

UNIVERSITÉ DE RENNES 1

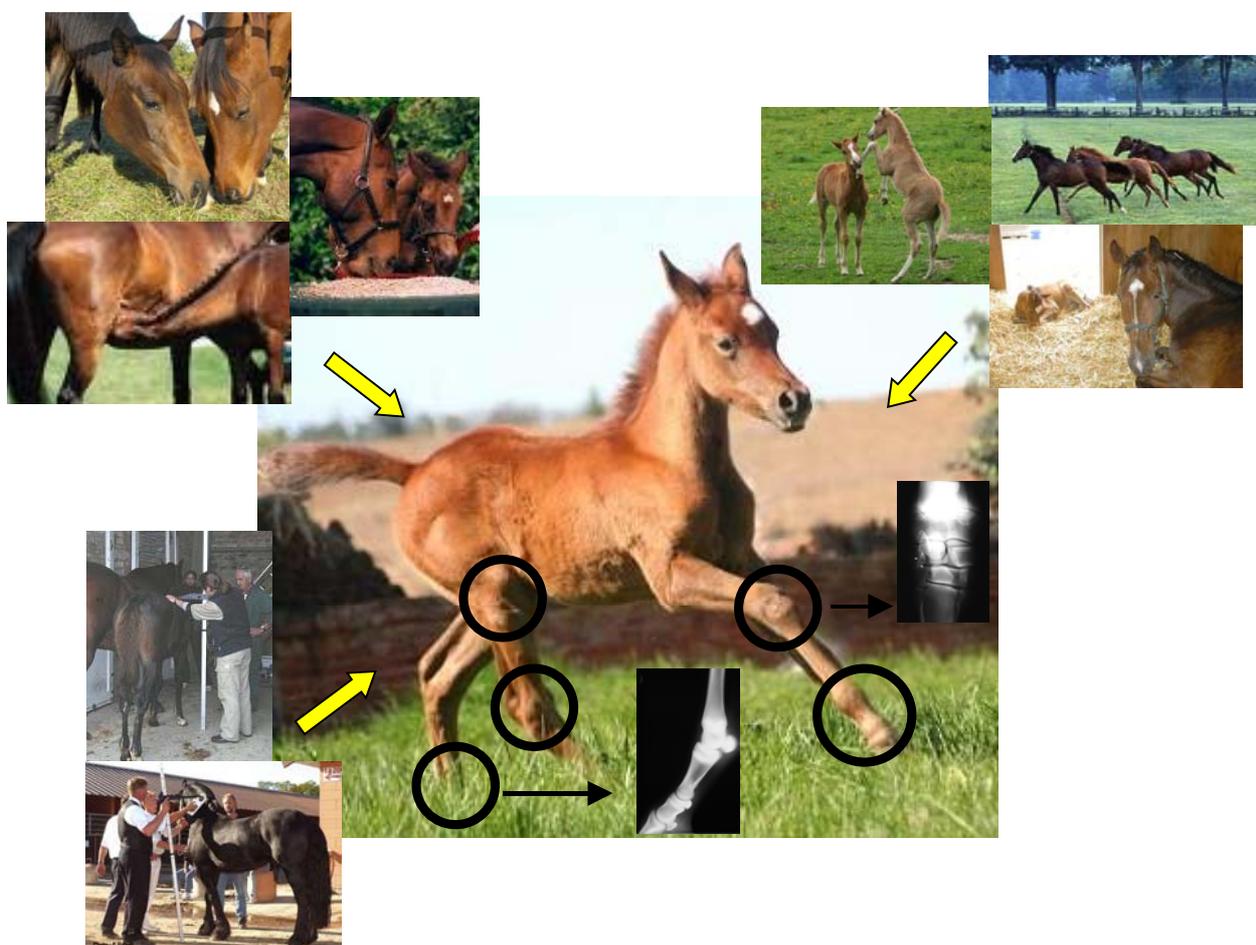
THÈSE DOCTORALE N°3576

Soutenue le 16 Octobre 2007

UMR 708 ENV Nantes & INRA : Gestion de la Santé Animale
UMR 957 ENV Alfort & INRA : Biomécanique et Pathologie Locomotrice du Cheval

Epidémiologie Descriptive et Analytique des Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles chez le Cheval

Johanna LEPEULE



THÈSE

présentée

DEVANT L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

pour obtenir

le grade de : ***DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1***

Mention : Biologie

PAR

Johanna LEPEULE

Équipes d'accueil : UMR 708 ENV Nantes & INRA Gestion de la Santé Animale
UMR 957 ENV Alfort & INRA Biomécanique et Pathologie
Locomotrice du Cheval

École Doctorale : Vie - Agronomie - Santé

Composante universitaire : INRA - École Nationale Vétérinaire de Nantes

**ÉPIDÉMIOLOGIE DESCRIPTIVE ET ANALYTIQUE DES AFFECTIONS
OSTEO-ARTICULAIRES JUVENILES CHEZ LE CHEVAL**

Soutenue le 16 Octobre 2007 devant la Commission d'Examen

COMPOSITION DU JURY :

Rapporteurs : Vincent DUCROCQ, **Directeur de Recherche à l'INRA de Jouy en Josas**
René VAN WEEREN, **Professeur à la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université d'Utrecht, Pays Bas**

Examineurs : Renaud LANCELOT, **Chargé de mission au CIRAD**
David CAUSEUR, **Professeur à Agrocampus, Rennes**
Jean-Sébastien PIERRE, **Professeur à l'Université de Rennes 1**
Henri SEEGER, **Professeur à l'ENV de Nantes**
Jean-Marie DENOIX, **Professeur à l'ENV d'Alfort**

Remerciements

Petit préambule...

Et voilà 3 ans tout juste. Fin d'une étape riche en rebondissements et en émotions ... Et voici la mythique page des remerciements : signe de l'achèvement tout proche de trois longues années de dur labeur et de la vie d'étudiant bien sûr ... Peu de lecteurs s'aventurent au delà de ces quelques pages. Les remerciements sont, en règle générale, la partie la plus lue des thèses, bien que pas la plus évidente à écrire... Pour une fois que je ne suis pas tenue d'être « claire et concise », je vais donc profiter de ces quelques pages qui me sont offertes !

Avant tout j'aimerais rapporter les propos récents d'un professeur qui témoignait dans un dossier intitulé « Oser le doctorat » (Objectif recherche n°29, novembre 2006, <http://www.ulg.ac.be/obj-rech/fr/Journal29.pdf>) : « *Le doctorat, c'est seulement une question de résilience, de résistance, de survivance.* » ... « *Quand tu as ton doctorat, on s'en fiche de ce que tu as étudié, mais on sait que tu es un survivant, et c'est ça qui fait ta force, ta puissance, ton succès.* ». C'est joliment dit et je ne peux que souscrire. La réalisation d'une thèse (et notamment celle-ci ...) exige beaucoup d'énergie et de persévérance, la remise en question est permanente, la valorisation reste souvent problématique, et l'environnement et la culture de la recherche sont parfois déstabilisants. Cependant et bien heureusement, le doctorat ne se résume pas seulement à cela. Aujourd'hui, la fin est proche et je retire un certain enrichissement et une grande satisfaction personnelle à l'issue de ces 3 années. Même si le chemin est encore long, le meilleur reste à venir ! Et j'espère bien que ce métier me nourrira intellectuellement encore longtemps.

« Le bon vieux temps est tout ce que la mémoire range dans ses débarras en gommant le médiocre pour ne retenir que le meilleur. », Philippe Bouvard.

Remerciements

Il n'y a pas de thèse sans l'évaluation de la qualité de la recherche par un jury. Je tiens donc à remercier chaleureusement les membres de mon jury pour avoir accepté de juger ce travail avec conscience et impartialité. Parmi eux, je suis heureuse de pouvoir compter Vincent Ducrocq de l'INRA¹ de Jouy en Josas et René van Weeren de l'Université d'Utrecht en qualité de rapporteurs de cette thèse. Je suis particulièrement sensible à l'honneur qu'ils me font, Monsieur Vincent Ducrocq en s'intéressant à ce travail et en y apportant son expertise statistique et Monsieur René van Weeren en apportant toute sa connaissance et son expertise sur les AOAJ du cheval. Qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond respect et de mes sincères remerciements. Je suis également ravie de pouvoir compter parmi les autres membres de mon jury, Renaud Lancelot du CIRAD² de Montpellier, David Causeur du Laboratoire de mathématiques appliquées de Rennes, et Jean-Sébastien Pierre de l'Université de Rennes. Je les remercie pour le temps consacré à la lecture de ce document mais aussi pour avoir accepté de s'intéresser à un sujet un peu particulier et plutôt éloigné de leurs préoccupations habituelles.

Bien sûr, ce travail ne serait pas ce qu'il est aujourd'hui sans les apports de mes (nombreux !) co-encadrants. Tout d'abord, je tiens à remercier les deux personnes qui ont le plus œuvré à mes côtés au quotidien pendant ces trois années, à savoir, Henri Seegers en qualité de Directeur de thèse, et Nathalie Bareille en qualité de co-encadrante. Merci pour avoir tous les deux accepté de « compter » les AOAJ³ des chevaux et pour avoir « piloté », non sans quelques secousses parfois, les nombreux chevaux qui constituent mon moteur ... Un grand merci également pour vos relectures et les propositions pertinentes pour améliorer ce manuscrit. J'ai beaucoup appris à vos côtés. Plus particulièrement, je remercie vivement Henri Seegers d'avoir accepté de diriger officiellement cette thèse et de gérer toutes ces difficultés, il faut bien le dire. Merci de m'avoir accueillie dans l'Unité de Gestion de la Santé Animale et de m'avoir ainsi permis de découvrir ce domaine. Merci enfin pour la confiance que vous m'avez accordée et pour avoir été là lorsqu'il le fallait malgré vos engagements nombreux.

Un merci particulier aussi à Nathalie Bareille qui m'a guidée et encouragée, ses nombreux conseils furent très précieux pour l'accomplissement de ce travail. Merci pour ton soutien permanent, ta disponibilité, tes conseils toujours judicieux, ton enthousiasme et ton calme en toutes circonstances, et pour tes qualités scientifiques et pédagogiques. Merci pour tes lumières et pour l'intérêt

¹ INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

² CIRAD : Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

³ AOAJ : Affection Ostéo-Articulaire Juvénile

que tu as porté à ce travail ! La collaboration quotidienne depuis 3 ans a été une source de richesse sur les plans intellectuel et humain.

Je n'aurais bien sûr pas pu réaliser cette thèse sans la contribution de spécialistes des AOAJ. A ce titre, je remercie Jean-Marie Denoix pour son expertise et son savoir sur les AOAJ et plus généralement sur la biomécanique du Cheval ainsi que pour sa connaissance accrue de l'élevage du Cheval. Merci pour avoir partagé vos connaissances avec une néophyte ! La rencontre de deux mondes aux langages différents n'a pas toujours été simple ..., mais nos débats et dialogues soutenus m'ont poussée à m'améliorer. Je n'oublie pas ma « chère jument » qui vit plus confortablement aujourd'hui grâce à vous et au CIRALE⁴.

A ce titre également, je remercie Céline Robert pour son encadrement et sa connaissance du Cheval et des AOAJ. Merci pour ta patience lors des nombreuses et longues explications sur les AOAJ et leurs qualifications qui m'ont assurément permis d'y voir plus clair dans cette nébuleuse. Merci aussi pour tout le background bibliographique que tu m'as fourni sur le sujet et pour les longues heures passées devant l'ordinateur ou par téléphone à inspecter les données sur les poulains, leurs AOAJ, leur vie ... et pour l'aide que tu m'as apportée dans le travail de fourmi pour la vérification et le recodage des données.

Ce travail de thèse a été co-financé par les Haras Nationaux et le Conseil Régional de Basse-Normandie. Je profite de cet espace pour les en remercier et saluer leur action en faveur de la recherche équine.

Par ailleurs, le projet ESOAP⁵ et donc ma thèse, sont le fruit d'un travail réalisé avec de nombreux partenaires dont Jean-Paul Valette de l'unité BPLC⁶ de l'Ecole Vétérinaire de Maisons-Alfort, Géraldine Blanchard et Bernard-Marie Paragon de l'Unité Pédagogique de nutrition de l'Ecole Vétérinaire de Maisons-Alfort, la Chambre d'Agriculture du Calvados et surtout Olivier Camacho, et le laboratoire d'analyses médicales Franck Duncombe à Caen en les personnes de Guillaume Fortier et Marie-Pierre Toquet, que je remercie pour leur collaboration au projet de thèse, leurs explications et leur expertise sur leurs domaines respectifs ainsi que pour le recueil et la transmission des données qui ont servies de support à ma thèse. Un Merci plus particulier à Jean-Paul Valette pour son implication et sa connaissance globale et historique du programme ESOAP, ainsi que pour ses nombreux conseils et petites combines.

⁴ CIRALE : Centre d'Imagerie et de Recherche sur les Affections Locomotrices Equines

⁵ ESOAP : Elevage, Statut Ostéo-Articulaire et Performance

⁶ BPLC : Biomécanique et Pathologie Locomotrice du Cheval

Je remercie également Nathalie Crevier-Denoix en tant que Directrice de l'UMR BPLC, pour sa participation au comité de pilotage et au comité de thèse, pour son implication dans le suivi des travaux, et son aide ponctuelle notamment dans la partie pratiques d'élevage.

