour diagnostic ou à la suite d'une lettre circulaire envoyée aux vétérinaires spécialistes du cheval exerçant dans les départements où le cheptel équin est fortement représenté.

a) *Résultats portant sur des effectifs de chevaux.*

Six effectifs ont été étudiés et 1.024 sérums soumis au test de précipitation. Les résultats globaux sont rassemblés dans le tableau n° I.

TABLEAU n° 1

Résultats du dépistage de l'anémie infectieuse des équidés par examen des sérums à l'aide du test de précipitation en gélose dans des effectifs équins. Le chiffre placé entre parenthèses n'a pas été retenu pour calculer le pourcentage d'infection de l'effectif n° 4 car il correspond à 8 chevaux infectés sur 10 en instance d'achat, qui étaient isolés et n'ont pas été introduits dans l'effectif à la suite de la réponse sérologique

	Examens effectués		Résultats positifs		Pourcentage de chevaux infectés parmi les chevaux étudiés
	sérums	chevaux	sérums	chevaux	
Effectif n° 1 ..	25	25	0	0	0
Effectif n° 2 ..	227	227	0	0	0
Effectif n° 3 ..	267	267	1	1	0,4 p. 100
Effectif n° 4 ..	194	176	32	24 (+ 8)	14,4 p. 100
Effectif n° 5 ..	103	53	35	25	46,6 p. 100
Effectif n° 6 ..	208	143	105	84	58,5 p. 100

(**) Nous tenons à exprimer notre gratitude et adresser nos vifs remerciements à tous les nombreux confrères ou collègues qui ont avec célérité et compétence répondu à nos demandes. Leur liste est trop longue pour être inscrite ici dans son intégralité.

A la lecture de ce tableau, on constate que le pourcentage d'infection par le virus de l'anémie infectieuse varie dans de très grandes proportions selon les effectifs : de 0 à 58 p. 100.

Les effectifs n^{os} 1 et 2 sont indemnes. L'effectif n^o 3 semble avoir été infecté de façon accidentelle. Le seul cheval réagissant a été abattu.

Les effectifs 4, 5 et 6 sont infectés de façon plus marquée. Les mesures adéquates ont été prises par les services vétérinaires en accord avec les propriétaires pour arrêter la propagation de l'infection et supprimer la source de virus.

Une partie des chevaux des effectifs 5 et 6 ont été soumis à deux prélèvements à trois mois d'intervalle (juin et septembre 1971).

Les résultats sont portés dans les tableaux n^{os} 2, 3, 4 et 5.

Dans l'effectif n^o 5, tous les chevaux à sérologie positive en juin et soumis à un prélèvement en septembre ont fourni une réponse

TABLEAU n^o 2

Résultats du test de précipitation effectué en juin et en septembre 1971 sur des sérums de l'effectif n^o 5. Douze sérums étudiés en juin ne l'ont pas été en septembre

Nombre de chevaux fournissant un résultat	Juin 1971	Septembre 1971
Positif	19	16
Négatif	30	25
Douteux	4	0
Total	53	41

TABLEAU n^o 3

Comparaison des résultats obtenus sur 41 chevaux de l'effectif n^o 5 soumis au test de précipitation en juin et en septembre 1971

Résultats sérologiques en juin 1971	Résultats sérologiques en septembre 1971	Nombre de chevaux
—	—	25
+	+	10
—	+	3
Douteux	+	3

TABLEAU n° 4

Résultats du test de précipitation effectué en juin et en septembre 1971 sur des sérums de l'effectif n° 6 partagé en deux groupes éloignés de plusieurs km. Seuls 14 sérums dans le premier groupe et 51 sérums dans le second ont été étudiés deux fois

Nombre de chevaux fournissant un résultat		Juin 1971	Septembre 1971
+	premier groupe	7	16
	deuxième groupe	24	59
-	premier groupe	19	10
	deuxième groupe	43	26
Douteux	deuxième groupe	1	3
Total		94	114

TABLEAU n° 5

Comparaison des résultats obtenus sur les 14 chevaux d'un groupe et les 51 chevaux du deuxième groupe composant l'effectif n° 6, avec le test de précipitation en juin et en septembre 1971

Résultat sérologique en juin 1971	Résultat sérologique en septembre 1971	Nombre de chevaux	
		groupe n° 1	groupe n° 2
-	-	4	16
+	+	3	19
-	+	7	12
Douteux	+	0	1
-	Douteux	0	3

positive. Sur les 31 chevaux à sérologie négative ou douteuse en juin, 6 ont répondu positivement en septembre.

