



HAL
open science

**Relation entre l'asthme équin et la présence d'éléments
fongiques dans les voies respiratoires : étude
expérimentale d'une population de 82 Trotteurs Français
à l'entraînement et 84 chevaux référés pour troubles
respiratoires**

Gabin Le Digarcher

► **To cite this version:**

Gabin Le Digarcher. Relation entre l'asthme équin et la présence d'éléments fongiques dans les voies respiratoires : étude expérimentale d'une population de 82 Trotteurs Français à l'entraînement et 84 chevaux référés pour troubles respiratoires. Sciences du Vivant [q-bio]. 2023. dumas-04231387

HAL Id: dumas-04231387

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04231387>

Submitted on 6 Oct 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ANNEE 2023 - Thèse n°35

**RELATION ENTRE L'ASTHME EQUIN ET LA PRESENCE
D'ELEMENTS FONGIQUES DANS LES VOIES RESPIRATOIRES:
ETUDE EXPERIMENTALE DANS UNE POPULATION DE 82
TROTTEURS FRANÇAIS A L'ENTRAINEMENT ET 84 CHEVAUX
REFERES POUR TROUBLES RESPIRATOIRES.**

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Nantes

le 18 Juillet 2023

par

Gabin LE DIGARCHER

Sous la direction de

Madame Anne COUROUCE

Président du jury : Monsieur François-Xavier BLANC, Professeur à la Faculté de Médecine de Nantes

Membres du jury : Madame Anne COUROUCÉ, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation de Nantes - ONIRIS

Monsieur Hervé POULIQUEN, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation de Nantes - ONIRIS

Membre invité : Monsieur Eric RICHARD, DVM, PhD, HDR, Chef de Service Biologie Clinique, LABEO - Caen

ANNEE 2023 - Thèse n°35

**RELATION ENTRE L'ASTHME EQUIN ET LA PRESENCE
D'ELEMENTS FONGIQUES DANS LES VOIES RESPIRATOIRES:
ETUDE EXPERIMENTALE DANS UNE POPULATION DE 82
TROTTEURS FRANÇAIS A L'ENTRAINEMENT ET 84 CHEVAUX
REFERES POUR TROUBLES RESPIRATOIRES.**

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Nantes

le 18 Juillet 2023

par

Gabin LE DIGARCHER

Sous la direction de

Madame Anne COUROUCE

Président du jury : Monsieur François-Xavier BLANC, Professeur à la Faculté de Médecine de Nantes

Membres du jury : Madame Anne COUROUCÉ, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation de Nantes - ONIRIS

Monsieur Hervé POULIQUEN, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation de Nantes - ONIRIS

Membre invité : Monsieur Eric RICHARD, DVM, PhD, HDR, Chef de Service Biologie Clinique, LABEO - Caen

Liste du corps enseignant



Département BPSA Biologie, Pathologie et Sciences de l'Aliment		
Responsable : Emmanuel JAFFRES – Adjointe : Frédérique NGUYEN		
Nutrition et Endocrinologie		
Pharmacologie et Toxicologie	Jean-Claude DESFONTIS (Pr) Yassine MALLEM (Pr) Hervé POULIQUEN (Pr)	Antoine ROSTANG (MC) Meg-Anne MORICEAU (CERC) Martine KAMMERER (PR émérite)
Physiologie fonctionnelle, cellulaire et moléculaire	Jean-Marie BACH (Pr) Lionel MARTIGNAT (Pr) Julie HERVE (MC HDR) Grégoire MIGNOT (MC)	Solenn GAVAUD (CERC)
Histologie et anatomie pathologique	Marie-Anne COLLE (Pr) Jérôme ABADIE (MC)	Laetitia JAILLARDON (MC) Frédérique NGUYEN (MC)
Pathologie générale, microbiologie et immunologie		
Biochimie alimentaire industrielle	Carole PROST (Pr) Joëlle GRUA (MC)	Clément CATANEO (MC) Alix KHALIL (MC) Laurent LE THUAUT (MC)
Microbiotech	Hervé PREVOST (Pr) Géraldine BOUE (MC) Nabila HADDAD (MC) Emmanuel JAFFRES (MC)	Mathilde MOSSER (MC) Boris MISERY (MC) Raouf TAREB (MC) Quentin PRUVOST (CEC)
PACENV = VET1	Eléonore BOUGUYON (PRAG) Nicolas BROSSAUD (PRAG)	
Département SAESP Santé des Animaux d'Élevage et Santé Publique		
Responsable : Raphaël GUATTEO – Adjoint : Jean-Michel CAPPELIER		
Élevage, nutrition et santé des animaux domestiques	Nathalie BAREILLE (Pr) François BEAUDEAU (Pr) Christine FOURICHON (Pr) Lucile MARTIN (Pr)	Juan Manuel ARIZA CHACON (MC) Ségolène CALVEZ (MC HDR) Aurélien MADOUASSE (MC) Nora NAVARRO-GONZALES (MC)
Infectiologie	Alain CHAUVIN (Pr) François MEURENS (Pr) Emmanuelle MOREAU (Pr) Nathalie RUVOEN-CLOUET (Pr)	Albert AGOULON (MC) Suzanne BASTIAN (MC) Léa LOISEL (AERC) Kenny OBERLE (MC) Nadine RAVINET (MC)
Médecine des animaux d'élevage	Catherine BELLOC (Pr) Christophe CHARTIER (Pr) Raphaël GUATTEO (Pr) Anne RELUN (MC)	Sébastien ASSIE (MC) Isabelle BREYTON (MC) Mily LEBLANC MARIDOR (MC) Maud ROUAULT (AERC)
Hygiène et qualité des aliments	Jean-Michel CAPPELIER (Pr) Louis DELAUNAY (CERC) Bruno LE BIZEC (Pr) Marie-France PILET (Pr)	Fanny RENOIS-MEURENS (MC HDR) Sofia STRUBBIA (MC)

Département DSC Sciences cliniquesResponsable : **Catherine IBISCH** – Adjoint : **Marion FUSELLIER**

Anatomie comparée	Eric BETTI (MC) Claude GUINTARD (MC) Margarida RIBEIRO DA SILVA NEUNLIST (MC)	
Pathologie chirurgicale et anesthésiologie	Eric AGUADO (Pr) Olivier GAUTHIER (Pr) Eric GOYENVALLE (MC HDR)	Pierre MAITRE (MC) Caroline TESSIER (MC) Gwénola TOUZOT-JOURDE (MC) Claire DEFOURMSTRAUX (MC)
Dermatologie, parasitologie des carnivores et des équidés, mycologie	Jacques GUILLOT (Pr) Emmanuel BENSIGNOR (Pr Ass)	Sabrina VIEU (AERC)
Médecine interne, imagerie médicale et législation professionnelle vétérinaire	Anne COUROUCE (Pr) Jack-Yves DESCHAMPS (Pr) Françoise ROUX (Pr) Juan HERNANDEZ-RODRIGUEZ (Pr Ass) Nora BOUHSINA (MC)	Nicolas CHOUIN (MC) Amandine DRUT (MC) Marion FUSELLIER-TESSON (MC HDR) Catherine IBISCH (MC) Aurélia LEROUX (MC) Odile SENECAT (MC)
Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Jean-François BRUYAS (Pr) François FIENI (Pr)	Djemil BENCHARIF (Pr) Lamia BRIAND (MC HDR)

Département GPA Génie des procédés alimentairesResponsable : **Sébastien CURET-PLOQUIN** – Adjointe : **Vanessa JURY**

Lionel BOILLEREAUX (Pr) Sébastien CURET-PLOQUIN (Pr) Marie DE LAMBALLERIE (Pr) Francine FAYOLLE (Pr) Michel HAVET (Pr)	Alain LEBAIL (Pr) Olivier ROUAUD (Pr) Kévin CROUVISIER-URION (MC) Vanessa JURY (MC HDR) Emilie KORBEL (MC)	Jean-Yves MONTEAU (MC HDR) Eve-Anne NORWOOD (MC) Raphaël PORYLES (MC) Laurence POTTIER (MC) Cyril TOUBLANC (MC)
PAC-ING	Cyril Gaillard (PCEA)	

Département MSC Management, statistiques et communicationResponsable : **Samira ROUSSELIERE** – Adjointe : **Véronique CARIOU**

Mathématiques, statistiques, informatique	El Mostafa QANNARI (Pr émérite) Chantal THORIN (Pr Ag) Evelyne VIGNEAU (Pr)	Véronique CARIOU (Pr) Benjamin MAHIEU (MC) Michel SEMENOU (MC)
Economie, gestion, législation	Jean-Marc FERRANDI (Pr) Pascal BARILLOT (MC) Ibrahima BARRY (MC) Florence BEAUGRAND (MC)	Sibylle DUCHAINE (MC) Sonia MAHJOUB (MC) Samira ROUSSELIERE (MC) Christophe PAPINEAU (Ens. Cont.)
Langues et communication	Marc BRIDOU (PLPA) David GUYLER (Ens. Cont.) Nathalie GOODENOUGH (PCEA) Patricia JOSSE (Ens. Cont.)	Shaun MEEHAN (Ens. Cont.) Linda MORRIS (PCEA) Ian NICHOLSON (ENS. Cont.)

Pr Ag : Professeur Agrégé, Pr : Professeur, MC : Maître de Conférence, MCC : MC contractuel,
PLPA : Professeur Lycée Professionnel Agricole, PCEA : Professeur Certifié Enseignement Agricole,
HDR : Habilité à Diriger des Recherches, CERC : Chargé d'Enseignement et de Recherche Contractuel, Ens.
Cont. : Enseignant Contractuel

La reproduction d'extraits de cette thèse est autorisée avec mention de la source. Toute reproduction partielle doit être fidèle au texte utilisé. Cette thèse devra donc être citée en incluant les éléments bibliographiques suivants :

- NOM et prénoms de l'auteur : LE DIGARCHER Gabin
- Année de soutenance : 2023
- Titre de la thèse : Relation entre l'asthme équin et la présence d'éléments fongiques dans les voies respiratoires : étude expérimentale d'une population de 82 trotteurs français à l'entraînement et 84 chevaux référés pour troubles respiratoires.
- Intitulé du diplôme : Thèse de doctorat vétérinaire
- Université de soutenance : Faculté de Médecine de Nantes.
- Ecole de soutenance : Oniris : Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de L'alimentation Nantes Atlantique
- Nombre de pages : 90 p.

Remerciements

À Monsieur François-Xavier Blanc,

Professeur à la Faculté de Médecine de Nantes,
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de cette thèse,
Veuillez accepter mes hommages respectueux et mes sincères remerciements.

À Madame Anne Couroucé,

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Nantes –ONIRIS,
Qui m'a fait l'honneur de me proposer ce sujet et de me guider tout au long de ce travail,
Pour l'aide que vous m'avez offerte et vos conseils avisés,
Sincères remerciements.

À Monsieur Hervé Pouliquen,

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Nantes –ONIRIS,
Pour m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury de thèse,
Sincères remerciements.

À Monsieur Éric Richard,

Chef du service Biologie Clinique de LABEO,
Pour l'aide apportée au cours de ce travail et m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury,
Sincères remerciements.

À Madame Pauline Barbazanges,

Résidente en médecine équine –École Nationale Vétérinaire de Nantes –ONIRIS
Pour ta disponibilité et ton aide précieuse durant la réalisation de ce travail,
Sincères remerciements.

À l'équipe de LABEO,

Pôle d'analyse et de recherche de Normandie,
Pour votre aide et votre disponibilité,
Avec une pensée particulière à Marie-Pierre,
Sincères remerciements.

Table des matières

Remerciements	5
Table des annexes	8
Table des figures	8
Table des tableaux	10
Liste des abréviations	12
INTRODUCTION	13
I – Matériels et méthodes	15
A – Matériels	15
1) Critères d’inclusion.....	15
2) Examens effectués	15
3) Fiche de demande d’analyse et questionnaire	19
4) Collecte des prélèvements	21
5) Traitement des prélèvements.....	21
6) Analyse des prélèvements.....	22
B – Méthodes.....	26
1) Constitution de la base de données.....	26
2) Analyse des résultats.....	27
II - Résultats	29
A – Description de la population d’étude	29
1) Constitution de la population d’étude	29
2) Facteurs intrinsèques aux chevaux	29
3) Signes cliniques rapportés et examen clinique.....	31
4) Endoscopie des voies respiratoires supérieures.....	32
5) Lavage des poches gutturales.....	36
6) Lavage trachéal.....	37
7) Lavage bronchoalvéolaire.....	41
8) Classification des individus.....	44
B – Comparaison des différents paramètres obtenus selon le groupe de classification.....	45
1) Facteurs épidémiologiques.....	45
2) Signes cliniques rapportés et examen clinique.....	47
3) Analyses sanguines	52
4) Endoscopie des voies respiratoires.....	54
5) Lavage des poches gutturales.....	55
6) Lavage trachéal.....	57
7) Lavage bronchoalvéolaire.....	64
C- Estimation des facteurs de risque de survenue d’asthme équin modéré ou sévère.	68
III –Discussion	70
A- Population d’étude et méthodes utilisées.....	70
1- Constitution de la population d’étude	70
2- Méthodes de prélèvements et intérêts des échantillons respiratoires.....	70
B- Mise en perspective des associations entre les résultats obtenus et l’asthme équin modéré.....	75
1- Facteurs épidémiologiques.....	75
2- Analyses sanguines	75
3- Mucus trachéal et taux de neutrophiles du LT	75
4- Détection d’éléments fongiques et prévalence de mEA	75
5- Infection bactérienne ou virale et mEA.....	76

6-	Facteurs de risques identifiés.....	77
C-	Mise en perspective des associations entre les résultats obtenus et l'asthme équin sévère.....	78
1-	Facteurs épidémiologiques.....	78
2-	Signes cliniques rapportés et examen clinique.....	78
3-	Analyses sanguines	78
4-	Endoscopie des voies respiratoires.....	79
5-	Incidence des éléments fongiques et asthme équin sévère.....	79
D-	Limites de l'étude.....	80
CONCLUSION	81
BIBLIOGRAPHIE	82
Annexe	88

Table des annexes

Annexe 1. Fiche de demande d'analyse et d'informations.	88
--	----

Table des figures

Figure 1. Réalisation d'une prise de sang à la veine jugulaire externe sur un Trotteur Français (crédit photo : A. Couroucé).....	16
Figure 2. Mise en place du sac pour le test de ventilation forcée (crédit photo : P.Barbazanges)	17
Figure 3. Système de désinfection et rinçage utilisé dans les écuries de trotteurs (crédit photo : A. Couroucé).	19
Figure 4. Installation de l'équipe du laboratoire (gauche) et de l'équipe vétérinaire réalisant les prélèvements (droite) sur le terrain (crédit photo : M. Cessans).....	21
Figure 5. Sexe des individus de la population d'étude.....	29
Figure 6. Logement des individus de la population d'étude.	30
Figure 7. Fourrages des individus de la population d'étude.	30
Figure 8. Signes cliniques rapportés par les propriétaires ou entraîneurs.	31
Figure 9. Bilan du test de ventilation forcée.	32
Figure 10. Grades de pharyngite parmi la population d'étude.	33
Figure 11. Image endoscopique d'une pharyngite de grade 4/4 (crédit photo : CISCO-Oniris)....	33
Figure 12. Image endoscopique d'une poche gutturale atteinte d'hyperplasie lymphoïde (crédit photo : CISCO Oniris).	34
Figure 13. Scores de mucus trachéal de la population d'étude.....	35
Figure 14. Image endoscopique de sécrétions trachéales de score 4/5 (crédit photo : CISCO Oniris).	35
Figure 15. Cytodiagnostic d'inflammation trachéale.	38
Figure 16. Cytodiagnostic d'asthme équin sur le mélange de LBA.....	43
Figure 17. Composition des groupes de classification.....	45
Figure 18. Sexe des individus et groupe de classification.....	46
Figure 19. Logement selon le groupe de classification.....	46
Figure 20. Fourrage distribué et groupe de classification.	47
Figure 21. Signes cliniques rapportés et groupe de classification.	48
Figure 22. Dyspnée lors de l'examen clinique et groupe de classification.	50

Figure 23. Signes observés lors du test de ventilation forcée et groupe de classification.....	50
Figure 24. Anomalies des paramètres sanguins et groupe de classification.	52
Figure 25. Présence d’une pharyngite et groupe de classification.	54
Figure 26. Aspect macroscopique du lavage des PG et groupe de classification.....	55
Figure 27. Culture fongique sur le liquide des PG et groupe de classification.....	57
Figure 28. Aspect macroscopique du LT et groupe de classification.	58
Figure 29. Cytodiagnostic d’inflammation trachéale et groupe de classification.....	60
Figure 30. Bactériologie positive et groupe de classification.	60
Figure 31. Recherche de mycoplasmes positive et groupe de classification.	61
Figure 32. Virologie positive sur le LT et groupe de classification.....	61
Figure 33. Éléments fongiques visibles à la cytologie du LT et groupe de classification.	62
Figure 34. Culture fongique positive sur le LT et groupe de classification.	63
Figure 35. Aspect macroscopique du liquide de LBA mélange et groupe de classification.	65
Figure 36. Éléments fongiques à la cytologie des LBA et groupe de classification.	66
Figure 37. Culture fongique positive sur le LBA et groupe de classification.....	67

Table des tableaux

Tableau I. Paramètres sanguins évalués chez les chevaux de l'étude	16
Tableau II. Valeurs de référence pour la cytologie de LBA (1 et 2).....	23
Tableau III. Protocole de bactériologie par isolement direct	23
Tableau IV. Protocole de bactériologie pour dénombrement après ensemencement et dilution	24
Tableau V. Protocole d'isolement des mycoplasmes	25
Tableau VI. Protocole de culture fongique.....	25
Tableau VII. Critères d'établissement du « score d'asthme sévère ».....	27
Tableau VIII. Résultats des examens cliniques.....	31
Tableau IX. Affections observées dans les poches gutturales	34
Tableau X. Résultat de la cytologie du lavage des poches gutturales.	36
Tableau XI. Espèces fongiques identifiées dans le liquide de lavage des PG.....	37
Tableau XII. Pourcentage des cellules présentes dans le LT.....	37
Tableau XIII. Répartition des espèces bactériennes identifiées	39
Tableau XIV. Effectifs et fréquences des virus présents dans le LT	40
Tableau XV. Répartition des éléments fongiques visibles à la cytologie du LT	40
Tableau XVI. Espèces fongiques identifiées dans le liquide de lavage trachéal (1, 2, 3 et 4)	40
Tableau XVII. Résultats de cytologie des LBA mélange (1), D (2) et G (3).....	42
Tableau XVIII. Eléments fongiques observés à la cytologie des LBA.	43
Tableau XIX. Espèces fongiques identifiées dans le mélange de LBA (1 et 2).....	44
Tableau XX. Répartition des individus selon les deux classifications.	44
Tableau XXI. Moyenne d'âge de chaque groupe selon la classification	45
Tableau XXII. Recherche d'association entre les signes cliniques rapportés et le groupe de classification.	48
Tableau XXIII. Association entre les signes cliniques rapportés et l'asthme équin sévère.....	49
Tableau XXIV. Paramètres de l'examen clinique selon le groupe de classification.	49
Tableau XXV. Recherche d'association entre les signes cliniques observés lors du test au sac et le groupe de classification.	51
Tableau XXVI. Association entre les signes cliniques observés lors du test au sac et l'asthme équin sévère.	51
Tableau XXVII. Résultat du bilan sanguin selon le groupe de classification.....	53
Tableau XXVIII. Test post-hoc sur les cellules sanguines.....	53

Tableau XXIX. Grade moyen des pharyngites observées selon le groupe de classification.....	54
Tableau XXX. Score moyen de mucus trachéal selon le groupe de classification.....	54
Tableau XXXI. Volume moyen récupéré lors des lavages des poches gutturales selon le groupe de classification.	55
Tableau XXXII. Résultat de cytologie des PG selon le groupe de classification.	56
Tableau XXXIII. Volume moyen récupéré lors du LT selon les groupes.	57
Tableau XXXIV. Recherche d'association entre l'aspect macroscopique du LT et le groupe de classification.	58
Tableau XXXV. Résultat de cytologie sur le LT selon le groupe de classification.....	59
Tableau XXXVI. Bilan des tests statistiques d'indépendance entre le groupe de classification et les éléments fongiques visibles à la cytologie du LT.	62
Tableau XXXVII. Propriétés du test d'observation d'éléments fongiques à la cytologie du LT pour la détection d'asthmatiques sévères.	63
Tableau XXXVIII. Bilan des tests statistiques d'indépendance entre le groupe de classification et la culture fongique sur le LT.....	63
Tableau XXXIX. Volume moyen des LBA G et D selon le groupe de classification.	64
Tableau XL. Association entre l'aspect macroscopique du LBA et le groupe de classification.	65
Tableau XLI. Bilan des tests statistiques d'indépendance entre le groupe de classification et les éléments fongiques visibles à la cytologie des LBA.....	66
Tableau XLII. Bilan des tests du Khi-2 selon le résultat de culture fongique du LBA et le groupe de classification.	67
Tableau XLIII. Résultats de la régression logistique multivariée concernant l'asthme équin modéré.	69
Tableau XLIV. Constitution des populations d'études précédemment publiées.....	70
Tableau XLV. Prévalence des mycoplasmes respiratoires selon les études.	73

Liste des abréviations

ABPA : Aspergillose broncho-pulmonaire allergique
CISCO : Centre International de Santé du Cheval d'Oniris
CTL : Contrôle
D : Droit
EHV : Herpès virus équin
G : Gauche
H/M : hémosidérophages / macrophages
HPIE : Hémorragie pulmonaire induite à l'exercice
IC : intervalle de confiance
LBA : Lavage broncho-alvéolaire
LT : Lavage trachéal
mEA : Asthme équin modéré
mL : Millilitres
NEC : Note d'état corporel
OR : Odds Ratio
PCR : Polymerase chain reaction
PE : Polynucléaires éosinophiles
PG : Poches gutturales
PN : Polynucléaires neutrophiles
RT-PCR : Reverse transcriptase polymerase chain reaction
SAFS : Asthme sévère avec sensibilisation fongique
sEA : Asthme équin sévère
VPN : Valeur prédictive négative
VPP : Valeur prédictive positive

INTRODUCTION

Les affections respiratoires sont une dominante pathologique chez le cheval et représentent, par exemple, l'une des principales causes de contreperformance. Parmi ces affections, la plus fréquemment incriminée est l'asthme équin.

D'après *Couëtil et al. (2016)*, l'asthme équin se définit comme une inflammation non infectieuse et chronique des voies respiratoires profondes. Deux formes existent, l'asthme équin dit léger à modéré et celui qualifié de sévère. La distinction se fait à la fois sur l'expression clinique de la maladie et les résultats de tests diagnostiques. L'asthme modéré est une pathologie réversible, contrairement à l'asthme sévère. De plus, un asthme modéré n'évoluera pas nécessairement vers un stade sévère. L'asthme modéré atteint généralement de jeunes chevaux. Il se caractérise par une toux occasionnelle et une baisse de performance évoluant depuis au moins 4 semaines. Une accumulation de mucus trachéal et une discrète augmentation des polynucléaires neutrophiles et/ou éosinophiles et/ou des mastocytes dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire sont aussi des signes d'appel de l'asthme équin modéré. La forme sévère, elle, atteint en général des animaux plus âgés (> 7 ans). Les signes cliniques associés sont plus sévères avec notamment un effort respiratoire au repos, une toux plus fréquente ou encore une intolérance à l'exercice. De même, les modifications cytologiques du liquide lavage broncho-alvéolaire seront plus sévères avec notamment des polynucléaires neutrophiles augmentés en plus grande proportion. Associé à cela, une obstruction des voies respiratoires profondes se développe. L'étiologie de ces deux types d'asthme est multifactorielle et reste encore peu claire.

L'environnement est connu pour avoir un rôle majeur dans la pathogénie de l'asthme équin. En effet, les conditions de vie de la plupart des chevaux les exposent à de nombreuses particules poussiéreuses jouant un rôle dans l'induction et l'entretien de l'inflammation respiratoire. L'exposition à ces poussières a été démontrée comme un facteur exacerbant l'asthme équin par *Mcgorum et al. (1993)* et *Pirie et al. (2002)*. Parmi ces particules, on retrouve un certain nombre d'éléments fongiques. Ces derniers sont ubiquitaires dans l'environnement du cheval (*Stewart and Cuming, 2015*). Le foin sec en est généralement la source principale, 90% des particules poussiéreuses émises par certains foins étant des éléments fongiques (*Clarke, 1987*). Cependant, le rôle des éléments fongiques dans le développement de l'asthme équin reste encore peu clair.

En médecine humaine, il a été montré que l'exposition à des éléments fongiques sensibilise et exacerbe l'asthme allergique. D'ailleurs, 50% des patients atteints d'asthme sévère ont une sensibilisation fongique associée (SAFS) (*Denning et al., 2014*). De plus, près de 5 millions de personnes souffrent d'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) aggravant l'asthme sévère. *Chishimba et al. (2012)* et *Denning et al. (2009)* ont d'ailleurs montré une nette amélioration des symptômes après un traitement antifongique chez des patients atteints de SAFS ou d'ABPA.

L'exposition majeure des chevaux aux éléments fongiques et leurs implications dans le développement d'asthme en médecine humaine amènent à s'interroger sur leur potentiel rôle dans la pathogénie de l'asthme équin. *Dauvillier et al. (2019)* ont montré que des éléments fongiques sont communément présents dans les voies respiratoires du cheval. Ces auteurs ont d'ailleurs

conclu que les chevaux ayant une cytologie de lavage trachéal positive pour des éléments fongiques avaient deux fois plus de chance d'avoir un asthme équin modéré. Cependant, l'étude ne portait que sur une population de chevaux consultés pour troubles respiratoires ou contre-performance. Or, étant donné la prévalence élevée d'éléments fongiques dans les voies respiratoires, la question de leur réelle pathogénicité se pose. L'intérêt du travail présent est donc de pouvoir comparer le même type de résultat entre une population de chevaux sans problème apparent et une population référée pour les mêmes troubles que dans l'étude de *Dauvillier et al. (2019)*. Les objectifs de cette étude ont été multiples. Dans un premier temps, il a été question de rechercher une association entre la présence de moisissures dans les prélèvements respiratoires et le diagnostic d'asthme équin modéré ou sévère. Puis, il a été recherché la méthode de détection d'éléments fongiques et le site de prélèvement les plus appropriés dans le cadre de l'asthme équin. Enfin, le dernier objectif a été d'évaluer si d'autres facteurs identifiés (bactériologie, environnement, etc.) pouvaient être liés au diagnostic d'asthme équin.

I – Matériels et méthodes

A – Matériels

Les données de cette étude ont été récoltées sur le terrain au sein d'écuries d'entraînement de trot ou lors de consultations référées au CISCO de février 2020 à avril 2023.

1) Critères d'inclusion

La population d'étude a été constituée de chevaux cliniquement sains ou référés au CISCO pour troubles respiratoires. Ainsi, 82 trotteurs français à l'entraînement ont été inclus dans le protocole, dont 8 prélevés deux fois à plus d'un an d'intervalle. Aucun critère d'exclusion n'a été initialement appliqué. Quarante-deux autres chevaux de tous types référés au CISCO pour contreperformance ou problème respiratoire ont complété la population d'étude. Le protocole de l'étude a reçu l'approbation du comité d'éthique vétérinaire d'Oniris (numéro d'approbation : CERVO-2020-3-V).

2) Examens effectués

- *Examen clinique*

Un examen clinique complet a été effectué pour chaque cheval. L'examen a inclus le relevé de la température rectale, de la fréquence cardiaque et de la fréquence respiratoire. Chaque animal a reçu une note d'état corporel (sur 5). Une auscultation cardiaque a également été réalisée. L'observation des muqueuses buccales associée au temps de recoloration capillaire ainsi que la palpation des nœuds lymphatiques sous-mandibulaires ont complété l'examen. Enfin, la présence d'une dyspnée expiratoire (ligne de pousse) et/ou d'un jetage et ses caractéristiques (séreux, muqueux ou mucopurulent) a également été notée.

- *Prise de sang*

Une prise de sang a été réalisée à la veine jugulaire externe pour chaque individu (Figure 1). Différents paramètres, présentés dans le tableau I, ont été testés afin d'objectiver ou non la présence d'une atteinte systémique inflammatoire et/ou infectieuse ou tout autre problème sous-jacent.