Les membres du comité de thèse ont accepté d'apporter leur contribution sur un sujet parfois très éloigné du leur. Merci à Isabelle Bersinger, Christian Ducrot, Barbara Dufour, Olivier Geffroy, Martine Hausberger, Lucile Martin, William Martin-Rosset, Anne Ricard, et Virginie Rondeau pour le temps consacré à la lecture de mes travaux et aux réunions qui ont rythmé les différentes étapes de mon doctorat, et pour le regard extérieur et critique que vous avez porté sur mon travail. Les discussions que nous avons partagées ont permis d'orienter mes recherches de manière pertinente. Un Merci particulier à Martine Hausberger qui a accepté le rôle de tuteur de ma thèse en tant que membre de l'école doctorale Vie-Agro-Santé. Merci pour votre implication et votre soutien et pour le juste arbitrage entre les intérêts de chacun. Un Merci particulier également à William Martin-Rosset, grande personnalité de la recherche équine, pour son expertise sur l'alimentation du Cheval et plus généralement sur l'élevage du Cheval et Merci surtout pour votre confiance et votre soutien inconditionnel.

Une mention spéciale à la « dream team » composée d'Amandine Lurette et Pauline Ezanno qui sont devenues des amies. Difficile en quelques mots de vous dire toute mon estime et ma reconnaissance, vous qui m'avez quotidiennement soutenue pendant ces trois années, et re-motivée dans les (nombreux !) moments de doute et de découragement. Sincèrement Merci pour votre précieux soutien, votre écoute et vos conseils. Vous n'avez pas hésité à déjouer certaines règles un soir de janvier. Merci pour ça aussi et pour votre compagnie les semaines qui ont suivies. Merci aussi pour tous les bons moments bien sûr ! pour nos virées diurnes et nocturnes, en ville et en campagne ... Enfin Merci pour les discussions passionnantes et intensives que nous avons partagées sur la recherche et ses dérives, sur nos propres dérives, et parfois jusqu'à une heure avancée de la nuit autour d'une bonne bouteille de vin. Des souvenirs impérissables. Je n'oublie pas Kevin et Ludo qui doivent d'ailleurs en avoir leur claque de nos discussions que nous seules comprenons ... à quelques exceptions ... Merci à Kevin, mon partenaire de squash et parfois « punching-ball », involontaire j'y tiens. Pardon pour mes deux mains gauches ... Merci à Ludo pour son côté rêveur, ses délicieux repas (Quand est ce qu'on revient ??) et sa mythique fondue savoyarde sans pain ...

Plus particulièrement, Merci à toi Amandine pour ton soutien dans les moments de conduite sur verglas ... ! Et pour m'avoir supportée (dans tous les

sens du terme !) pendant 3 ans, moi et mes petits moments de folie... Partager ton bureau a été un plaisir. Merci pour nos discussions non-scientifiques, les pauses sucrées (forcément !), les rêveries, les « Bijour et Dibord », la SAS on line, les soirées « nettoyage de vitre en T-Shirt rayé » ou « Self défense » ... et j'en oublie !

Pauline, Merci pour tes conseils scientifiques avisés et pour les discussions passionnées que nous avons partagées au cours des derniers mois et qui m'ont particulièrement stimulées durant les dernières étapes de ce travail. Merci pour ton dynamisme, ton expérience, ta pertinence scientifique, et tes solutions en toutes circonstances !

Je tiens également à remercier François Beaudeau, l'autre bureau dans lequel j'ai régulièrement fait des incursions lors de crises de doute aiguës sur certains principes épidémiologiques ou statistiques ... Merci pour nos discussions scientifiques, pour ton aide et ta pertinence et pour l'intérêt que tu as porté à mes problématiques (parfois très « basico-basique » ! ça fait réviser !). Merci aussi pour ta disponibilité et ta gentillesse, et pour nos conversations sur la recherche.

Un doctorant ne viendrait pas à bout des problèmes techniques, logistiques et administratifs sans l'aide précieuse de personnes qui connaissent ces rouages et leurs astuces sur le bout des doigts. Merci donc à Evelyne Fache pour avoir dénoué les méandres administratifs et su faciliter mes démarches tout au long de ma thèse et pour avoir trouvé une voiture de remplacement un soir tard pour que je puisse rentrer de Normandie ...

Merci aussi à Michel Leroux pour l'encollage de la thèse un vendredi après-midi de juillet, pour les nombreux articles dégottés, les reliures, ... pour la bonne humeur que tu as apportée dans le bureau enquête (dit aussi archives-thésardes-solvants !), et tes ouvertures de porte qui m'ont tant fait sursauter !

Merci à Jean-Yves Audiart pour le travail réalisé sur la base de données, ses recherches, tris, et vérifications ... pour la touche finale aux posters, et pour le soutien technique et logistique sur tout le reste !

Mes remerciements les plus sincères vont également à tous les autres membres de l'unité GSA : Xavier Malher, Christine Fourichon, Sébastien Assié, Raphaël Guatteo, Thierry Hoch, Stephane Krebs, Anne-France Viet, Didier Billon, Aurélie Robert (ex-doctorante dans l'unité), Thomas Bienvenu, Catherine Belloc, Milly Leblanc, Clara Marce, Marc Robert, et Olivier Rat-Aspert. Vous avez tous un jour ou l'autre joué un rôle particulier dans ma thèse, dénoué une situation, trouvé un ordinateur portable, un logiciel, corrigé un

diaporama, débogué la photocopieuse, apporté un regard extérieur sur mes travaux ou sur une situation, dit une parole réconfortante... Merci pour ça et pour les pauses café, les repas pic-nique, les discussions de couloir, tous ces petits moments sympas et de franche rigolade.

Merci aussi à tous les membres des futures ex-unités IHPM⁷ et CAE⁸ et future BIOEPAR⁹ que j'ai croisés au détour de réunions ou de présentations. Merci pour vos regards extérieurs et votre sympathie.

Enfin, je tiens également à remercier tous les membres de l'unité BPLC que j'ai côtoyés un peu moins souvent pour des raisons géographiques. Merci pour votre accueil et votre sympathie. Plus particulièrement merci à Sylvain Falala, Christophe Degueurce, Guillaume Gérard, Henry Château, Sandrine Jacquet, Philippe Pourcelot, Guy Launay, et Françoise Fétien, pour nos discussions autour d'un café ou d'un repas et votre aide logistique.

Un grand merci à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'aboutissement de cette thèse !

Moez Sanaa m'a permis de faire mes premiers enseignements. Merci pour la confiance que vous m'avez accordée et pour m'avoir donné l'opportunité de découvrir et apprécier ce métier.

Un parcours est fait de rencontres et de hasards et je souhaite remercier pour cela les personnes que j'ai eu la chance de rencontrer avant la réalisation de mon doctorat et qui m'ont aussi permis d'être là où j'en suis aujourd'hui. Au cours de mes années d'études à l'ISPED de Bordeaux, j'ai eu la chance de faire des rencontres scientifiques et humaines enrichissantes. L'ISPED est un de ces lieux privilégiés qui rassemble plusieurs équipes de recherche en épidémiologie et qui grouille de scientifiques et bénéficie d'une certaine dynamique et richesse intellectuelle. Que demander de mieux lorsque l'on est étudiant que de naviguer et discuter avec tous ces gens passionnants ! J'ai beaucoup appris durant cette période avec chacun d'entre vous.

Parmi eux, je pense à Patrick Brochard qui m'a mis le pied à l'étrier comme on dit, en me permettant d'exercer ce qui allait être mon métier, sur des vraies données et des vraies études pour la première fois ! Merci pour l'infinie confiance et autonomie que vous m'avez accordées et pour les coups de pouce. Merci aussi pour m'avoir guidée et accompagnée lors de mes premiers pas dans

⁷ IHPM : Interaction Hôte Parasite Milieu

⁸ CAE : Chimiothérapie Aquacole et Environnement

⁹ BIOEPAR : BIO-agression, Epidémiologie et Analyse de Risque

une « grande » étude épidémiologique et enfin merci pour votre compréhension et votre humanité.

J'adresse un Merci particulier à Virginie Rondeau qui m'a encouragée à poursuivre dans la voie de la recherche et qui est probablement à la source de ma démarche doctorale. Merci pour la formation que tu m'as dispensée au cours de mon stage de DEA, pour ta précision et ta rigueur. Ces 6 mois ont été très riches, et j'en mesure davantage l'importance aujourd'hui. Merci aussi pour m'avoir suivie au cours du doctorat, pour avoir accepté de participer au comité de thèse (!), et pour avoir pris du temps pour m'expliquer et m'aider sur des points techniques. Si collaborations futures il y avait, ce sera avec grand plaisir. Merci enfin à toi et à Laurent Filleul de m'avoir « offert » mon premier article de recherche. Merci aussi à ceux que j'ai croisé lors de ces aventures, les membres du LSTE, et de la SPP du CHU de Bordeaux, avec entre autres, Isabelle Baldi, Laurent Minaro, Anne Cantagrel, Stéphane Ducamp, Cécile Dubourg, Patrick Rolland, Laurence Perriaud, Malika Karoun, Hayette Elbeldi, Catherine Verdun ...

Plus personnellement, mes remerciements vont bien sûr à ma famille, témoin privilégié de mes premiers désaccords... Merci à vous qui m'avez toujours soutenue et encouragée à poursuivre quels que soient mes choix et qui avez su comprendre mes absences de certains jours. Merci pour avoir toujours cru en moi, pour votre fierté, et pour m'avoir aidée à surmonter les moments difficiles. Merci à mes amis, connaissances et proches, d'ici ou d'ailleurs, souvent éparpillés aux 4 coins de la France ou même du monde... et dont les rencontres se font trop rares... mais n'empêchent pas la pensée. Merci pour tous ces moments de joie, de peine et de complicité que nous avons partagés et partageront encore. Je sais que vous vous reconnaîtrez. Merci d'être toujours là, même quand le temps est plus maussade. Merci pour les discussions, les rigolades, les vacances et week-end passés loin des chevaux et des statistiques. Merci enfin, et bien sûr l'Essentiel est là, à celui qui a eu la mauvaise idée de me rencontrer au cours de mon doctorat ... Merci pour tes encouragements et ta patience. Merci d'avoir supporté les contraintes de ma thèse et de l'avoir vécue avec moi. Le meilleur est à venir.

« Science sans conscience n'est que ruine de l'âme. »,
François Rabelais.

Avant-Propos

Unités d'accueil

Unité Mixte de Recherches Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes (ENVN) - Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) de Gestion de la Santé Animale (UMR GSA)

Unité Mixte de Recherches Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (ENVA) - INRA de Biomécanique et Pathologie Locomotrice du Cheval (UMR BPLC)

Encadrement

Directeur de thèse : Professeur Henri SEEGERS (UMR GSA)

Co-encadrants : Docteur Nathalie BAREILLE (UMR GSA), Maître de conférences

Professeur Jean-Marie DENOIX (UMR BPLC)

Docteur Céline ROBERT (UMR BPLC), Maître de conférences

Cadre et financement

Cette thèse a été réalisée dans le cadre d'une action de recherche intitulée Elevage, Statut Ostéo-Articulaire et Performance (ESOAP) initiée en 2002 et soutenue par les Haras Nationaux et le Conseil Régional de Basse Normandie, financeurs de la thèse. Plusieurs partenaires ont collaboré à cette action de recherche dont quatre plus particulièrement pour la thèse : l'UMR BPLC, l'Unité Pédagogique de Nutrition de l'ENVA, le Laboratoire Franck Duncombe de Caen, et la Chambre d'Agriculture du Calvados.

Plan Synoptique

Chapitre 1 : Introduction générale

Chapitre 2 : Matériels

Chapitre 3 : Evaluation du statut ostéo-articulaire du poulain

*Chapitre 4 : Facteurs de risque des Affections Ostéo-Articulaires
Juvéniles (AOAJ)*

Chapitre 5 : Marqueurs de risque des AOAJ

Chapitre 6 : Discussion générale

Chapitre 7 : Conclusion générale

Références

Liste de publications et communications

Annexe 1 : Processus pathologique des AOAJ

Annexe 2 : Exemple de la nature des images radiographiques observées

*Annexe 3 : Dépistage des AOAJ chez le foal et le yearling : quel protocole
pour quel poulain ?*

Annexe 4 : Corrélations entre les variables de pratiques d'alimentation

Table des matières

Remerciements.....	1
Avant-Propos	8
Plan Synoptique.....	9
Table des matières	10
Liste des abréviations.....	15
Liste des tableaux	17
Liste des figures	19
Chapitre 1 : Introduction générale.....	20
1. Enjeux médicaux, zootecniques et économiques du travail de recherche	20
2. Etat des connaissances et ses limites ; besoins de recherche	23
2.1. Les Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ)	23
2.1.1. Processus normal d'ossification.....	23
2.1.2. Processus pathologique des AOAJ.....	24
2.1.2.1. Cause initiale des AOAJ	24
2.1.2.2. Dynamique et manifestations cliniques des AOAJ.....	24
2.1.3. Dénomination de la maladie.....	25
2.1.3.1. Discussions sur la terminologie et l'unicité étiologique.....	25
2.1.3.2. Définitions des AOAJ	26
2.1.4. Dépistage et diagnostic des AOAJ.....	28
2.1.5. Besoins de recherche concernant les AOAJ.....	29
2.2. Epidémiologie et étiologie multifactorielle des AOAJ.....	29
2.2.1. Génétique.....	32
2.2.2. Croissance.....	33
2.2.3. Alimentation	34
2.2.4. Pratiques d'élevage : exercice, traumas et facteurs biomécaniques	35
2.2.5. Besoins de recherche sur l'épidémiologie des AOAJ	36
2.3. Les marqueurs biochimiques des AOAJ.....	39
3. Problématique et approche méthodologique retenue	40
4. Objectifs, étapes et contenu de la thèse	43
Chapitre 2 : Matériels	45
1. Echantillon d'étude.....	45
2. Données sur les AOAJ : protocole radiographique.....	47
3. Données sur les facteurs de risque potentiels.....	50