Comme pour l'effectif n° 5, tous les chevaux à sérologie positive de l'effectif n° 6 qui ont fourni du sang une seconde fois ont été trouvés positifs.

Dans le groupe 1, sur 11 chevaux à sérologie négative en juin, 7 ont donné une réponse positive en septembre.

Dans le groupe 2, sur 32 sérums à sérologie négative ou douteuse, 16, soit la moitié, sont devenus positifs ou douteux.

Ainsi, en 3 mois, 20 chevaux sur 40 de l'effectif n° 6 ont vu leur sérologie devenir positive. Il est vraisemblable que ce haut taux de conversion sérologique au cours d'une période de 3 mois est lié à la saison estivale favorable à la pullulation des arthropodes dont on sait qu'ils représentent le « mode habituel » de transmission du virus de l'anémie infectieuse. La détermination du taux de conversion sérologique au cours d'une même période, mais en hiver, devrait confirmer cette hypothèse.

b) *Résultats des examens des sérums conservés au congélateur.*

773 sérums conservés à — 30 °C ont été soumis au test de précipitation en gélose. Ils provenaient de chevaux atteints ou suspects de différentes maladies et tout spécialement de grippe et de rhinopneumonie.

Seuls 5 d'entre eux ont fourni une réponse positive.

Une enquête rétrospective nous a permis d'apprendre que ces sérums prélevés en janvier et février 1966 provenaient de 5 chevaux morts ou abattus au cours de l'enzootie d'anémie infectieuse de 1966 qui a été à l'origine de nos recherches sur cette maladie (4).

5 ans *a posteriori* est donc confirmé, grâce à un test dont nous ne disposions pas en 1966, le diagnostic d'anémie infectieuse qui n'était que soupçonné pour ces 5 chevaux comme le font ressortir les commémoratifs reçus à l'époque pour 3 d'entre eux provenant de 3 écuries différentes :

Cheval n° 1 : sérum prélevé le 26 janvier 1966 : « hyperthermie en trois épisodes depuis novembre 1965 ; amaigrissement ; discrets signes hépatiques ; anémie (4 millions de globules rouges par mm³) ». Cheval sacrifié le 27 janvier 1966.

Cheval n° 2 : sérum prélevé le 8 février 1966 : « Episodes fébriles graves et durables à deux mois d'intervalle ; anémie discrète ».

Cheval n° 3 : sérum prélevé le 12 février 1966 : « Plusieurs épisodes fébriles durables depuis l'automne ; anémie discrète (7.000.000 de globules rouges au mm³) ».

c) *Résultats portant sur les sérums reçus récemment.*

Nous avons reçu 516 sérums envoyés par une trentaine de confrères et provenant de chevaux sains ou atteints de différentes maladies précises ou mal définies : gourme, lymphangite, synovite, grippe, emphysème, fatigue...

Un seul sérum a fourni une réponse positive.

2. Relation entre les résultats du test de précipitation et l'expression clinique.

Dans les conditions expérimentales, la réaction de précipitation en gélose devient positive en moyenne, 20 à 30 jours après l'inoculation. On décèle tout d'abord une faible quantité d'anticorps précipitants, insuffisante pour faire apparaître une ligne de précipité mais capable de provoquer une inflexion de la ligne de précipité du sérum de référence voisin. Puis la quantité d'anticorps augmente et on voit apparaître alors une ligne de précipité.

Pour tous les chevaux suspects et malades depuis peu de temps, nous avons demandé un nouveau prélèvement de sérum espacé de 10 à 15 jours du précédent. En présence d'un cheval qui présente des symptômes depuis 15 jours et dont le sérum fournit une réponse négative au test de précipitation, on peut écarter avec une quasi-certitude l'hypothèse d'anémie infectieuse en tant que cause de la maladie observée.

Les sérums des chevaux atteints de maladies les plus diverses ne répondent pas au test de précipitation en gélose avec l'antigène anémie infectieuse. En revanche, des chevaux apparemment en parfaite santé peuvent fournir un résultat positif. La quasi-totalité des sérums qui se sont révélés positifs entre nos mains provenaient d'animaux ou d'effectifs pour lesquels à aucun moment l'hypothèse d'anémie infectieuse n'avait été évoquée (mis à part les 5 sérums signalés plus haut).