Figure 1. Réalisation d'une prise de sang à la veine jugulaire externe sur un Trotteur Français (crédit photo : A. Couroucé).

Tableau I. Paramètres sanguins évalués chez les chevaux de l'étude

Numération globulaire	Hématies
	Leucocytes
	Hémoglobine
	Hématocrite
	Taux globulaire moyen
	Volume globulaire moyen
	Rapport érythro-leucocytaire
	Rapport hématocrite / hémoglobine
	Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
Formule sanguine	Polynucléaires neutrophiles
	Polynucléaires éosinophiles
	Polynucléaires basophiles
	Monocytes
	Grands lymphocytes
	Petits lymphocytes
	Anomalies des hématies
	Anomalies des leucocytes
Numération plaquettaire	
Biochimie	Bilirubine totale
	Créatine phosphokinase
	Créatinine
	Gamma glutamyl transférase
	Protéines totales
	Albumine
	Urée
	Transaminase GOT/ASAT
	Fibrinogène

- *Test de ventilation forcée*

Communément appelé « test au sac », le test de ventilation forcée a été réalisé pour chaque cheval. Il consiste à placer un sac de façon hermétique sur les naseaux du cheval (Figure 2) afin d'induire progressivement une hypercapnie. Celle-ci induit alors une augmentation de fréquence et d'amplitude respiratoire. L'effort fourni par le cheval rend plus sensible l'auscultation pulmonaire (Le Corre. et al., 2017). Pour ce faire, un vétérinaire était placé de chaque côté du cheval afin d'ausculter les deux aires pulmonaires. La présence de bruits anormaux (crépitements ou sifflements), leurs localisations, le déclenchement d'une quinte de toux au retrait du sac, la tolérance et le temps de récupération (nombre de mouvements respiratoires avant un retour à la normale) ont été notés.



Figure 2. Mise en place du sac pour le test de ventilation forcée (crédit photo : P.Barbazanges)

- *Endoscopie des voies respiratoires supérieures*

Une endoscopie des voies respiratoires a été réalisée pour chaque cheval. La contention a inclus l'utilisation systématique d'un tord-nez et lorsque cela était nécessaire, l'ajout d'une contention chimique (détomidine, 10 µg/kg (Sédomidine, Audevard). Si le comportement du cheval nécessitait une contention plus importante et que ce dernier n'avait pas de compétition dans les 10 jours, du butorphanol, 20 µg/kg (Butorgesic, Audevard)) était ajouté.

L'endoscope (120cm, AOHUA ou OLYMPUS) était introduit par l'un des deux naseaux. Les cavités nasales, l'ethmoïde, le pharynx, le larynx, les poches gutturales puis la trachée ont été observés.

L'inflammation pharyngée était gradée de 0 à 4 (Raker and Boles, 1978). De même, l'hémiplégie laryngée (Robinson, 2004) et la présence de sang trachéal (Hinchcliff et al., 2005) étaient gradées de 0 à 4. L'accumulation de mucus trachéal a également été évaluée avec une échelle de 0 à 5 (Gerber et al., 2004b). Enfin, l'aspect de la carène bronchique (épaissie ou non) était noté.

- *Lavage des poches gutturales*

Un lavage de chacune des poches gutturales (droite et gauche) a été réalisé pour tous les individus. Un cathéter stérile était introduit *via* le canal opérateur de l'endoscope. Le lavage était

ensuite réalisé sous contrôle endoscopique grâce à 40 mL de solution isotonique (NaCl 0,9%). La solution était instillée en partie dorsale de la poche puis récupérée ventralement, une flaque se formant au fond de la poche. La même procédure a été réalisée dans chacune des poches gutturales avec utilisation d'un cathéter stérile différent pour chacune des poches.

Un échantillon composé du mélange des deux prélèvements a été conservé pour chaque individu. Par la suite, des examens macroscopiques, microscopiques, une bactériologie, une mycologie ainsi que la recherche de *Streptococcus equi equi* (agent de la gourme) ont été réalisés sur ce mélange.

- *Lavage trachéal (LT)*

Après l'évaluation du score de mucus trachéal un lavage stérile a été réalisé. Pour cela un nouveau cathéter stérile à usage unique était introduit dans le canal opérateur de l'endoscope. Une fois en place, 40 mL de solution isotonique tiédie était instillés en partie proximale de la trachée. Le liquide était récupéré plus distalement, un aplatissement de la trachée permettant la formation d'une flaque. L'aspect macroscopique de chaque échantillon était ensuite noté avant l'analyse microscopique. Elle consistait en la réalisation d'une bactériologie, une cytologie, une mycologie, d'une recherche de virus et de mycoplasmes.

- *Lavage bronchoalvéolaire (LBA)*

Un lavage bronchoalvéolaire de chaque poumon (droit et gauche) a été réalisé sous contrôle endoscopique (320cm, AOHUA ou OLYMPUS). Pour les individus présentant des signes cliniques sévères, une injection de spasmolytiques (scopolamine 0,16 mg/kg et métamizole 20 mg/kg (Estocelan, Boehringer Ingelheim)) a été réalisée en complément de la sédation. L'endoscope était introduit dans une des deux bronches principales (droite ou gauche) puis inséré jusqu'à la butée. Un total de 500 mL (deux fois 250 mL) de solution isotonique réchauffée (NaCl 0,9% à 37°C) était instillé dans chaque poumon grâce à des seringues de 60 mL *via* le canal opérateur. Après chaque bolus de 250 mL, la solution était récupérée par le canal opérateur à l'aide des seringues. Les vingt premiers millilitres correspondant au volume du canal opérateur étaient éliminés. Le canal était ensuite rincé à l'aide de 60 mL de solution isotonique entre le LBA droit et gauche.

Un échantillon par poumon ainsi qu'un mélange des LBA droit et gauche ont été conservés. Une cytologie a été réalisée pour l'ensemble des trois prélèvements. La culture fongique et la recherche de virus par PCR ont été, en revanche, effectuées uniquement sur le LBA mélange.

Les deux endoscopes ont été désinfectés grâce à une solution antiseptique diluée à 0,5% (Hexanios G+R, Anios Laboratories) puis rincés entre chaque cheval (Figure 3).



Figure 3. Système de désinfection et rinçage utilisé dans les écuries de trotteurs (crédit photo : A. Couroucé).

3) Fiche de demande d'analyse et questionnaire

Une fiche d'information et de demande d'analyse fournie par le laboratoire (annexe 1) a été remplie pour chaque cheval après discussion avec l'entraîneur ou le propriétaire et réalisation des examens.

La fiche a permis de recueillir les informations suivantes :

- *Relatives au cheval :*
 - **Nom** : réponse libre
 - **Race** : réponse libre
 - **Sexe** : réponse libre
 - **Date de naissance** : réponse libre
 - **Numéro de SIRE** : réponse libre

- *Relative à son environnement :*
 - **Milieu de vie** : 4 catégories (cases à cocher) : box, pré, paddock (herbe, sable, autre) et mixte
 - **Type de litière** : 3 catégories (cases à cocher) : paille, copeaux, autre
 - **Fourrage** : 4 catégories avec 2 sous-catégories (cases à cocher) : foin sec, foin trempé, foin stérilisé, enrubanné ; présentation en filet ou à terre
 - **Alimentation** : 3 catégories (cases à cocher) : céréales, concentrés, compléments ; volume distribué : réponse libre

- *Relative à son activité :*
 - **Date de la reprise** d'activité ou du début du **repos**

- *Relatives aux signes cliniques :*
 - **Dyspnée** : présence ou absence (case à cocher)
 - **Jetage** : présence ou absence, 3 catégories (cases à cocher) : séreux, muqueux, purulent
 - **Contre-performance** : présence ou absence (case à cocher)
 - **Intolérance à l'effort** : présence ou absence (case à cocher)
 - **Toux** : présence ou absence, 3 catégories (cases à cocher) : rare, fréquente, en début d'exercice
 - **Dilatation des naseaux** : présence ou absence (case à cocher)
 - **Épistaxis** : présence ou absence (case à cocher)
 - **Autres** : Réponse libre

- *Relatives à l'examen clinique :*
 - **Note d'état corporel (NEC)** : Note gradée sur 5
 - **Température rectale** : réponse libre (°C)
 - **Fréquence cardiaque** : réponse libre (battements par minute)
 - **Fréquence respiratoire** : réponse libre (mouvements par minute)
 - **Aspect des muqueuses** : 5 catégories (cases à cocher) : normales, congestionnées, pâles, cyanosées, jaunes-orange ; temps de recoloration capillaire : réponse libre
 - **Ganglions sous-mandibulaires** : 4 catégories (cases à cocher) : non palpables, palpables, hypertrophiés, douloureux
 - **Courbe respiratoire** : réponse libre

- *Relatives au test de ventilation forcée :*
 - **Tolérance** : Bonne ou mauvaise (case à cocher)
 - **Temps de récupération** : normal ou augmenté (case à cocher)
 - **Crépitements** : présence ou absence, 3 catégories (cases à cocher) : léger, modéré, marqué
 - **Sifflements** : présence ou absence, 3 catégories (cases à cocher) : léger, modéré, marqué
 - **Toux déclenchée** : présence ou absence (case à cocher)

- *Relatives à l'examen endoscopique :*
 - **Grade de l'inflammation pharyngée** : grade sur 4 à remplir
 - **Aspect du larynx** : réponse libre
 - **Aspect des poches gutturales** : réponse libre
 - **Présence de sang trachéal** : grade sur 4 à remplir
 - **Présence de mucus trachéal** : grade sur 5 à remplir
 - **Autres** : réponse libre

4) Collecte des prélèvements

Une équipe du laboratoire (LABEO) était directement présente sur le terrain avec l'équipe vétérinaire (Figure 4). Les prélèvements étaient immédiatement pris en charge et transportés au laboratoire sous couvert du froid.

Dans le cas des prélèvements réalisés au CISCO, ils ont été traités et envoyés sous 24 heures et sous couvert du froid au laboratoire.



Figure 4. Installation de l'équipe du laboratoire (gauche) et de l'équipe vétérinaire réalisant les prélèvements (droite) sur le terrain (crédit photo : M. Cessans).

5) Traitement des prélèvements

Pour chaque prélèvement, le volume récolté était noté sur la fiche de demande d'analyse.

- *Lavage des poches gutturales :*

Les prélèvements des deux poches gutturales ont été mélangés et homogénéisés dans une bouteille de 125 mL. Ce mélange était ensuite séparé en trois échantillons, 4 mL dans un tube EDTA et deux fois 10 mL dans des tubes type Falcon.

- *Lavage trachéal :*

Le prélèvement a été séparé en 3 volumes : 4 mL dans un tube EDTA et deux fois 5 mL dans des tubes type Falcon.

- *Lavage bronchoalvéolaire :*

- LBA gauche et droit :

Un total de 4 mL du prélèvement a été placé dans un tube EDTA identifié pour chaque côté.

- LBA mélange :

Le mélange des prélèvements gauche et droit a été effectué au *prorata* des volumes récupérés dans une bouteille de 125 mL.

Le calcul pour définir les quantités du mélange était le suivant :

$M = \text{volume de LBA mélange final} = 100 \text{ mL.}$

$x = \text{volume total de LBA droit}$

$x1 = \text{volume de LBA droit pour le mélange,}$

$y = \text{volume total de LBA gauche}$

$y1 = \text{volume de LBA gauche pour le mélange,}$

$$x1 = (100*x) / (x+y)$$

$$y1 = (100*y) / (x+y)$$

$$M = x1 + y1$$

Une fois le mélange obtenu, 4 mL ont été placés dans un tube EDTA identifié et 10 mL dans un tube de 15 mL.

6) Analyse des prélèvements

a- Cytologie

Une analyse cytologique a été effectuée sur les prélèvements des poches gutturales, trachéaux et pulmonaires. Un premier examen macroscopique a été réalisé permettant de définir la couleur, la turbidité et la transparence des échantillons. Deux lames ont ensuite été réalisées, une en étalement direct et une après concentration. Chacune a été colorée au May-Grünwald-Giemsa et lue sur 400 cellules.

Pour le lavage trachéal, si le pourcentage de polynucléaires neutrophiles (PN) dépassait 20%, un cytodagnostic d'inflammation trachéale a été établi (*Christley et al., 1999; Malikides et al., 2003*). Il était qualifié de sévère si le taux de PN était supérieur à 70%. Un rapport hémositérocytes/macrophages (H/M) supérieur à 20% était, lui, signe d'hémorragie pulmonaire induite à l'exercice (HPIE).

Les résultats de cytologie de LBA ont aussi été analysés à partir de valeurs seuils (Tableau II) établies selon les publications de (*Couëtil et al., 2016; Depecker et al., 2014; Hermange et al., 2019; Richard et al., 2010a, 2010b*).

Tableau II. Valeurs de référence pour la cytologie de LBA (1 et 2)

(1)

Prélèvement	Polynucléaires neutrophiles
LBA mélange	<ul style="list-style-type: none"> • < 9% = non inflammatoire • 9% < %PN < 25% = inflammation modérée • > 25% = inflammation sévère
LBA D et G	<ul style="list-style-type: none"> • < 10% = non inflammatoire • 10% < %PN < 25% = inflammation modérée • > 25% = inflammation sévère

(2)

Prélèvement	Polynucléaires éosinophiles	Mastocytes	H/M
LBA mélange, D et G	> 5%	> 3%	> 17% = HPIE

b- Bactériologie

Une bactériologie a été effectuée sur le prélèvement trachéal. Un isolement direct *via* des milieux sélectifs et non sélectifs a été réalisé. Des ensemencements après dilution ont aussi été effectués afin de dénombrer les bactéries. De plus, une coloration de Gram a été réalisée. Dans le cas où plus de 3 bactéries étaient identifiées, le prélèvement était considéré comme contaminé et aucune identification n'a été réalisée. Les tableaux III et IV détaillent les protocoles de bactériologie.

Tableau III. Protocole de bactériologie par isolement direct

Type de milieu de culture	Température d'incubation	Atmosphère	Durée d'incubation	Germe(s) recherché(s)
Gélose Columbia sang de mouton	37°C	Aérobie	48 H	Aide à la détermination des germes anaérobies par comparaison avec la gélose en anaérobiose
Gélose Columbia sang de mouton	37°C	Anaérobie	48 H	Germes anaérobies stricts

Tableau IV. Protocole de bactériologie pour dénombrement après ensemencement et dilution

Type de milieu de culture	Température d'incubation	Atmosphère	Durée d'incubation	Germe(s) recherché(s)
Gélose Columbia sang de mouton (1 boîte par dilution : 10-4 et 10-6)	37°C	Aérobie	48H	Bactéries aérobies (<i>Streptococcus spp</i> , <i>Sthapylococcus spp</i> , <i>Actinobacillus spp</i> , <i>Pasteurella spp</i> .)
EMB (1 boîte par dilution : 10-4 et 10-6)	37°C	Anaérobie	48 H	Entérobactéries et <i>Pseudomonas spp</i>
Gélose chocolat (dilution : 10-4)	37°C	7% CO2	48 H	<i>Bordetella bronchiseptica</i> , <i>Nicoletella semolina</i>
Gélose Columbia sang de mouton (dilution 10-3)	37°C	Aérobie	48 H	Contrôle de la cohérence pour les dilutions 10-4 et 10-6
Gélose Columbia sang de mouton (dilution 10-4)	30°C	Aérobie	48 H	Germe avec optimum de croissance à 30°C (<i>Pseudomonas fluorescens</i>)

c- Biologie moléculaire

Des analyses PCR et RT-PCR ont été réalisées sur différents prélèvements.

- *Lavage des poches gutturales :*

L'agent de la gourme, *Streptococcus equi subsp equi*, a été recherché par PCR en temps réel sur le mélange des poches gutturales.

- *Lavage trachéal :*

Les principaux virus respiratoires équins ont été recherchés par PCR ou RT-PCR en temps réel sur le LT. Ainsi, la recherche des herpès virus équin (EHV) 1, 2, 4 et 5 et de l'adénovirus équin 1 a été réalisée par PCR. L'influenza équin et les rhinovirus équin A et B ont été recherchés par RT-PCR.

La recherche de mycoplasme a également été effectuée par PCR en temps réel après plusieurs jours d'incubation. Le protocole est détaillé dans le tableau V.

Tableau V. Protocole d'isolement des mycoplasmes

Type de milieu de culture	Température d'incubation	Atmosphère	Durée d'incubation	Germe recherché
Bouillon mycoplasmes	37°C	7% CO2	3 jours minimum puis analyse PCR	<i>Mycoplasma spp</i>

- *Lavage bronchoalvéolaire* :

Les virus EHV 2 et 5 ainsi que le rhinovirus équin B ont également été recherchés sur le liquide de mélange des LBA.

d- Mycologie

La présence d'éléments fongiques (spores, hyphes et branchements) a été notée lors des analyses cytologiques de chaque prélèvement. Une culture fongique a aussi été effectuée par isolement direct sur deux géloses. Les protocoles utilisés sont présentés dans le tableau VI. Les colonies fongiques ont ensuite été identifiées visuellement par des techniciens expérimentés. Une quantification en masse des levures et moisissures a été, par ailleurs, réalisée.

Tableau VI. Protocole de culture fongique

Isolement direct				
Type de milieu de culture	Température d'incubation	Atmosphère	Durée d'incubation	Germe(s) recherché(s)
Gélose Saroubaud + Actidione	30°C	Aérobie	6 jours	Levures et moisissures
Gélose Saroubaud + Gentamicine	37°C	Anaérobie	48 H	Levures et moisissures.
Quantification en masse des levures-moisissures				
Gélose OGA (Oxytétracycline-Glucose-Yeast Extract Agar) Ensemencement en masse : direct, 10-1, 10-2 et 10-3	30°C	Aérobie	6 jours	Levures et moisissures

B – Méthodes

1) Constitution de la base de données

Cette étude prospective réunit 166 chevaux pour un total de 174 prélèvements. Effectivement, 8 trotteurs à l'entraînement ont été prélevés deux fois à plus d'un an d'intervalle. L'ensemble des données concernant ces individus, c'est-à-dire la feuille de demande d'analyse et les résultats de laboratoire (prise de sang, bactériologie, cytologie sur LT, LBA etc.) ont été rassemblés dans un fichier Excel. Le tableau a été organisé de sorte que chaque ligne corresponde à un cheval et chaque colonne à une information ou un résultat donné.

a- Fiche de demande d'analyse et questionnaire

Toutes les informations récoltées sur la fiche ont été reportées dans le tableau Excel. Les variables qualitatives ont été enregistrées de façon binaire pour chaque réponse possible du questionnaire (1 : présence/oui, 0 : absence/non). Les données quantitatives ont été enregistrées telles quelles.

b- Résultats de laboratoire

L'ensemble des résultats quantitatifs, de la biochimie à la cytologie des différents prélèvements, ont été enregistrés tels quels dans le tableau. Il est aussi arrivé que certaines cellules soient présentes en trop faible quantité lors du comptage pour se voir attribuer une valeur. La quantité observée à l'examen cytologique a alors été qualifiée de « rares » ou « très rares ». Dans ce cas, il a été choisi de façon arbitraire de remplacer les « très rares » par 0,2% et les « rares » par 0,5% afin de faciliter l'exploitation des données.

Les résultats de bactériologie, virologie et mycologie (culture) ont été enregistrés de façon qualitative (positif ou négatif) ; à cela s'ajoute une colonne par germe identifié et une pour sa quantité.

Les conclusions du laboratoire, notamment pour les examens cytologiques, ont été notées de façon qualitative dans une colonne correspondante avec par exemple « suspicion d'asthme équin modéré ».

c- Classification des individus

Suite au recueil de l'ensemble des résultats (commémoratifs, examen clinique, analyses etc.), les individus ont été classés selon le diagnostic posé. Ainsi, il a été distingué les chevaux sains dits contrôles (CTL), les asthmatiques sévères (sEA) et modérés (mEA) ou encore ceux atteints d'une pathologie infectieuse. Afin de déterminer si un individu devait être classé comme asthmatique sévère ou non, un score sur 4 lui a été attribué. Un score strictement supérieur à 2 identifiait directement un cheval comme asthmatique sévère. Les critères utilisés pour établir le score

reposent sur le consensus (Couëttil et al., 2016) et sont présentés dans le tableau VII, chaque critère valant un point.

Tableau VII. Critères d'établissement du « score d'asthme sévère ».

Age	>7ans
% neutrophiles le plus élevé (LBA mélange, droit ou gauche)	>25
% mastocytes	> 3
% éosinophiles	>5
Signes cliniques au repos	Présents
Score de mucus trachéal	>2
Total	Si >2 → asthme sévère

Les chevaux n'étant pas classés sEA selon ce score mais présentant une inflammation pulmonaire à la cytologie, qu'elle soit neutrophilique, mastocytaire, mixte (neutrophilique et mastocytaire) ou éosinophilique et/ou ayant un score de mucus trachéal strictement supérieur à 2 ont été considérés comme étant asthmatiques modérés. Les valeurs seuils définissant une inflammation pulmonaire ont été décrites précédemment (Tableau II).

Des critères d'exclusion ont été appliqués pour la constitution du groupe contrôle. La présence d'HPIE, d'une infection par les principaux pathogènes bactériens respiratoires : *Streptococcus zooepidemicus*, *Actinobacillus equi*, *Bordetella bronchiseptica* et *Pasteurella spp.* (Christley et al., 2001b ; Manguin et al., 2020) ou par EHV 4 ont été des motifs d'exclusion du groupe CTL.

2) Analyse des résultats

a- Outils graphiques

Les graphiques ont été réalisés à l'aide du logiciel Excel.

b- Outils statistiques

L'analyse descriptive des résultats a été réalisée grâce au logiciel Excel. Elle a permis d'établir une moyenne, une médiane, un écart-type et des valeurs minimales et maximales pour chaque paramètre.

Les corrélations entre différents paramètres ont ensuite été étudiées grâce au logiciel R. Pour cela des hypothèses statistiques ont été établies :

- H0 : il n'existe pas de différence significative pour ce paramètre entre les groupes.
- H1 : il y a une différence significative entre les groupes pour ce paramètre.

Si $p\text{-value} < 0,05$ on rejette l'hypothèse H0 avec une certitude de 95%, il y a une différence significative pour la variable étudiée entre les groupes. Si au contraire, $p\text{-value} > 0,05$ alors l'hypothèse H1 est rejeté.

Si les deux variables étudiées étaient qualitatives alors, un test du Khi-2 a été réalisé. Dans le cas où un effectif du tableau de contingence était inférieur à 5 un test de Fisher a été effectué. Si une association était recherchée entre une variable quantitative et une qualitative à plus de deux modalités, un test de Shapiro-Wilk a été réalisé pour tester la normalité de distribution de la variable quantitative. Puis, si la variable était normalement distribuée un test ANOVA puis de Tukey (si $p\text{-value} < 0,05$ à l'ANOVA) ont été réalisés. Dans le cadre d'une variable non normalement distribuée, un test de Kruskal-Wallis puis de Wilcoxon (si $p\text{-value} < 0,05$ lors du premier test) ont été réalisés.

Une régression logistique univariée a aussi été réalisée pour chaque variable évaluée afin de sélectionner celles d'intérêts pour la réalisation d'une régression logistique multivariée. Cette dernière a permis d'évaluer de potentiels facteurs de risques pour l'asthme modéré et également l'asthme sévère.

II - Résultats

A – Description de la population d'étude

1) Constitution de la population d'étude

La population d'étude était constituée de 166 chevaux dont 82 trotteurs à l'entraînement (8 prélevés deux fois) et 84 chevaux référés au CISCO, soit un total de 174 prélèvements. Trois chevaux prélevés n'ont finalement pas été inclus dans l'étude suite à l'altération des prélèvements lors du transport ou un lot de prélèvements incomplet. Finalement, l'étude a donc porté sur 171 individus au total.

2) Facteurs intrinsèques aux chevaux

a- Age

L'âge moyen des chevaux constituant la population d'étude était de 8 ans (± 5 ans), avec un âge médian de 6 ans et des extrêmes allant de 2 à 25 ans.

b- Race

Outre les 82 trotteurs prélevés sur le terrain, la partie de la population référée était constituée de 23 races diverses. La plus représentée était le Selle Français (n=31 soit 38% du groupe). Les autres races étaient tout aussi bien des poneys que des chevaux de trait ou de selle dont les effectifs variaient de 1 à 6 individus selon les races.

c- Sexe

La population était constituée de 40 entiers, 65 juments et 66 hongres. La prévalence de chaque sexe au sein de la population d'étude est présentée en figure 5.

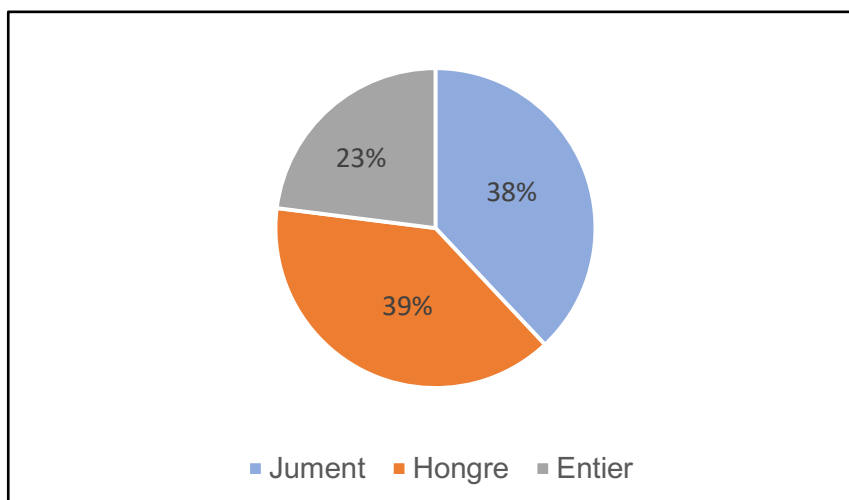


Figure 5. Sexe des individus de la population d'étude.

d- Milieu de vie

Les chevaux vivaient au pré pour 47% de la population (n= 81), au box pour 22% (n= 38) ou de façon mixte, c'est-à-dire au box avec une sortie quotidienne au pré ou paddock pour 31% des individus (n= 52). La répartition de la population en fonction du type de logement est présentée en figure 6. Parmi les chevaux ayant un box, 83,3% (n=75) logeaient sur paille et 16,7% (n=15) sur copeaux.

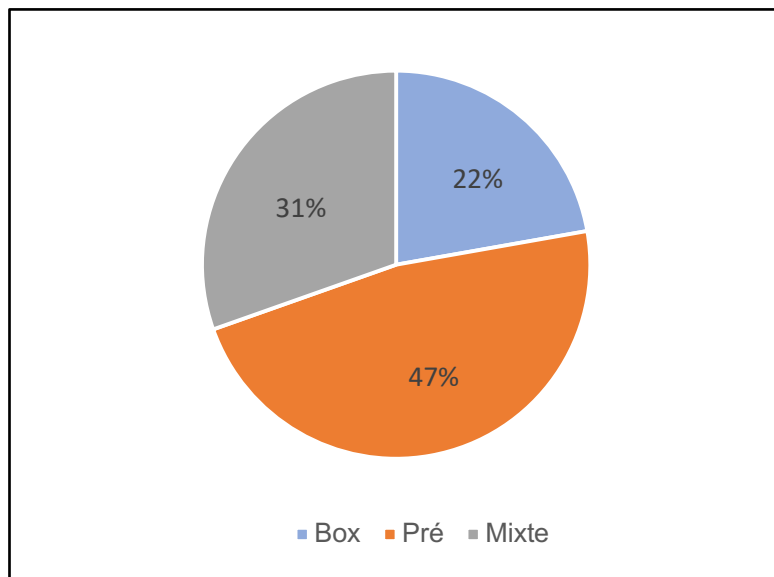


Figure 6. Logement des individus de la population d'étude.

e- Alimentation

Les chevaux recevaient des fourrages variés : foin sec, trempé, stérilisé, dépoussiéré ou de l'enrubanné. Du foin sec était distribué à 75% des chevaux (n= 128) contre 11% de foin trempé (n= 19), second fourrage le plus fréquent. La fréquence de distribution de chaque fourrage est résumée dans la figure 7. La grande majorité avaient également un complément (céréales ou granulés) deux fois par jour

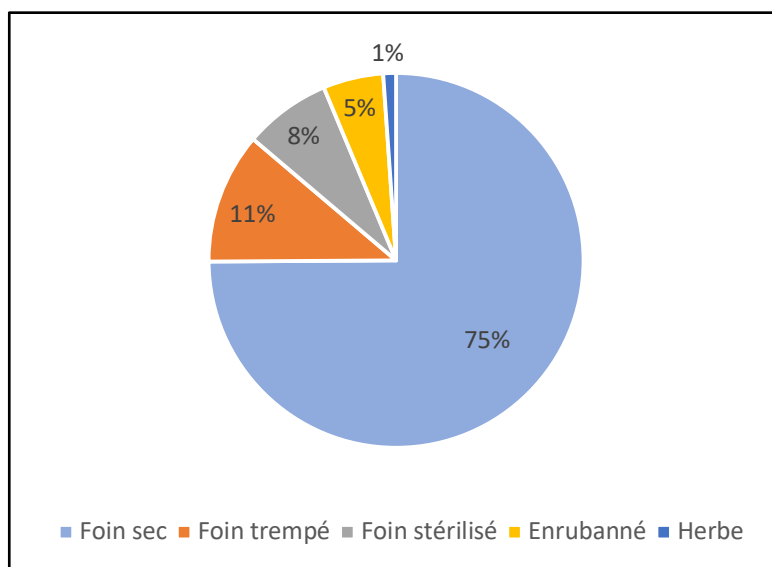


Figure 7. Fourrages des individus de la population d'étude.