3.1. Mesures de croissance.....	50
3.2. Pratiques d'alimentation	50
3.3. Pratiques d'élevage	51
4. Marqueurs de risque potentiels.....	52
5. Conclusion	52
Chapitre 3 : Evaluation du statut ostéo-articulaire du poulain.....	53
1. Mise sous forme exploitable des données relatives aux AOAJ	53
1.1. Sélection des données relatives aux AOAJ.....	53
1.2. Restructuration en entités.....	54
2. Validité interne des données brutes	54
Article 1 : « Un système de gradation de la sévérité des images radiographiques observées sur les membres des poulains : présentation et évaluation de la répétabilité ».....	54
Résumé.....	54
2.1. Introduction	57
2.2. Materials and methods.....	58
2.2.1. Horses	58
2.2.2. X-ray examination	58
2.2.3. Scoring system	58
2.2.4. Repeatability assessment	61
2.2.5. Statistical analysis.....	62
2.3. Results.....	62
2.3.1. Severity score range for radiographic findings	62
2.3.2. Consistency of the scoring system.....	63
2.4. Discussion.....	64
2.5. Conclusion	67
References	67
2.6. Compléments aux résultats de l'article.....	69
3. Prévalence et distribution des AOAJ.....	70
Article 2 : « Les AOAJ des membres des poulains : variations raciales dans la prévalence, la localisation et la gravité au sevrage »	70
3.1. Préalable à l'article.....	70
3.1.1. Associations entre sites et entités dans la répartition des AOAJ.....	70
3.1.2. Associations entre sites dans la répartition des AOAJ à l'échelle du poulain	72
Résumé de l'article 2.....	73
3.2. Introduction	76
3.3 Materials and methods.....	77
3.3.1. Data	77
3.3.2. Strategy of analysis and statistical methods	79
3.4. Results.....	79
3.4.1. Study sample characteristics	79
3.4.2. Prevalence	81
3.4.3. Foal profiles for DOD	82
3.5. Discussion.....	83
3.6. Conclusion	87

Acknowledgements	87
References	88
3.7. Compléments aux résultats de l'article	90
4. Conclusion : variables à expliquer	91
4.1. Présence ou absence d'AOAJ	91
4.2. Présence ou absence de certaines entités	91
4.3. Sévérité du statut ostéo-articulaire	92
Chapitre 4 : Facteurs de risque des AOAJ	93
1. Préalable aux articles : traitement des facteurs de risque potentiels	93
1.1. Croissance	93
1.1.1. Hauteur au garrot et périmètre thoracique	94
1.1.2. Développement du poulain : ratio hauteur au garrot/périmètre thoracique	96
1.1.3. Poids	96
1.2. Pratiques d'alimentation	96
1.2.1. Fourrages	97
1.2.2. Concentrés	98
1.2.2.1. Nutriments majeurs	98
1.2.2.1.1. Pour la mère	98
1.2.2.1.2. Pour le poulain	99
1.2.2.2. Macro-éléments minéraux et oligo-éléments	99
1.2.3. Variables retenues et traitement réalisé	99
1.3. Pratiques d'élevage	102
2. Facteurs de risque de la présence d'AOAJ ou d'ostéochondrose...	104
Article 3 : « Influence de la croissance et des pratiques d'alimentation et d'élevage sur les AOAJ et l'ostéochondrose observées sur les membres de poulains âgés de 6 mois »	104
Résumé	104
2.1. Introduction	106
2.2. Materials and methods	107
2.2.1. Study population	107
2.2.2. Detection of Developmental Orthopaedic Disease	108
2.2.3. Potential risk factors	108
2.2.3.1. Assessment and processing of growth data	108
2.2.3.2. Assessment and processing of feeding practices and rearing conditions data	109
2.2.3.3. Assessment and processing of management practices data	110
2.2.4. Statistical analysis	112
2.3. Results	112
2.3.1. Sample description	112
2.3.2. Risk factors of Developmental Orthopaedic Disease and osteocondrosis	113
2.4. Discussion	115
References	119
3. Facteurs de risque de l'étendue des AOAJ	124

Article 4 : « Influence de la croissance et des pratiques d'alimentation et d'élevage sur la sévérité et l'étendue des AOAJ chez des poulains âgés de 6 mois »	124
Résumé.....	124
3.1. Introduction.....	126
3.2. Materials and Methods.....	127
3.2.1. Study sample.....	127
3.2.2. Detection of Developmental Orthopaedic Disease.....	127
3.2.3. Potential risk factors.....	128
3.2.3.1. Growth data.....	128
3.2.3.2. Feeding practices and rearing conditions data.....	130
3.2.3.3. Management practices data.....	130
3.2.4. Statistical analysis.....	130
3.2.4.1. Logistic regression models.....	131
3.2.4.2. Count models.....	131
3.3. Results.....	132
3.3.1. Sample description.....	132
3.3.2. Risk factors for the DOD severity considering the Global Radiographic Score.....	133
3.3.3. Risk factors for the DOD severity considering the number of DOD occurrence.....	136
3.4. Discussion.....	139
References.....	141
4. Facteurs de risque de la présence d'AOAJ en fonction des entités lésionnelles	143
Chapitre 5 : Marqueurs de risque des AOAJ	147
1. Introduction	147
2. Matériels et Méthodes	149
2.1. Echantillon d'étude.....	149
2.2. Paramètres biochimiques.....	149
2.3. Statut Ostéo-Articulaire.....	150
2.4. Analyse statistique.....	151
2.4.1. Facteurs de variation des marqueurs.....	151
2.4.2. Valeur informative des bio-marqueurs sur le statut ostéo-articulaire.....	152
2.4.2.1. Valeur informative de dosages ponctuels.....	153
2.4.2.2. Valeur informative de l'évolution de plusieurs dosages.....	153
3. Résultats	153
3.1. Caractérisation de l'échantillon.....	153
3.2. Facteurs de variation des marqueurs.....	155
3.3. Valeur informative des marqueurs du métabolisme osseux vis-à-vis du statut ostéo-articulaire.....	156
4. Discussion	158
5. Conclusion	161
Références	161

Chapitre 6 : Discussion générale.....	164
1. Protocole d'étude et synthèse des données recueillies.....	165
2. Recueil rétrospectif et niveau d'étude des pratiques d'alimentation et d'élevage	167
3. Evaluation et définition opérationnelle du statut ostéo-articulaire des poulains pour ce type d'étude.....	169
4. Détermination de marqueurs de risque des AOAJ.....	172
5. Détermination de facteurs de risque des AOAJ	174
6. Perspectives	180
Chapitre 7 : Conclusion générale.....	183
Références	185
Liste de publications et communications	194
Annexe 1 : Processus pathologique des AOAJ	196
1. L'ossification endochondrale.....	196
2. Physiopathologie	198
Références.....	200
Annexe 2 : Exemple de la nature des images radiographiques observées.	201
Annexe 3 : Dépistage des AOAJ chez le foal et le yearling : quel protocole pour quel poulain ?	203
Annexe 4 : Corrélations entre les variables d'alimentation.....	213

Liste des abréviations

ADAJ :	Affections Dégénératives Articulaires Juvéniles
AFC :	Analyse Factorielle des Correspondances
AFP :	Articulation Fémoro-Patellaire
AFT :	Articulation Fémoro-Tibiale
AMcP :	Articulation MétacarpoPhalangienne
AMtPd :	Articulation MétatarsoPhalangienne dorsale
AMtPp :	Articulation MétatarsoPhalangienne plantaire
AMV :	Aliments Minéraux Vitaminés
AOAJ :	Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles
Aut :	Autres sites du pied antérieur
BPLC :	Biomécanique et Pathologie Locomotrice du Cheval
Ca :	Calcium
CAH :	Classification Ascendante Hiérarchique
cm :	Centimètres
Cu :	Cuivre
DOD :	Developmental Orthopaedic Disease
DSP :	Developmental Squeletal Problems
ENVA :	Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
ENVN :	Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes
ESOPAP :	Elevage, Statut Ostéo-Articulaire et Performance
FOC :	Fragmentation Ostéo-Chondrale
g :	Grammes
GMQ :	Gain Moyen Quotidien
GSA :	Gestion de la Santé Animale
HG :	Hauteur au Garrot
HXP :	Hydroxyproline
IC :	Intervalle de Confiance
INRA :	Institut National de la Recherche Agronomique
IPD :	Articulation InterPhalangienne Distale
IPPa :	Articulation InterPhalangienne Proximale antérieure
IPPp :	Articulation InterPhalangienne Proximale postérieure
IR :	Image Radiographique
JEP :	Enthésopathies Juvéniles
K :	Kappa
Kg :	Kilogrammes
KOSC :	Kystes Osseux Sous-Chondraux
Kw :	Kappa pondéré

MADC :	Matière Azotée Digestible Cheval
MBD :	Metabolic Bone Disease
mg :	Milligrammes
OC :	Ostéochondrose
OCD :	Ostéochondrite disséquante
OST :	Ostéocalcine
P :	Phosphore
PALoss :	Phosphatase Alcaline osseuse
PB :	Pourcentage de Bien-classés
Pied :	Pied postérieur
PS :	Pur-Sang
PT :	Périmètre Thoracique
PV :	Poids Vif
P3 :	Phalange Distale
R ² :	Pouvoir explicatif d'un modèle statistique
SD :	Os Sésamoïde Distal
SF :	Selle-Français
SOA :	Statut Ostéo-Articulaire
SR :	Score Radiographique
TD :	Etage Distal du Tarse
TF :	Trotteur-Français
TP :	Etage Proximal du Tarse
UFC :	Unité Fourragère Cheval
UI :	Unités Internationales
UMR :	Unité Mixte de Recherches
UP :	Unité Pédagogique
ZIP :	Zero-Inflated Poisson model
Zn :	Zinc

Liste des tableaux

Tableau 1-1 : Age approximatif d'apparition des signes cliniques des affections ostéo-articulaires juvéniles en fonction des entités et des articulations.....	25
Tableau 1-2 : Principales définitions des AOAJ selon les entités incluses et leur appellation	27
Tableau 1-3 : Caractéristiques des études observationnelles analytiques réalisées sur les facteurs de risque des affections ostéo-articulaires juvéniles du Cheval.....	38
Tableau 2-1 : Sites anatomiques (15) identifiés sur les 5 clichés bilatéraux réalisés	49
Tableau 2-2 : Définition des catégories et des classes selon le score radiographique.....	50
Tableau 2-3 : Données disponibles en termes de quantité et de composition de l'alimentation des mères et des foals en herbe pâturée, fourrages conservés, ration concentrée, et lait pour les foals.....	51
Tableau 3-1 : Répartition des affections ostéo-articulaires juvéniles en fonction de leur nature (entité) et de leur localisation (site).....	71
Tableau 4-1 : Apports journaliers moyens en macro- et oligo-éléments	99
Tableau 4-2 : Profils des couples mère-poulain pour les apports en Calcium/Phosphore dans la ration concentrée	101
Tableau 4-3 : Profils des couples mère-poulain pour les apports en Zinc/Cuivre dans la ration concentrée	101
Tableau 4-4 : Profils des couples mère-poulain pour les apports en Matière Azotée Digestible Cheval/Calcium dans la ration concentrée	102
Tableau 4-5: Profils des couples mère-poulain pour la durée en mois des apports en Aliments Minéraux Vitaminés	102
Tableau 4-6 : Facteurs de risque et d'ajustement potentiels, modalités correspondantes, et significativité en univarié pour les modèles expliquant la présence de Fragmentations Ostéo-Chondrales uniquement, la présence d'au moins une lésion d'épiphysite ou d'une lésion de type Kyste Osseux Sous-Chondral	144

Tableau 4-7 : Effets ajustés des facteurs de risque retenus dans l'analyse multivariée pour les poulains atteints uniquement de fragmentations ostéo-chondrales.....	145
Tableau 4-8: Effets ajustés des facteurs de risque retenus dans l'analyse multivariée pour les poulains atteints d'au moins une lésion d'épiphysite	145
Tableau 4-9: Effets ajustés des facteurs de risque retenus dans l'analyse multivariée pour les poulains atteints d'au moins une lésion de type kyste osseux sous-chondral.....	146
Tableau 5-1 : Répartition des poulains et des prélèvements sanguins réalisés au cours du suivi selon la race, le sexe et l'année de naissance des poulains.	154
Tableau 5-2: Répartition des prélèvements sanguins réalisés au cours du suivi selon le mois, l'heure, la sédation, et le profil inflammatoire ou non lors du prélèvement	154
Tableau 5-3 : Répartition du statut ostéo-articulaire des 378 foals selon leur score radiographique à l'âge de 6 mois environ.....	155
Tableau 5-4 : Estimation des effets fixes significatifs pour les modèles expliquant les logarithmes des concentrations plasmatiques en ostéocalcine, hydroxyproline et pour la fraction osseuse des phosphatases alcalines.....	155
Tableau 5-5 : Valeur informative de la concentration en ostéocalcine vis-à-vis du statut ostéo-articulaire à 6 mois exprimé par le score radiographique pour les différentes classes d'âge en mois.....	157
Tableau 5-6 : Valeur informative de la concentration en hydroxyproline vis-à-vis du statut ostéo-articulaire à 6 mois exprimé par le score radiographique pour les différentes classes d'âge en mois.....	157
Tableau 5-7: Valeur informative de la concentration en phosphatase alcaline osseuse vis-à-vis du statut ostéo-articulaire à 6 mois exprimé par le score radiographique pour les différentes classes d'âge en mois.	157
Tableau 5-8 : Valeur informative de l'évolution de la concentration des trois biomarqueurs dans les 6 premiers mois de vie du poulain vis-à-vis du statut ostéo-articulaire à 6 mois exprimé par le score radiographique	158
Tableau 6-1 : Récapitulatif des odds-ratios estimés à partir des différents modèles réalisés à l'aide de régressions logistiques	175