Tout au plus peut-on trouver dans certains effectifs une très légère différence dans l'état de santé des animaux porteurs ou indemnes d'anticorps. Ainsi dans l'effectif n° 6, lors de la première

TABLEAU n° 6

Etude de la relation existant entre la réponse au test de précipitation en gélose et l'expression clinique lors du prélèvement de juin 1971 sur l'effectif n° 6

Sérodiagnostic	Nombre d'animaux étudiés	Nombre d'animaux en bonne santé	Nombre d'animaux « fatigués »	Pourcentage animaux fatigués
				animaux sains
Réponse négative	63	57	6	10,5 p. 100
Réponse positive	30	25	5	20 p. 100

série de prélèvements en juin 1971, le pourcentage de chevaux « fatigués » parmi les chevaux fournissant une réponse positive était supérieur (20 p. 100) à celui similaire parmi les chevaux dépourvus d'anticorps (10,5 p. 100) (cf. tableau n° 6).

Ainsi en France, à l'heure actuelle, il semble que l'anémie infectieuse maladie soit absente et que seule évolue l'anémie infectieuse infection inapparente décelable uniquement par examen sérologique.

3. *Isolement du virus à partir de chevaux infectés de façon inapparente.*

Les résultats positifs de toute technique sérologique doivent être confirmés, au moins au moment de la mise au point du test, par l'isolement de l'agent infectieux, surtout en l'absence de toute maladie décelable.

Les preuves de la spécificité antigénique du test de précipitation en gélose ont été apportées au laboratoire, notamment par l'étude de différents couples antigène-anticorps qui ont montré l'absence de communauté antigénique entre le virus de l'anémie infectieuse et d'autres agents pathogènes pour le cheval comme le virus de l'artérite à virus, *Streptococcus equi*, ainsi que par les techniques d'absorption.

La démonstration a été complétée par l'isolement du virus à partir de sérum de chevaux apparemment sains, mais porteurs d'anticorps et par la reproduction expérimentale de la maladie.

Un poney a reçu par voie veineuse, en deux jours, 2 l d'un mélange de 500 ml de sérum de quatre chevaux apparemment sains et ayant fourni une réponse positive au test de précipitation. Les résultats de cette inoculation sont rassemblés sur la figure n° 1. Sur cette dernière, on peut constater que le poney a présenté trois crises d'hyperthermie dont la dernière lui a été fatale. L'évolution du nombre d'hématies, l'apparition des sidéroleucocytes et la conversion sérologique associées au tableau clinique permettent de conclure à l'isolement de virus de l'anémie infectieuse à partir de chevaux apparemment sains.

La maladie a été transmise en série à un autre poney par inoculation de sang prélevé la veille de la troisième crise.

Aux Etats-Unis, COGGINS a pu apporter dans tous les cas contrôlés, la preuve de la correspondance complète entre résultats sérologiques et isolement du virus par inoculation à l'animal sensible. Parfois, cependant, les souches isolées sont peu virulentes et nécessitent des passages en série avant de déclencher un tableau clinique d'anémie infectieuse (2).

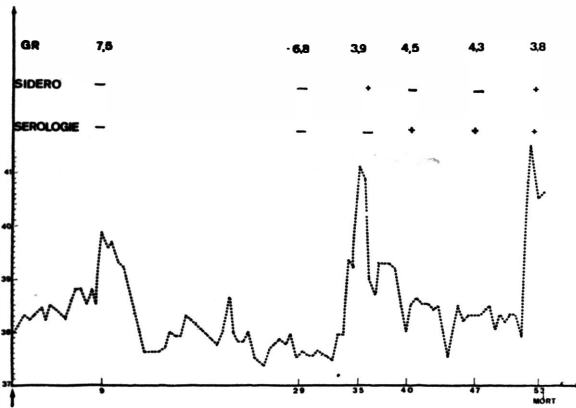


FIG. N° 1. — Evolution de la température, des anticorps anti-A. I. E., des nombres de globules rouges et de sidéroleucocytes chez un poney inoculé avec du sérum provenant de chevaux sains fournissant une réponse positive au test de précipitation en gélose. Nombre de globules rouges en millions. L'inoculation a été faite au jour 0. Le poney est mort le 53^e jour après avoir présenté trois crises d'A. I. E.

4. Etude de différents facteurs épidémiologiques.

Il nous paraît encore prématuré d'évoquer l'ensemble des facteurs épidémiologiques de l'anémie infectieuse dont le test de précipitation en gélose permet de découvrir des aspects nouveaux. Il est cependant possible dès maintenant d'évoquer quatre d'entre eux : l'âge, le sexe, la durée du séjour et la place dans l'écurie, c'est-à-dire l'évolution en fonction du temps et de l'espace.

a) Age.