3) Signes cliniques rapportés et examen clinique

- *Signes cliniques rapportés*

Les propriétaires et entraîneurs ont pu notifier sur la feuille de demande d'informations, la présence ou non de différents signes cliniques. Ainsi, l'observation de jetage, de dyspnée, de toux, d'épistaxis, de contre-performance ou encore d'une intolérance à l'effort a été indiquée. Au moins un de ces signes a été rapporté pour 74,85% (n= 128) de la population, les plus fréquemment cités étant la dyspnée, le jetage et la toux. La figure 8 présente l'ensemble des résultats obtenus.

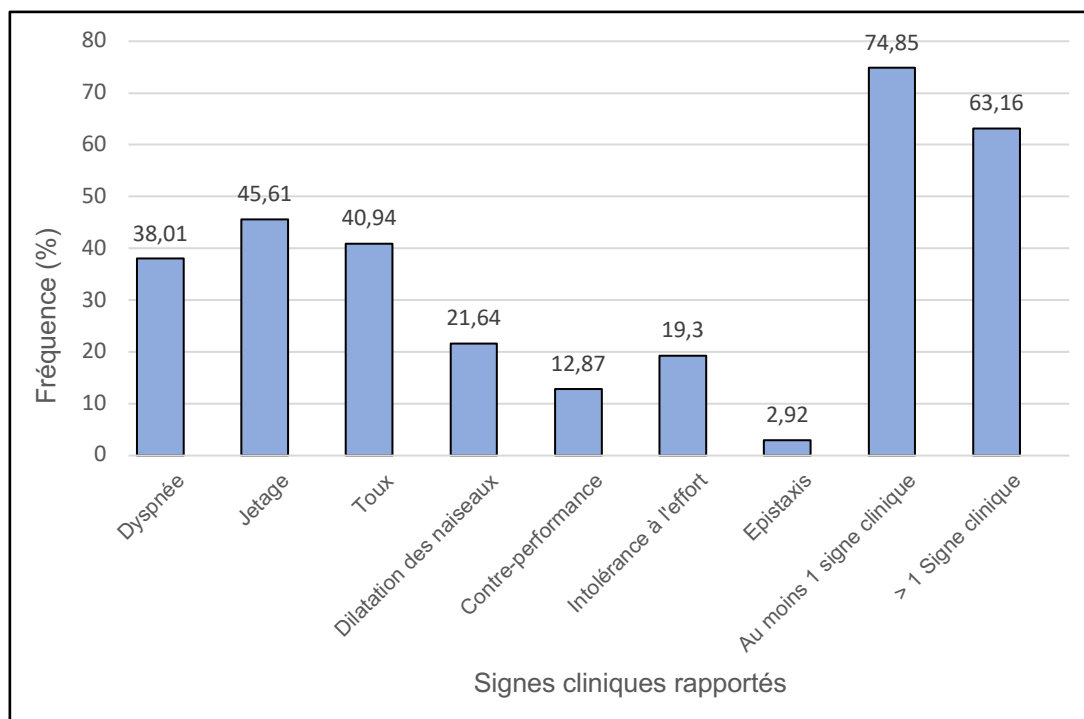


Figure 8. Signes cliniques rapportés par les propriétaires ou entraîneurs.

- *Examen clinique*

Le tableau VIII présente les résultats obtenus lors de l'examen clinique des individus de la population d'étude. Une dyspnée majoritairement expiratoire a été observée pendant l'examen de 39,2% de la population (n=67).

Tableau VIII. Résultats des examens cliniques.

Paramètre observé	Moyenne	1 ^{er} quartile	Médiane	3 ^{ème} quartile
Température	37,4 (± 0,45)	37,1	37,3	37,7
Note d'état corporel	2,8 (± 0,6)	2,5	2,5	3
Fréquence cardiaque	41,9 (± 7,1)	36	40	44,8
Fréquence respiratoire	23 (± 10,2)	16	20	28

- *Test de ventilation forcée*

Les différentes caractéristiques observées au cours du test de ventilation forcée sont présentées dans la figure 9. A noter, que deux chevaux n'ont pu être examinés car peu coopératifs. De plus quinze chevaux, parmi ceux référés, ont été auscultés sans mise en place du sac pour cause de détresse respiratoire. L'auscultation a tout de même permis d'objectiver des bruits pulmonaires anormaux chez ces 15 individus.

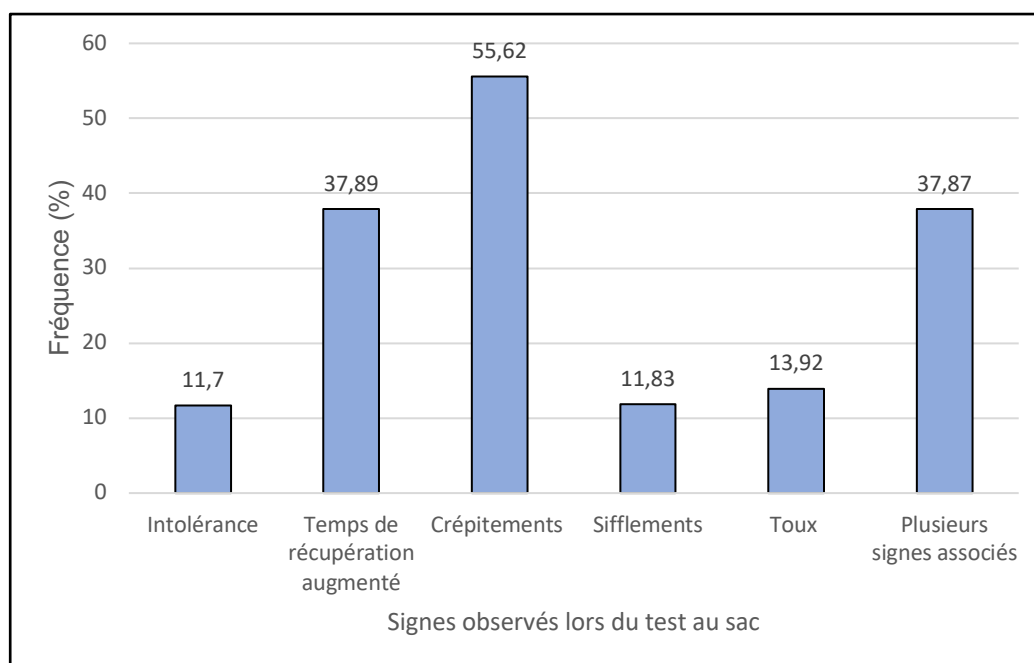


Figure 9. Bilan du test de ventilation forcée.

4) Endoscopie des voies respiratoires supérieures

a) Inflammation pharyngée

Lors de chaque endoscopie, l'état inflammatoire du pharynx a été gradé de 0 à 4. Cent dix individus, soit 64,3% de la population, présentaient une pharyngite. Le grade moyen de pharyngite était de 1,6 (\pm 1,5). Outre le grade 0 signifiant l'absence d'une pharyngite, les grades 1 et 4 étaient les plus fréquents (19% chacun, n= 33). Les grades 2 et 3 représentaient respectivement 14% (n= 24) et 12% (n= 20) des individus (Figure 10).

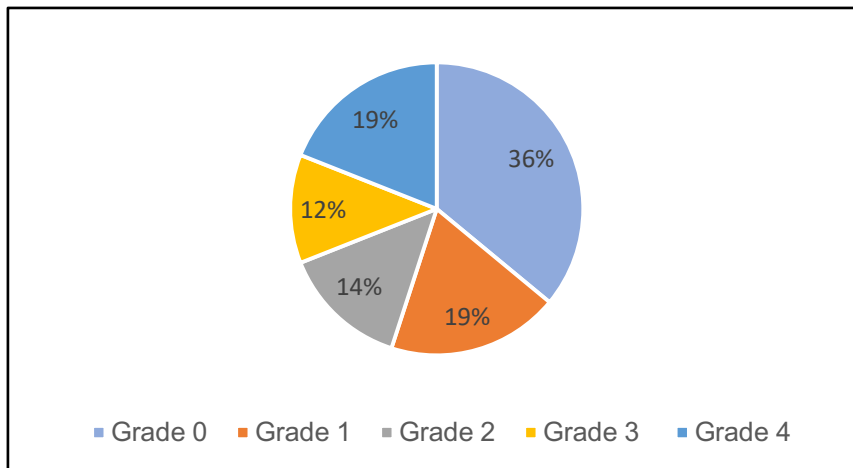


Figure 10. Grades de pharyngite parmi la population d'étude.

Pour exemple, une image endoscopique d'une pharyngite de grade 4 est présentée ci-dessous (Figure 11).

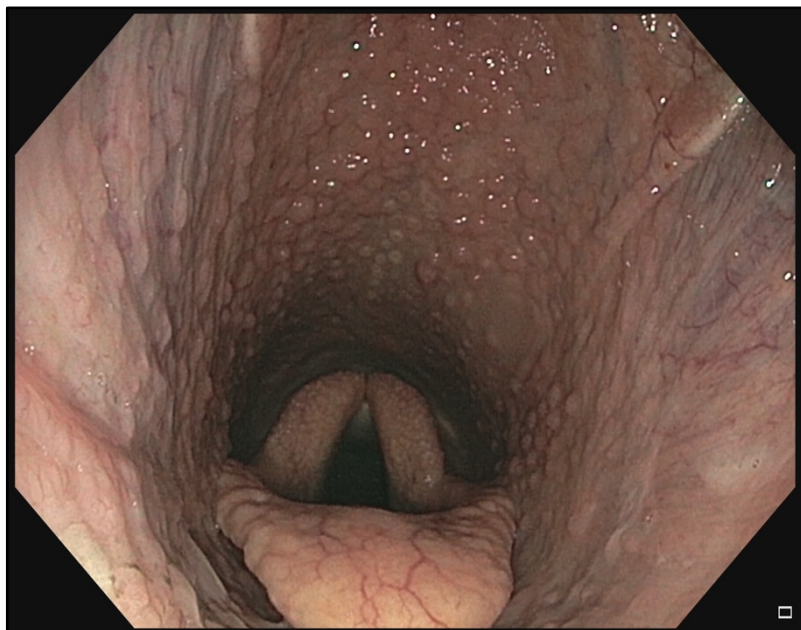


Figure 11. Image endoscopique d'une pharyngite de grade 4/4 (crédit photo : CISCO-Oniris).

b) Larynx

Le bon fonctionnement du larynx a également été observé. Sur l'ensemble de la population, 68 individus ont été sédatisés avant, ne permettant pas l'évaluation correcte de la mobilité laryngée (Lindegaard et al., 2007). Sur les 103 individus restant, dix présentaient une hémiparésie laryngée gauche de grade 2 à 3 sur 4. De plus, deux autres avaient un discret épaissement des cartilages aryénoïdes, et un dernier une chondrite du cartilage aryénoïde gauche.

c) Poches gutturales

L'inspection des poches gutturales a permis de relever la présence ou non d'une hyperplasie lymphoïde, ainsi que de sécrétions (muqueuses à purulentes). Les effectifs observés pour chaque anomalie (sécrétions et hyperplasie lymphoïde) sont résumés dans le tableau IX. Une image endoscopique de la poche d'un individu atteint d'une hyperplasie lymphoïde est également présentée ci-dessous en figure 12. A noter, qu'un jument parmi la population présentait également un point de mycose dans la poche gutturale droite.

Tableau IX. Affections observées dans les poches gutturales

	Hyperplasie lymphoïde			Sécrétions purulentes			Sécrétions muqueuses		
	Bilatéral	G	D	Bilatéral	G	D	Bilatéral	G	D
Nombre de chevaux	8	6	11	10	3	1	5	1	3

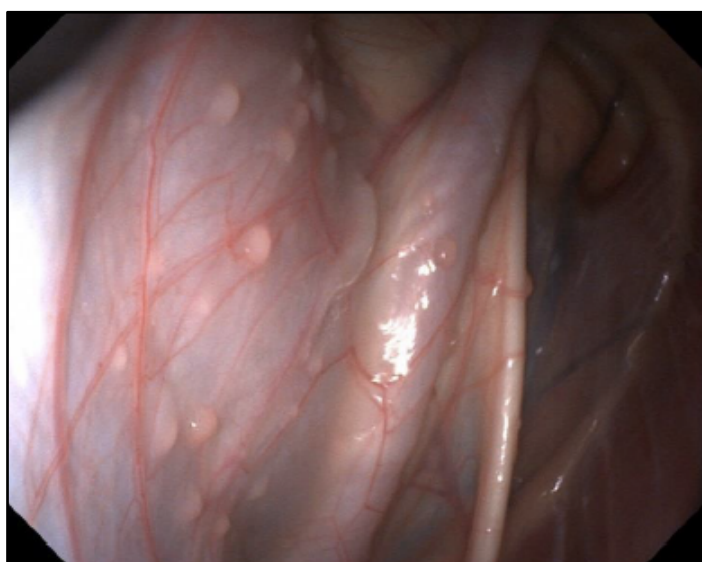


Figure 12. Image endoscopique d'une poche gutturale atteinte d'hyperplasie lymphoïde (crédit photo : CISCO Oniris).

d) Sécrétions trachéales

La présence de mucus et sang trachéal a été notée durant l'endoscopie et gradée respectivement de 0 à 5 et 0 à 4. Aucune trace de sang trachéal n'a été observée au sein de la population d'étude. Seuls deux individus présentaient de discrètes pétéchies de la muqueuse trachéale. Du mucus a été observé chez 77,7% des chevaux (n=133). La fréquence d'observation de chaque score était la suivante : 22% (n= 38) de 0/5, 17% (n= 30) de 1/5, 32% (n= 54) de 2/5, 20% (n= 35) de 3/5, 8% (n= 13) de 4/5 et 1% (n= 1) de 5/5. Ces résultats sont résumés en figure 13.

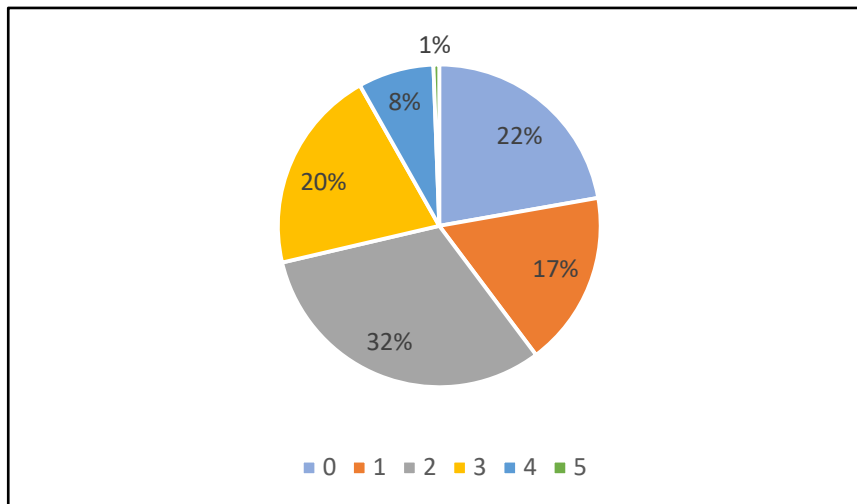


Figure 13. Scores de mucus trachéal de la population d'étude.

Pour exemple, une image endoscopique de mucus trachéal (score 4/5) est visible ci-dessous (Figure 14).

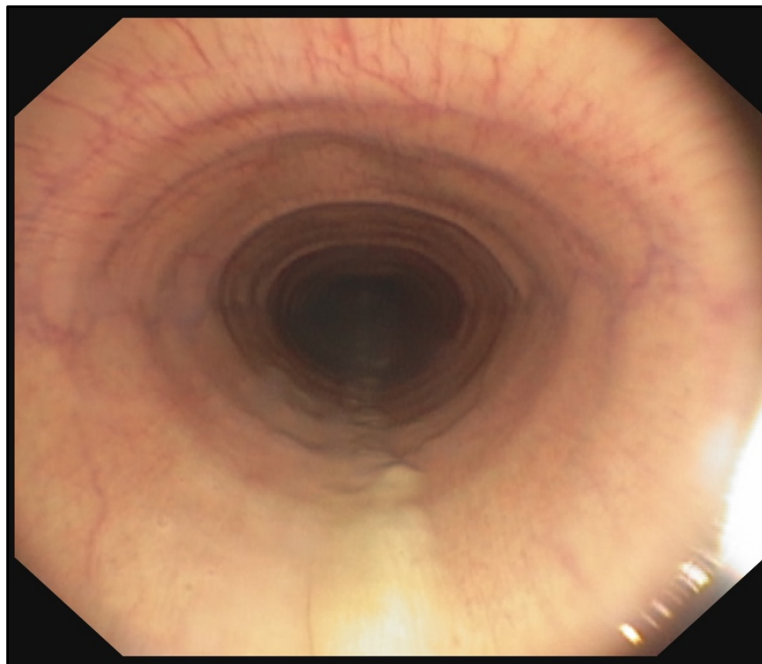


Figure 14. Image endoscopique de sécrétions trachéales de score 4/5 (crédit photo : CISCO Oniris).

e) Carène bronchique

La présence d'un épaissement de la carène bronchique a été vérifiée lors de chaque endoscopie. Au total, 12 chevaux soit 7,02% de la population avaient un épaissement de la carène bronchique.

5) Lavage des poches gutturales

a- Volume obtenu

Le volume moyen récupéré dans la poche gutturale gauche était de 30,8 mL (\pm 8,3 mL) avec un minimum de 4 mL et un maximum de 40 mL. Dans la poche droite, le volume moyen récupéré a été de 29,9 mL (\pm 9,06 mL) avec des extrêmes allant de 5 à 40 mL.

b- Aspect macroscopique

L'aspect normal attendu de l'échantillon est eau de roche ou translucide et fluide. Au total, 158 chevaux avaient un échantillon ayant cet aspect, 7,6% (n=13) de la population avait donc un liquide de lavage d'aspect anormal.

c- Cytologie

Les cellules majoritairement observées étaient des polynucléaires neutrophiles, des lymphocytes et des macrophages en quantité variable selon les individus. Les résultats de cytologie sont présentés dans le tableau X.

Tableau X. Résultat de la cytologie du lavage des poches gutturales.

	PN (%)	Macrophages (%)	Lymphocytes (%)
Moyenne	22,13	4,28	3,69
Écart-type	35,24	9,32	7,11
Valeur min.	0	0	0
Valeur max.	95	73	35

d- Mycologie

- *Analyse cytologique*

Les spores, hyphes et branchements des champignons inhalés pouvaient être observés à l'examen cytologique. Ils étaient donc recherchés et leur présence était notée. Dans le liquide de lavage des poches gutturales seulement deux individus (1,17%) avaient des éléments fongiques visibles.

- *Culture fongique*

La culture fongique était positive pour 6,43% des individus (n=12). Au total six espèces ont été identifiées et trois chevaux avaient plusieurs espèces identifiées sur le même prélèvement. Les effectifs des chevaux positifs à la mycologie selon les espèces isolées sont présentés dans le tableau XI.

Tableau XI. Espèces fongiques identifiées dans le liquide de lavage des PG

<i>Espèce</i>	<i>Penicillium spp</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus glaucus</i>	<i>Chrysosporium spp</i>	<i>Cladosporium spp</i>
Nombre d'individus	6	3	3	1	1	1
Pourcentage de la population étudiée	3,51	1,75	1,75	0,58	0,58	0,58

e- Recherche de l'agent de la gourme

Deux individus ont eu un test PCR positif pour la recherche de *Streptococcus equi subsp equi*.

6) Lavage trachéal

a- Volume obtenu

Le volume moyen récupéré lors du lavage trachéal était de 26,5 mL (\pm 10,2 mL) avec un minimum de 5 mL et un maximum de 40 mL.

b- Analyse macroscopique

L'aspect macroscopique normal d'un liquide de lavage trachéal est translucide et fluide. Cela concernait 27 individus. Ainsi, 84,2% de la population (n=144) avait donc un liquide de lavage trachéal d'aspect anormal.

c- Cytologie

L'examen cytologique a permis de déterminer les pourcentages des différentes populations cellulaires présentes et d'établir un cytodagnostic sur les prélèvements. Les pourcentages des différentes cellules observées sont présentés dans le tableau XII.

Tableau XII. Pourcentage des cellules présentes dans le LT

	PN (%)	PE (%)	Macrophages (%)	Lymphocytes (%)	Hémosidérophages (%)
Moyenne	56,99	0,78	25,94	13,83	1,14
Écart-type	26,17	1,85	20,1	8,16	4,04
Valeur min.	0,5	0	0,5	0	0
Valeur max.	98	13	78	32	35

La valeur seuil choisie pour définir une inflammation trachéale était de 20% de polynucléaires neutrophiles. Au-delà de 70% l'inflammation était qualifiée de sévère. Ainsi, 8% des individus (n= 67) avaient une inflammation trachéale sévère, 53% (n= 14) une inflammation modérée et 39% (n= 90) avaient une cytologie non inflammatoire (Figure 15).

De plus, 2,9% de la population (n=5) avait un taux de polynucléaires éosinophiles anormalement élevé. Sept chevaux (4,1%) avaient un rapport hémositérocytes/macrophages supérieur à 20% révélant des saignements pulmonaires compatibles avec un syndrome d'HPIE. Ces derniers avaient également un syndrome d'inflammation trachéale associé.

La présence de bactéries à l'examen cytologique a également été relevée. Au total, 36,8% (n= 63) des individus avaient des bactéries visibles dans le LT.

Dix chevaux, soit 5,8% de la population, avaient également des spirales de Curschmann dans le liquide de LT.

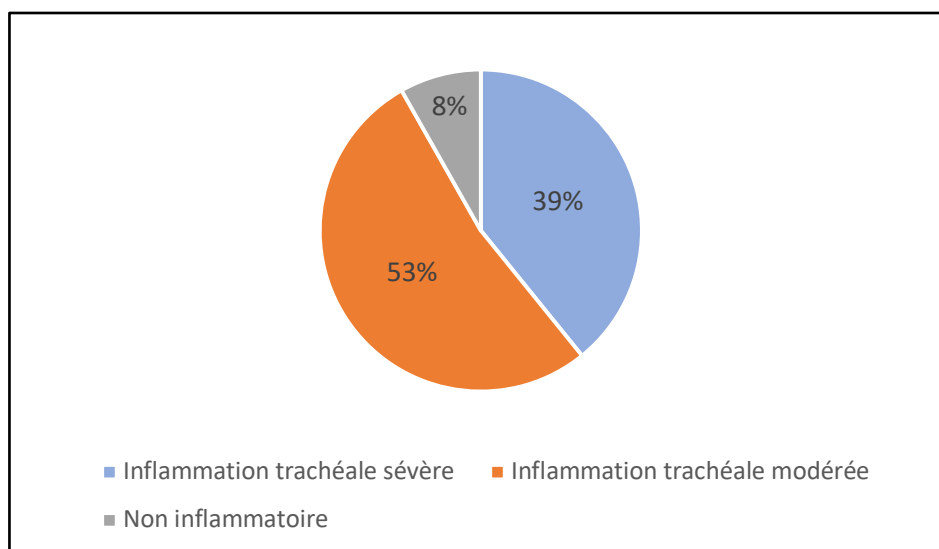


Figure 15. Cytodiagnostics d'inflammation trachéale.

d- Bactériologie

Une bactériologie a été réalisée sur chaque produit de LT. La bactériologie était positive, c'est-à-dire isolement d'au moins un germe et non contaminé, pour 19,3% (n=33) de la population d'étude. Parmi ces derniers, 18 individus avaient une bactériologie positive pour plusieurs germes. Les différents germes rencontrés sont présentés dans le tableau XIII.

Tableau XIII. Répartition des espèces bactériennes identifiées

Espèce identifiée	Nombre de chevaux
<i>Streptococcus equi spp zooepidemicus</i>	14
Streptocoque alpha-hémolytique	8
<i>Psychobacter phenylpyruvica</i>	6
<i>Pseudomonas spp</i>	5
<i>Actinobacillus equi ssp haemolyticus</i>	5
<i>Pasteurella spp.</i>	4
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2
<i>Aeromonas spp</i>	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2
<i>Enterococcus spp</i>	1
<i>Pantoea agglomerans</i>	1
<i>Citrobacter gilleni</i>	1
<i>Staphylococcus xylosus</i>	1
<i>Acinetobacter pseudolwoffii</i>	1
<i>Moraxella spp</i>	1
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1
Streptocoque fécal	1
<i>Streptococcus spp non hémolytique</i>	1
<i>Raoultella spp</i>	1

Une recherche de mycoplasmes a aussi été réalisée par PCR après une incubation de minimum 3 jours dans un milieu spécifique. Quatre prélèvements n'ont pas pu être analysés. Sur les 167 échantillons restant, 40,7% (n=68) étaient positifs. Lors de résultat positif, une identification de la souche a été effectuée (non réalisée pour 5 échantillons). *Mycoplasma equirhinis* était l'espèce la plus identifiée (n= 59, 93,5% des mycoplasmes identifiés) tandis que *Mycoplasma pulmonis* et *Mycoplasma felis* ont respectivement été identifiés deux fois et une fois. Un cheval était positif à la fois à *M. equirhinis* et *M. pulmonis*.

e- Virologie

La recherche par PCR des virus respiratoires a été réalisée pour 168 échantillons sur 171, trois étant en quantité insuffisante pour le faire. Au total, 60,12% (n=101) de la population analysée avait un résultat positif pour au moins un virus. Les virus majoritairement identifiés étaient : EHV2, EHV5 et rhinovirus équin B. Les effectifs et fréquences de chaque virus identifié sont présentés dans le tableau XIV. Aucun prélèvement n'est revenu positif pour les virus de la grippe, EHV1 et rhinovirus équin A.

Tableau XIV. Effectifs et fréquences des virus présents dans le LT

<i>Espèce</i>	EHV2	EHV5	Rhinovirus B	Adénovirus 1	EHV4
Nombre d'individus	54	68	67	2	2
Pourcentage de la population analysée	32,14	40,48	39,88	1,19	1,19

f- Mycologie

- *Analyse cytologique*

La présence ou l'absence d'éléments fongiques libres ou phagocytés à l'examen cytologique a été notée. Les résultats de cytologie sont présentés dans le tableau XV.

Tableau XV. Répartition des éléments fongiques visibles à la cytologie du LT

	Éléments fongiques totaux	Répartition à la cytologie
Fréquence des prélèvements positifs (%)	76,6% (131/171)	Phagocytose observée : 67,18% (88/131)
		Sans phagocytose : 32,82% (43/131)

- *Culture fongique*

La mycologie était positive pour 82,46% (n=141) de la population. Parmi les chevaux ayant une culture positive, 72,34% (n=102) avaient au moins deux espèces fongiques différentes isolées.

Au total, 24 espèces ont été identifiées au sein de la population d'étude. Les quatre espèces les plus fréquemment identifiées étaient : *Penicillium spp*, *Chrysosporium spp*, *Aspergillus nidulans* et *Aspergillus fumigatus*. Le tableau XVI présente l'ensemble des espèces identifiées et les effectifs correspondant.