Liste des figures

Figure 1-1 : Principales articulations du cheval pouvant être atteintes par les affections ostéo-articulaires juvéniles	21
Figure 1-2 : Représentation schématique du développement de lésions du complexe d'Ostéochondrose chez le Cheval et facteurs associés à sa pathogénie	30
Figure 1-3 : Représentation schématique des effets des facteurs et marqueurs de risque potentiels sur les Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles et liens entre ces facteurs	31
Figure 1-4 : Etapes de travail réalisées pour la réponse aux objectifs de la thèse, chapitres de thèse correspondants, état des articles et revues cibles.....	44
Figure 2-1 : Identification des collaborateurs et partenaires responsables du recueil, de la saisie et du traitement des différentes données exploitées dans le cadre de cette thèse	46
Figure 2-2 : Incidences bilatérales réalisées dans le protocole 10 clichés d'après Denoix et coll. 1995	47
Figure 2-3: Grille de recueil individuelle des images radiographiques pour chacun des 15 sites anatomiques distingués sur les 5 clichés bilatéraux	48
Figure 3-1 : Pourcentage de bien classés, coefficient de concordance Kappa, et interprétation de la qualité de la mesure de concordance, concernant le type d'entité affectée aux Images Radiographiques en fonction de leur site de localisation sur les membres de jeunes chevaux	69
Figure 3-2 : Distribution du nombre d'Affection Ostéo-Articulaire Juvéniles par poulain en fonction de la race.....	90
Figure 3-3 : Distribution du score radiographique et de la classe correspondante de Statut Ostéo-Articulaire du poulain en fonction de la race	90
Figure 4-1 : Courbes de croissance individuelles en hauteur au garrot	94

Chapitre 1 : Introduction générale

1. Enjeux médicaux, zootechniques et économiques du travail de recherche

Les Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ) consistent en un ensemble d'entités pathologiques diverses ayant la particularité d'être identifiées sur le sujet n'ayant pas atteint sa maturité squelettique (Denoix et coll. 2002). Le terme anglo-saxon consacré considère ces anomalies comme la maladie orthopédique du développement (Developmental Orthopaedic Disease (DOD)) (McIlwraith 1986).

La prévalence (*i.e.* fréquence) des AOAJ varie selon les études, notamment en fonction de la provenance des animaux (ventes aux enchères, élevages, ...), de leur race et de leur âge. Par ailleurs, il est difficile de réaliser des comparaisons pertinentes entre études car les protocoles d'examen sont variables et n'incluent pas toujours les mêmes articulations ni les mêmes méthodes de détection. Des études de terrain réalisées en France (Geffroy et coll. 1997, Tourtoulou et coll. 1997, Denoix et coll. 2000, Valette et coll. 2000, Valette et Denoix 2001, Foursin 2002, Couroucé et coll. 2002, Robert et coll. 2003) incluant de 8 à 30 clichés radiographiques des doigts (incluant le boulet) antérieur et postérieur, carpe, jarret et grasset (figure 1-1), permettent d'établir une prévalence située entre 35% et 90%. A l'étranger, les prévalences ne sont pas moins importantes mais les protocoles sont principalement orientés sur les seules articulations du boulet et du jarret. Ainsi la prévalence varie entre 15% et 75% (Hartung et coll. 1983, Alvarado et coll. 1989, Carlsten et coll. 1993, Sandgren et coll. 1993a, Grondhal et Engeland 1995, Storgaard Jørgensen et coll. 1997, Kane et coll. 2003, Vervuert et coll. 2005, Stock et coll. 2006). Van Weeren et Barneveld (1999) concluent de ces études menées à l'étranger que l'incidence (nombre de nouveaux cas détectés) est de 10 à 25% par an en considérant toutes les articulations des foals (poulains âgés d'environ 6 mois).

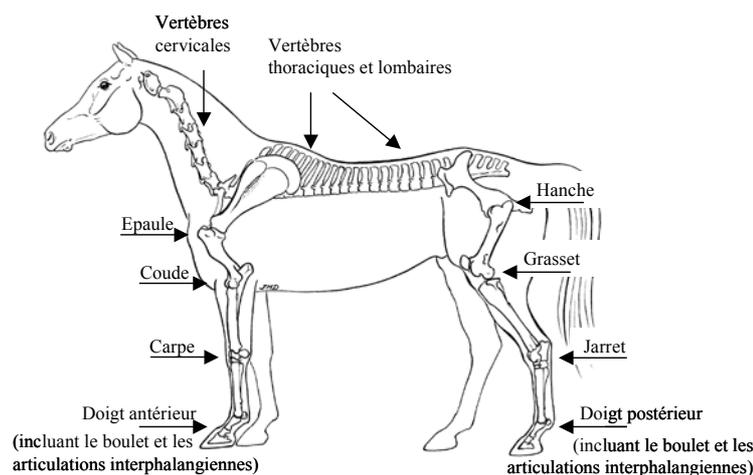


Figure 1-1 : Principales articulations du cheval pouvant être atteintes par les affections ostéo-articulaires juvéniles

Ces affections sont largement répandues dans toutes les races de chevaux de courses et de sport (Alvarado et coll. 1989, Kane et coll. 2003, Vervuert et coll. 2005, Stock et coll. 2006) et sont à l'origine de boiteries et de défauts de performances (Hoppe 1984, Kane et coll. 2003). Les chevaux de courses ont une activité basée essentiellement sur la vitesse alors que l'activité des chevaux dits « de sport » est essentiellement basée sur leur capacité à réaliser des figures de dressage ou à sauter des obstacles, la vitesse étant un critère secondaire. La présence de signes cliniques associés à celle d'AOAJ n'est pas systématique et certaines affections peuvent rester dormantes pendant une période plus ou moins longue. Celles-ci sont alors détectées à l'occasion de la mise à l'entraînement ou lors d'une transaction commerciale, ce qui peut être à l'origine de litiges malgré la bonne foi évidente de nombreux éleveurs. Le traitement des AOAJ est parfois possible notamment par utilisation de l'arthroscopie (van Weeren 2006). Cependant, selon les cas, les traitements ne sont pas toujours envisageables, sont coûteux, et se révèlent parfois insuffisants. Du fait de leur prévalence élevée et de leurs impacts sanitaires et zootechniques, les AOAJ constituent donc une source de pertes économiques importante pour l'ensemble de la filière équine (éleveurs et utilisateurs) (Jeffcott 1991, 1996, Schougaard et coll. 1990), puisque ces affections se comptabilisent non seulement en frais vétérinaires, mais aussi en perte de gains potentiels, de même qu'en temps et en argent investis dans la mise en condition des chevaux.

La filière cheval en France peut être décomposée en trois étages : l'élevage, la valorisation et commercialisation, et l'utilisation, et peut être dissociée entre la composante professionnelle et la composante amateur (OESC 2005). En effet, en 2005, 43 547 éleveurs ont fait saillir au moins une jument et la taille moyenne de ces élevages était de 2,13 juments. Ainsi, plus de 80% des élevages comptaient seulement 1 ou 2 juments poulinières signifiant que la production de chevaux n'en constituait pas l'activité principale. Les études précédemment

citées ont principalement estimé la prévalence des AOAJ dans des élevages professionnels de chevaux de courses et de sport de haut niveau. Les prévalences dans le secteur de l'élevage amateur et dans le secteur de l'élevage professionnalisé à plus faible degré, restent quant à elles inconnues. Cependant, il est raisonnable de supposer que les répercussions économiques des AOAJ y sont moins importantes car les investissements consentis pour les étalons, les poulinières et le niveau d'assistance technique, sont moins élevés que pour l'élevage de chevaux athlètes de haut niveau et les exigences de production y sont moins fortes.

La dénomination de cheval athlète comprend deux grands groupes, les chevaux dits précoces destinés aux courses dès l'âge de 2 ans, et les chevaux de selle plus tardifs destinés aux compétitions équestres de haut niveau dès l'âge de 4 ans (Miraglia 2005). Les courses de plat et d'obstacles, réalisées au galop, sont le domaine d'excellence des Pur-Sang (PS) alors que les courses de trot, monté ou attelé, sont le domaine d'excellence des Trotteur-Français (TF). Les Selle-Français (SF) excellent quant à eux dans les compétitions équestres de haut niveau. Pour les chevaux de courses (PS, TF), dont l'entraînement commence dès 15-18 mois (Martin-Rosset et Ellis 2005, Miraglia 2005), des ventes aux enchères publiques ou privées ont lieu à l'automne proposant des foals (poulains âgés d'environ 6 mois, en général sevrés) ou le plus souvent, des yearlings (poulains âgés d'environ 15-18 mois) (Miraglia 2005). Pour les chevaux de selle (SF), le début de l'exploitation sportive est plus tardif et s'effectue vers 3-4 ans (Martin-Rosset et Ellis 2005, Miraglia 2005). Des ventes aux enchères ont également lieu mais elles concernent en majorité des animaux âgés de 2 à 4 ans. La majorité des élevages français (56%) produisent des chevaux de sang en races de courses (PS et TF) ou en races de selle (dont le SF en majorité) (OESC 2005).

Les chevaux sont utilisés intensivement avec une mise à l'entraînement alors même que la croissance et notamment l'ossification ne sont pas achevées (Martin-Rosset 2001, Miraglia 2005, Fleurance et coll. 2006). En effet, la période de croissance chez le cheval dure de 3 à 5 ans soit 40 à 75% de la vie productive selon la race et l'utilisation (Martin-Rosset 2001, Miraglia 2005). Ceci représente pour les éleveurs et utilisateurs un important investissement zootechnique, de préparation et financier qui conditionne les performances ultérieures, la longévité du cheval et sa rentabilité (Miraglia 2005, Fleurance et coll. 2006). Ainsi, sur le marché des chevaux de courses essentiellement, mais de plus en plus aussi sur celui des chevaux de sport, la valeur des animaux est déterminée non seulement par leur patrimoine génétique mais aussi et surtout par leur format et leur taille par rapport à leur âge, un développement le plus mature possible étant toujours plus vendeur. Pour répondre aux attentes du marché, les éleveurs doivent adapter leurs pratiques d'élevage, un développement mature précoce ne pouvant être obtenu que par la réalisation d'une croissance très rapide (Miraglia 2005). Pour y parvenir, les éleveurs

disposent de deux recours : la sélection d'animaux à développement rapide et/ou l'ajustement des conditions d'élevage et de nutrition pour atteindre le maximum du développement permis par la génétique (Miraglia 2005). Dans ce contexte, les pratiques d'élevage et d'alimentation des chevaux sont fortement déterminées par l'objectif de production et d'utilisation (Miraglia 2005). Cependant, la mauvaise maîtrise de ces leviers d'action semble être associée à une plus grande prévalence d'AOAJ.

Face à ce constat, le dépistage radiographique des AOAJ vers l'âge de 6 ou 18 mois devient de plus en plus fréquent (Kane et coll. 2003, Stock et coll. 2006). Il permet aux éleveurs de mettre en place des stratégies de prévention secondaires pour tenter d'éviter l'aggravation des lésions, ou de mettre en place des traitements chirurgicaux lorsque c'est possible. De plus, il permet également d'orienter au plus tôt les poulains vers une carrière sportive, reproductive, ou autre selon les cas. La pratique du dépistage radiographique vise donc à gérer au mieux les poulains en fonction de leur statut ostéo-articulaire (SOA) (présence d'AOAJ, sévérité, etc.) afin d'optimiser leur utilisation future et de limiter les pertes économiques. Cependant, cette pratique implique un poids croissant des pertes économiques liées aux AOAJ sur l'étage de production, où les éleveurs font face à des acheteurs qui se retranchent derrière le résultat du dépistage. C'est pour cette raison, et à la demande des éleveurs, qu'a été initié en Basse-Normandie le projet ESOAP qui visait à étudier les facteurs déclencheurs de ces affections pour mieux les maîtriser, ainsi que les liens précis entre les AOAJ et les performances sportives. En effet, malgré l'impact des AOAJ sur la filière équine, que ce soit en France ou à l'étranger, les connaissances restent encore très limitées tant sur les mécanismes d'apparition des AOAJ, que sur les facteurs impliqués dans leur apparition.

2. Etat des connaissances et ses limites ; besoins de recherche

2.1. Les Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ)

2.1.1. Processus normal d'ossification

Le squelette est composé du tissu osseux, du cartilage de conjugaison (pendant la croissance) et du cartilage articulaire (Martin-Rosset 2001). Le tissu osseux du cheval adulte est le siège d'un remodelage continu qui permet à l'os de jouer son rôle de réserve minérale et de se renouveler pour conserver ses propriétés mécaniques. Le tissu osseux se développe et acquiert ses caractéristiques très tôt. Au cours des 24 mois qui suivent la fécondation, et notamment au cours de la première année qui suit la naissance, la phase importante de croissance osseuse du poulain détermine sa constitution osseuse (Martin-Rosset 2001). Le processus d'ossification endochondrale a été largement décrit (Jeffcott 1991, Hurtig et Pool 1996, Martin-Rosset 2001) et constitue une étape clé de l'ostéogenèse pendant laquelle un certain nombre de

cellules subissent de multiples modifications qui aboutissent, dans les phases finales, à la transformation du cartilage en os. Davantage de détails sur le processus normal d'ossification sont annexés (annexe 1).