Le diagramme représentant la distribution de l'âge des animaux infectés parmi les animaux contrôlés dans l'effectif n° 6 est porté sur la figure n° 2. On peut y constater une distribution assez régulière de l'infection quel que soit l'âge des animaux. La plupart des chevaux de onze ans et davantage sont infectés. Cependant, paradoxalement on peut constater que le cheval le plus vieux, âgé de 24 ans, fournit une réponse négative alors que le cheval le plus jeune, âgé d'un an répond de façon positive.

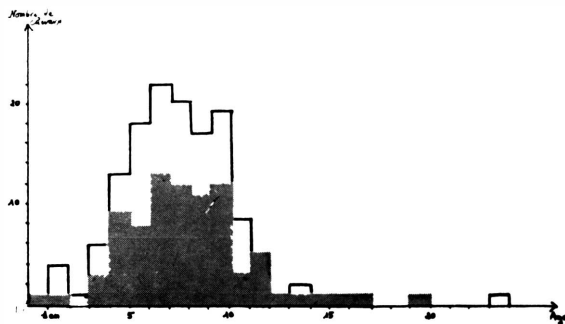


FIG. N° 2. — Etude de l'influence de l'âge des chevaux sur l'infection inapparente par le virus de l'A. I. E. dans l'effectif n° 6.

b) *Sexe.*

Dans ce même effectif n° 6, les pourcentages d'infection des mâles et des femelles sont respectivement de 56 et de 61,3, ce qui permet d'affirmer l'absence d'influence du sexe sur la sensibilité à l'infection inapparente dans cet effectif.

c) *Durée du séjour et place en milieu infecté.*

Pour certains effectifs équins, nous avons pu obtenir la date d'introduction de chaque cheval et l'emplacement dans les écuries.

L'étude de la répartition des chevaux à sérologie positive dans la liste chronologique et dans les écuries permet de conclure très rapidement à l'importance primordiale de la disposition dans l'espace et secondairement au rôle du temps de séjour dans l'effectif infecté.

Ainsi l'effectif n° 4 (cf. tableau n° 1) est divisé en trois groupes entretenus dans des bâtiments situés à une vingtaine de km de distance les uns des autres. Toutes les réactions positives ont été enregistrées sur l'un seulement de ces trois groupes tandis que les deux autres étaient indemnes.

Dans l'effectif n° 5 les chevaux sont séparés en deux écuries très proches l'une de l'autre. L'ordre chronologique d'arrivée des chevaux dans chacune de ces deux écuries et leur état vis-à-vis du virus de l'anémie infectieuse sont rapportés dans le tableau n° 7.

La lecture de ce tableau permet de constater aisément la très forte différence dans le degré d'infection des deux écuries pourtant contiguës.

Tous les chevaux de la première écurie sont infectés à l'exception des deux derniers introduits en juin 1971, après le premier prélève-

TABLEAU n° 7

Chronologie d'arrivée des chevaux dans les deux écuries de l'effectif n° 5 et résultats du test de précipitation en gélose. Chaque point correspond à un cheval. La place dans l'écurie ne correspond pas à l'ordre d'arrivée

Date d'arrivée des chevaux	Ecurie n° 1	Ecurie n° 2
1964	● <i>Positif</i>	
1965		● <i>Négatif</i>
1966		● <i>Négatif</i> en juin 1971, <i>positif</i> en septembre.
1969	<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Positif</i> ● <i>Positif</i> ● <i>Positif</i> ● <i>Douteux</i> en juin 1971, <i>Positif</i> en septembre 71 ● <i>Positif</i> ● <i>Positif</i> ● <i>Positif</i> ● <i>Positif</i> ● <i>Positif</i> ● <i>Douteux</i> en juin 1971, <i>positif</i> en septembre 71 ● <i>Positif</i> ● <i>Douteux</i> en juin 71, <i>positif</i> en septembre 71 	<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Négatif</i> ● <i>Négatif</i> ● <i>Négatif</i> ● <i>Négatif</i> ● <i>Négatif</i> ● <i>Négatif</i> ● <i>Négatif</i> ● <i>Négatif</i>
1970	<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Positif</i> ● <i>Positif</i> ● <i>Négatif</i> en juin 71, <i>positif</i> en septembre 71 ● <i>Positif</i> ● <i>Positif</i> ● <i>Positif</i> ● <i>Positif</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Négatif</i> ● <i>Négatif</i> ● <i>Négatif</i> en juin et sept. 71, <i>positif</i> en octobre 71 ● <i>Négatif</i> ● <i>Négatif</i> ● <i>Négatif</i> ● <i>Négatif</i> ● <i>Négatif</i>
1971	<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Absent</i> en juin 71, <i>négatif</i> en septembre et octobre 71 ● <i>Absent</i> en juin 71, <i>négatif</i> en sept. et octobre 71. 	<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Négatif</i> ● <i>Négatif</i> ● <i>Négatif</i>

ment, et qui, fin octobre, étaient encore dépourvus d'anticorps.