Tableau XVI. Espèces fongiques identifiées dans le liquide de lavage trachéal (1, 2, 3 et 4)

(1)

<i>Espèce</i>	<i>Penicillium spp</i>	<i>Chrysosporium spp</i>	<i>Aspergillus nidulans</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus glaucus</i>
Nombre d'individus	73	46	40	33	16	15
Pourcentage de la population étudiée	42,69	26,9	23,39	19,3	9,36	8,77

(2)

Espèce	<i>Aspergillus terreus</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Cladosporium spp</i>	<i>Alternaria spp</i>	<i>Mucor spp</i>
Nombres d'individus	7	6	2	13	12	9
Pourcentage de la population étudiée	4,09	3,51	1,17	7,6	7,02	5,26

(3)

Espèce	<i>Scopulariopsis spp</i>	<i>Candida spp</i>	<i>Scedosporium spp</i>	<i>Trichothecium spp</i>	<i>Acremonium spp</i>	<i>Beauvaria spp</i>
Nombre d'individus	6	5	3	2	2	1
Pourcentage de la population étudiée	3,51	2,92	1,75	1,17	1,17	0,58

(4)

Espèce	<i>Botrytis spp</i>	<i>Paecilomyces spp</i>	<i>Geotrichum spp</i>	<i>Trichoderma spp</i>	<i>Fusarium spp</i>	<i>Cryptococcus laurenti</i>
Nombre d'individus	1	1	1	1	1	1
Pourcentage de la population étudiée	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58

7) Lavage bronchoalvéolaire

a- Volume obtenu

Pour rappel, le volume de LBA mélange était de 100mL et était obtenu après mélange des LBA droit et gauche au *pro rata* du volume récupéré pour chaque. Pour le LBA droit, le volume moyen récupéré était de 217,6 mL (\pm 62,6 mL) avec un minimum de 41 mL et un maximum de 363 mL. La moyenne du LBA gauche était de 240,8 mL (\pm 78,5 mL) avec des extrêmes allant de 50 mL à 448 mL.

b- Aspect macroscopique

L'aspect normal d'un liquide de lavage bronchoalvéolaire est translucide et fluide. La majorité des LBA mélange (59,06%, n=101) de la population étudiée avaient cet aspect. Ce

pourcentage d'aspect normal variait discrètement pour les LBA droit et gauche et valait respectivement 63,16% (n= 108) pour le droit et 64,91% (n=111) pour le gauche.

c- Cytologie

L'analyse cytologique a permis d'établir les pourcentages des différentes populations cellulaires pour les LBA mélange, droit et gauche. Les résultats sont présentés dans le tableau XVII.

Tableau XVII. Résultats de cytologie des LBA mélange (1), D (2) et G (3)

(1)

	PN (%)	PE (%)	Mastocytes (%)	Lymphocytes (%)	H/M (%)
Moyenne	15,08	0,49	2,61	37,43	4,5
Écart-type	18,45	1,72	1,83	11,45	10,88
Valeur min.	1	0	0	4	0
Valeur max.	93	20	11	74	75

(2)

	PN (%)	PE (%)	Mastocytes (%)	Lymphocytes (%)	H/M (%)
Moyenne	14,83	0,60	2,62	36,27	4,96
Écart-type	17,81	2,11	2,07	11,61	12,74
Valeur min.	0	0	0	0	0
Valeur max.	92	25	12	80	79

(3)

	PN (%)	PE (%)	Mastocytes (%)	Lymphocytes (%)	H/M (%)
Moyenne	14,56	0,65	2,73	36,88	3,04
Écart-type	18,69	3,78	1,92	11,58	9,74
Valeur min.	0	0	0	0,2	0
Valeur max.	92	47	11	71	67

L'interprétation de ces résultats a permis d'établir un cytodagnostic d'asthme équin sévère ou modéré pour respectivement 17% (n= 30) et 40% (n= 68) des individus (Figure 16). De plus, quinze chevaux (8,8%) avaient un rapport H/M supérieur à 17%, compatible avec un syndrome d'HPIE.

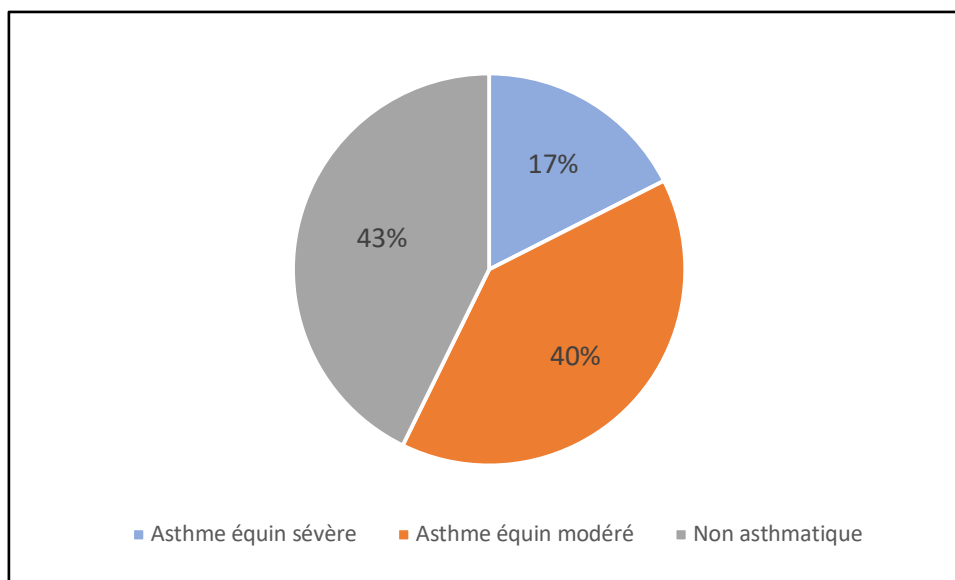


Figure 16. Cytodiagnostic d'asthme équin sur le mélange de LBA.

d- Mycologie

- *Analyse cytologique*

Les éléments fongiques libres et phagocytés ont été recherchés sur le mélange ainsi que les LBA droit et gauche. Quel que soit le LBA analysé, 20,5 à 26,9% des lames présentaient des éléments fongiques visibles à la cytologie. Parmi ces dernières, 84,8 à 93,2% avaient des signes de phagocytose d'éléments fongiques. Le tableau XVIII présente les résultats obtenus à la cytologie selon le type de prélèvement (mélange, D ou G).

Tableau XVIII. Éléments fongiques observés à la cytologie des LBA.

Fréquence des prélèvements positifs (%)	Éléments fongiques totaux	Répartition à la cytologie
LBA mélange	20,5% (35/171)	Phagocytose observée : 91,2% (31/35)
		Sans phagocytose : 8,8% (4/35)
LBA D	26,9% (46/171)	Phagocytose observée : 84,8% (39/46)
		Sans phagocytose : 15,2% (7/46)
LBA G	25,7% (44/171)	Phagocytose observée : 93,2% (41/44)
		Sans phagocytose : 6,8% (3/44)

- *Culture fongique*

La culture fongique a été effectuée sur le mélange de LBA. Elle a été positive pour 22,8% (n=39) des chevaux. Douze individus (7%) avaient plusieurs espèces fongiques identifiées sur le même prélèvement. Au total, treize espèces différentes ont été identifiées, les plus représentées étant : *Aureobasidium pullulans*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium spp*. Les effectifs pour chacune d'entre elles sont présentés dans le tableau XIX.

Tableau XIX. Espèces fongiques identifiées dans le mélange de LBA (1 et 2)

(1)

<i>Espèce</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Aspergillus nidulans</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus glaucus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>
Nombre d'individus	10	8	8	7	3	2
Pourcentage de la population étudiée	5,8	4,7	4,7	4,1	1,8	1,2

(2)

<i>Espèce</i>	<i>Aspergillus terreus</i>	<i>Penicillium spp</i>	<i>Chrysosporium spp</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Scedosporum spp</i>	<i>Geotrichum spp</i>	<i>Alternaria spp</i>
Nombre d'individus	1	8	3	3	2	1	1
Pourcentage de la population étudiée	0,58	4,7	1,8	1,8	1,2	0,58	0,58

8) Classification des individus

Les chevaux ont été classés dans différents groupes selon les divers résultats obtenus comme expliqué précédemment. La constitution de chaque groupe est présentée dans le tableau XX.

Tableau XX. Répartition des individus selon les deux classifications.

<i>Groupe de classification</i>	Effectif
CTL	35
mEA	85
sEA	35
Pathologie infectieuse (INF.)	10
HPIE	5
Pneumonie interstitielle éosinophilique (PI-EO)	1

La suite de l'analyse portera donc sur 155 individus, 16 chevaux non asthmatiques ne pouvant être inclus dans le groupe CTL du fait d'affections concomitantes (INF., HPIE et PI-EO).

La figure 17 présente également la part de trotteurs ou de chevaux référés dans les trois groupes retenus.

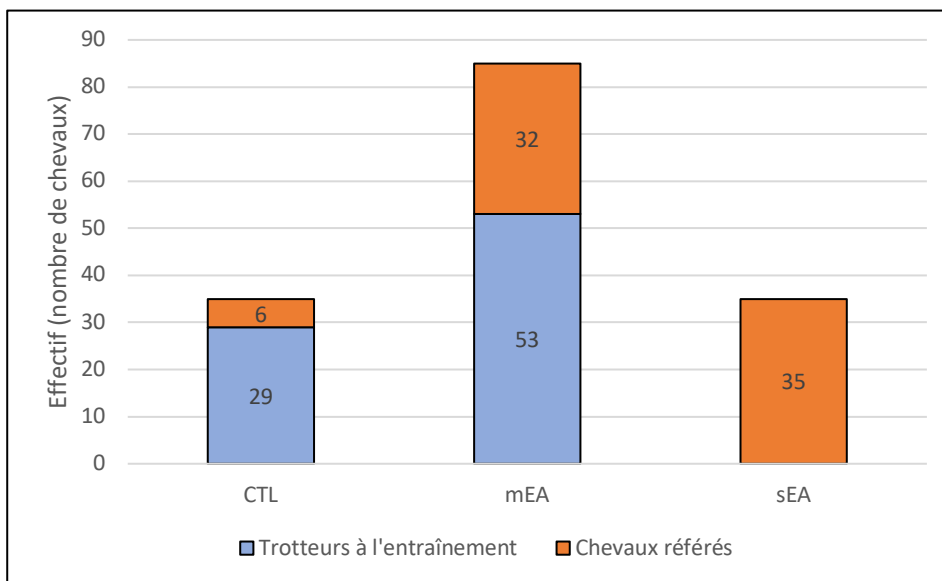


Figure 17. Composition des groupes de classification.

B – Comparaison des différents paramètres obtenus selon le groupe de classification.

1) Facteurs épidémiologiques

a- Age

La moyenne d'âge de chaque sous-groupe est présentée dans le tableau XXI. L'âge moyen des sEA était significativement plus élevé que celui des CTL ou mEA (Test ANOVA puis test post-hoc, **p-values < 0,001**).

Tableau XXI. Moyenne d'âge de chaque groupe selon la classification

Groupes	CTL	mEA	sEA
Age moyen (années ; ± Écart-type)	4,9 (± 2)	6,3 (± 3,7)	15,4 (± 4,8)

b- Sexe

La figure 18 présente la répartition des individus selon leur sexe et leur groupe de classification. Le test du Khi-2 réalisé a rejeté l'hypothèse de dépendance entre le sexe de l'individu

et son groupe de classification ($p\text{-value} = 0,199 > 0,05$). Il n'y avait donc pas de lien entre le sexe des chevaux et le groupe de classification.

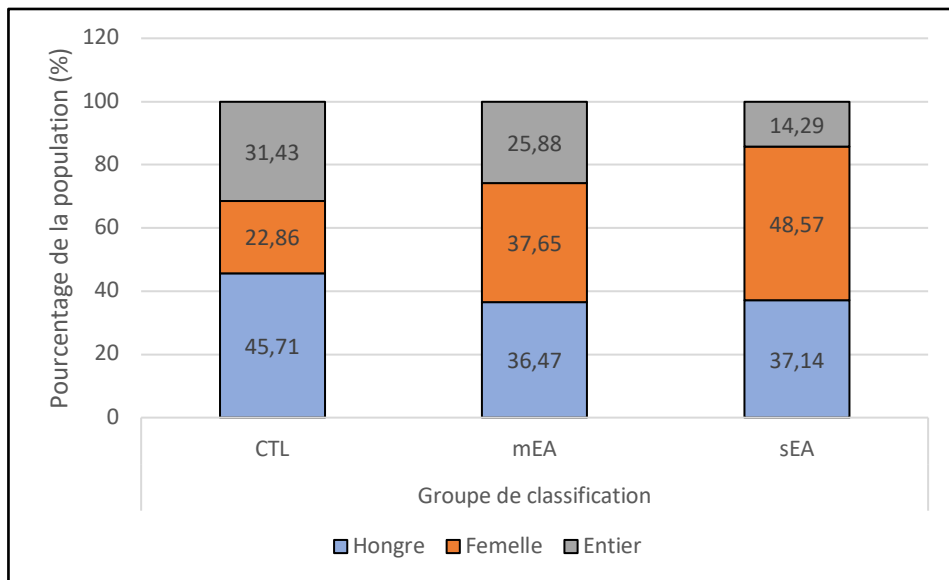


Figure 18. Sexe des individus et groupe de classification.

c- Milieu de vie

La figure 19 présente la prévalence des différents types de logements selon le groupe de classification. Le test du Khi-2 a montré qu'il existait une différence significative du type de logement selon le groupe de classification ($p\text{-value} < 0,001$). En effet, il y avait plus d'individus vivant au pré plutôt qu'en box strict dans les groupes mEA (Test du Khi-2, $p\text{-value} = 0,02$) et sEA (Test du Khi-2, $p\text{-value} = 0,003$) que dans le CTL.

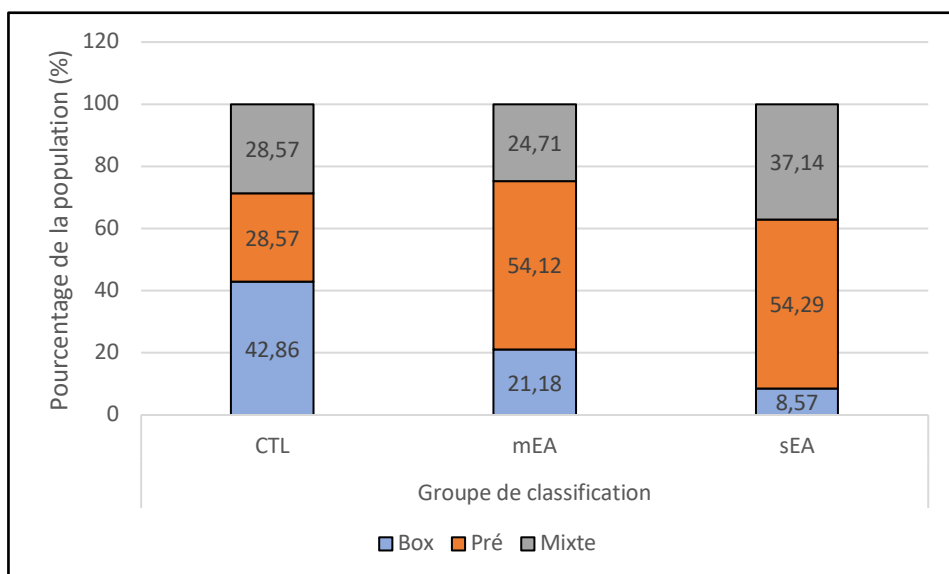


Figure 19. Logement selon le groupe de classification.

d- Alimentation

Le type de fourrage distribué dans chaque groupe est présenté dans le graphique ci-dessous (Figure 20). Une association existe entre le groupe de classification et le type de foin distribué (Test de Fisher, **p-value < 0,001**). Aucune différence n'a été constatée entre les individus CTL et mEA, en revanche les sEA étaient nourris avec significativement moins de foin sec et donc plus de foin traité (trempé, stérilisé etc.) que les deux autres groupes (Tests de Fisher, **p-values < 0,001**).

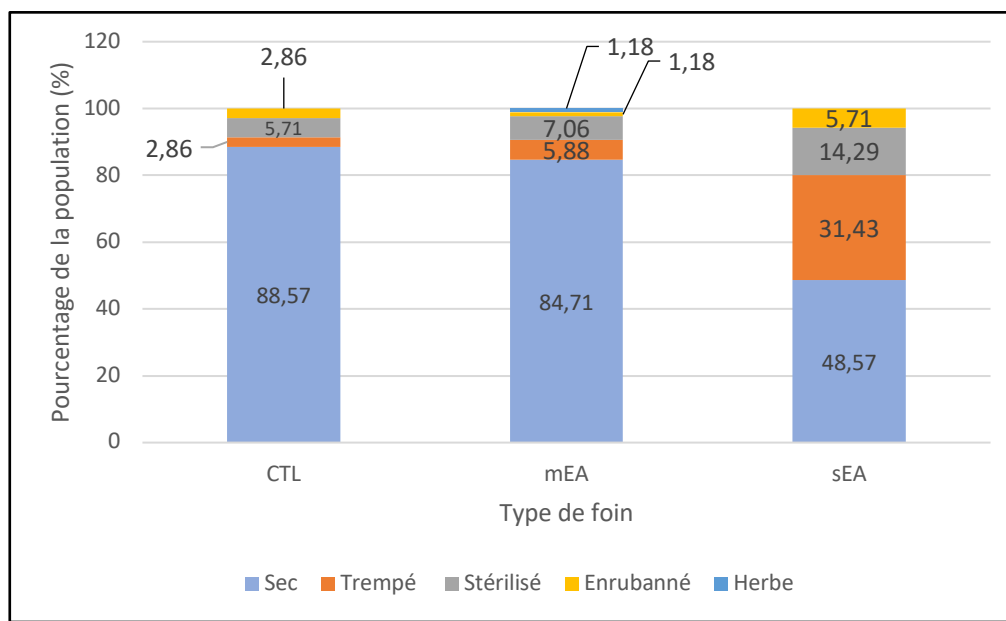


Figure 20. Fourrage distribué et groupe de classification.

Bilan

- **Les chevaux sEA sont significativement plus vieux que les chevaux CTL et mEA.**
- **Les chevaux sEA et mEA vivent plus au pré que les CTL.**
- **Les chevaux sEA reçoivent plus de foin traité (trempé, stérilisé etc.) que les autres.**

2) Signes cliniques rapportés et examen clinique

- *Signes cliniques rapportés*

La fréquence des signes cliniques rapportés par les propriétaires ou entraîneurs selon les groupes est présentée en figure 21.

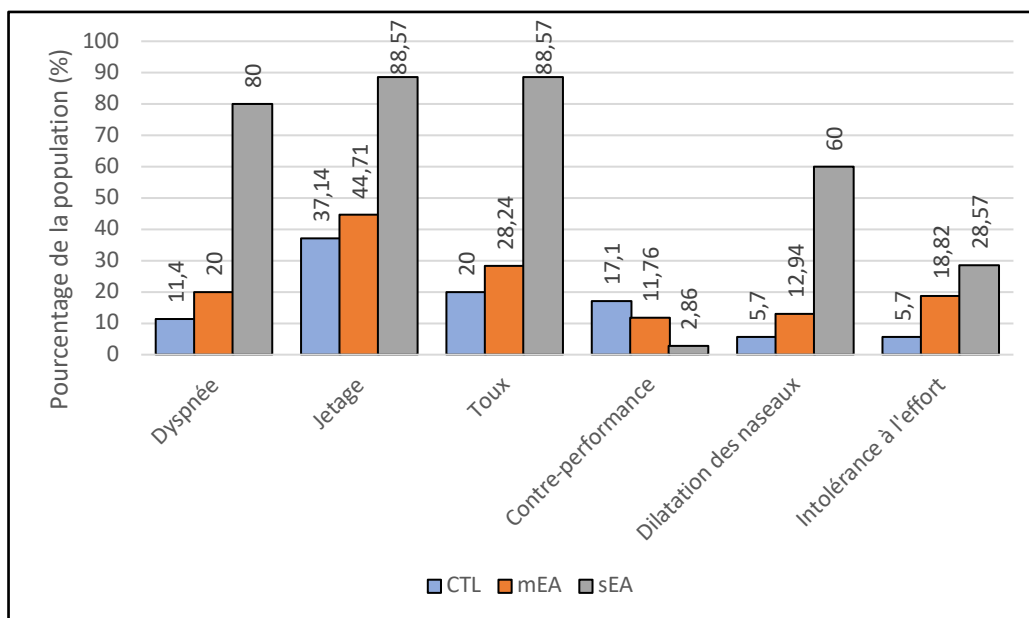


Figure 21. Signes cliniques rapportés et groupe de classification.

Des tests du Khi-2 (ou Fisher si précisé) ont été réalisés afin de mettre en évidence une association entre les signes rapportés et le groupe de classification. Une différence significative a été observée concernant : la dyspnée, la toux, la dilatation des naseaux et l'intolérance à l'effort. Les p-values obtenues sont présentées dans le tableau XXII.

Tableau XXII. Recherche d'association entre les signes cliniques rapportés et le groupe de classification.

Signes cliniques rapportés	P-value
Dyspnée	p-value < 0,001
Toux	p-value < 0,001
Dilatation des naseaux	p-value < 0,001
Intolérance à l'exercice	p-value = 0,044
Jetage	p-value = 0,142
Contre-performance	p-value = 0,136 (Fisher)
Épistaxis	p-value = 0,418 (Fisher)

Des tests du Khi-2 ont été réalisés pour ces quatre signes afin de comparer les groupes deux à deux. Aucune différence significative n'a été constatée entre les mEA et CTL. Les p-values des tests de comparaison des CTL et mEA avec les sEA sont présentés dans le tableau XXIII. Les quatre signes étaient significativement plus rapportés pour le groupe sEA que pour les groupes mEA et CTL. Seule l'intolérance à l'exercice fait exception avec une absence de différence significative entre les mEA et sEA.

Tableau XXIII. Association entre les signes cliniques rapportés et l'asthme équin sévère.

Signes cliniques rapportés	CTL vs sEA	mEA vs sEA
Dyspnée	p-value < 0,001	p-value < 0,001
Toux	p-value < 0,001	p-value < 0,001
Dilatation des naseaux	p-value < 0,001	p-value < 0,001
Intolérance à l'exercice	p-value = 0,026	p-value = 0,35

Bilan

- Les propriétaires de chevaux sEA observent plus de dyspnée, de toux et dilatation des naseaux que ceux de chevaux mEA et CTL.
- L'intolérance à l'exercice est plus rapportée chez les sEA que les CTL.

- *Examen clinique*

L'analyse descriptive des données quantitatives de l'examen clinique est présentée dans le tableau XXIV. La réalisation de tests ANOVA a montré qu'il existait une différence significative entre les groupes uniquement pour la NEC (**p-value < 0,001**). Le test de comparaisons multiples a permis de déterminer que la NEC d'un individu sEA était en moyenne plus élevée que celle d'un mEA ou d'un CTL (**p-values < 0,001**).

Tableau XXIV. Paramètres de l'examen clinique selon le groupe de classification.

Paramètre observé	Groupe	Moyenne	1 ^{er} quartile	Médiane	3 ^{ème} quartile
Température	CTL	37,4 (± 0,35)	37,1	37,3	37,6
	mEA	37,4 (± 0,48)	37,2	37,4	37,7
	sEA	37,3 (± 0,47)	37	37,3	37,7
NEC	CTL	2,6 (± 0,38)	2,5	2,5	2,8
	mEA	2,7 (± 0,56)	2,5	2,5	3
	sEA	3,2 (± 0,75)	2,8	3	3,5
Fréquence cardiaque	CTL	40,1 (± 8,3)	36	40	44
	mEA	41,8 (± 7)	36	40	44
	sEA	42,5 (± 6,6)	36	44	48
Fréquence respiratoire	CTL	21,5 (± 8,3)	16	20	26
	mEA	22,3 (± 10,1)	16	20	24
	sEA	25,6 (± 12)	16	20	32

La figure 22 représente la fréquence d'observation d'une dyspnée au repos lors de l'examen selon les groupes. Il existe une association entre le groupe de classification et l'observation d'une dyspnée lors de l'examen clinique (Test du Khi-2, **p-value < 0,001**). Les tests du Khi-2 réalisés en comparant les groupes deux à deux ont montré que le taux de dyspnée observée lors de l'examen clinique était plus élevé pour le groupe sEA que pour les CTL et mEA (**p-values < 0,001**).

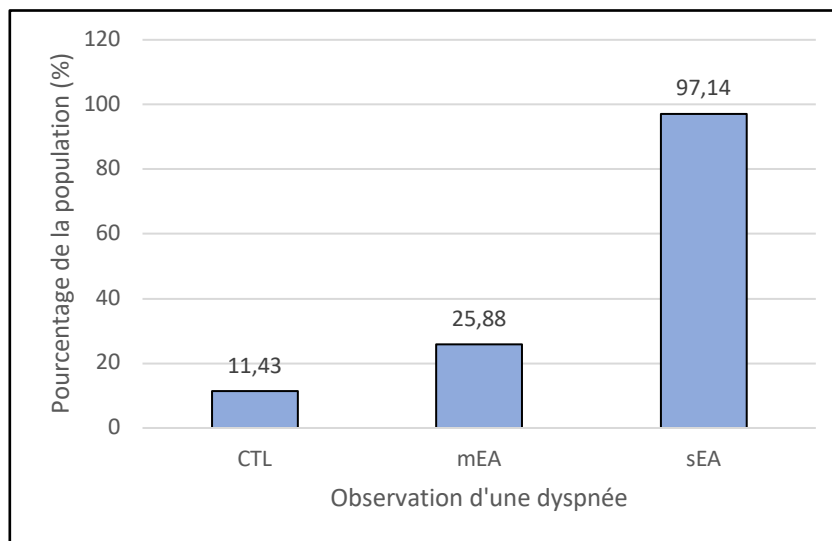


Figure 22. Dyspnée lors de l'examen clinique et groupe de classification.

Bilan

- Les chevaux sEA ont en moyenne des NEC plus élevés que les CTL et les mEA.
- Le vétérinaire constate plus de troubles de la courbe respiratoire lors de l'examen clinique de chevaux sEA comparé aux CTL et mEA.

- *Test de ventilation forcée*

La fréquence des signes cliniques observés lors du test au sac selon le groupe de classification est présentée dans la figure 23.

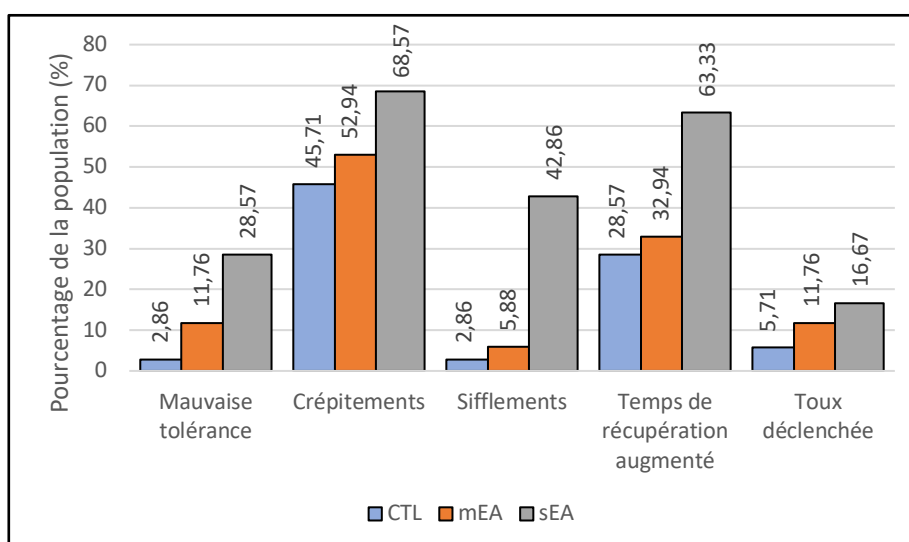


Figure 23. Signes observés lors du test de ventilation forcée et groupe de classification.

Des tests de Fisher (ou du Khi-2 si précisé) ont été réalisés afin de déterminer s'il y avait une association entre les signes cliniques observés lors du test au sac et le groupe de classification. Les p-values obtenues sont présentées dans le tableau XXV. La présence de crépitements à l'auscultation était le seul caractère non associé au groupe de classification.