2.1.2. Processus pathologique des AOAJ

2.1.2.1. Cause initiale des AOAJ

Les AOAJ sont souvent, mais pas seulement, attribuées à des lésions d'ostéochondrose (OC) (Jeffcott 1991, McIlwraith 2004). L'OC provient d'une ou plusieurs anomalie(s) lors de l'ossification des cartilages des os longs, dont les causes initiales restent inconnues (Jeffcott 1991, 2004, Watkins 1992). En fonction du site anatomique et du type d'anomalie initiale, l'OC se manifestera alors sous différentes formes au cours de la croissance (McIlwraith 2004) pouvant inclure : l'ostéochondrite disséquante (OCD), les kystes osseux sous-chondraux (KOSC), l'épiphysite, la déviation angulaire des membres, la contracture/laxité tendineuse, la malformation des os carpaux/tarsaux, etc. Cependant, ces entités lésionnelles peuvent aussi être engendrées par d'autres mécanismes et être observées sans lésions d'OC (Jeffcott 1991, McIlwraith 2004). Les AOAJ sont susceptibles d'affecter toutes les articulations : jarret, grasset, carpe, boulet, articulations phalangiennes, épaule, coude, hanche, articulations vertébrales, etc. (van Weeren 2006). Davantage de détails sur le processus pathologique des AOAJ sont annexés (annexe 1).

2.1.2.2. Dynamique et manifestations cliniques des AOAJ

Les principaux signes cliniques sont des effusions de synovie avec gonflement de l'articulation ainsi que des boiteries à l'origine de défauts de performances (Hoppe 1984, Kane et coll. 2003). Les lésions d'OC peuvent se développer dès la croissance foetale, lors de la genèse de l'os sous-chondral (Carlsten et coll. 1993, Olstad et coll. 2007). Les différentes entités n'apparaissent pas au même âge et les périodes d'expression des symptômes sont propres à chacune (Jeffcott 2005). Ainsi, pour chaque articulation existe une fenêtre de vulnérabilité pendant laquelle elle est plus sensible aux stimuli pathogènes (McIlwraith 2004) (tableau 1-1). Les AOAJ résultent donc d'un processus dynamique. Elles peuvent s'exprimer à des âges variables, changer de forme, se développer davantage ou même régresser pendant ces fenêtres de vulnérabilité (Carlsten et coll. 1993, Dik et coll. 1999). Ainsi, une lésion d'OC pourra devenir un KOSC puis une lésion d'OCD, d'où l'émergence d'un concept de « maladie » unique (DOD).

Tableau 1-1 : Age approximatif d'apparition des signes cliniques des affections ostéo-articulaires juvéniles en fonction des entités et des articulations (adapté d'après Jeffcott 2005)

Entité	Apparition des signes cliniques (mois)	Localisation
Ostéochondrose, ostéochondrite disséquante, kyste osseux sous-chondral	3-20	Doigts antérieur et postérieur, carpe, jarret, grasset, vertèbres
Epiphysite	4-8	Doigts antérieur et postérieur, carpe, jarret
Déformations angulaires des membres	1-6	Doigts antérieur et postérieur, carpe, jarret
Contracture/hyperlaxités tendineuses	1-4	Doigt antérieur et postérieur, carpe, jarret
Malformations des os carpaux/tarsaux	1-18	Carpe, jarret
Malformations des vertèbres cervicales	6-24	Vertèbres cervicales
Malformations des vertèbres thoraciques et lombaires	6-9	Vertèbres thoraciques et lombaires

2.1.3. Dénomination de la maladie

Les mécanismes d'apparition de ces entités étant complexes et encore mal connus à ce jour, le nom qu'il convient de donner à ces affections, ainsi que les entités lésionnelles à y inclure sont encore très débattus dans la littérature à ce jour.

2.1.3.1. Discussions sur la terminologie et l'unicité étiologique

Chez l'homme, le premier cas d'OCD a été rapporté en 1870 par Paget et c'est en 1887 que König lui a donné le nom d'OCD (Hurtig et Pool 1996). Chez le cheval, l'OC a été décrite pour la première fois par Nilsson en 1947 (van Weeren et coll. 1999, Jeffcott 1993). Dans les années 1970 et 1980, de nombreux auteurs s'accordent à dire que les diverses entités décrites jusque là et examinées individuellement peuvent être reconnues comme des manifestations d'une même maladie, l'OC, et susceptible d'affecter toutes les articulations. La première description détaillée chez le cheval a été donnée par Rejnö et Strömberg en 1978. En 1986, lors du symposium de l'American Quarter Horse Association, il fut décidé de regrouper ces affections, qui seraient toutes les images d'une même maladie, sous le terme de maladie orthopédique du développement (DOD) (McIlwraith 1986).

L'appellation DOD sera critiquée en 1988 par Gabel qui propose de regrouper ces affections sous le terme de maladie métabolique des os (Metabolic Bone Disease (MBD)) parce qu'un poulain peut présenter tous ces problèmes de développement en même temps, ce qui pour Gabel, implique une pathogénie (*i.e.* mécanismes entraînant le déclenchement d'une maladie) commune. Dans les années 1990, Jeffcott (1991, 1993, 2005) combat toutefois la vision de Gabel en avançant que ces problèmes de développement, même si parfois associés, n'ont pas systématiquement la même étiopathogénie et n'affectent pas uniquement les os. Il lui semble cependant logique de regrouper ces affections car elles apparaissent toutes durant la même période, et de les nommer problèmes de développement du squelette (Developmental Squeletal Problems (DSP)).

Ces théories ont été discutées lors de nombreux congrès et beaucoup d'articles scientifiques ont été publiés ces 25 dernières années sur les affections apparaissant lors du développement des poulains, sans pour autant aboutir à une définition appropriée et maintenant reconnue. Cependant, la terminologie de maladie orthopédique du développement (DOD) semble être la plus utilisée et adaptée. En effet, il apparaît préférable d'avoir recours à un terme non spécifique pour décrire les lésions variées des membres des jeunes chevaux (McIlwraith 2004). Les termes d'OC et de maladie métabolique des os impliquent une cause et une pathogénie communes, ce qui n'est pas forcément le cas de la DOD (Jeffcott 1991, McIlwraith 2004). Bien qu'il y ait des mécanismes communs dans la pathogénie des différentes entités incluses dans la DOD, il est totalement inapproprié de considérer comme des manifestations d'OC tous les KOSC, les épiphysites, les déviations angulaires des membres, les malformations des vertèbres cervicales, etc. (McIlwraith 2004). Par ailleurs, les termes de maladie métabolique des os se réfèrent spécifiquement à l'os alors que de nombreuses anomalies impliquent essentiellement les articulations et les plaques de croissance. En 1996, puis en 2004, les termes d'Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles deviennent les termes français consacrés, pour faire référence à la DOD (Denoix et coll. 1996, McIlwraith 2004).

2.1.3.2. Définitions des AOAJ

Par ailleurs, malgré la littérature abondante sur les problèmes de terminologie, il n'existe pas non plus de consensus sur la classification des AOAJ et des entités à inclure (Pool 1993, Hurtig et Pool 1996). De ce fait, les classifications, leurs intitulés et leurs contenus varient dans le temps et selon les auteurs, rendant les comparaisons bibliographiques hasardeuses.

Ainsi, selon la première définition donnée par McIlwraith en 1986, six entités étaient incluses dans la DOD : l'OC (incluant l'OCD), les KOSC, l'épiphysite, la déviation linéaire des membres acquise, la déformation en flexion, et la malformation des os cuboïdes. Cependant, des doutes étaient émis concernant le rôle de l'OC dans l'épiphysite, les KOSC, la

contracture/hyperlaxité tendineuse, et la malformation des vertèbres cervicales, et sur l'inclusion des deux dernières dans la DOD (McIlwraith 1986, Hurtig et Pool 1996).

En 2004, McIlwraith d'une part, qui a légèrement modifié sa définition de 1986, et Jeffcott d'autre part, définissent 7 entités à inclure respectivement dans la DOD et DSP (tableau 1-2). Dans notre étude, suite à des discussions avec les experts cliniciens (Jean-Marie Denoix et Céline Robert), 5 entités ont été considérées, modifiant ainsi la précédente définition donnée en France par Denoix et coll. (2002) (Lepeule et coll., *Animal, accepté*). Ainsi notre définition se rapproche davantage de celle de McIlwraith (2004) tout en excluant la déviation angulaire des membres et la contracture/hyperlaxité tendineuse. La raison de cette exclusion est que ces affections peuvent être considérées comme des défauts d'aplomb, dont on ne sait pas s'il s'agit d'une cause, manifestation, ou conséquence des AOAJ (Stashak 2002).

Tableau 1-2 : Principales définitions des AOAJ selon les entités incluses et leur appellation

Entité	Developmental orthopaedic disease (DOD) ¹	Developmental skeletal problems (DSP) ²	Affections ostéo-articulaires juvéniles (AOAJ) ³
Ostéochondrose (OC)	OCD	OC	Fragmentations ostéo-chondrales
Ostéochondrite disséquante (OCD)			
Kyste osseux sous-chondral (KOSC)	X		X
Déviations angulaires des membres	X	X	
Epiphysite	X	X	X
Anomalies des os carpeaux	Anomalies des os carpeaux ou tarsaux	Affaissement des os tarsiens	Affection dégénérative articulaire juvénile
Anomalies des os tarsaux			
Arthrose juvénile	X		
Contractures/hyperlaxités tendineuses	X	Déformations en flexion	
Malformation des vertèbres cervicales		X	
Déformation acquise des vertèbres		X	
Enthésopathies juvéniles			X

¹McIlwraith 2004, ²Jeffcott 2005, ³Lepeule et coll. *Animal, accepté*
X : entité incluse avec la même appellation ; Ø : entité exclue

2.1.4. Dépistage et diagnostic des AOAJ

Les outils diagnostiques pour les AOAJ sont nombreux : examen clinique, radiographie, échographie, imagerie par résonance magnétique, scintigraphie, thermographie, ou encore arthroscopie. Le diagnostic clinique est le plus simple et le moins coûteux à pratiquer. Cependant, l'expression clinique des AOAJ du jeune poulain est souvent limitée (Denoix 1991) et cette méthode reste très marginale dans le cadre du dépistage *a priori* des AOAJ. La radiographie est l'examen complémentaire de choix en raison de son faible coût et de sa spécificité en cas d'altérations de l'os sous-chondral et d'ostéophytes péri-articulaires (Denoix et coll. 2002). Certaines lésions d'OC sont détectables radiographiquement dès l'âge de 3 mois (Carlsten et coll. 1993). Toutefois, sur des cas précoces où les lésions sont limitées au cartilage de croissance, cette méthode peut se révéler insuffisante. D'autres techniques telles que la thermographie, scintigraphie, échographie et l'imagerie par résonance magnétique permettent alors de visualiser les tissus mous. Cependant, elles restent très onéreuses. Ainsi, la radiographie est l'outil majoritairement utilisé pour dépister et diagnostiquer les AOAJ (Denoix et coll. 2002).

De nombreuses études radiographiques ont été menées, dans lesquelles les images radiographiques (IR) identifiées sur les clichés sont interprétées en termes d'AOAJ en fonction de leur localisation, de l'entité présente, et de sa sévérité. Les AOAJ concernent toutes les articulations du cheval. Pour des raisons de coût, de sécurité des opérateurs de radiographie, et de puissance des appareils, il n'est pas toujours possible, ni nécessaire, de radiographier toutes les articulations. Par exemple, les vertèbres et l'épaule nécessitent des appareils puissants qui ne sont pas toujours disponibles et qui ne sont de toutes façons, pas utilisables lorsque les examens sont réalisés dans des élevages commerciaux. En tenant compte de ces contraintes, il n'existe de plus aucun consensus sur le protocole radiographique à réaliser et sur la méthode pour interpréter et classer les IR.

De ce fait, les protocoles radiographiques sont très hétérogènes sur les articulations radiographiées et les incidences radiographiques réalisées ; la plupart des études scientifiques publiées sont centrées sur une ou deux articulations, le jarret et le boulet le plus souvent (Hartung et coll. 1983, Carlsten et coll. 1993, Sandgren et coll. 1993a, Grondhal et Engeland 1995, Storgaard Jørgensen et coll. 1997, Stock et coll. 2006, Wittwer et coll. 2006), voire même parfois sur un site précis d'une articulation. Une seule étude réalisée dans un élevage commercial, a pris en compte toutes les articulations pouvant être radiographiées avec un appareil mobile (Alvarado et coll. 1989).

De plus, les méthodes d'interprétation et de gradation de la sévérité des AOAJ varient aussi d'une étude à l'autre, sans même parfois être décrites précisément. Certains articles ont toutefois décrit les méthodes utilisées pour

grader la sévérité des IR (Hoppe 1984, Shelley et Dyson 1986, Alvarado et coll. 1989, Dik et coll. 1999, van Hoogmoed et coll. 2003). Cependant, là encore, celles-ci sont hétérogènes, propres à une articulation voire à un site d'une articulation, ciblées sur une entité précise des AOAJ, et ne sont validées, ni en interne, ni en externe. Leur capacité à être reproduites de la même manière par les auteurs de la méthode ou par d'autres est donc inconnue et possiblement faible.