Cependant, pour 4 des chevaux de cette première écurie, l'infection semble être récente puisque la réponse incertaine (3 chevaux) ou négative (1 cheval) en juin 1971 était positive trois mois plus tard, en septembre 1971.

La seconde écurie était complètement indemne en juin 1971. L'infection a atteint au cours de l'été deux chevaux dont le séro-diagnostic est devenu positif l'un en septembre, l'autre en octobre. Ces deux chevaux faisaient partie de l'effectif depuis des temps très différents, un an pour l'un, près de 5 ans pour l'autre (tableau n° 7). En revanche, ils étaient tous deux placés près de la porte de l'écurie.

Ainsi le risque d'infection d'un cheval dans une écurie fortement infectée est très élevé. Dans une écurie en début d'infection, le risque semble davantage lié à la place dans l'écurie qu'à l'ancienneté dans l'effectif.

DISCUSSION

Des enquêtes épidémiologiques menées aux Etats-Unis, au Canada, et dans notre pays, on peut conclure que l'anémie infectieuse n'échappe pas à la règle dite de « l'iceberg » valable pour la plupart des maladies infectieuses et selon laquelle seule une faible partie des cas d'infection s'exprime cliniquement alors que la majorité passe inaperçue. Il convient néanmoins de rester vigilant car les souches à l'origine des infections inapparentes peuvent se montrer parfaitement virulentes et entraîner la mort comme le prouve l'exemple du poney ayant servi à l'isolement du virus à partir de porteurs inapparents.

Etant donné que nous disposons actuellement d'un excellent test de dépistage de la maladie et en raison du risque éventuel d'introduction d'animaux infectés inapparents dans un effectif sain, il nous paraît hautement souhaitable de soumettre le sérum de tout cheval en instance d'achat à un test de précipitation en gélose vis-à-vis de l'antigène anémie infectieuse. Il pourrait en être de même pour les chevaux importés et destinés à demeurer longtemps en France. Cette dernière mesure éviterait l'importation d'animaux porteurs d'anticorps et donc de virus comme on le constate à l'heure actuelle en étudiant les sérums de chevaux importés du Canada et transmis au Laboratoire Central de Recherches d'Alfort.

CONCLUSION

L'emploi du test de précipitation en gélose dans le diagnostic ou le dépistage de l'anémie infectieuse a mis en lumière dans différents pays l'importance jusqu'alors insoupçonnée de l'infection inapparente des chevaux par ce virus, et autorise une plus grande efficacité des mesures de prophylaxie.

En France, les premiers résultats de l'enquête épidémiologique en cours révèlent un très faible taux général d'infection pour des sérums pris au hasard dans de nombreuses écuries et l'existence d'effectifs plus touchés.

Le développement de cette enquête permettra d'établir avec plus de précision la carte de l'éventuelle infection inapparente des chevaux français et d'autres pays européens.

*Laboratoire de Maladies Contagieuses,
Zoonoses, Législation sanitaire,
Ecole Vétérinaire d'Alfort (94).
(Prof. P. GORET).*

BIBLIOGRAPHIE

1. ASTROM (E.). — *The blood horse*, p. 3009, 30 août 1971.
 2. COGGINS (L.). — Communication personnelle.
 3. COGGINS (L.). — *The blood horse*, p. 3014, 30 août 1971.
 4. GORET (P.), TOMA (B.), BIND (J. L.) et LUKA ISKANDER (G. E.). — *Rec. Méd. Vét.*, 1969, 145, 1055.
 5. GORET (P.), TOMA (B.) et LUKA ISKANDER (G. E.). — Communication au 19^e Congrès Mondial Vétérinaire, Mexico, août 1971.
 6. KONO (Y.). — Communication personnelle.
 7. TOMA (B.), LUKA ISKANDER (G. E.) et GORET (P.). — *Bull. Ac. Vét.* 1971.
-