Tableau XXV. Recherche d'association entre les signes cliniques observés lors du test au sac et le groupe de classification.

Signes observés	P-value
Mauvaise tolérance	p-value = 0,007
Crépitements	p-value = 0,138 (Khi-2)
Sifflements	p-value < 0,001
Temps de récupération augmenté	p-value < 0,001
Toux déclenchée	p-value = 0,003

Des recherches d'association en comparant les groupes deux à deux ont été réalisées pour les quatre signes significatifs. Aucune différence n'a été constatée entre les CTL et les mEA (p-values > 0,05). Les trois premiers signes cités (tolérance, sifflements et temps de récupération) étaient associés au fait d'appartenir au groupe sEA plutôt que mEA ou CTL. Le déclenchement d'une toux était plus observé dans le groupe sEA uniquement comparé au CTL. Le tableau XXVI récapitule les p-values obtenues.

Tableau XXVI. Association entre les signes cliniques observés lors du test au sac et l'asthme équin sévère.

Signes cliniques observés	CTL vs sEA	mEA vs sEA
Mauvaise tolérance	0,006	0,033
Sifflements	p-value < 0,001	p-value < 0,001 (Khi-2)
Temps de récupération augmenté	p-value = 0,01 (Khi-2)	p-value = 0,007 (Khi-2)
Toux au sac	p-value = 0,02	p-value = 0,53

Bilan

- Les chevaux sEA tolèrent moins le test de ventilation forcée et mettent plus de temps à récupérer que les CTL et les mEA.
- Les chevaux sEA sont plus susceptibles d'avoir des sifflements audibles lors de l'auscultation que les CTL et les mEA.
- Les sEA toussent plus fréquemment au retrait du sac que les CTL.
- Il n'existe pas de différence entre les CTL et les mEA concernant le test de ventilation forcée.

3) Analyses sanguines

Les valeurs usuelles du laboratoire ont permis de classer les individus de la façon suivante :

- Leucopénie < 6000 c/mm^3 , Leucocytose > 10000 c/mm^3 ;
- Neutropénie < 3400 c/mm^3 , Neutrophilie > 5400 c/mm^3 ;
- Hyperfibrinogénémie > 2,5 g/L

La figure 24 présente les résultats obtenus.

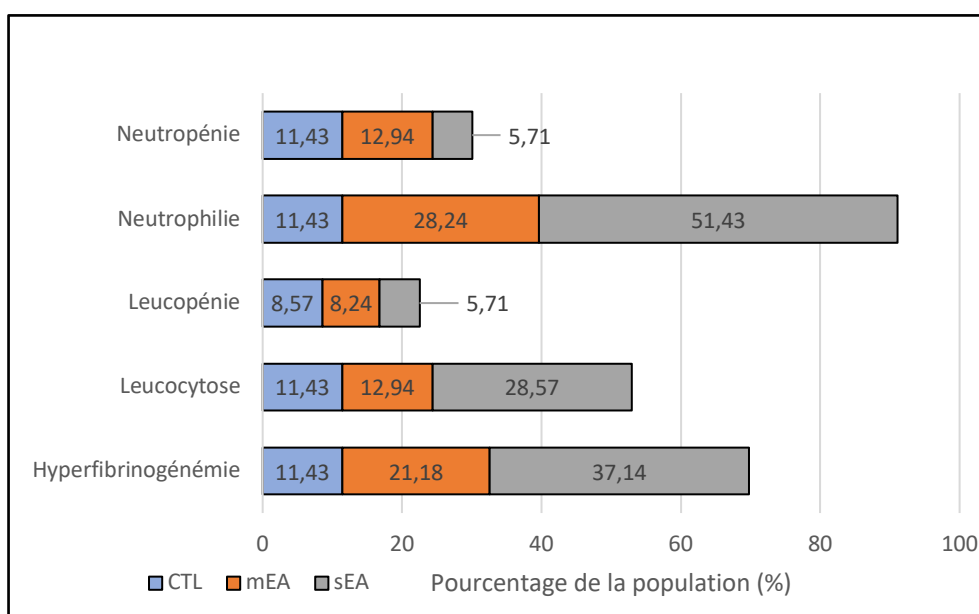


Figure 24. Anomalies des paramètres sanguins et groupe de classification.

La neutrophilie (Test du Khi-2, **p-value = 0,001**) et l'hyperfibrinogénémie (Test du Khi-2, **p-value = 0,033**) sont associées au groupe de classification. En effet, une neutrophilie était significativement plus présente pour le groupe sEA que pour les groupes CTL (Test du Khi-2, **p-value < 0,001**) et mEA (Test du Khi-2, **p-value = 0,027**). Concernant le fibrinogène, il était plus fréquemment supérieur à la norme dans le groupe sEA comparé au CTL (Test du Khi-2, **p-value = 0,026**).

Le tableau XXVII présente les résultats moyens des paramètres inflammatoires à la prise de sang selon le groupe de classification.

Tableau XXVII. Résultat du bilan sanguin selon le groupe de classification.

	Groupe	Moyenne (\pm Écart-type)	1 ^{er} quartile	Médiane	3 ^{ème} quartile
Leucocytes (cellules/mm ³)	CTL	8211 (\pm 1608)	7255	8170	9320
	mEA	8170 (\pm 1592)	7140	7950	9210
	sEA	8121 (\pm 2250)	7760	8810	10565
PN (cellules/mm ³)	CTL	4462 (\pm 899)	3887	4431	4819
	mEA	4816 (\pm 1318)	3937	4619	5484
	sEA	6249 (\pm 2166)	4862	5712	7748
Fibrinogène (g/L)	CTL	2,11 (\pm 0,35)	1,9	2,1	2,29
	mEA	2,21 (\pm 0,4)	1,92	2,15	2,4
	sEA	2,36 (\pm 0,46)	2,04	2,3	2,7

Le test ANOVA a montré qu'il existait une différence significative entre les moyennes d'au moins deux groupes à la fois pour les leucocytes (**p-value = 0,003**) et les neutrophiles (**p-value < 0,001**). Aucune différence significative n'est observée pour le fibrinogène (Test Anova, p-value = 0,053). Le tableau XXVIII résume les résultats des tests de comparaisons multiples montrant que le nombre de cellules était significativement plus élevé chez les asthmatiques sévères.

Tableau XXVIII. Test post-hoc sur les cellules sanguines.

	Leucocytes	PN
CTL vs mEA	p-value = 0,96	p-value = 0,457
CTL vs sEA	p-value = 0,03	p-value < 0,001
mEA vs sEA	p-value = 0,003	p-value < 0,001

Bilan

- Les chevaux sEA ont des valeurs moyennes de leucocytes et PN plus élevées que les individus CTL et mEA.
- Les sEA sont plus susceptibles d'avoir une neutrophilie à la prise de sang que les CTL et les mEA.
- Les sEA sont plus susceptibles d'avoir une hyperfibrinogénémie à la prise de sang que les CTL.
- Aucune différence significative n'est observée à la prise de sang entre les CTL et les mEA.

4) Endoscopie des voies respiratoires

a- Pharynx

Le pourcentage d'individus présentant une pharyngite dans chaque groupe est présenté dans la figure 25.

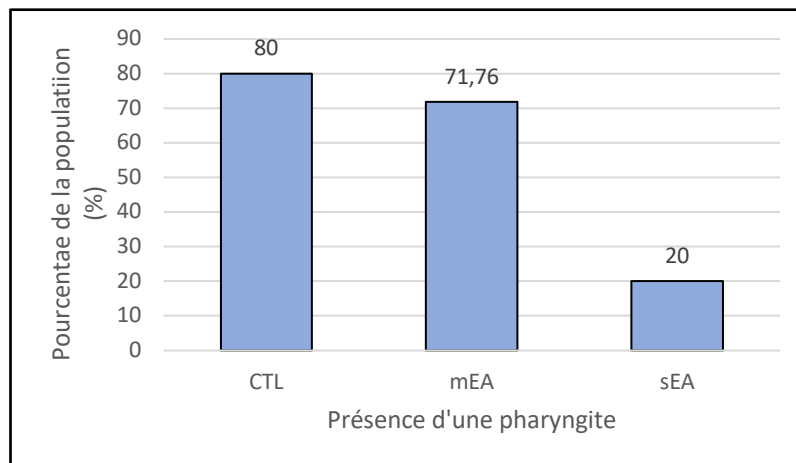


Figure 25. Présence d'une pharyngite et groupe de classification.

Le test du Khi-2 a montré qu'il existait une association entre le diagnostic de pharyngite et le groupe de classification (**p-value < 0,001**). Les individus classés CTL et mEA étaient significativement plus atteints de pharyngite que les sEA (Tests du Khi-2, **p-value < 0,001**). Aucune différence significative n'a été en revanche observée entre les CTL et mEA (p-value = 0,38).

Le tableau XXIX récapitule le grade moyen de pharyngite à l'endoscopie selon le groupe de classification.

Tableau XXIX. Grade moyen des pharyngites observées selon le groupe de classification.

Groupe	CTL	mEA	sEA
Grade moyen de pharyngite	1,94	1,94	0,3

Le grade de moyen de pharyngite était significativement plus élevé dans les groupes CTL et mEA comparé au sEA (Test de Kruskal-Wallis suivi d'un test post-hoc, **p-values < 0,001**).

b- Sécrétions trachéales

Le score moyen de mucus trachéal observé selon le groupe est présenté dans le tableau XXX.

Tableau XXX. Score moyen de mucus trachéal selon le groupe de classification.

Groupe	CTL	mEA	sEA
Score moyen de mucus trachéal	0,8	1,74	2,94

Le test de Kruskal-Wallis suivi d'un test post-hoc a permis d'établir que le score moyen de mucus était plus élevé pour les sEA par rapport aux CTL ou mEA (**p-values < 0,001**). Le score moyen des mEA était aussi plus élevé que celui des CTL (**p-value < 0,001**).

Bilan

- Les chevaux CTL et mEA sont plus atteints de pharyngites que les sEA.
- Les chevaux sEA ont significativement plus de mucus trachéal que les CTL et les mEA.
- Les chevaux mEA ont aussi plus de mucus trachéal que les CTL.

5) Lavage des poches gutturales

a- Volume obtenu

Le volume moyen obtenu par poche gutturale variait peu selon les groupes de classification. Les volumes moyens récupérés par groupe sont présentés dans le tableau XXXI. Peu importe la poche gutturale prélevée, aucune différence significative n'a été constatée à propos du volume moyen obtenu selon les groupes (Test ANOVA, p-values > 0,05).

Tableau XXXI. Volume moyen récupéré lors des lavages des poches gutturales selon le groupe de classification.

	Volume moyen PGG (± écart-type, mL)	Volume moyen PGD (± écart-type mL)
CTL	29,6 (± 9,77)	31,1 (± 9,41)
mEA	31,03 (± 7,8)	29,2 (± 8,96)
sEA	32,5 (± 6,69)	30,4 (± 8,45)

b- Aspect macroscopique

L'aspect normal ou anormal du liquide de lavage des poches gutturales a été noté pour chaque individu. La figure 26 présente le taux de liquide anormal dans chaque groupe.

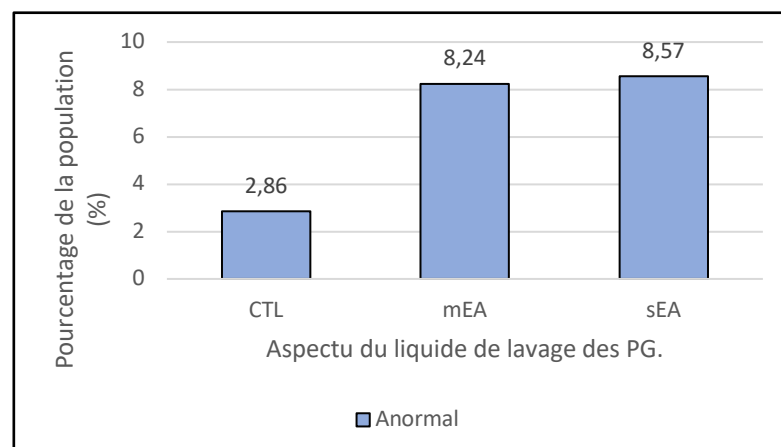


Figure 26. Aspect macroscopique du lavage des PG et groupe de classification.

Le test de Fisher n'a pas mis en évidence d'association entre l'aspect macroscopique du liquide obtenu et le groupe de classification (p-value > 0,05).

c- Cytologie

Le tableau XXXII présente les résultats moyens obtenus à la cytologie pour chaque groupe.

Tableau XXXII. Résultat de cytologie des PG selon le groupe de classification.

	Groupe	Moyenne	Écart-type	Minimum	Maximum
PN (%)	CTL	25,2	± 37,1	0	93
	mEA	20,5	± 33,8	0	95
	sEA	10,1	± 25,3	0	83
Macrophages (%)	CTL	7,6	± 15,6	0	9
	mEA	3,4	± 6	0	25
	sEA	3,9	± 8,8	0	8
PE (%)	CTL	4,5	± 8,1	0	35
	mEA	3,7	± 6,9	0	26
	sEA	3,3	± 7,6	0	27

Les tests d'ANOVA réalisés pour chaque type cellulaire n'ont montré aucune différence significative entre les groupes (p-values > 0,05).

d- Mycologie

- *Analyse cytologique*

Sur l'ensemble de la population, seulement deux individus (1 contrôle et 1 asthmatique modéré) avaient des éléments fongiques à l'examen cytologique du lavage des poches gutturales. Il n'y a pas de différence significative entre les groupes (Test de Fisher, p-value > 0,05).

- *Culture fongique*

La proportion d'individus de chaque groupe ayant une culture fongique positive était faible. Elle était de 5,71% (n= 2) pour les CTL, 8,24% (n= 7) pour les mEA et 2,86% (n= 1) pour les sEA (Figure

27). Le test de Fisher n'a révélé aucune association entre une culture fongique positive dans les poches gutturales et le groupe de classification (p-value > 0,05).

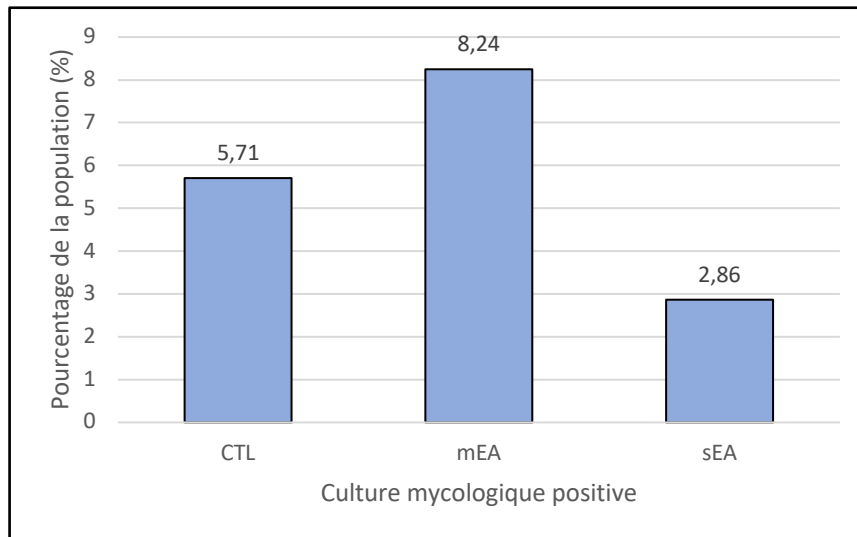


Figure 27. Culture fongique sur le liquide des PG et groupe de classification.

Bilan

- L'analyse du liquide de lavage des PG ne met en évidence aucune différence significative entre les trois groupes.

6) Lavage trachéal

a- Volume obtenu

Le volume moyen obtenu pour chaque groupe est présenté dans le tableau XXXIII.

Tableau XXXIII. Volume moyen récupéré lors du LT selon les groupes.

	Volume moyen (mL)	Écart-type
CTL	24,3	± 11,5
mEA	26,7	± 9,5
sEA	30,5	± 8

Le volume moyen récupéré pour le groupe sEA était significativement plus élevé que pour le CTL (p-value = 0,02, Test ANOVA puis test post-hoc).

b- Aspect macroscopique

L'aspect macroscopique du LT a été noté normal (translucide et fluide) ou anormal pour chaque individu. La figure 28 présente le taux de prélèvements anormaux selon le groupe de classification.

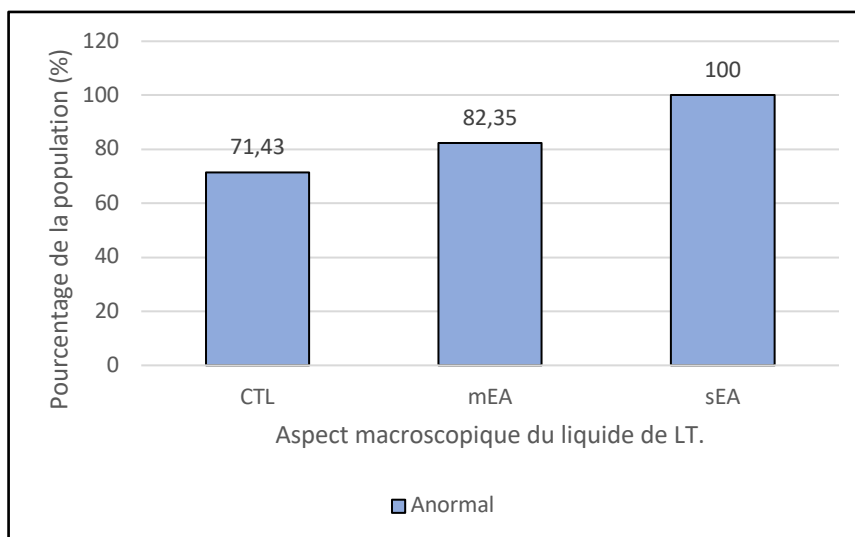


Figure 28. Aspect macroscopique du LT et groupe de classification.

Un test du Khi-2 a montré qu'il existait une association entre l'aspect du liquide de LT et le groupe de classification (**p-value = 0,004**).

Des tests du Khi-2 ou de Fisher ont été réalisés en comparant les groupes deux à deux. Les p-values obtenues sont présentées dans le tableau XXXIV. Le groupe sEA avait significativement plus de prélèvements ayant un aspect anormal que les groupe CTL et mEA.

Tableau XXXIV. Recherche d'association entre l'aspect macroscopique du LT et le groupe de classification.

	CTL	mEA	sEA
CTL	/	p-value = 0,275	p-value < 0,001 (Fisher)
mEA	p-value = 0,275	/	p-value = 0,005 (Fisher)

Bilan

- **Le volume obtenu pour les chevaux sEA est plus élevé et plus souvent d'aspect anormal que pour les CTL et les mEA.**

c- Cytologie

Les résultats moyens de cytologie selon le groupe de classification sont présentés dans le tableau XXXV.

Tableau XXXV. Résultat de cytologie sur le LT selon le groupe de classification

	Groupe	Moyenne	Écart-type	Minimum	Maximum
PN (%)	CTL	46,1	± 23	0,5	86
	mEA	53,2	± 24,7	7	95
	sEA	80,5	± 19,4	24	98
Macrophages (%)	CTL	34,6	± 21,1	0,5	78
	mEA	27,4	± 19,7	0	76
	sEA	12,4	± 14,5	1	61
PE (%)	CTL	0,8	± 2,2	0	13
	mEA	0,82	± 1,7	0	11
	sEA	0,15	± 0,3	0	1
Lymphocytes (%)	CTL	14,9	± 7	0	28
	mEA	15,7	± 7,9	2	32
	sEA	6,7	± 5,6	0	23
Hémosidérophages (%)	CTL	0,45	± 0,94	0	4
	mEA	1,9	± 5,5	0	35
	sEA	0	0	0	0

La réalisation de tests ANOVA pour chaque type cellulaire a mis en évidence une différence significative des taux observés selon les groupes pour les macrophages, PN et lymphocytes (**p-values < 0,001**). Les tests post-hoc ont permis d'affirmer que le groupe sEA avait un taux de neutrophiles significativement plus élevé et donc conjointement un taux de lymphocytes et macrophages plus faibles que les groupes CTL et mEA (**p-values < 0,001**). Aucune différence n'a été constatée entre les individus CTL et mEA.

Des cytodiagnostics d'inflammation trachéale ou non ont donc été établis. La figure 29 présente la fréquence des différents cytodiagnostics selon le groupe de classification. Une association entre le cytodagnostic du LT et le groupe de classification a été constatée (Test de Fisher, **p-value < 0,001**). Les tests de Fisher comparant les groupes deux à deux ont permis de définir que les individus sEA avaient une inflammation trachéale plus sévère que les CTL et les mEA (**p-values < 0,001**).

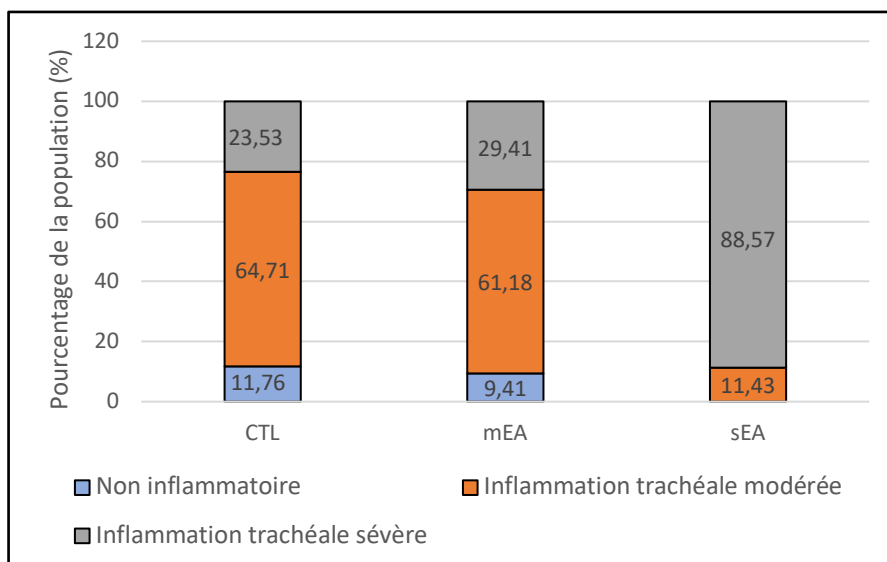


Figure 29. Cytodiagnostic d'inflammation trachéale et groupe de classification.

Bilan

- Les chevaux sEA ont une inflammation trachéale plus sévère (taux de PN plus élevé) que les CTL et les mEA.
- Aucune différence significative n'est constatée à la cytologie entre les CTL et mEA.

d- Bactériologie

Pour les résultats de bactériologie, seules les espèces bactériennes ayant un rôle pathogène connu et précédemment cité (*Streptococcus zooepidemicus*, *Pasteurella spp*, *Bordetella bronchiseptica*, *Actinobacillus equi*) ont été retenues. L'ensemble des individus CTL présentaient une bactériologie négative. Le pourcentage des individus des groupes mEA et sEA ayant une culture bactériologique positive est présenté dans la figure 30. Aucune association n'a été trouvée entre une bactériologie positive et le groupe de classification (Test de Fisher, p-value = 0,065).

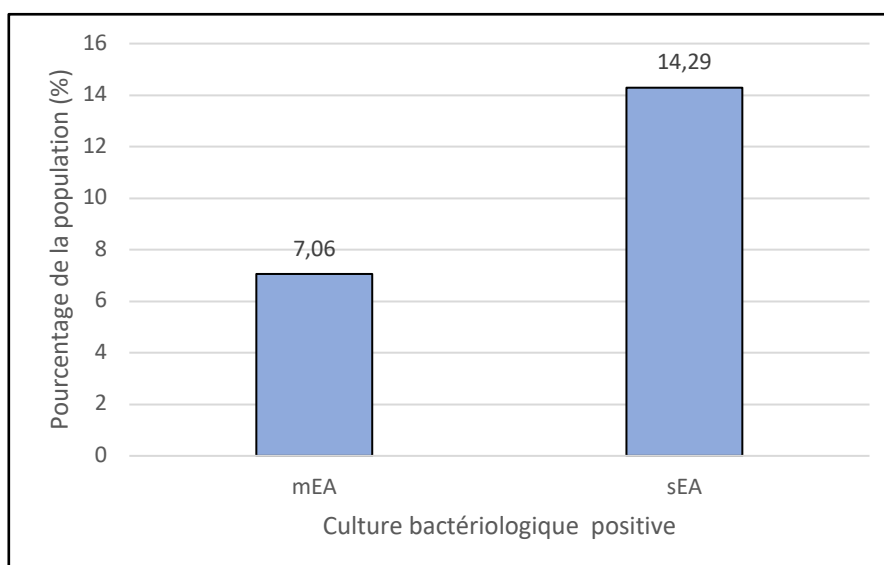


Figure 30. Bactériologie positive et groupe de classification.

Le taux d'individus ayant des mycoplasmes dans le LT a également été relevé pour chaque groupe et est présenté en figure 31. Aucune association n'existe entre la présence de mycoplasmes dans le liquide de LT et le groupe de classification (Test de Fisher, p-value = 0,875).

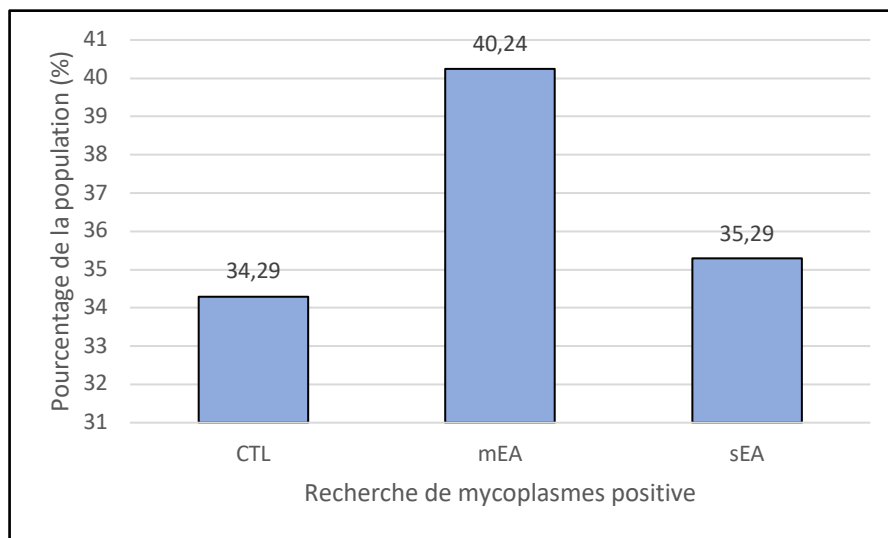


Figure 31. Recherche de mycoplasmes positive et groupe de classification.

e- Virologie

Le pourcentage de chaque groupe ayant une analyse virologique positive sur le LT est résumé dans la figure 32. La prévalence de chaque virus (EHV2, EHV5 et rhinovirus équin B) ne différerait pas entre les groupes. Aucune association n'existe donc entre le résultat de virologie positif et le groupe de classification (Test de Fisher, p-value = 0,119).

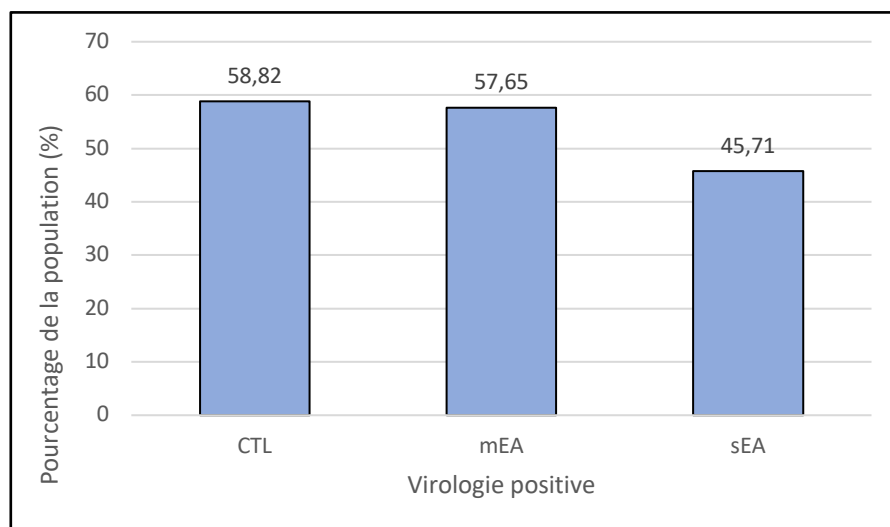


Figure 32. Virologie positive sur le LT et groupe de classification.