Dans toutes les études réalisées pour détecter les AOAJ des chevaux, celles-ci sont étudiées par articulation voire même par site au sein d'une articulation et le plus souvent, indépendamment des autres AOAJ présentes sur d'autres articulations ou sites. De plus, la majorité des études ne s'est intéressée qu'à une ou deux articulations, ce qui limite l'étude des liens entre articulations atteintes. Ainsi, la question de l'évaluation globale du SOA d'un poulain en prenant en compte la présence d'AOAJ, leur sévérité et les entités présentes, sur plus de deux articulations ou sites n'a jamais été étudiée.

2.1.5. Besoins de recherche concernant les AOAJ

Il ressort de cette littérature abondante une grande complexité de tout ce qui a trait aux AOAJ. Ainsi, la pathogénie, l'unicité étiologique des AOAJ, la terminologie et la classification à employer ont fait et font encore l'objet de nombreux débats. En revanche, les protocoles radiographiques, bien que très hétérogènes en termes d'articulations et d'incidences réalisées, de méthode d'interprétation et de gradation de la sévérité des IR, ainsi que d'évaluation du statut global des chevaux, suscitent peu de débats ou de questionnements vis-à-vis de leur validité et de leurs performances. Ces incohérences et ces faiblesses dans la bibliographie ont probablement pour origine la méconnaissance des processus pathogéniques de l'OC et des AOAJ qui, s'ils étaient mieux connus n'alimenteraient pas autant de débats et laisseraient peut être la place à d'autres questions de recherche. Des travaux sur l'étiopathogénie des AOAJ devraient être menés pour permettre d'élargir les connaissances. Malgré tout, cela ne justifie pas les faiblesses bibliographiques sur la qualité du dépistage radiographique et de ce qui en découle.

2.2. Epidémiologie et étiologie multifactorielle des AOAJ

L'étiologie est l'étude des causes d'un phénomène pathologique. Il est désormais communément admis, et des travaux le prouvent (Jeffcott et Henson 1998), que l'OC et donc les AOAJ ont toutes une étiopathogénie complexe, pouvant varier avec l'entité lésionnelle considérée (Jeffcott 2005, McIlwraith 2004). Bien que la cause initiale (lésion primaire lors du processus d'ossification) de l'OC et des AOAJ soit inconnue, il est également communément admis que ces affections ont un déterminisme multifactoriel (Jeffcott 1991, Hurtig et Pool 1996) (figure 1-2). On distingue deux niveaux dans l'apparition des AOAJ (figure 1-2). Le premier niveau concerne la lésion

primaire qui se crée lors de la transformation du cartilage en os. Le second niveau concerne la formation d'une lésion d'OC qui s'exprimera ensuite de différentes manières, selon sa localisation, et selon le type et la sévérité de la lésion primaire. En fonction du niveau auquel ils sont observés dans la genèse des AOAJ, on distingue les facteurs de risque, qui ont pour point commun d'apparaître avant la maladie, et les marqueurs de risque, dont la présence est contemporaine de la maladie. Les marqueurs de risque permettent seulement d'être des témoins de la présence ou non de la maladie. A ce jour, la littérature permet d'énoncer un certain nombre de facteurs de risque de l'apparition des AOAJ sans pour autant permettre de déterminer leur niveau d'action, ni de statuer sur leur rôle causal ou non. En effet, un facteur peut être associé statistiquement à la présence d'une maladie sans pour autant en être la cause.

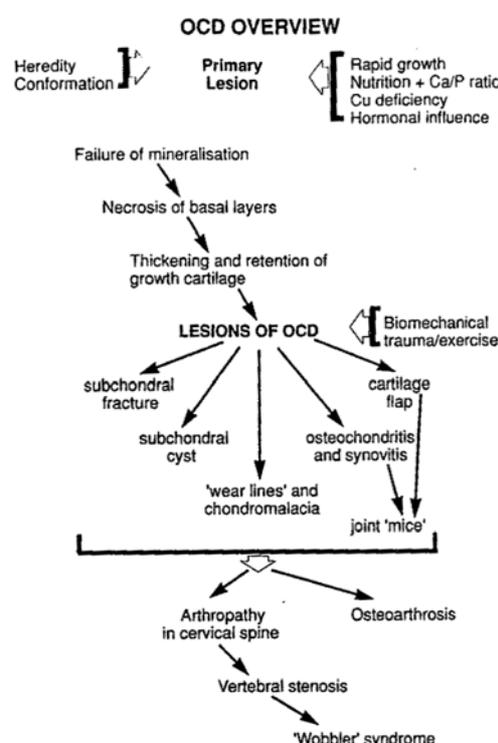


Figure 1-2 : Représentation schématique du développement de lésions du complexe d'Ostéocondrose chez le Cheval et facteurs associés à sa pathogénie (OCD=ostéocondrose) (d'après Jeffcott 1993)

Une approche d'épidémiologie analytique consisterait à étudier tous ces facteurs de risque, quel que soit leur niveau d'action, l'intérêt étant que la majorité de ces facteurs sont maîtrisables. En effet, l'enjeu majeur aujourd'hui est de quantifier l'effet des différents facteurs de risque sur les AOAJ, et éventuellement sur les entités composant les AOAJ, si ces facteurs diffèrent, afin de pouvoir agir sur ceux-ci pour faire diminuer l'incidence et la prévalence de ces affections. Ainsi, la recherche s'est orientée sur les effets des facteurs de risque suivants : génétique, vitesse de croissance, apports et équilibres

alimentaires, et pratiques d'élevage (*i.e.* conditions d'exercice), ainsi que sur le rôle de paramètres du métabolisme osseux en tant que marqueurs du risque d'AOAJ (cf. paragraphe 2.3.). En effet, si des bio-marqueurs permettaient de prédire la présence d'AOAJ, ces affections pourraient alors être détectées et les facteurs de risque maîtrisés, avant même que les AOAJ ne soient visibles radiographiquement. Par ailleurs, l'ensemble de ces facteurs et marqueurs de risque potentiels sont souvent très liés entre eux (figure 1-3).

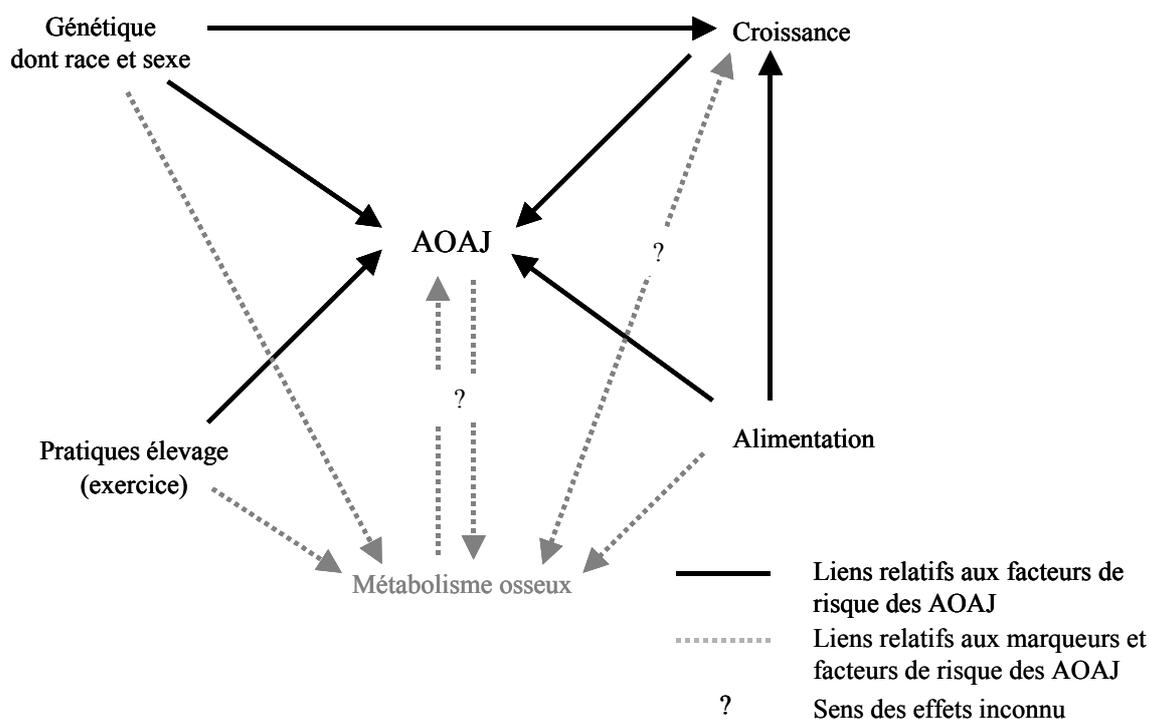


Figure 1-3 : Représentation schématique des effets des facteurs et marqueurs de risque potentiels sur les Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ) et liens entre ces facteurs

Pour des raisons qui seront exposées dans les besoins de recherche concernant l'épidémiologie des AOAJ (cf. paragraphe 2.2.5.), l'inventaire bibliographique concernant les facteurs de risque potentiels a volontairement été limité aux études les plus pertinentes en termes d'information apportée sur l'étiologie des AOAJ et en termes de comparabilité des résultats par rapport à notre étude épidémiologique.

Le terme d'OC tel que nous l'avons utilisé jusque là renvoie à la lésion primaire qui se crée lors de la transformation du cartilage en os. Ensuite, cette lésion primaire d'OC peut se manifester sous différentes formes qui sont constitutives des AOAJ, et appelées entités telles que les KOSC, les épiphysites, etc. Dans ces entités, selon les définitions des auteurs, on peut à nouveau retrouver l'OC. Dans ce cas, il est nécessaire de préciser qu'il s'agit d'OC stricte incluant souvent l'OCD, mais excluant toutes les autres entités telles que les KOSC, les épiphysites, etc. Ainsi, nous verrons par la suite que la majorité des

études ont été réalisées sur l'OC (stricte) ne tenant donc pas compte de toutes les autres entités incluses dans les AOAJ. Ces problèmes de définition, de terminologie et d'emploi abusif de certains termes sont récurrents dans la littérature sur les AOAJ (Jeffcott 1991).

2.2.1. Génétique

L'influence génétique est régulièrement invoquée. Cependant, les études sur ce sujet sont rares, ce qui est probablement lié à la difficulté d'obtenir des effectifs suffisants de lots de chevaux représentatifs d'une population donnée et ayant les mêmes caractéristiques par ailleurs (alimentation, exercice, etc.), ainsi qu'à l'absence de standardisation de la définition de la maladie. La composante génétique est double : elle peut être directe en influençant le processus d'ossification, causant ainsi une apparition prépondérante de lésions chez les poulains issus de certains étalons ou juments, que ces derniers soient porteurs ou non de l'affection ; elle peut aussi être indirecte en conditionnant la vitesse de croissance qui accentuera ou non le risque de développement d'AOAJ (figure 1-3).

Plusieurs études ont montré des corrélations entre ascendants et descendants dans la prévalence de l'OC (Hoppe et Philipsson 1985, Schougaard et coll. 1990). L'héritabilité des AOAJ dépend du site considéré. En France, les travaux menés par Ricard et coll. (2001, 2002) sur les AOAJ identifiées sur les sites des doigts antérieurs et postérieurs, du carpe, du jarret et du grasset montrent une héritabilité globale moyenne de 0,22 chez le TF, et de 0,11 chez le SF. Pour le TF, l'héritabilité est assez élevée pour les lésions du jarret (0,24 pour le tarse distal et 0,36 pour le tarse proximal) et moyenne pour les lésions du boulet (0,17 pour les articulations interphalangiennes distales) et du grasset (0,12 pour l'articulation fémoro-patellaire). D'autres travaux portant sur l'OC du jarret chez les trotteurs retrouvent des héritabilités du même ordre variant de 0,24 à 0,52 (Philipsson et coll. 1993, Schougaard et coll. 1990, Grondhal et Dolvik 1993). Pour le SF, Ricard et coll. (2001, 2002) rapportent des héritabilités moyennes sauf pour le pied antérieur (0,5 pour le sésamoïde distal) ; les lésions du jarret ont une héritabilité nulle. A l'étranger, les études sur les chevaux de selle rapportent des héritabilités entre 0,07 à 0,31 pour l'os sésamoïde distal et de 0,09 à 0,24 pour le boulet (Van Heelsum et coll. 1996, Willms et coll. 1996, Winter et coll. 1994). Toutes ces études portaient sur l'effet du père uniquement.

La race et le sexe sont également des éléments de la composante génétique qui peuvent donc influencer sur les AOAJ (figure 1-3). En effet les races ont fait l'objet d'objectifs de sélection variables selon les aptitudes recherchées. Plusieurs études sur la prévalence des AOAJ sont disponibles dans différentes races. Cependant, ces études n'ont pas été faites dans des conditions analogues de croissance, d'alimentation et de pratiques d'élevage et ne permettent donc pas d'isoler véritablement l'effet propre lié à la race. A ce jour, aucune étude n'a permis d'étudier rigoureusement les variations raciales concernant la prévalence

des AOAJ, et encore moins celles concernant les facteurs de risque des AOAJ. Le sexe est directement déterminé par la génétique. Les données relatives à l'influence du sexe sur les AOAJ sont assez discordantes. Certaines études rapportent des prévalences ou incidences plus fortes chez les mâles (Sandgren et coll. 1993a, Geffroy et coll. 1997) ou chez les femelles (Wittwer et coll. 2006) alors que d'autres aboutissent à des prévalences identiques dans les deux sexes (Grondahl 1991, Pagan et Jackson 1996, Storgaard Jørgensen et coll. 1997, van Weeren et coll. 1999, Denoix et coll. 2000, Vervuert et coll. 2005, Gee et coll. 2005, Stock et coll. 2006).