Bilan

- **La classification dans un des trois groupes n'est pas associée à la détection de virus, de bactéries ou de mycoplasmes dans le LT.**

f- Mycologie

- *Analyse cytologique*

La prévalence d'éléments fongiques à la cytologie selon les groupes est variable et est présentée en figure 33.

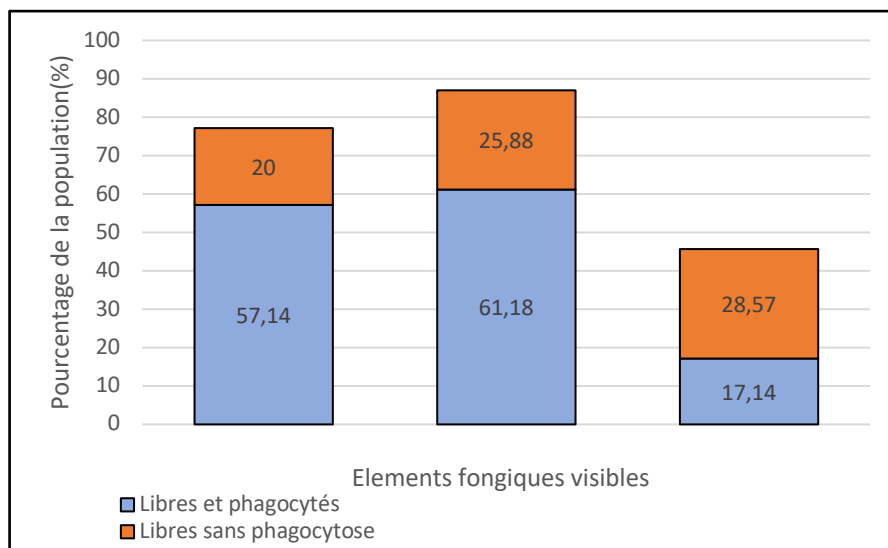


Figure 33. Éléments fongiques visibles à la cytologie du LT et groupe de classification.

La p-value obtenue (Test du Khi-2, **p-value < 0,001**) a prouvé qu'il existait une association entre la présence d'éléments fongiques à la cytologie du LT et le groupe de classification.

Le tableau XXXVI présente les résultats des tests du Khi-2 comparant les groupes deux à deux. La présence d'éléments fongiques dans le LT était significativement plus faible dans le groupe sEA. Aucune différence n'a été constatée entre les mEA et CTL à la cytologie.

Tableau XXXVI. Bilan des tests statistiques d'indépendance entre le groupe de classification et les éléments fongiques visibles à la cytologie du LT.

	CTL	mEA	sEA
CTL	/	p-value = 0,18	p-value = 0,007
mEA	p-value = 0,18	/	p-value < 0,001

La sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et négative (VPP et VPN) de l'observation d'éléments fongiques à la cytologie du LT pour déterminer l'appartenance au groupe sEA sont résumées dans le tableau XXXVII.

Tableau XXXVII. Propriétés du test d'observation d'éléments fongiques à la cytologie du LT pour la détection d'asthmatiques sévères.

	sEA
Sensibilité	0,3
Spécificité	0,37
VPN	0,45
VPP	0,22

- *Culture fongique*

La figure 34 résume le taux d'individus de chaque groupe ayant une culture fongique positive.

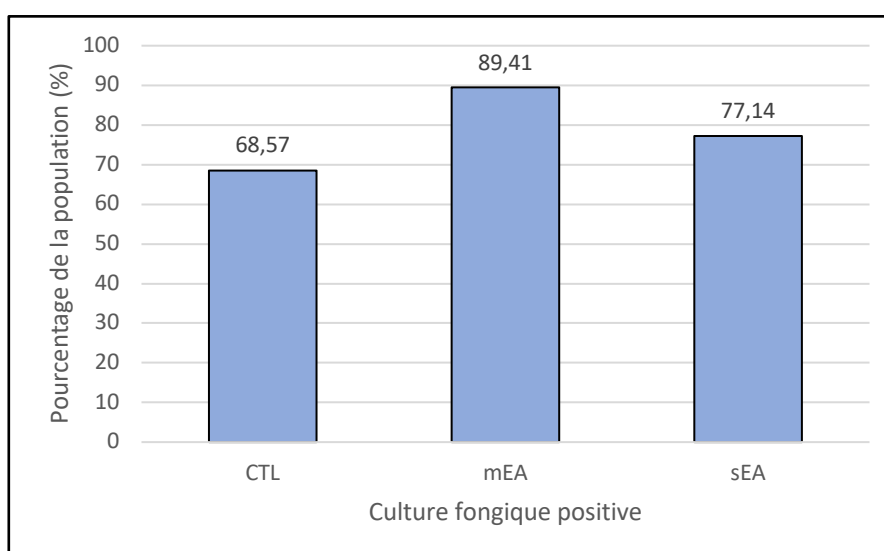


Figure 34. Culture fongique positive sur le LT et groupe de classification.

Une association est mise en évidence entre le groupe de classification et une culture fongique positive (Test du Khi-2, **p-value = 0,02**). Des tests du Khi-2 ont été réalisés entre les groupes deux à deux. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau XXXVIII. Une culture fongique positive était associée au fait d'être classé dans le groupe mEA plutôt que CTL.

Tableau XXXVIII. Bilan des tests statistiques d'indépendance entre le groupe de classification et la culture fongique sur le LT.

	CTL	mEA	sEA
CTL	/	p-value = 0,005	p-value = 0,42
mEA	p-value = 0,005	/	p-value = 0,108

La sensibilité et la spécificité de la culture fongique sur le LT pour la détection des asthmatiques modérés étaient de : 0,55 et 0,76. La VPP et la VPN du test pour l'inclusion de l'individu dans le groupe mEA valaient : VPP = 0,31 et VPN = 0,9.

Un résultat de culture fongique positif sur le LT serait associé à un risque quatre fois plus élevé d'appartenir au groupe mEA (OR = 3,87 ; IC [1,37-10,08]).

Bilan

- Les chevaux sEA ont moins d'éléments fongiques visibles à la cytologie que les mEA et les CTL. Aucune différence n'est établie selon cette méthode entre les CTL et mEA.
- 90% des mEA ont une culture fongique positive soit significativement plus que les CTL.
- La culture fongique positive sur le LT est associée à un risque 4 fois plus élevé d'être classé mEA.

7) Lavage bronchoalvéolaire

a- Volume obtenu

Le volume moyen obtenu par LBA selon le groupe de classification et le poumon prélevé est présenté dans le tableau XXXIX.

Tableau XXXIX. Volume moyen des LBA G et D selon le groupe de classification.

	Volume moyen LBA G (± Écart-type mL)	Volume moyen LBA D (± Écart-type mL)
CTL	278,5 (± 70,28)	245,8 (± 45,64)
mEA	251,2 (± 67,73)	221,2 (± 57,59)
sEA	190,7 (± 74,78)	172,3 (± 65,77)

Le volume récupéré était plus faible dans le groupe sEA par rapport aux groupes CTL et mEA (Test ANOVA puis de comparaisons multiples, **p-values < 0,001**)

b- Aspect macroscopique

L'aspect anormal du liquide de LBA est noté selon le groupe de classification. La figure 35 présente les résultats obtenus.

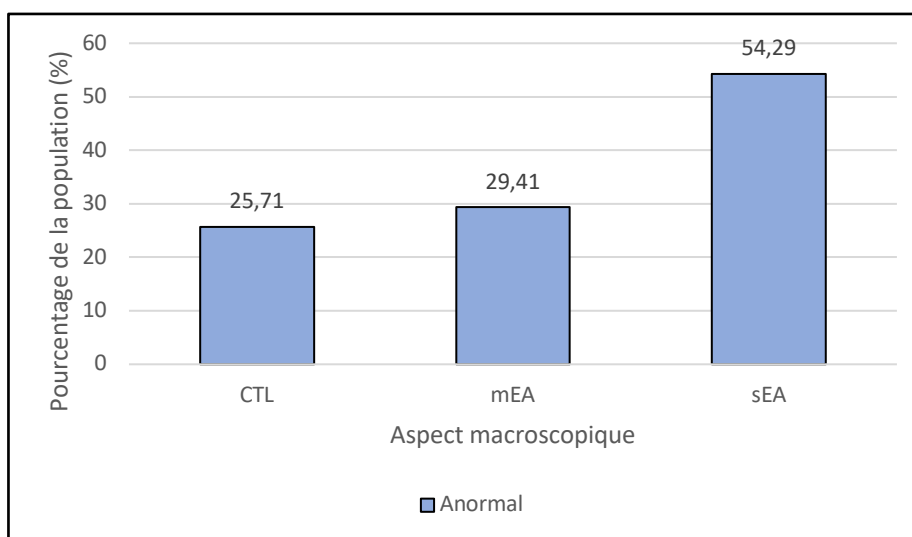


Figure 35. Aspect macroscopique du liquide de LBA mélange et groupe de classification.

Il existe une association (Test du Khi-2, **p-value = 0,016**) entre l'aspect macroscopique du liquide de LBA et le groupe de classification. Les p-values des tests de comparaison des groupes deux à deux sont présentées dans le tableau XL. Le groupe sEA avait significativement plus de prélèvements d'aspects anormaux que les groupes CTL et mEA.

Tableau XL. Association entre l'aspect macroscopique du LBA et le groupe de classification.

	CTL	mEA	sEA
CTL	/	p-value = 0,853	p-value = 0,028
mEA	p-value = 0,853	/	p-value = 0,018

Bilan

- **Le liquide récupéré est en quantité plus faible et plus fréquemment d'aspect anormal chez les chevaux sEA, par rapport aux CTL et mEA.**

c- Mycologie

- *Analyse cytologique :*

La figure 36 présente le taux d'individus de chaque groupe pour lesquels des éléments fongiques sont visibles à la cytologie pour les trois types de prélèvements.

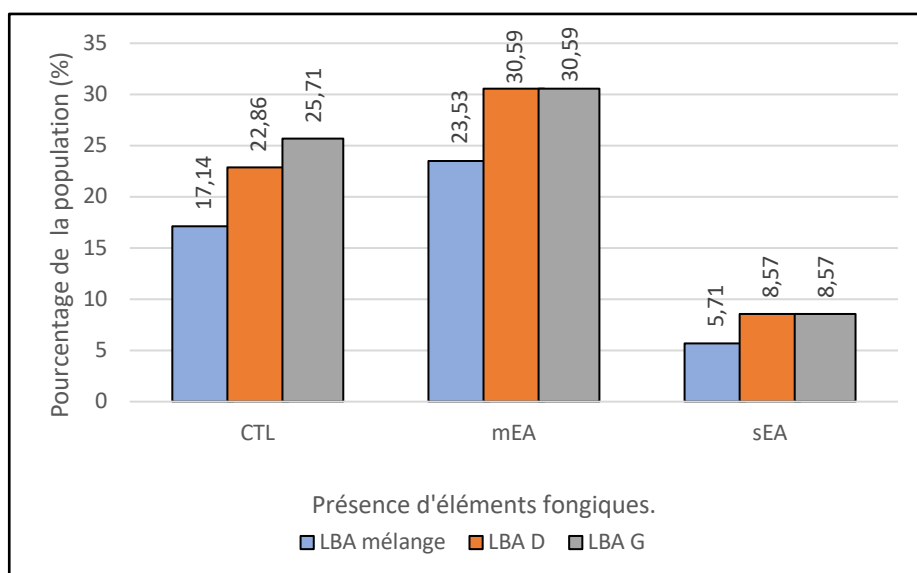


Figure 36. Éléments fongiques à la cytologie des LBA et groupe de classification.

La différence de prévalence d'éléments fongiques à la cytologie selon le groupe de classification est étudiée pour les prélèvements de LBA droit, gauche et le mélange. Une association entre la détection d'éléments fongiques et le groupe de classification est trouvée, quel que soit le type de prélèvement (Tests du Khi-2, **p-values < 0,05**).

La comparaison des groupes deux à deux n'a mis en évidence aucune différence significative entre les CTL et les mEA ou sEA. En revanche, le groupe mEA présentait significativement plus d'éléments fongiques à la cytologie que le sEA, quel que soit le poumon échantillonné. Les p-values obtenues sont résumées dans le tableau XLI.

Tableau XLI. Bilan des tests statistiques d'indépendance entre le groupe de classification et les éléments fongiques visibles à la cytologie des LBA.

LBA mélange			
	CTL	mEA	sEA
CTL	/	p-value = 0,597	p-value = 0,26
mEA	p-value = 0,597	/	p-value = 0,04
LBA D			
	CTL	mEA	sEA
CTL	/	p-value = 0,528	p-value = 0,189
mEA	p-value = 0,528	/	p-value = 0,02
LBA G			
	CTL	mEA	sEA
CTL	/	p-value = 0,754	p-value = 0,113
mEA	p-value = 0,754	/	p-value = 0,02

- *Culture fongique :*

Le taux d'individus de chaque groupe ayant une culture fongique positive est présenté dans la figure 37.

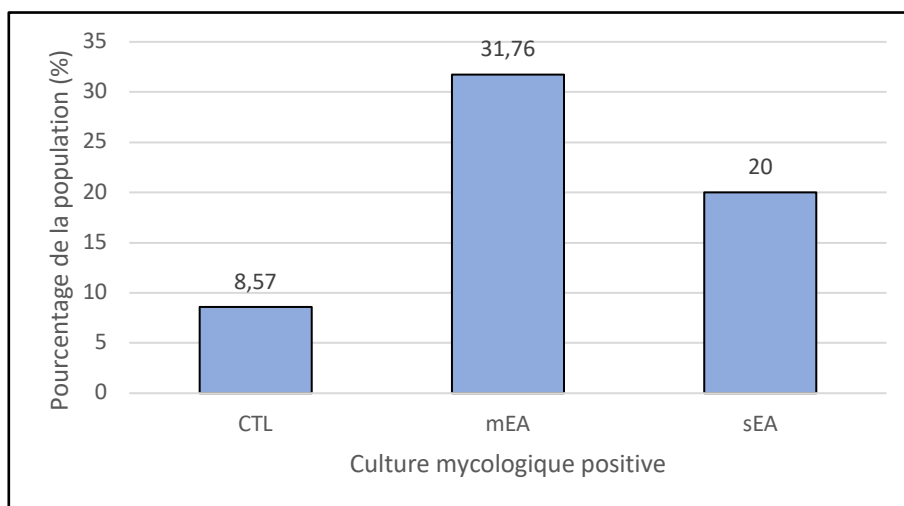


Figure 37. Culture fongique positive sur le LBA et groupe de classification.

Il existe une association entre le groupe de classification et une culture fongique positive sur le LBA mélange (Test du Khi-2, **p-value = 0,02**). Le tableau XLII présente les résultats des tests du Khi-2 comparant les groupes deux à deux. Le groupe mEA avait significativement plus de culture fongique positive que le CTL. La VPP de ce test pour la détection de mEA est élevée : **VPP = 0,91** (VPN = 0,32).

Une culture fongique positive serait associée à un risque cinq fois plus élevé d'appartenir au groupe mEA (**OR = 4,97 ; IC [1,49-16,38]**).

Tableau XLII. Bilan des tests du Khi-2 selon le résultat de culture fongique du LBA et le groupe de classification.

	CTL	mEA	sEA
CTL	/	p-value = 0,008	p-value = 0,17
mEA	p-value = 0,008	/	p-value = 0,19

Bilan

- **Les chevaux sEA ont moins d'éléments fongiques visibles à la cytologie que les mEA et les CTL. Aucune différence n'est établie selon cette méthode entre les CTL et mEA.**
- **La culture fongique sur le LBA est une méthode spécifique (0,9) de détection des mEA.**
- **Une culture fongique positive sur le LBA est associée à un risque 5 fois plus élevé d'être diagnostiqué mEA.**

C- Estimation des facteurs de risque de survenue d'asthme équin modéré ou sévère.

Des modèles de régressions logistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel R. Ils ont été réalisés pour deux variables à expliquer : être diagnostiqué mEA et être diagnostiqué sEA. Les variables explicatives correspondaient aux données épidémiologiques ainsi qu'aux résultats de l'examen clinique et d'analyses (sur le LT et le LBA). Ces variables explicatives ont été, dans un premier temps, testées par une analyse univariée. Celles pour lesquelles une p-value inférieure à 0,2 était obtenue ont été retenues pour l'analyse multivariée.

- *Asthme équin modéré*

Les variables retenues pour l'analyse multivariée ont été : le logement, le sexe, l'âge, la présence d'une dyspnée lors de l'examen, la tolérance du test de ventilation forcée, le score de mucus trachéal, la neutrophilie, la détection d'éléments fongiques à la cytologie du LT, une culture fongique positive sur le LT et également sur le LBA.

La régression multivariée a alors permis de déterminer quelles étaient parmi ces variables celles étant de plus grands facteurs de risques d'être catégorisé mEA. Ainsi, dans cette étude, 4 facteurs de risques significatifs ont été identifiés. Les individus logés au pré avaient en effet environ 7,5 fois plus de chance d'être diagnostiqués mEA, de même l'augmentation du score de mucus trachéal est associée à un risque 2,3 fois plus élevé de mEA. De plus une neutrophilie et une culture fongique positive sur le LBA étaient associées respectivement à des risques 4,3 fois et 9 fois plus élevé de mEA. L'ensemble des résultats sont présentés dans le tableau XLIII.

Tableau XLIII. Résultats de la régression logistique multivariée concernant l'asthme équin modéré.

Variables prédictives		OR	IC	P-value
Age		1,19	[0,99 – 1,5]	0,09
Logement	Box	1	NA	NA
	Mixte	1,96	[0,46 – 8,96]	0,366
	Pré	7,46	[2,19 – 29,45]	0,002
Sexe	Hongre	1	NA	NA
	Jument	3,22	[1 – 11,35]	0,056
	Mâle	1,05	[0,28 – 3,93]	0,941
Dyspnée		1,58	[0,38 – 7,71]	0,545
Mauvaise tolérance du test au sac		1,58	[0,20 – 33,2]	0,699
Score de mucus trachéal		2,32	[1,36 – 4,26]	0,004
Neutrophilie		4,29	[1,2 – 19,13]	0,036
Éléments fongiques visibles à la cytologie du LT		1,42	[0,38 – 5,35]	0,598
Culture fongique positive sur le LT		3,39	[0,94 – 12,99]	0,065
Culture fongique positive sur le LBA		8,99	[2,16 – 51,99]	0,006

- *Asthme équin sévère*

Les variables retenues pour l'analyse multivariée ont été : l'âge, le logement, le sexe, la fréquence respiratoire, la note d'état corporel, la pharyngite, la leucocytose, la neutrophilie, l'auscultation de crépitements ou sifflements lors du test de ventilation forcé et un temps de récupération augmenté à ce test. La variable correspondant à l'observation d'une dyspnée lors de l'examen clinique a été volontairement exclue car elle permettait de prédire exactement le fait d'être sEA et faussait le modèle.

Après réalisation d'une régression logistique multivariée, seule l'augmentation de l'âge ressort comme un facteur de risque significatif selon ce modèle (OR = 4,62 ; IC [1,94 – 7,23], **p-value = 0,029**).

III –Discussion

A- Population d'étude et méthodes utilisées

1- Constitution de la population d'étude

La population était composée de 155 chevaux au total. L'échantillon était varié avec des chevaux de toutes races et toutes activités même si la moitié des individus étaient des Trotteurs Français à l'entraînement. La variété de chevaux prélevés a permis d'inclure dans l'étude des individus atteints d'asthme sévère ou modéré. Chaque cheval a reçu un examen complet de son appareil respiratoire avec une multitude de prélèvements constituant ainsi une banque de données instructive. Si l'on compare à d'autres études déjà publiées, l'effectif de la population d'étude est plus faible que certaines (Tableau XLIV), mais il reste proche de la majorité et répond aux besoins statistiques de l'étude. En effet, la taille minimale de l'échantillon nécessaire avait été estimée à 92 chevaux (avec une estimation de 40/60 de non exposés/exposés à des moisissures, 30% de non exposés asthmatiques et 60% des exposés asthmatiques). De plus, cette étude est l'une des seules à présenter cette diversité de population et un aspect prospectif.

Tableau XLIV. Constitution des populations d'études précédemment publiées.

Études (Auteur et année)	Nombre de chevaux inclus dans l'étude
Dauvillier et al. 2019	731
Rossi et al. 2018	154
Hermange et al. 2018	51
Kluciński and Wysocka, 2015	245
Depecker et al. 2013	138
Bedenice et al. 2008	137
Wood et al. 2005a	148
Christley et al. 2001a	248

2- Méthodes de prélèvements et intérêts des échantillons respiratoires

Le volume utilisé pour chaque prélèvement a été standardisé, il était de 40 mL pour le lavage trachéal, 40 mL pour les poches gutturales et 500 mL par poumon lors du LBA.

a- Lavage des poches gutturales

Peu d'études à ce jour décrivent des résultats de cytologie sur le lavage des poches gutturales. Seuls 3 articles portant sur un nombre d'individus limités (10 à 38 chevaux) rapporte des résultats de cytologie sur des lavages de poches gutturales (*Chiesa et al., 2002, 1999; Dobesova and*

Bezdekova, 2016). Ils décrivent une majorité de cellules épithéliales observées et fixent le taux de neutrophiles normal inférieur à 5% contre supérieur à 25% lors d'atteinte inflammatoire/pathologique. Toutes ne rapportent pas un lien entre un cytodagnostic d'inflammation et les résultats de bactériologie.

Dans cette étude, le seuil d'inflammation est fixé en comparaison avec le lavage trachéal à 20%. Les données limitées dans la littérature nécessiteraient d'autres recherches pour confirmer ces seuils fixés et les comparer à l'aspect endoscopique des poches gutturales ainsi qu'aux résultats de microbiologie.

b- Lavage trachéal

- *Méthode de prélèvement*

Le LT peut être analysé à la fois par cytologie et microbiologie. La microbiologie nécessite la réalisation d'un prélèvement stérile. Le prélèvement peut se faire par aspiration transcutanée ou grâce à un cathéter stérile introduit via l'endoscope comme réalisée dans cette étude (*Couëtil and Thompson, 2020*). Aucune différence de résultats n'est rapportée entre les deux méthodes que soit pour l'analyse cytologique ou bactériologique (*Christley et al., 1999*).

- *Virologie*

Il est prouvé, en médecine humaine, qu'une exposition virale de certains jeunes patients augmente leur risque de développer de l'asthme (*Jackson et al., 2008*). Or, la détection de virus respiratoires chez le cheval est fréquente et pourrait donc jouer un rôle dans le développement d'asthme équin. Plusieurs études s'intéressent à la détection de virus respiratoires et les possibles conséquences liées à l'asthme équin, avec des résultats contradictoires. *Fortier et al. (2013)* ont, par exemple, montré que l'exposition expérimentale de 4 chevaux à EHV2 induisait une inflammation des voies respiratoires chez ces individus, compatible avec une inflammation subclinique des voies respiratoires profondes. *Houtsma et al., (2015)* rapportent aussi que les chevaux mEA ont un titre en anticorps (anti rhinovirus équin A) plus élevé que les CTL. Au contraire, d'autres n'ont soit pas détecté de virus dans les voies respiratoires, soit trouvé aucune association entre le fait d'être mEA et la détection de certains virus (*Couëtil et al., 2020*).

Dans cette étude, les virus majoritairement identifiés étaient le rhinovirus B et EHV 2 et 5. Aucune différence significative de prévalence n'a été constatée entre les différents groupes. Ces résultats semblent cohérents avec l'absence de lien entre la détection de virus et l'asthme équin rapporté par certains auteurs cités ci-dessus. Cependant, étant donné la forte prévalence de ces virus dans le LT y compris des chevaux contrôles, il serait intéressant d'évaluer leur présence dans le LBA (*analyses en cours*) en recherche d'un éventuel lien avec l'asthme. Pour le moment, peu d'études ont étudié la présence de virus dans le LBA (*Fortier et al., 2009; Houtsma et al., 2015*).

- *Recherche d'éléments fongiques*

Plus de 50% des patients adultes suivis pour un asthme sévère ont une sensibilisation fongique associée en médecine humaine (*Denning et al., 2014*). De plus, il a été largement prouvé en médecine vétérinaire que l'exposition à des moisissures et des poussières a un rôle dans le développement d'asthme équin sévère. Cependant, ces études portent sur l'exposition expérimentale des chevaux aux moisissures ou poussières et aux effets associés par rapport à l'asthme équin sévère (*Beeler-Marfisi et al., 2010; Mcgorum et al., 1993; Pirie et al., 2003, 2002*). Elles ne s'intéressaient pas aux effets possibles de moisissures naturellement présentes dans les voies respiratoires, notamment pour le développement de mEA.

Récemment, *Dauvillier et al. (2019)* ont montré que les éléments fongiques sont communément présents dans le LT (55% de culture positive, 79% de positif à la cytologie) et qu'une cytologie positive est associée à un risque deux fois plus élevé d'être diagnostiqué mEA. Dans notre étude, les résultats de cytologie, si l'on omet les sEA absents de l'étude de *Dauvillier et al.*, sont assez similaires. En effet, 77% de CTL et 87% des mEA ont une cytologie positive. La forte prévalence de moisissures dans le LT y compris chez les CTL peut laisser douter du réel risque de mEA lors de détection de moisissures à la cytologie. Ce point sera rediscuté plus tard. En revanche, les taux de culture positive sont plus élevés dans cette étude puisqu'ils varient de 69% (CTL) à 89% (mEA) avec même un taux de 77% chez les sEA, pour qui la prévalence d'éléments fongiques à la cytologie est pourtant nettement plus faible (42%). Cette différence de détection à la culture fongique peut s'expliquer notamment par l'absence d'une méthode standardisée pour ce type d'analyse et la variabilité des étapes pré-analytiques entre les études (*Borman et al., 2010; Denning et al., 2014*). Les prélèvements réalisés ont été transportés sous couverts du froid (4°C) dans cette étude tandis que la température de transport n'est pas décrite dans celle de *Dauvillier et al.* Or, le transport à température ambiante, par exemple, peut altérer la croissance fongique et donc le taux de détection lors de culture (*Stewart and Cuming, 2015*).

Il a été choisi de travailler avec la cytologie et la culture fongique. Une autre méthode est aussi décrite : l'utilisation de la PCR. Elle permet d'estimer la quantité totale de moisissures à partir du gène 18S ARN communément présent chez tous les champignons, puis certaines souches peuvent être identifiées par PCR (*Di Pietro et al., 2022*). La culture a été privilégiée car elle était moins coûteuse et ne nécessitait pas l'accès au kit PCR. De plus, cette technique a été développée en Amérique du Nord, les espèces identifiées et donc les amorces développées ne sont pas nécessairement les mêmes qu'en France. Par exemple, *Di Pietro et al. (2022)* ont identifié certains champignons en majorité (*Eurotium amstelodami* et *Wallemia sebi*) qui ne l'ont pas été dans cette étude.

Aucune étude ne compare les résultats de PCR à la cytologie et la culture fongique, la comparaison des deux méthodes pourrait être intéressante à réaliser.

- *Recherche de mycoplasmes*

Les mycoplasmes sont ubiquitaires et identifiés chez de nombreux mammifères. Ils peuvent être à la fois commensaux, saprophytes ou parasites et sont isolés de différentes muqueuses (respiratoires, génitales etc.). Leur pouvoir pathogène varie selon les espèces, ils peuvent être à la fois pathogènes stricts ou opportunistes (*Shil et al., 2022*).

Des mycoplasmes ont déjà été isolés de prélèvements respiratoires équins mais leur pathogénicité n'a pas été clairement établie. Cependant, l'identification de mycoplasme est associée à des signes respiratoires (accumulation de mucus trachéal et toux) selon certains auteurs (*Christley et al., 2001b; Manguin et al., 2020; Uchida-Fujii et al., 2021; Wood et al., 2005*). Toutefois, aucun lien n'est à ce jour établi avec l'asthme équin. En revanche, une association entre la détection de mycoplasmes et l'exacerbation de l'asthme est décrite en médecine humaine (*Kumar et al., 2019*), motivant donc la recherche de mycoplasmes dans cette étude.

Finalement, aucune association n'a été mise en évidence entre la détection de mycoplasmes et le groupe de classification ou la présence des signes précédemment décrits (toux et mucus). La prévalence globale de mycoplasmes dans le LT est de 41%. Le tableau XLV présente les prévalences obtenues dans de précédentes études.

La prévalence de mycoplasmes dans la population d'étude était globalement supérieure à celles précédemment décrites. Une première explication peut être l'utilisation de la PCR plutôt que de la culture, les mycoplasmes étant difficiles à cultiver *in vitro* (*Shil et al., 2022*). Cependant, les prévalences varient également entre les différentes études utilisant la PCR. Cela peut s'expliquer par des méthodes différentes selon les laboratoires ainsi que des populations d'étude différentes. La comparaison des résultats est donc difficile tout comme la détermination de l'implication clinique de ces mycoplasmes. En revanche, la plupart des études identifient en grande majorité *Mycoplasma equirhinis* (*Cardwell et al., 2013; Manguin et al., 2020; Martineau et al., 2022; Mete and Özgür, 2017; Uchida-Fujii et al., 2021*) comme observé dans nos résultats.

Le LT apporte donc des informations intéressantes mais ne suffit pas pour investiguer complètement les voies respiratoires profondes, d'où l'intérêt de réaliser un LBA conjointement au LT (*Couëtil and Thompson, 2020; Malikides et al., 2003*).

Tableau XLV. Prévalence des mycoplasmes respiratoires selon les études.

Études	Méthode	Prévalence
Wood et al., (1997)	Culture bactériologique	23%
Christley et al., (2001b)	Culture bactériologique	20%
Cardwell et al., (2013)	Culture bactériologique	10,2%
METE and ÖZGÜR, (2017)	Culture bactériologique PCR	16,2% 59,5%
Manguin et al.,(2020)	PCR	6%
Martineau et al.,(2022)	PCR	16,9%
Uchida-Fujii et al., (2021)	Culture bactériologique et identification PCR	40%

c- Lavage bronchoalvéolaire

- *Méthode de prélèvement*

Le LBA peut être réalisé de deux façons : sous contrôle endoscopique ou à l'aveugle *via* une sonde adaptée. Dans ce second cas, le poumon caudo-dorsal droit est celui majoritairement prélevé (McKane, 1993). L'étude de Depecker *et al.* (2014) a montré que le prélèvement d'un seul poumon n'est pas nécessairement représentatif du second, pouvant ainsi conduire à des erreurs de diagnostic de mEA pour 12,4% à 17,8% des individus selon le poumon analysé. Dans cette étude, la réalisation du prélèvement sous contrôle endoscopique a donc permis à la fois de s'assurer du poumon prélevé et d'échantillonner les deux. L'échantillonnage des deux poumons a permis l'analyse cytologique d'un mélange de LBA rapporté comme fiable par rapport à l'analyse individuelle des deux prélèvements (Hermange *et al.*, 2019).

Le volume utilisé pour le LBA est de 500mL et est fixé selon les recommandations du consensus ACVIM (Couëttil *et al.*, 2016). Cette standardisation permet une comparaison simplifiée entre les individus. En effet, l'étude d'Orard *et al.* (2016) montre que la variation du volume instillé influe sur les résultats de cytologie notamment pour le pourcentage de neutrophiles d'où l'importance d'un volume standardisé.

Cependant, Pashley *et al.* (2012) ont montré qu'une dilution diminuait leur taux de prélèvements positifs lors de recherche d'éléments fongiques par culture. Le volume de 500mL instillé lors du LBA a pu donc conduire à sous-estimer la prévalence d'éléments fongiques dans les prélèvements.

Enfin, la qualité du LBA dépend aussi du volume que l'opérateur parvient à récupérer. La sédation et le spasmolytique utilisé ont permis de faciliter la procédure chez des individus sévèrement atteints. En effet, l'utilisation de butorphanol ou butylscopolamine chez les individus ayant des signes cliniques marqués permet d'améliorer leur confort respiratoire avant le LBA (Couëttil *et al.*, 2012; Westermann *et al.*, 2005). Il est montré que l'utilisation de butorphanol n'influe pas sur le volume récupéré lors du LBA (Westermann *et al.*, 2005) En revanche, l'effet de la butylscopolamine sur le volume récupéré reste peu clair (Bowser *et al.*, 2018).

- *Recherche d'éléments fongiques*

L'absence de méthode standardisée, le peu de données publiées concernant essentiellement la recherche de moisissures dans le LT (Dauvillier *et al.*, 2019) et l'absence de corrélation entre le LT et le LBA à la cytologie (Malikides *et al.*, 2003) a motivé la recherche d'éléments fongiques dans le LBA. Cette analyse du LBA permet ainsi de comparer le taux de détections de moisissures selon le site de prélèvement et d'identifier le prélèvement de choix dans le cadre de cette étude.

B- Mise en perspective des associations entre les résultats obtenus et l'asthme équin modéré

1- Facteurs épidémiologiques

La seule différence identifiée entre le groupe CTL et mEA concernait le logement. Les mEA étaient plus fréquemment logés au pré. Cela peut être lié à la constitution des groupes, le groupe mEA incluant plus de chevaux référés au CISCO que le CTL, or ces derniers étaient plus fréquemment logés au pré.

2- Analyses sanguines

Aucune différence significative n'est constatée entre les CTL et mEA concernant les paramètres sanguins. Cependant, les biomarqueurs les plus spécifiques de mEA n'ont pas été recherchés. Ainsi, l'haptoglobine, la protéine du surfactant D et la sécrétoglobine auraient pu être recherchées. La combinaison de ces trois biomarqueurs assure une spécificité de 100% avec une sensibilité de 45% pour la détection de mEA (*Gy et al., 2019*).

3- Mucus trachéal et taux de neutrophiles du LT

Le score moyen du mucus trachéal était plus élevé dans le groupe mEA que CTL. Ce résultat est cohérent avec les critères de classification utilisés (score > 2 inclut un cheval non « sEA » en « mEA ») et la littérature. En effet, une accumulation de mucus trachéal est régulièrement décrite chez les chevaux atteints de mEA (*Cardwell et al., 2014; Christley et al., 2001; Couëtil et al., 2016; Holcombe et al., 2006*).

Il est rapporté que l'accumulation de mucus est associée à un taux de neutrophiles augmenté dans le LT (*Kluciński and Wysocka, 2015*). Certaines études avancent également que la cytologie du LT (PN > 20%) est une méthode de plus grande sensibilité et spécificité que le LBA pour le diagnostic d'asthme équin (*Rossi et al., 2018*). Or, les résultats obtenus montrent que la part des chevaux ayant un taux de PN supérieur à 20% n'est pas significativement différente entre les CTL et mEA (environ 60% dans les deux groupes) et n'est donc pas un bon moyen de diagnostic d'asthme équin. De plus, la faible corrélation entre la cytologie du LT et du LBA (*Derksen et al., 1989; Malikides et al., 2003*) est une raison supplémentaire de privilégier le LBA pour le diagnostic d'asthme équin.

4- Détection d'éléments fongiques et prévalence de mEA

- *Cytologie*

Aucune différence significative n'a été observée à la cytologie entre le groupe mEA et CTL que ce soit sur le LT ou le LBA. Ces résultats sont en opposition avec ceux de *Dauvillier et al. (2016)* qui rapportent que des éléments fongiques à la cytologie du LT sont associés à un risque deux fois plus

élevé de mEA (OR : 2,1 IC [1,08-3,33]). Cela remet donc en cause l'intérêt de cette méthode pour la recherche de moisissures aux rôles potentiellement pathogènes.

- *Culture fongique*

Quel que soit le site de prélèvement (LT ou LBA), les mEA présentaient significativement plus de culture fongique positive que les CTL (LT : 89,4% vs 68,6% ; LBA : 31,8% vs 8,6%). Une culture fongique positive était d'ailleurs associée à un risque quatre à cinq fois plus élevé d'être diagnostiqué mEA selon le site de prélèvement (LT : OR = 3,87 ; IC [1,37-10,08] et LBA : OR = 4,97 ; IC [1,49-16,38]). La spécificité de ce test est supérieure lorsque réalisé sur le LBA (0,9) que sur le LT (0,76) mais les deux sites de prélèvements sont associés à une faible sensibilité (LT : 0,55 ; LBA : 0,36).

Ces résultats montrent que la culture fongique semble être une méthode plus appropriée de détections des moisissures dans le cadre de mEA. De plus, deux tiers des chevaux contrôles ayant une culture positive sur le LT, ce site de prélèvement ne semble pas adapter pour évaluer l'impact de la présence de moisissures dans les voies respiratoires. La culture fongique sur LBA semble donc être la méthode la plus adaptée avec d'ailleurs une meilleure spécificité et valeur prédictive positive (VPP = 0,91).

- *Traitement antifongique*

Il est décrit, en médecine humaine, une amélioration des signes d'asthme lors de traitements antifongiques chez des individus sensibilisés (*Chishimba et al., 2012; Denning et al., 2009*). Dans cette étude, certains trotteurs ont été traités par nébulisation avec de la nystatine. Les entraîneurs rapportaient alors subjectivement une amélioration des performances de ces chevaux. Il aurait pu être intéressant d'effectuer un contrôle de ces chevaux afin d'évaluer l'impact du traitement sur la cytologie du LBA et la prévalence de cultures fongiques positives.

5- Infection bactérienne ou virale et mEA

a- Bactériologie

Les résultats publiés concernant le lien potentiel entre une infection bactérienne et le diagnostic de mEA sont contradictoires. Certaines études rapportent l'identification de *Streptococcus zooepidemicus*, *Actinobacillus spp* et *Pasteurella spp* chez des chevaux de courses sans signes d'inflammation pulmonaire (*Cardwell et al., 2014; Christley et al., 2001b*). Au contraire, *Wood et al., (2005b)* ont montré qu'une bactériologie positive (notamment pour *Streptococcus zooepidemicus*) était un risque plus élevé de développement de mEA. Dans cette étude, aucune corrélation n'est mise en évidence entre une bactériologie positive et le diagnostic de mEA.

b- Virologie

La littérature est contradictoire concernant le rôle des virus dans la pathogénie de mEA. Certains rapportent une association entre l'exposition au rhinovirus équin A et/ou l'EHV2 et la survenue de mEA (*Houtsma et al., 2015*). Une autre étude a aussi montré une corrélation entre la détection de rhinovirus équin B ou l'EHV2 et la présence d'une toux et de mucus trachéal en excès chez des chevaux de courses (*Doubli-Bounoua et al., 2016*). Au contraire d'autres études n'ont trouvé aucun lien entre l'exposition à certains virus (EHV2 et EHV5) et l'asthme équin modéré (*Back et al., 2015a, 2015b*). Les résultats obtenus dans cette étude sont également en faveur d'une absence d'association entre une virologie positive et le diagnostic de mEA.

Ces résultats contradictoires et la forte prévalence de virus respiratoires dans la population équine, à la fois chez des chevaux sains ou mEA ne permet pas actuellement d'établir un lien de causalité net entre l'exposition virale et le développement de mEA (*Couëtil et al., 2020*). Des recherches additionnelles sont à mener. Les LBA de cette étude sont donc analysés en virologie et la recherche de cytokines inflammatoires dans le LBA y est associée.

6- Facteurs de risques identifiés

Selon le modèle de régression logistique, le fait d'être logé au pré était associé à un risque 7,5 fois plus élevé d'être mEA. Ce facteur de risque n'a jamais été rapporté dans la littérature. La constitution des groupes d'études peut l'expliquer. En effet, lorsqu'on s'intéresse à la constitution des groupes, le groupe mEA est constitué à 37,65% (n= 32) de chevaux référés au CISCO, contre seulement 17,14% (n= 6) pour les CTL. Or, les chevaux référés au CISCO étaient plus fréquemment logés au pré que les trotteurs, pouvant donc expliquer l'isolement de ce facteur de risque.

L'augmentation du score de mucus trachéal était associée à un risque 2,3 fois plus élevé d'être mEA selon la régression réalisée. Cela est cohérent avec la littérature puisqu'il est décrit que l'accumulation de mucus trachéal est un signe possible de mEA (*Cardwell et al., 2011; Koblinger et al., 2011*).

Une neutrophilie à la numération sanguine était aussi un facteur de risque de mEA selon les résultats de régression. Aucune étude n'a rapporté ce type de résultat. En revanche, il a été montré que la détection de bactéries dans le LT pouvait être associée à une inflammation des voies respiratoires profondes (*Christley et al., 2001b; Wood et al., 2005*). Ces infections bactériennes pourraient être associées à une augmentation du taux de neutrophiles sanguins, cependant aucun lien entre la bactériologie du LT et l'asthme équin modéré n'a été mis en évidence dans cette étude.

Parmi l'ensemble des variables analysées, la culture fongique positive sur le LBA était celle ressortant comme le plus grand facteur de risque d'être mEA puisqu'il était alors 9 fois plus élevé. A ce jour, cette étude est la seule présentant ce type de résultat. Dans ce cadre, il semblerait donc intéressant d'effectuer une culture fongique en plus de la cytologie du LBA lors de suspicion d'inflammation respiratoire profonde, d'autant plus si le traitement antifongique à la nystatine semble améliorer le confort des chevaux ayant une culture positive.

C- Mise en perspective des associations entre les résultats obtenus et l'asthme équin sévère

1- Facteurs épidémiologiques

Parmi la population d'étude, l'âge moyen des individus du groupe sEA était plus élevé que celui des groupes CTL ou mEA et était de 15,4 ans. Ce résultat est cohérent avec les données disponibles dans la littérature rapportant qu'un âge supérieur à 7 ans est un facteur de risque de développement d'asthme sévère (*Couëtil et al., 2016; Couëtil and Ward, 2003; Hotchkiss et al., 2007*). L'augmentation de l'âge est d'ailleurs le seul facteur de risque identifié dans cette étude.

La plus grande prévalence de chevaux vivant au pré et recevant du foin mouillé dans le groupe sEA par rapport au CTL peut s'expliquer par la mise en place de mesure de gestion environnementale de l'asthme par les propriétaires.

2- Signes cliniques rapportés et examen clinique

Les propriétaires des chevaux atteints d'asthme équin sévère observaient significativement plus de signes cliniques (toux, dyspnée, dilatation des naseaux et intolérance à l'exercice) que ceux de chevaux CTL ou mEA. D'ailleurs, une dyspnée au repos a pu être observée par le clinicien le jour de la consultation pour plus de 97% des individus du groupe sEA. Cela est cohérent avec la littérature rapportant une toux fréquente, des efforts respiratoires augmentés au repos et une intolérance à l'exercice chez les asthmatiques sévères (*Couëtil et al., 2016; Rettmer et al., 2015; Robinson et al., 2003*).

La moyenne des notes d'état corporel était supérieure à 3 (3,2) pour le groupe sEA et était significativement plus élevée que pour les CTL et mEA. Le surpoids n'est pas rapporté comme étant lié à l'asthme équin sévère. Cette observation peut s'expliquer de deux façons, les groupes CTL et mEA étaient majoritairement constitués de trotteurs à l'entraînement et donc de chevaux sportifs maintenus en état de forme, tandis que le groupe sEA contenait plus de chevaux de loisirs. De plus, la plus grande prévalence d'intolérance à l'exercice chez les sEA limite l'activité de certains pouvant conduire à une prise de poids.

3- Analyses sanguines

Selon les résultats obtenus, une neutrophilie et/ou une hyperfibrinogénémie est associée au fait d'être classé dans le groupe sEA plutôt que CTL. Cela semble en adéquation avec la littérature. En effet, un état d'hypercoagulabilité caractérisé par une hyperfibrinogénémie chez les chevaux sEA a déjà été rapporté (*Leclere et al., 2015*). Dans cette étude, le fibrinogène ainsi que les leucocytes sanguins sont significativement plus élevés pour les sEA marquant donc une inflammation systémique. D'autres marqueurs sanguins, notamment l'haptoglobine et le sérum amyloïde A (SAA) sont rapportés comme utile dans le diagnostic d'inflammation systémique chez les sEA (*Lavoie-Lamoureux et al., 2012*). L'ajout de ces paramètres lors des analyses aurait pu être intéressant, notamment pour la détection d'inflammation aigüe grâce au SAA.

4- Endoscopie des voies respiratoires

a- Pharyngite

Les chevaux du groupe sEA avaient significativement moins de pharyngites à l'endoscopie que ceux du groupe CTL ou mEA et elles étaient de plus de grades plus faibles. Cela est en accord avec la moyenne d'âge plus élevée de ce groupe. En effet, les animaux plus jeunes sont plus à risque de développer une hyperplasie lymphoïde pharyngée (*Holcombe et al., 2006*).

b- Mucus trachéal et cytologie du LT

Le score moyen de mucus trachéal était aussi plus élevé dans le groupe sEA ce qui est cohérent puisqu'il est rapporté qu'un excès de mucus trachéal peut-être observé chez les asthmatiques sévères (*Couëtil et al., 2016; Gerber et al., 2004a; MacNamara et al., 1990; Widmer et al., 2009*). Ce score de mucus globalement plus élevé pour les sEA était d'ailleurs logiquement associé à un taux de LT d'aspect plus anormal pour ce groupe. Or, une accumulation de mucus est généralement associée à un taux plus élevé de neutrophiles dans le LT (*Kluciński and Wysocka, 2015*). Les résultats de l'étude sont cohérents avec cette observation. De fait, le groupe sEA avait un taux de neutrophiles et de cytodiagnostics d'inflammation trachéale sévère plus important que les CTL ou mEA.

5- Incidence des éléments fongiques et asthme équin sévère

La différence de prévalence d'éléments fongiques par rapport aux deux autres groupes se faisait uniquement à la cytologie. En effet, le groupe sEA avait significativement moins de spores et hyphes observables.

Le cheval est majoritairement exposé aux éléments fongiques de par son environnement, que ce soit par le biais de sa litière ou de son fourrage (*Clarke, 1987; Stewart and Cuming, 2015*). La gestion de l'environnement des membres du groupe sEA peut donc expliquer cette différence de prévalence. En effet, la majorité vivaient au pré et recevaient du foin mouillé, stérilisé ou enrubanné. Il est d'ailleurs montré que l'enrubanné réduit significativement l'inhalation de poussières par rapport au foin sec (*Olave et al., 2021*).

Toutefois, *Di Pietro et al. (2022)* ont trouvé les mêmes résultats (prévalence plus faible de moisissures) chez des asthmatiques sévères logés en box et exposés à du foin de mauvaise qualité pour leur expérience. La gestion de l'environnement n'est donc peut-être pas la seule raison de ce taux de détection plus faible. La congestion et le spasme bronchique lié à l'asthme sévère sont aussi des causes plausibles, en réduisant l'inhalation des moisissures.

Les éléments fongiques étaient certes moins prévalents lors de l'analyse cytologique des asthmatiques sévères, mais ils étaient aussi globalement moins phagocytés dans le LT. Cela peut s'expliquer par deux mécanismes : les macrophages présents phagocytent moins du fait d'une surstimulation par de nombreux agents irritants et/ou infectieux (données non publiées, *Orard et al*) ; la forte neutrophilie réduit le nombre de macrophages présents limitant ainsi la capacité de phagocytose.

Cette plus faible prévalence d'éléments fongiques pourrait donc remettre en cause l'hypothèse d'un rôle possible des moisissures dans la pathogénie de l'asthme équin sévère. Cependant, il est prouvé que les moisissures ont un rôle dans le développement de dysfonctions pulmonaires chez des asthmatiques sévères asymptomatiques avant l'exposition (*Derksen et al., 1988; Mcgorum et al., 1993; McPherson et al., 1979; Pirie et al., 2002*). Il pourrait donc être intéressant d'effectuer un suivi de ces chevaux afin de déterminer si la persistance ou l'apparition de moisissures est corrélée à l'aggravation ou au développement de signes cliniques marqués au repos ainsi que d'un taux de polynucléaires neutrophiles augmenté dans le LBA.

De plus, afin de déterminer si la présence d'éléments fongiques est liée à une inflammation active, la recherche de cytokines dans le LBA est intéressante (*Richard et al., 2014*) et est en cours, les résultats seront à confronter à ceux de détection des éléments fongiques.

Enfin, pour déterminer si l'exposition à des éléments fongiques a pu jouer un rôle sensibilisant dans le développement de sEA, la recherche d'immunoglobulines E (IgE) spécifiques des espèces fongiques les plus fréquentes peut aussi être une piste intéressante à développer (*Niedzwiedz et al., 2015; White et al., 2019*). Cette recherche peut se faire sur un échantillon sanguin ou le LBA. *Wylter et al. (2023)* ont d'ailleurs récemment montré que la technique utilisée semble meilleure sur le LBA que le sang pour la détection de l'asthme.

D- Limites de l'étude

Tout d'abord, la population était constituée de deux grands groupes : des trotteurs à l'entraînement et des chevaux référés pour troubles respiratoires. La majorité des individus CTL était des trotteurs et donc des athlètes à l'entraînement. Parmi les cas référés au CISCO, il y avait certes des chevaux de sport, mais aussi de nombreux chevaux de loisirs ou poneys, notamment parmi le groupe sEA. L'état physiologique de ces différents types de chevaux diffère donc et a pu biaiser la comparaison des résultats. Il aurait également été intéressant d'avoir trois groupes de tailles égales et donc plus d'asthmatiques sévères notamment. De plus, la majorité des asthmatiques sévères inclus dans l'étude avaient déjà été diagnostiqués précédemment, et avaient donc un environnement adapté. Il aurait été intéressant d'inclure plus de chevaux sEA dont la gestion de l'environnement n'était pas optimale (box paillés, foin sec, etc.), afin de pouvoir évaluer si cela influait sur la détection d'éléments fongiques dans leurs voies respiratoires.

Les prélèvements ont également été réalisés tout au long de l'année. Or, certaines publications ont rapporté une saisonnalité concernant la concentration en particules respirables dans les écuries (*Kutasi et al., 2011; Nardoni et al., 2005*). La saisonnalité du prélèvement a donc peut-être pu avoir un rôle sur la quantité de moisissures isolées dans les voies respiratoires.

Enfin, pour la détection d'éléments fongiques, les LBA pourraient avoir été contaminés suite au passage de l'endoscope par les voies respiratoires supérieures avant la réalisation du lavage. Cependant, le faible taux de prélèvements positifs, que ce soit en cytologie ou en culture, rend cette hypothèse peu probable.

CONCLUSION

L'asthme équin est aujourd'hui une des principales affections respiratoires du cheval. Cependant, la pathogénie de l'asthme modéré ou sévère reste imparfaitement connue. De nombreux facteurs semblent pouvoir influencer sur le développement d'un de ces deux types d'asthme (présence de poussières, bactéries, virus, moisissures, ...). La colonisation des voies respiratoires d'une majorité de chevaux par des moisissures porte donc à s'interroger sur leur rôle potentiel dans la pathogénie de l'asthme modéré et sévère.

Cette étude prospective regroupant des chevaux cliniquement sains et d'autres référés pour troubles respiratoires offre une base de données inédite. Elle inclut dans la même étude un examen complet des voies respiratoires pour des chevaux asthmatiques modérés (mEA) et sévères (sEA) et sains, permettant donc une comparaison entre ces différents groupes.

L'analyse des résultats obtenus a mis en évidence l'association de différents paramètres, avec l'asthme modéré ou sévère, déjà rapportée. Par exemple, il a été mis en évidence que les individus sEA présentent plus de signes cliniques au repos et lors du test de ventilation forcée. Les sEA et les mEA ont aussi un score de mucus trachéal plus élevé que les contrôles (CTL) ce qui est en accord avec les résultats précédemment publiés.

Selon les résultats obtenus, il apparaît que la recherche d'éléments fongiques par culture plutôt que cytologie serait plus appropriée, notamment dans le cadre de mEA. En effet, la cytologie n'est pas discriminante entre les CTL et mEA. De plus, lors d'analyse du lavage trachéal, l'identification de moisissures est très fréquente y compris pour les chevaux CTL. Ainsi, la culture fongique sur le lavage bronchoalvéolaire (LBA) est la méthode la plus spécifique pour la détection de mEA (Sp = 0,9). Une culture fongique positive sur le LBA est d'ailleurs un facteur de risque 9 fois plus élevé de mEA (OR = 8,99 ; IC [2,16 – 51,99]).

En revanche, aucun lien entre la détection de moisissures et le diagnostic de sEA n'a pu être mis en évidence. Les individus de ce groupe avaient même un taux de prélèvements positifs plus faible que les CTL ou mEA. Pourtant, il est largement rapporté que l'exposition à des poussières et moisissures exacerbe l'asthme équin sévère et aurait donc un rôle dans sa pathogénie.

Ainsi, il serait intéressant de compléter cette étude par d'autres analyses. Elles permettraient de confirmer ou non que les moisissures induisent une inflammation des voies respiratoires profondes chez les mEA et de vérifier l'existence d'une potentielle sensibilisation chez les sEA. La recherche de cytokines inflammatoires dans le LBA serait un complément intéressant afin d'estimer si les moisissures induisent une inflammation pulmonaire. Concernant les sEA, la recherche d'immunoglobulines E spécifiques de certains champignons dans le LBA pourrait permettre d'objectiver une sensibilisation à ces moisissures.