2.2.2. Croissance

Le cheval est un animal à croissance rapide et réalise entre 65 et 70% de son poids adulte entre la fécondation et l'âge d'un an, et près de 70% de sa croissance en hauteur au garrot sur cette même période (Martin-Rosset 2001). La croissance est donc particulièrement rapide pendant la phase d'installation des AOAJ (Jeffcott 1991, Dik et coll. 1999). Le rôle de la vitesse de croissance staturale et pondérale dans la survenue d'OC a été mis en évidence chez le Porc (Olsson et Reiland 1978), le poulet de chair (Poulos et coll. 1978), le bovin (Dutra et coll. 1999), et le chien (Wu et coll. 1974). Chez le cheval, la relation entre la vitesse de croissance ou le format, et l'apparition d'AOAJ est souvent suggérée (Jeffcott 1991, Watkins 1992, McIlwraith 2004) mais très peu d'expériences ont été réalisées pour le confirmer et encore moins l'expliquer.

Ainsi, une croissance staturale et/ou pondérale rapide augmentant les forces de pression par unité de surface sur les articulations portantes, pourrait se révéler propice à l'apparition d'AOAJ. Toutefois, les études réalisées sur ce sujet montrent des résultats hétérogènes. Plusieurs études ont montré que les poulains atteints d'OC ou OCD sur le boulet, jarret, ou grasset avaient des poids à âges types ou un gain de poids moyen, plus élevés que les poulains non atteints (Thompson et coll. 1988, Pagan et Jackson 1996, van Weeren et coll. 1999, Vervuert et coll. 2005). Deux études ont montré que les poulains atteints d'OC ou d'AOAJ avaient tendance à avoir une croissance en Hauteur au Garrot (HG) plus rapide, mais les différences n'étaient pas significatives (Alvarado et coll. 1989, Sandgren et coll. 1993b). Jelan et coll. (1996) n'ont montré aucun effet de la croissance de la HG ou du Périmètre Thoracique (PT) sur la présence d'OC. Cependant, une étude récente (Stock et coll. 2006) sur 3749 chevaux de selle allemands âgés de 3 à 5 ans a montré un effet significatif et positif de la vitesse de croissance en HG sur la prévalence de l'OCD dans le jarret et dans le boulet, et ceci ajusté sur l'âge ainsi que d'autres facteurs. En France, Caure et Lebreton (2004) trouvaient une HG à la naissance et à 5 mois plus élevée, mais un poids plus faible pour les poulains atteints d'AOAJ sur les boulets, jarrets ou grassets.

Une croissance rapide peut être physiologique et sous influence de la génétique, ou due à un excès d'apport en nutriments dans la ration. La génétique joue essentiellement sur le format adulte et le gain moyen quotidien (GMQ) en

HG et poids post-sevrage, alors que c'est l'alimentation de la mère qui joue principalement sur le GMQ pré-sevrage (Ott 2005). Ainsi, les effets de la croissance sont en partie liés aux facteurs génétique et alimentaire (figure 1-3).

Par ailleurs, d'autres études ont montré que l'âge de la mère (Hintz et coll. 1979, Willard et coll. 2005, Gee et coll. 2005) et l'année de naissance (Hintz et coll. 1979) peuvent jouer un rôle sur la croissance. Cependant, l'âge, ainsi que le statut de primipare ou non de la mère, ne semblent pas influencer directement sur le SOA (Sandgren et coll. 1993a).

2.2.3. Alimentation

L'alimentation et les déséquilibres minéraux et biochimiques sont les facteurs qui ont engendré la littérature la plus abondante. L'alimentation est un facteur délicat à étudier car de nombreux paramètres très corrélés entre eux entrent en jeu, et, de plus, la connaissance des apports journaliers individuels est souvent approximative. Comme pour le facteur génétique, la composante causale alimentaire est potentiellement double. Elle peut être directe en influençant le processus d'ossification, et/ou indirecte en conditionnant la vitesse de croissance. En effet, il y a une relation directe entre les niveaux d'apports alimentaires et la croissance et le développement du cheval (Martin-Rosset 2005). De plus, l'alimentation peut aussi influencer sur les AOAJ par l'équilibre des apports entre les différents paramètres alimentaires.

Ainsi, la suralimentation énergétique, le déficit en acides gras essentiels de la série oméga 3, l'abus de calcium, la carence en cuivre, et la déficience en fluor, bore, silice, et certaines vitamines, etc., sont autant de paramètres qui peuvent être incriminés dans l'apparition d'AOAJ (Wolter 1996). Parmi ceux-ci, nous limiterons notre exploration bibliographique aux paramètres énergétiques ainsi qu'aux macro-éléments Calcium (Ca) et Phosphore (P) et aux oligo-éléments Cuivre (Cu) et Zinc (Zn), qui sont les paramètres les plus étudiés.

Les apports excessifs en énergie, que ce soit pour le poulain ou pour la mère ont souvent été mis en évidence comme facteurs liés à une croissance excessive et à une prévalence de lésions d'AOAJ plus élevée (Glade et Belling 1984, Savage et coll. 1993a). En revanche, les apports excessifs en protéines ne semblent pas accélérer la croissance du cheval et n'auraient pas d'effet sur les lésions d'AOAJ (Savage et coll. 1993a, Paragon et coll. 2000).

Des déséquilibres minéraux variés ont été évoqués comme des agents étiologiques potentiels des AOAJ. Le Ca et le P, composants majeurs de l'os, ainsi que le Cu et le Zn, également impliqués dans la construction osseuse, jouent un rôle primordial dans la qualité de la croissance osseuse. Ainsi, l'excès de P mais pas celui de Ca semble pouvoir induire des lésions (Savage et coll. 1993b). Les recommandations se portent sur un rapport phospho-calcique de 1 à 2 (Wolter 1994, Paragon et coll. 2001). De même, la supplémentation en Cu peut prévenir l'apparition d'AOAJ (Knight et coll. 1990), alors qu'une

déficience sévère (Cu=1,7 ppm) en augmente l'incidence (Bridges et Harris 1988). Cependant, l'intérêt d'apports supplémentaires en Cu est discuté et ne serait utile que pendant une durée prolongée au cours de la gestation (Pearce et coll. 1998). Récemment, une hypothèse un peu différente a été soulevée par van Weeren et coll. (2003), dans laquelle le Cu pourrait avoir une influence réduite sur l'initiation des lésions, mais importante sur la réparation et sur l'expression clinique des lésions. Par ailleurs, les excès de Zn peuvent induire des AOAJ probablement par leur effet antagoniste sur l'absorption du Cu. Les recommandations générales portent sur un rapport Zn/Cu de 4 à 5 (McIlwraith 2004). A l'inverse, Coenen et coll. (2005) n'ont trouvé aucune différence significative dans l'alimentation tant en énergie et protéine qu'en minéraux entre les poulains atteints d'OC et les non atteints. Plus récemment, Donabedian et coll. (2006) ont montré que des apports nutritionnels élevés et équilibrés n'augmentaient pas significativement l'incidence et la gravité des AOAJ chez les foals, mais que le format et/ou la croissance, notamment permis(e) par ces apports élevés, mais aussi par la génétique, étaient des facteurs de risque des AOAJ.

La période de naissance a également été étudiée comme facteur de risque des AOAJ, car les pratiques d'alimentation et notamment les conditions de pâturage (et plus généralement d'élevage) des haras varient en fonction de celle-ci. Ainsi, plusieurs études ont rapporté un effet de la période de naissance sur la prévalence des lésions d'AOAJ chez le foal (Pagan et Jackson 1996, Wilke et coll. 2003, Wittwer et coll. 2006) et le yearling (Sandgren et coll. 1993a), et sur le format et la vitesse de croissance (Hintz et coll. 1979). A l'inverse, van Weeren et coll. (1999) ne rapportent pas d'effet de la période de naissance. Par ailleurs, l'âge de sevrage a aussi été évoqué comme facteur de risque des AOAJ, bien que celui-ci soit non significatif pour Sandgren et coll. (1993a).

2.2.4. Pratiques d'élevage : exercice, traumas et facteurs biomécaniques

Les effets de l'exercice (ou de l'activité physique d'une manière générale) sur la qualité de l'os ont été largement étudiés et l'activité physique du poulain est considérée comme indispensable à son bon développement musculo-squelettique (Jeffcott 1991, Paragon et coll. 2000, Martin-Rosset 2001). En revanche, les effets des pratiques d'élevage sur la prévalence des AOAJ sont souvent évoqués (Watkins 1992, Jeffcott 1993, Wolter 1994, Martin-Rosset 2001, McIlwraith 2004) mais encore très peu explorés.

Lors de la naissance, le poulain subit brusquement des pressions sur ses articulations. Au moment où il se lève, il se produit une mise en charge des tissus non encore ossifiés. Ainsi les contraintes exercées sur ces tissus pourront favoriser le développement d'AOAJ. Jeffcott, en 1993, suggère d'étudier l'effet de l'exercice sur les mécanismes de l'ossification endochondrale, car il pourrait être un facteur protecteur ou un facteur de risque, par les traumas qu'il peut produire. Il n'y a pas de consensus sur les mécanismes premiers provoquant les

AOAJ (Watkins 1992, Pool 1993). Il pourrait s'agir de forces biomécaniques anormales exercées sur des surfaces articulaires normales, auquel cas les traumatismes seraient un facteur primaire d'apparition des AOAJ qui seraient alors davantage situées dans les régions de fort stress biomécanique. Il pourrait s'agir également de forces biomécaniques normales ou anormales exercées sur des surfaces articulaires anormales, auquel cas les traumatismes seraient un facteur secondaire favorisant l'expression des AOAJ.

Ainsi, les durées de vie en box et/ou pâturage et paddock, le type de logement, la qualité des sols, les conditions sanitaires, qui reflètent l'activité globale du poulain pourraient jouer un rôle dans l'explication des différentes prévalences des AOAJ (Wolter 1994, Martin-Rosset 2001). Des différences dans la sévérité et dans la localisation des lésions en fonction de la taille de l'aire d'exercice, du type et de la quantité d'exercice, ainsi que de la qualité du sol ont effectivement été mises en évidence dans des études expérimentales (Caure et coll. 1998, van Weeren et Barneveld 1999, Wilke et coll. 2003).

2.2.5. Besoins de recherche sur l'épidémiologie des AOAJ

A l'issue de l'analyse de la bibliographie disponible, il s'avère que les données concernant les facteurs de risque potentiels des AOAJ sont intéressantes, nombreuses, mais hétérogènes en termes de populations, lésions, et facteurs de risque potentiels étudiés, voire surtout en termes de méthodes employées. De fait, il est extrêmement difficile, voire contre-indiqué, de les agréger pour en obtenir une vision globale.

L'hétérogénéité la plus problématique dans la comparaison des études entre elles réside dans la nature des lésions étudiées et leur localisation, les plus étudiées étant l'OC (incluant l'OCD le plus souvent) et les sites du jarret et du boulet. Cette hétérogénéité est très probablement liée aux problèmes de définition de ces affections et de caractérisation de leur pathogénie évoqués précédemment. Ainsi, le problème concernant l'étiologie commune ou non des AOAJ selon l'entité ou même selon les sites considérés n'est quasiment jamais évoqué et étudié. Il en est de même pour les méthodes employées qui sont hétérogènes et parfois peu adaptées aux questions posées ou aux données disponibles. Il est possible que ceci soit lié à l'importance des questions qui sont posées et à l'ambition très/trop forte qui sous-tend certaines études. Ainsi, la majeure partie de la bibliographie est constituée d'études observationnelles, à visée descriptive, réalisées sur de petites populations de chevaux présentés en clinique ou prédisposés aux AOAJ, et dont les résultats sont difficilement exploitables et donc extrapolables à la population générale des chevaux.

Quelques études expérimentales, dont les objectifs sont d'identifier les causes des AOAJ, sont disponibles, les plus récentes étant celles de van Weeren et coll. (1999), Willard et coll. (2005), Gee et coll. (2005), et Donabedian et coll. (2006). Cependant, ces études étant réalisées en conditions maîtrisées, un seul facteur peut être étudié, toutes choses étant égales par ailleurs. Les gammes de

variations des paramètres explorés dans ces études sont souvent soit insuffisantes de peur de perdre des animaux d'expérience, soit excessives pour augmenter la probabilité d'obtenir un effet sur les AOAJ, allant même parfois jusqu'à des carences très sévères, pour les études alimentaires par exemple. Dans les élevages en conditions réelles, ces situations se produisent très rarement, *a fortiori* dans les élevages de chevaux de courses et de sport de haut niveau. Ces études permettent donc d'identifier, de manière isolée, les causes des AOAJ, mais ont une portée limitée en termes de recommandations et de conseils aux éleveurs car elles ne représentent pas les conditions réelles d'élevage des chevaux et ne permettent pas d'étudier les multiples facteurs de risque des AOAJ.