BIBLIOGRAPHIE

- Back, H., Penell, J., Pringle, J., Isaksson, M., Ronéus, N., Treiberg Berndtsson, L., Ståhl, K., 2015a. A longitudinal study of poor performance and subclinical respiratory viral activity in Standardbred trotters. *Vet. Rec. Open* 2, e000107. <https://doi.org/10.1136/vetreco-2014-000107>
- Back, H., Ullman, K., Treiberg Berndtsson, L., Riihimäki, M., Penell, J., Ståhl, K., Valarcher, J.-F., Pringle, J., 2015b. Viral load of equine herpesviruses 2 and 5 in nasal swabs of actively racing Standardbred trotters: Temporal relationship of shedding to clinical findings and poor performance. *Vet. Microbiol.* 179, 142–148. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.06.002>
- Beeler-Marfisi, J., Clark, M.E., Wen, X., Sears, W., Huber, L., Ackerley, C., Viel, L., Bienzle, D., 2010. Experimental induction of recurrent airway obstruction with inhaled fungal spores, lipopolysaccharide, and silica microspheres in horses. *Am. J. Vet. Res.* 71, 682–689. <https://doi.org/10.2460/ajvr.71.6.682>
- Borman, A.M., Palmer, M.D., Delhaes, L., Carrère, J., Favennec, L., Ranque, S., Gangneux, J.-P., Horré, R., Bouchara, J.-P., 2010. Lack of standardization in the procedures for mycological examination of sputum samples from CF patients: a possible cause for variations in the prevalence of filamentous fungi. *Med. Mycol.* 48 Suppl 1, S88-97. <https://doi.org/10.3109/13693786.2010.511287>
- Bowser, J.E., Costa, L.R.R., Rodil, A.U., Lopp, C.T., Johnson, M.E., Wills, R.W., Swiderski, C.E., 2018. Effect of a syringe aspiration technique versus a mechanical suction technique and use of N-butylscopolammonium bromide on the quantity and quality of bronchoalveolar lavage fluid samples obtained from horses with the summer pasture endophenotype of equine asthma. *Am. J. Vet. Res.* 79, 348–355. <https://doi.org/10.2460/ajvr.79.3.348>
- Cardwell, J.M., Smith, K.C., Wood, J.L.N., Newton, J.R., 2014. Infectious risk factors and clinical indicators for tracheal mucus in British National Hunt racehorses. *Equine Vet. J.* 46, 150–155. <https://doi.org/10.1111/evj.12109>
- Cardwell, J.M., Smith, K.C., Wood, J.L.N., Newton, J.R., 2013. A longitudinal study of respiratory infections in British National Hunt racehorses. *Vet. Rec.* 172, 637. <https://doi.org/10.1136/vr.101520>
- Cardwell, J.M., Wood, J.L.N., Smith, K.C., Newton, J.R., 2011. Descriptive results from a longitudinal study of airway inflammation in British National Hunt racehorses. *Equine Vet. J.* 43, 750–755. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.00338.x>
- Chiesa, O.A., Cuenca, R., Mayayo, E., Guarro, J., Santamaria, J., Stchigel, A.M., 2002. Cytological and microbiological findings in guttural pouch lavages of clinically normal horses with head restraint. *Aust. Vet. J.* 80, 234–238. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2002.tb10822.x>
- Chiesa, O.A., Vidal, D., Domingo, M., Cuenca, R., 1999. Cytological and bacteriological findings in guttural pouch lavages of clinically normal horses. *Vet. Rec.* 144, 346–349. <https://doi.org/10.1136/vr.144.13.346>
- Chishimba, L., Niven, R.M., Cooley, J., Denning, D.W., 2012. Voriconazole and posaconazole improve asthma severity in allergic bronchopulmonary aspergillosis and severe asthma with fungal sensitization. *J. Asthma Off. J. Assoc. Care Asthma* 49, 423–433. <https://doi.org/10.3109/02770903.2012.662568>
- Christley, R.M., Hodgson, D.R., Rose, R.J., Hodgson, J.L., Wood, J.L., Reid, S.W., 2001a. Coughing in thoroughbred racehorses: risk factors and tracheal endoscopic and cytological findings. *Vet. Rec.* 148, 99–104. <https://doi.org/10.1136/vr.148.4.99>
- Christley, R.M., Hodgson, D.R., Rose, R.J., Reid, S.W.J., Hodgson, J.L., 1999. Comparison of bacteriology and cytology of tracheal fluid samples collected by percutaneous transtracheal aspiration or via an endoscope using a plugged, guarded catheter. *Equine Vet. J.* 31, 197–

202. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1999.tb03172.x>
- Christley, R.M., Hodgson, D.R., Rose, R.J., Wood, J.L., Reids, S.W., Whitear, K.G., Hodgson, J.L., 2001b. A case-control study of respiratory disease in Thoroughbred racehorses in Sydney, Australia. *Equine Vet. J.* 33, 256–264. <https://doi.org/10.2746/042516401776249796>
- Clarke, A., 1987. Air hygiene and equine respiratory disease. In *Pract.* 9. <https://doi.org/10.1136/inpract.9.6.196>
- Couëtil, L., Cardwell, J.M., Leguillette, R., Mazan, M., Richard, E., Bienzle, D., Bullone, M., Gerber, V., Ivester, K., Lavoie, J.-P., Martin, J., Moran, G., Niedźwiedz, A., Pusterla, N., Swiderski, C., 2020. Equine Asthma: Current Understanding and Future Directions. *Front. Vet. Sci.* 7.
- Couëtil, L., Hammer, J., Miskovic Feutz, M., Nogradi, N., Perez-Moreno, C., Ivester, K., 2012. Effects of N-butylscopolammonium bromide on lung function in horses with recurrent airway obstruction. *J. Vet. Intern. Med.* 26, 1433–1438. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00992.x>
- Couëtil, L.L., Cardwell, J.M., Gerber, V., Lavoie, J.-P., Léguillette, R., Richard, E.A., 2016. Inflammatory Airway Disease of Horses—Revised Consensus Statement. *J. Vet. Intern. Med.* 30, 503–515. <https://doi.org/10.1111/jvim.13824>
- Couëtil, L.L., Thompson, C.A., 2020. Airway Diagnostics: Bronchoalveolar Lavage, Tracheal Wash, and Pleural Fluid. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract., Clinical Pathology for the Equine Practitioner* 36, 87–103. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2019.12.006>
- Couëtil, L.L., Ward, M.P., 2003. Analysis of risk factors for recurrent airway obstruction in North American horses: 1,444 cases (1990-1999). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 223, 1645–1650. <https://doi.org/10.2460/javma.2003.223.1645>
- Dauvillier, J., Ter Woort, F., van Erck-Westergren, E., 2019. Fungi in respiratory samples of horses with inflammatory airway disease. *J. Vet. Intern. Med.* 33, 968–975. <https://doi.org/10.1111/jvim.15397>
- Denning, D.W., O’Driscoll, B.R., Powell, G., Chew, F., Atherton, G.T., Vyas, A., Miles, J., Morris, J., Niven, R.M., 2009. Randomized controlled trial of oral antifungal treatment for severe asthma with fungal sensitization: The Fungal Asthma Sensitization Trial (FAST) study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 179, 11–18. <https://doi.org/10.1164/rccm.200805-737OC>
- Denning, D.W., Pashley, C., Hartl, D., Wardlaw, A., Godet, C., Del Giacco, S., Delhaes, L., Sergejeva, S., 2014. Fungal allergy in asthma—state of the art and research needs. *Clin. Transl. Allergy* 4, 14. <https://doi.org/10.1186/2045-7022-4-14>
- Depecker, M., Richard, E.A., Pitel, P.-H., Fortier, G., Leleu, C., Couroucé-Malblanc, A., 2014. Bronchoalveolar lavage fluid in Standardbred racehorses: influence of unilateral/bilateral profiles and cut-off values on lower airway disease diagnosis. *Vet. J. Lond. Engl.* 199, 150–156. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.10.013>
- Derksen, F.J., Brown, C.M., Sonea, I., Darien, B.J., Robinson, N.E., 1989. Comparison of transtracheal aspirate and bronchoalveolar lavage cytology in 50 horses with chronic lung disease. *Equine Vet. J.* 21, 23–26. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1989.tb02084.x>
- Derksen, F.J., Robinson, N.E., Scott, J.S., Stick, J.A., 1988. Aerosolized *Micropolyspora faeni* antigen as a cause of pulmonary dysfunction in ponies with recurrent airway obstruction (heaves). *Am. J. Vet. Res.* 49, 933–938.
- Di Pietro, R., Dubuc, V., Manguin, E., Giroux-Lafond, R., Bédard, C., Boivin, R., Lavoie, J.-P., Vesper, S.J., Leclere, M., 2022. Characterization of fungal exposure and dectin-1 expression in healthy horses and horses with severe asthma. *Am. J. Vet. Res.* 83, ajvr.21.09.0143. <https://doi.org/10.2460/ajvr.21.09.0143>
- Dobesova, O., Bezdekova, B., 2016. Cytological and bacteriological evaluation of transendoscopic guttural pouch lavages in clinically healthy horses. *Acta Vet. Hung.* 64, 179–188. <https://doi.org/10.1556/004.2016.018>

- Doubli-Bounoua, N., Richard, E.A., Léon, A., Pitel, P.-H., Pronost, S., Fortier, G., 2016. Multiple molecular detection of respiratory viruses and associated signs of airway inflammation in racehorses. *Viol. J.* 13, 197. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0657-5>
- Fortier, G., Richard, E., Hue, E., Fortier, C., Pronost, S., Pottier, D., Lemaitre, L., Lekeux, P., Borchers, K., Thiry, E., 2013. Long-lasting airway inflammation associated with equid herpesvirus-2 in experimentally challenged horses. *Vet. J.* 197, 492–495. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.12.027>
- Fortier, G., van Erck, E., Fortier, C., Richard, E., Pottier, D., Pronost, S., Mischczak, F., Thiry, E., Lekeux, P., 2009. Herpesviruses in respiratory liquids of horses: Putative implication in airway inflammation and association with cytological features. *Vet. Microbiol.* 139, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.04.021>
- Gerber, V., Lindberg, A., Berney, C., Robinson, N.E., 2004a. Airway mucus in recurrent airway obstruction—short-term response to environmental challenge. *J. Vet. Intern. Med.* 18, 92–97. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2004\)18<92:amirao>2.0.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2004)18<92:amirao>2.0.co;2)
- Gerber, V., Straub, R., Marti, E., Hauptman, J., Herholz, C., King, M., Imhof, A., Tahon, L., Robinson, N.E., 2004b. Endoscopic scoring of mucus quantity and quality: observer and horse variance and relationship to inflammation, mucus viscoelasticity and volume. *Equine Vet. J.* 36, 576–582. <https://doi.org/10.2746/0425164044864525>
- Gy, C., Leclere, M., Vargas, A., Grimes, C., Lavoie, J.-P., 2019. Investigation of blood biomarkers for the diagnosis of mild to moderate asthma in horses. *J. Vet. Intern. Med.* 33, 1789–1795. <https://doi.org/10.1111/jvim.15505>
- Hermange, T., Le Corre, S., Bizon, C., Richard, E.A., Couroucé, A., 2019. Bronchoalveolar lavage fluid from both lungs in horses: Diagnostic reliability of cytology from pooled samples. *Vet. J. Lond. Engl.* 1997 244, 28–33. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.12.002>
- Hinchcliff, K.W., Jackson, M.A., Brown, J.A., Dredge, A.F., O’Callaghan, P.A., McCaffrey, J.P., Morley, P.S., Slocombe, R.E., Clarke, A.F., 2005. Tracheobronchoscopic assessment of exercise-induced pulmonary hemorrhage in horses. *Am. J. Vet. Res.* 66, 596–598. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.596>
- Holcombe, S.J., Robinson, N.E., Derksen, F.J., Bertold, B., Genovese, R., Miller, R., Rupp, H.D.F., Carr, E.A., Eberhart, S.W., Boruta, D., Kaneene, J.B., 2006. Effect of tracheal mucus and tracheal cytology on racing performance in Thoroughbred racehorses. *Equine Vet. J.* 38, 300–304. <https://doi.org/10.2746/042516406777749191>
- Hotchkiss, J.W., Reid, S.W.J., Christley, R.M., 2007. A survey of horse owners in Great Britain regarding horses in their care. Part 2: Risk factors for recurrent airway obstruction. *Equine Vet. J.* 39, 301–308. <https://doi.org/10.2746/042516407x180129>
- Houtsma, A., Bedenice, D., Pusterla, N., Pugliese, B., Mapes, S., Hoffman, A.M., Paxson, J., Rozanski, E., Mukherjee, J., Wigley, M., Mazan, M.R., 2015. Association between inflammatory airway disease of horses and exposure to respiratory viruses: a case control study. *Multidiscip. Respir. Med.* 10, 33. <https://doi.org/10.1186/s40248-015-0030-3>
- Jackson, D.J., Gangnon, R.E., Evans, M.D., Roberg, K.A., Anderson, E.L., Pappas, T.E., Printz, M.C., Lee, W.-M., Shult, P.A., Reisdorf, E., Carlson-Dakes, K.T., Salazar, L.P., DaSilva, D.F., Tisler, C.J., Gern, J.E., Lemanske, R.F., 2008. Wheezing Rhinovirus Illnesses in Early Life Predict Asthma Development in High-Risk Children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 178, 667–672. <https://doi.org/10.1164/rccm.200802-309OC>
- Kluciński, W., Wysocka, B., 2015. Cytological evaluation of tracheal aspirate and broncho-alveolar lavage fluid in comparison to endoscopic assessment of lower airways in horses with recurrent airways obstruction or inflammatory airway disease. *Pol. J. Vet. Sci.* 2015 No 3.
- Koblinger, K., Nicol, J., McDonald, K., Wasko, A., Logie, N., Weiss, M., Léguillette, R., 2011. Endoscopic assessment of airway inflammation in horses. *J. Vet. Intern. Med.* 25, 1118–1126.

- <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00788.x>
- Kumar, S., Roy, R.D., Sethi, G.R., Saigal, S.R., 2019. Mycoplasma pneumoniae infection and asthma in children. *Trop. Doct.* 49, 117–119. <https://doi.org/10.1177/0049475518816591>
- Kutasi, O., Balogh, N., Lajos, Z., Nagy, K., Szenci, O., 2011. Diagnostic Approaches for the Assessment of Equine Chronic Pulmonary Disorders. *J. Equine Vet. Sci.* - J EQUINE VET SCI 31, 400–410. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2011.03.018>
- Lavoie-Lamoureux, A., Leclere, M., Lemos, K., Wagner, B., Lavoie, J.-P., 2012. Markers of Systemic Inflammation in Horses with Heaves. *J. Vet. Intern. Med.* 26, 1419–1426. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00993.x>
- Le Corre, S., Camdeborde, P., Cadoré, J.L., 2017. Réalisation d'une auscultation thoracique chez le cheval - Pratique Vétérinaire Equine n° 196 du 01/10/2017 [WWW Document]. URL <https://www.lepointveterinaire.fr/publications/pratique-veterinaire-equine/article/n-196/realisation-d-une-auscultation-thoracique-chez-le-cheval.html> (accessed 2.14.23).
- Leclere, M., Bédard, C., Cortes-Dubly, M.-L., Lavoie, J.-P., 2015. Blood hypercoagulability and systemic inflammation in horses with heaves. *Vet. J. Lond. Engl.* 197 206, 105–107. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.04.012>
- Lindgaard, C., Husted, L., Ullum, H., Fjeldborg, J., 2007. Sedation with detomidine and acepromazine influences the endoscopic evaluation of laryngeal function in horses. *Equine Vet. J.* 39, 553–556. <https://doi.org/10.2746/042516407X204177>
- MacNamara, B., Bauer, S., Iafe, J., 1990. Endoscopic evaluation of exercise-induced pulmonary hemorrhage and chronic obstructive pulmonary disease in association with poor performance in racing Standardbreds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 196, 443–445.
- Malikides, N., Hughes, K., Hodgson, D., Hodgson, J., 2003. Comparison of tracheal aspirates and bronchoalveolar lavage in racehorses 2. Evaluation of the diagnostic significance of neutrophil percentage. *Aust. Vet. J.* 81, 685–687. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2003.tb12540.x>
- Manguin, E., Pépin, E., Boivin, R., Leclere, M., 2020. Tracheal microbial populations in horses with moderate asthma. *J. Vet. Intern. Med.* 34, 986–995. <https://doi.org/10.1111/jvim.15707>
- Martineau, M., Castagnet, S., Kokabi, E., Tricot, A., Jaÿ, M., Léon, A., Tardy, F., 2022. Detection of Mycoplasma spp. in horses with respiratory disorders. *Equine Vet. J.* n/a. <https://doi.org/10.1111/evj.13918>
- McGorum, B.C., Dixon, P.M., Halliwell, R.E.W., 1993. Responses of horses affected with chronic obstructive pulmonary disease to inhalation challenges with mould antigens. *Equine Vet. J.* 25, 261–267. <https://doi.org/10.1111/evj.1993.25.issue-4>
- McPherson, E.A., Lawson, G.H., Murphy, J.R., Nicholson, J.M., Breeze, R.G., Pirie, H.M., 1979. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in horses: aetiological studies: responses to intradermal and inhalation antigenic challenge. *Equine Vet. J.* 11, 159–166. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1979.tb01330.x>
- METE, A., ÖZGÜR, N., 2017. Investigation of the presence of Mycoplasma as an etiologic agent of inflammatory airway diseases in thoroughbred racehorses in İstanbul Province. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 41, 365–371. <https://doi.org/10.3906/vet-1606-90>
- Nardoni, S., Mancianti, F., Sgorbini, M., Taccini, F., Corazza, M., 2005. Identification and seasonal distribution of airborne fungi in three horse stables in Italy. *Mycopathologia* 160, 29–34. <https://doi.org/10.1007/s11046-005-2669-3>
- Niedzwiedz, A., Jaworski, Z., Kubiak, K., 2015. Serum concentrations of allergen-specific IgE in horses with equine recurrent airway obstruction and healthy controls assessed by ELISA. *Vet. Clin. Pathol.* 44, 391–396. <https://doi.org/10.1111/vcp.12274>
- Olave, C.J., Ivester, K.M., Couëtil, L.L., Kritchevsky, J.E., Tinkler, S.H., Mukhopadhyay, A., 2021. Dust exposure and pulmonary inflammation in Standardbred racehorses fed dry hay or haylage:

- A pilot study. *Vet. J. Lond. Engl.* 1997 271, 105654. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105654>
- Orard, M., Depecker, M., Hue, E., Pitel, P.-H., Couroucé-Malblanc, A., Richard, E.A., 2016. Influence of bronchoalveolar lavage volume on cytological profiles and subsequent diagnosis of inflammatory airway disease in horses. *Vet. J. Lond. Engl.* 1997 207, 193–195. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.09.027>
- Pashley, C.H., Fairs, A., Morley, J.P., Tailor, S., Agbetile, J., Bafadhel, M., Brightling, C.E., Wardlaw, A.J., 2012. Routine processing procedures for isolating filamentous fungi from respiratory sputum samples may underestimate fungal prevalence. *Med. Mycol.* 50, 433–438. <https://doi.org/10.3109/13693786.2011.615762>
- Pirie, R.S., Collie, D.D.S., Dixon, P.M., McGorum, B.C., 2003. Inhaled endotoxin and organic dust particulates have synergistic proinflammatory effects in equine heaves (organic dust-induced asthma). *Clin. Exp. Allergy J. Br. Soc. Allergy Clin. Immunol.* 33, 676–683. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2003.01640.x>
- Pirie, R.S., McLachlan, G., McGorum, B.C., 2002. Evaluation of nebulised hay dust suspensions (HDS) for the diagnosis and investigation of heaves. 1: Preparation and composition of HDS. *Equine Vet. J.* 34, 332–336. <https://doi.org/10.2746/042516402776249092>
- Radiographic determination of the location of a blindly passed bronchoalveolar lavage catheter - McKANE - 1993 - *Equine Veterinary Education - Wiley Online Library [WWW Document]*, n.d. URL <https://beva.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.2042-3292.1993.tb01064.x> (accessed 5.31.23).
- Raker, C., Boles, C., 1978. Pharyngeal lymphoid hyperplasia in the horse. *J. Equine Med. Surg.* 202–7.
- Rettmer, H., Hoffman, A.M., Lanz, S., Oertly, M., Gerber, V., 2015. Owner-reported coughing and nasal discharge are associated with clinical findings, arterial oxygen tension, mucus score and bronchoprovocation in horses with recurrent airway obstruction in a field setting. *Equine Vet. J.* 47, 291–295. <https://doi.org/10.1111/evj.12286>
- Richard, E. a., Depecker, M., Defontis, M., Leleu, C., Fortier, G., Pitel, P.-H., Couroucé-Malblanc, A., 2014. Cytokine Concentrations in Bronchoalveolar Lavage Fluid from Horses with Neutrophilic Inflammatory Airway Disease. *J. Vet. Intern. Med.* 28, 1838–1844. <https://doi.org/10.1111/jvim.12464>
- Richard, E.A., Fortier, G.D., Lekeux, P.M., Erck, E.V., 2010a. Laboratory findings in respiratory fluids of the poorly-performing horse. *Vet. J.* 185, 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.05.003>
- Richard, E.A., Fortier, G.D., Pitel, P.-H., Dupuis, M.-C., Valette, J.-P., Art, T., Denoix, J.-M., Lekeux, P.M., Erck, E.V., 2010b. Sub-clinical diseases affecting performance in Standardbred trotters: Diagnostic methods and predictive parameters. *Vet. J.* 184, 282–289. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.04.016>
- Robinson, N.E., 2004. Consensus statements on equine recurrent laryngeal neuropathy: conclusions of the Havemeyer Workshop. *Equine Vet. Educ.* 16, 333–336. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2004.tb00323.x>
- Robinson, N.E., Berney, C., Eberhart, S., deFeijter-Rupp, H.L., Jefcoat, A.M., Cornelisse, C.J., Gerber, V.M., Derksen, F.J., 2003. Coughing, mucus accumulation, airway obstruction, and airway inflammation in control horses and horses affected with recurrent airway obstruction. *Am. J. Vet. Res.* 64, 550–557. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2003.64.550>
- Rossi, H., Virtala, A.-M., Raekallio, M., Rahkonen, E., Rajamäki, M.M., Mykkänen, A., 2018. Comparison of Tracheal Wash and Bronchoalveolar Lavage Cytology in 154 Horses With and Without Respiratory Signs in a Referral Hospital Over 2009–2015. *Front. Vet. Sci.* 5, 61. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00061>

- Shil, P.K., Wawegama, N.K., Browning, G.F., Noormohammadi, A.H., Marenda, M.S., 2022. Mycoplasmas, in: Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 667–700. <https://doi.org/10.1002/9781119754862.ch31>
- Stewart, A.J., Cuming, R.S., 2015. Update on fungal respiratory disease in horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 31, 43–62. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2014.11.005>
- Uchida-Fujii, E., Kinoshita, Y., Niwa, H., Maeda, T., Nukada, T., Ueno, T., 2021. High prevalence of *Mycoplasma equirhinis* in Thoroughbred horses with respiratory symptoms in autumn 2018. *J. Vet. Med. Sci.* 83, 1907–1912. <https://doi.org/10.1292/jvms.21-0163>
- Westermann, C.M., Laan, T.T., van Nieuwstadt, R.A., Bull, S., Fink-Gremmels, J., 2005. Effects of antitussive agents administered before bronchoalveolar lavage in horses. *Am. J. Vet. Res.* 66, 1420–1424. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.1420>
- White, S., Moore-Colyer, M., Marti, E., Coüetil, L., Hannant, D., Richard, E.A., Alcocer, M., 2019. Development of a comprehensive protein microarray for immunoglobulin E profiling in horses with severe asthma. *J. Vet. Intern. Med.* 33, 2327–2335. <https://doi.org/10.1111/jvim.15564>
- Widmer, A., Doherr, M.G., Tessier, C., Koch, C., Ramseyer, A., Straub, R., Gerber, V., 2009. Association of increased tracheal mucus accumulation with poor willingness to perform in show-jumpers and dressage horses. *Vet. J. Lond. Engl.* 197, 430–435. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.08.015>
- Wood, J.L., Chanter, N., Newton, J.R., Burrell, M.H., Dugdale, D., Windsor, H.M., Windsor, G.D., Rosendal, S., Townsend, H.G., 1997. An outbreak of respiratory disease in horses associated with *Mycoplasma felis* infection. *Vet. Rec.* 140, 388–391. <https://doi.org/10.1136/vr.140.15.388>
- Wood, J.L.N., Newton, J.R., Chanter, N., Mumford, J.A., 2005. Association between Respiratory Disease and Bacterial and Viral Infections in British Racehorses. *J. Clin. Microbiol.* 43, 120–126. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.1.120-126.2005>
- Wyler, M., Sage, S.E., Marti, E., White, S., Gerber, V., 2023. Protein microarray allergen profiling in bronchoalveolar lavage fluid and serum of horses with asthma. *J. Vet. Intern. Med.* 37, 328–337. <https://doi.org/10.1111/jvim.16600>

Annexe

Annexe 1. Fiche de demande d'analyse et d'informations.



Reçu le : _____ à _____ T° : _____
Par _____ Agent : _____
Prélèvement

Dossier n° : _____



DEMANDE D'ANALYSES - ÉTUDE MOLDEA - PHASE EPIDEMIOLOGIE

Dr Vétérinaire : MME Anne COUROUCÉ Propriétaire : _____
Adresse : ONIRIS-ENV, la Chanterie, 44307 Nantes cedex 3 Adresse : _____
Email : anne.courouce@oniris-nantes.fr _____
Prélèvement effectué le : _____

Nom du cheval : _____

Race : _____ Sexe : _____ Date de naissance : _____ Numéro SIRE : _____

ÉCHANTILLONS

Volumes des lavages

- ✓ Poches gutturales : Gauche : Volume récupéré : _____ ml Droite : Volume récupéré : _____ ml
✓ lavage trachéal : Volume récupéré : _____ ml
✓ Lavages bronchoalvéolaires :
Gauche : Volume récupéré : _____ ml Droite : Volume récupéré : _____ ml

ANALYSES

- ✓ NF - Autres analyses :
✓ Cytologie : coloration MGG
 Mélange Poches gutturales, LT, LBA droit, LAB gauche, LBA Mélange
✓ Bactériologie :
 LT, forfait respiratoire.
✓ Mycologie :
 Mélange des 2 Poches gutturales, LBA, Mélange des 2 poumons
 LT - identification quel que soit le nombre de colonie, Quantification en masse.
✓ Biologie Moléculaire :
 Mélange Poches gutturales, PCR *Strepto. equi*.
 Lavage trachéal, Forfait respiratoire équin (8 valences). EHV-1, EHV-2, EHV-4, EHV-5, Grippe, Rhinovirus A, Rhinovirus B, Adenovirus 1.
✓ **Analyses à facturer au propriétaire**

COMMÉMORATIFS

Environnement et alimentation:

Hébergement : Box, Pré, Paddock (herbe - sable - autre _____), Mixte

Litière : Paille, Copeaux, Autre _____

Fourrage : Foin sec, Foin trempé, Foin stérilisé, Enrubanné, présentation en filet, présentation à terre

Suppléments : Céréales, Concentrés (granulés, mash,...), compléments : _____

Entraînement :

Repos, depuis le _____ Entraînement, depuis le _____

Compétition, type : _____ Nombre de départs : _____ Classement : _____

Signes cliniques

Dyspnée;

Toux : rare, fréquente, début d'exercice

Jetage : séreux, muqueux, purulent

Dilatation des naseaux Oui Non

Contre-performance; Intolérance à l'effort; Épistaxis; Autres _____

Examen clinique & endoscopie

Etat corporel : ___/5 T° rectale (°C) : _____ FC (bat/min) : _____ FR (mvts/min) : _____

Pharyngite : ___/4 Larynx : _____ Poches gutturales : _____

Aspect des muqueuses :

normales, congestionnées, pâles, cyanosées, jaunes-oran ge, TRC :

Ganglions sous-mandibulaires :

non palpables, palpables, hypertrophiés, douloureux.

Courbe respiratoire :

Auscultation au sac : Oui Non,

Tolérance : Bonne, Mauvaise. Temps de récupération : Normal, Augmenté.

Crépitements, Sifflements (intensité: léger, modéré, marqué)

Toux déclenchée (sac / endoscopie); Sang trachéal (___ / 4); Mucus trachéal (___ / 5); Autres _____

Pôle d'analyses et de recherche de Normandie

LABÉO Norme Danconbe - 1, route de Rosel - Saint-Carlost - 14 053 CACH Cedex 4 - Pôle Santé : 02 31 47 25 23 - ife-gat@pdrnormandie-labeo.fr
Laboratoire agréé sur les matières de l'Agriculture, de la Santé, de l'Environnement et de l'Économie. Pôle de référence aux sélections de nos laboratoires.
Avis-Statuts COFRAC N° 1-5906 et N° 2-5207. Pôle d'analyses sur www.labeo.fr

DESA005-V86-01/1/2020

Gabin LE DIGARCHER

RELATION ENTRE L'ASTHME EQUIN ET LA PRESENCE D'ELEMENTS FONGIQUES DANS LES VOIES RESPIRATOIRES : ETUDE EXPERIMENTALE DANS UNE POPULATION DE 82 TROTTEURS FRANÇAIS A L'ENTRAINEMENT ET 84 CHEVAUX REFERES POUR TROUBLES RESPIRATOIRES.

ASSOCIATION BETWEEN EQUINE ASTHMA AND THE PRESENCE OF FUNGAL ELEMENTS IN AIRWAYS: EXPERIMENTAL STUDY IN A POPULATION OF 82 FRENCH STANDARDBREDS IN TRAINING AND 84 HORSES REFERRED FOR RESPIRATORY DISEASE.

Thèse d'État de Doctorat Vétérinaire : Nantes, le 18 Juillet 2023

RESUME

Des éléments fongiques sont régulièrement détectés dans les voies respiratoires des chevaux, sans certitude quant à leur incidence clinique, notamment leur lien avec le développement d'asthme équin modéré ou sévère.

Après réalisation d'un examen clinique, d'une endoscopie des voies respiratoires supérieures, d'un LT et d'un LBA, 155 individus ont été classés en 3 groupes : contrôle (n= 35), asthmatique modéré (n= 85) et asthmatique sévère (n= 35). Les résultats de ces trois groupes ont pu être comparés pour différents éléments et notamment pour les moisissures (culture fongique ou identification à la cytologie).

Une culture fongique positive, sur le LT et le LBA, était significativement plus présente dans le groupe d'asthme équin modéré (89,4% et 31,8%) comparé au contrôle (68,6% et 8,6%). La culture sur le LBA s'est révélée plus spécifique (0,9) que sur le LT, mais peu sensible dans les deux cas. Une culture fongique positive sur le LBA était un facteur de risque 9 fois plus élevé d'être diagnostiqué asthmatique modéré.

Concernant les asthmatiques sévères, aucune différence significative par rapport aux contrôles ou aux asthmatiques modérés n'a été constatée à la culture. Ils avaient en revanche, sur le LT et le LBA, des taux d'éléments fongiques visibles à la cytologie significativement plus faible que les deux autres groupes.

Aucun autre lien entre la détection de bactéries, virus ou mycoplasmes et l'asthme équin modéré ou sévère n'a été mis en évidence.

MOTS CLES : Cheval, Équidé, Trotteur Français, Asthme, Moisissure, Spore Fongique

DATE DE SOUTENANCE : 18 Juillet 2023