La caractérisation de la représentativité d'un échantillon étudié permet de savoir si les résultats obtenus dans une étude pourront être extrapolés à d'autres populations ou échantillons de chevaux. Ainsi, pour définir des recommandations aux éleveurs, il est nécessaire de déterminer les facteurs de risque des AOAJ dans des conditions réelles d'élevage. De ce fait, les études cliniques ou expérimentales ne sont pas adaptées pour répondre à ce type d'attente car elles ne se placent pas dans des conditions réelles d'élevage et en général les chevaux atteints y sont sur-représentés. Les études observationnelles réalisées en conditions réelles d'élevage sont à préférer. Cependant, le choix de l'échantillon influera lui aussi sur la possibilité d'extrapolation des résultats. Ainsi, les résultats d'une étude réalisée sur des chevaux présentés aux ventes aux enchères ne pourront pas être extrapolés pour la population des chevaux tout-venant car les chevaux présentés aux ventes représentent les meilleurs produits et sont généralement moins atteints. Par ailleurs, les résultats des études réalisées dans un pays ne seront pas toujours extrapolables aux autres pays, surtout lorsque les conditions de vie des animaux sont très différentes (par exemple : la France versus la Norvège).

Concernant les études observationnelles analytiques qui permettent d'étudier les multiples facteurs de risque des AOAJ (avec un dépistage *a priori* des AOAJ, sans attendre la présence de signes cliniques) dans des conditions réelles d'élevage, seules 5 sont répertoriées à ce jour (tableau 1-3) : Alvarado et coll. (1989), Sandgren et coll. (1993a), et plus récemment Vervuert et coll. (2005), Stock et coll. (2006), et Wittwer et coll. (2006).

Tableau 1-3 : Caractéristiques des études observationnelles analytiques réalisées sur les facteurs de risque des affections ostéo-articulaires juvéniles du Cheval

Caractéristiques	Alvarado et coll. (1989)	Sandgren et coll. (1993)	Vervuert et coll. (2005), Coenen et coll. (2005)	Stock et coll. (2006)	Wittwer et coll. (2006)
Effectif	73	1048	629	3749	167
Race	Trotteur	Trotteur	Selle	Selle	Coldblood (race de trait)
Age	Yearling	Yearling	Foal	3-5 ans	Foal
Pays	Canada	Suède	Allemagne	Allemagne	Allemagne
Echantillon	Un élevage	Au hasard issus de 20 étalons approuvés	83 haras	Ventes aux enchères	Au hasard issus de 30 étalons approuvés
Radiographies	Carpe, boulet, jarret, grasset	Boulet, jarret	Boulet, jarret, grasset	Boulet, jarret	Boulet, jarret
Entités considérées	AOAJ	OC et OCD	OC et OCD	OCD	OC et OCD
Affections	Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ),	Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ),	Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ),	Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ),	Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ),
	Ostéochondrite Dissécante (OCD)	Ostéochondrite Dissécante (OCD)	Ostéochondrite Dissécante (OCD)	Ostéochondrite Dissécante (OCD)	Ostéochondrite Dissécante (OCD)

Cependant, dans ces études, les effets de chaque type de facteur (génétique, croissance, pratiques d'alimentation ou d'élevage), voire de chaque paramètre (par exemple la HG pour la croissance), ont été étudiés de façon isolée, sans prendre en compte les autres facteurs. Certaines études ont par exemple rapporté l'effet de la vitesse de croissance, sans tenir compte des apports alimentaires. Ainsi, ces études ne permettent pas d'évaluer la part relative de chaque facteur/paramètre dans l'apparition des AOAJ. Seules les études de Stock et coll. (2006) et Wittwer et coll. (2006) ont estimé les effets relatifs de différents facteurs de risque des AOAJ sur les boulets, d'une part, et sur les jarrets, d'autre part, mais là aussi, sans prendre en compte tous les facteurs de risque concernant la génétique, la croissance, et les pratiques d'alimentation et d'élevage. En effet, le rôle des pratiques d'élevage sur les AOAJ pourrait être plus ou moins important selon les conduites alimentaires (effets d'interactions). Par ailleurs, dans ces études, ce sont principalement les effets de l'âge aux examens radiographiques, du mois de naissance et de la croissance qui sont étudiés. Seule

une étude s'est intéressée aux effets des conduites alimentaires (Coenen et coll. 2005) et aucune aux effets des pratiques d'élevage.

2.3. Les marqueurs biochimiques des AOAJ

Les maladies osseuses, et donc l'OC et les AOAJ, sont associées à des modifications de la composition et de la construction de certaines structures intervenant dans le métabolisme osseux (matrices extra-cellulaires de l'os et du cartilage) (McIlwraith 2005). Certaines de ces modifications pourraient donc être le témoin des lésions primaires qui interviennent avant l'expression des AOAJ. Dans ce contexte, il est légitime de rechercher d'éventuelles répercussions des AOAJ sur les bio-marqueurs du métabolisme de l'os. Les bio-marqueurs, dits encore marqueurs biochimiques sont des indicateurs des phases normales de formation et résorption osseuses qui s'opèrent tout au long de la vie du cheval (McIlwraith 2005). Ces marqueurs sont souvent des molécules qui peuvent être retrouvées dans le liquide synovial, dans le sang, ou les urines.

Ainsi, le dosage de ces marqueurs biochimiques pourrait permettre de détecter les AOAJ avant même qu'elles ne soient visibles radiographiquement, de fournir des informations sur la progression de la maladie, et pour ainsi dire de prédire les AOAJ. De plus, l'interprétation de tels dosages par rapport à des valeurs de référence présente l'avantage d'être objective, contrairement à l'interprétation d'examen radiographiques qui présente une part de subjectivité. Cependant, ces marqueurs comportent aussi l'inconvénient d'être *a priori* plus ou moins spécifiques des AOAJ, puisqu'ils sont sensibles à différents facteurs comme le sexe (Jackson et coll. 2003), la race (Lepage et coll. 1998), l'âge (Lepage et coll. 1990, Price et coll. 2001), l'exercice (Price et coll. 1995, Jackson et coll. 2003, Perez et coll. 2004), l'alimentation (Perez et coll. 2004), ou le rythme circadien (Lepage et coll. 1991, Jackson et coll. 2003). La littérature sur les bio-marqueurs est abondante (McIlwraith 2005). C'est pourquoi nous limiterons les investigations bibliographiques aux marqueurs biochimiques qui ont été pris en compte dans notre étude ultérieure.

L'ostéocalcine (OST) et la phosphatase alcaline osseuse (PALoss) sont des marqueurs directs de la formation osseuse (Price et Baukol 1980, McIlwraith 2005), tandis que l'hydroxyproline (HXP) est un marqueur de la résorption osseuse (Delmas 1993). L'OST est une protéine dont 10 à 25% passent dans la circulation sanguine. Cette protéine est considérée comme un marqueur fiable et spécifique de la formation osseuse (Delmas et coll. 1990, Lepage et coll. 1997, Fortier et coll. 2001, McIlwraith 2005). La phosphatase alcaline totale est une glycoprotéine peu spécifique de l'os en raison de sa forte activité dans le foie, le tube digestif et le pancréas notamment. En revanche, l'iso-enzyme osseuse (PALoss) joue un rôle important dans le processus de formation osseuse (Fortier et coll. 2001, McIlwraith 2005). L'HXP est un acide aminé dont près de 90% circule dans le plasma, notamment pendant la phase de résorption osseuse. Ce marqueur n'est pas spécifique de l'os, car il peut provenir de la dégradation de

plusieurs formes de collagène ; mais la majorité du collagène se retrouvant dans l'os, on peut le considérer comme un marqueur de la résorption osseuse (Jaeschke 1975, Fortier et coll. 2001). Ainsi, certaines études ont pointé que l'OST et la PALoss étaient des indicateurs faciles à doser, sensibles et précoces pour le diagnostic ou le suivi de certaines affections osseuses chez le cheval (Perez et coll. 2004, McIlwraith 2005). Ainsi, Billingham et coll. (2004) et Fortier et coll. (2005) ont montré une association entre la présence d'AOAJ et les valeurs de ces marqueurs biochimiques. Cependant, aucune étude n'a évalué la valeur informative de ces marqueurs biochimiques sur la présence d'AOAJ.

3. Problématique et approche méthodologique retenue

La problématique du travail de recherche concerne l'épidémiologie des AOAJ diagnostiquées radiographiquement chez des poulains Bas-Normands âgés de 6 mois environ dans des conditions réelles d'élevage. En tant qu'épidémiologistes, cinq questions nous ont parues essentielles à explorer : la validité de la mesure radiographique des AOAJ, la qualification du SOA à l'échelle du poulain en fonction des AOAJ identifiées au niveau de ses articulations, la quantification des effets des facteurs de risque potentiels identifiés dans la littérature, l'unicité étiologique des AOAJ selon les entités présentes et leur site de localisation, et enfin le caractère informatif du dosage de paramètres biochimiques sur le SOA des poulains.

Les AOAJ regroupent toutes les anomalies ostéo-articulaires visibles sur un cheval n'ayant pas encore atteint sa maturité squelettique et peuvent affecter toutes les articulations. La radiographie est la méthode la plus performante et la plus utilisée pour les détecter, avec cependant des contraintes d'appareillage variables selon les articulations à radiographier. Malgré l'importance et l'impact des AOAJ sur la filière équine, aucun protocole radiographique standard incluant les articulations à radiographier et les incidences à réaliser sur chaque articulation pour évaluer au mieux le statut du poulain vis à vis des AOAJ, n'a été défini. De plus, aucun consensus n'existe sur la méthode à utiliser pour interpréter les radiographies et grader la sévérité des lésions observées. En effet, les rares méthodes décrites permettant de grader la sévérité des AOAJ sont très hétérogènes, valables pour une seule articulation ou un seul site d'une articulation, et pour une seule entité. Ces méthodes n'ont, de plus, pas fait l'objet d'évaluation de répétabilité et de reproductibilité permettant de valider leur utilisation par les créateurs de l'outil et par d'autres. Ainsi, la proposition et l'évaluation des performances de dépistage, d'un protocole radiographique réalisable en élevage, couplée à la proposition et la validation d'une méthode d'interprétation et de gradation de la sévérité des AOAJ, permettrait de disposer d'éléments objectifs pour favoriser et homogénéiser le dépistage des AOAJ et par conséquent pour étudier et comparer les prévalences et les facteurs de risque identifiés entre les études.

Comme cela vient d'être dit, et probablement en raison de l'absence de consensus concernant la définition et la terminologie à employer pour les AOAJ, les études se sont focalisées pour la plupart sur l'OC et/ou l'OCD et sur une ou deux articulations, alors que les AOAJ peuvent en affecter jusqu'à plus ou moins dix selon le classement adopté (vertèbres cervicales, vertèbres thoraciques et lombaires, épaule, coude, carpe, boulet, articulations interphalangiennes, jarret, grasset, hanche). Les liens entre articulations ou sites atteints d'AOAJ n'ont pas pu être étudiés davantage que sur deux articulations ou sites. Par ailleurs, dans les études où plusieurs articulations sont considérées, la question de l'évaluation globale du SOA des chevaux en considérant la présence, la sévérité et les entités présentes, n'a jamais été étudiée, hormis le fait de considérer le poulain affecté lorsqu'une lésion est présente sur une des articulations radiographiées. Ainsi, l'étude des facteurs de risque est toujours ciblée sur une articulation précise car aucun système ne permet de représenter le statut global des chevaux vis-à-vis des AOAJ. Une étude incluant davantage d'articulations et prenant en compte toutes les entités des AOAJ permettrait, d'une part, de mieux évaluer la prévalence réelle de ces affections en incluant plus d'articulations, et d'autre part, d'étudier la distribution des AOAJ et de leur sévérité ainsi que les éventuelles associations entre articulations atteintes afin de parvenir à un système de classement des chevaux en fonction de leur SOA global. Cette approche permettrait d'étudier ultérieurement les facteurs de risque du SOA global du poulain de manière à pouvoir intervenir sur les facteurs qui influencent le SOA du poulain et pas seulement sur ceux qui influencent le statut d'une articulation donnée. Par ailleurs, le regroupement des poulains selon leurs ressemblances concernant les sites atteints, la sévérité des sites atteints, ou les entités présentes, permettrait de mettre en évidence ces ressemblances et d'en étudier les facteurs de risque, éventuellement différents entre groupes de poulains.

Il est communément admis que les AOAJ ont un déterminisme multifactoriel. Beaucoup d'études ont été réalisées pour évaluer le rôle de la génétique, la croissance, l'alimentation et les pratiques d'élevage dans la prévalence des AOAJ. Cependant, le rôle de chacun de ses paramètres sur la présence d'AOAJ a été évalué en bivarié, c'est à dire sans tenir compte des autres paramètres, ce qui peut conduire à observer un effet biaisé qui serait minoré ou majoré si on tenait compte des autres facteurs. A ce jour, aucune étude multivariée n'a évalué l'effet de tous ces facteurs relativement aux autres. Une étude observationnelle analytique réalisée sur des animaux en conditions réelles d'élevage, incluant une évaluation radiographique des articulations des poulains ainsi qu'un recueil d'information en amont, permettrait une telle analyse. Ce type d'étude pourrait confirmer ou infirmer le rôle de la vitesse de croissance et de certains paramètres alimentaires déjà mis en évidence par de nombreuses analyses bivariées, et de définir plus précisément les pratiques d'élevage associées à la présence d'AOAJ. L'inclusion de plusieurs races de chevaux permettrait de distinguer la part de la race et des autres facteurs de

risque dans les variations de prévalence, de distribution et de sévérité des AOAJ. Enfin, seul ce schéma d'étude fournirait des résultats pertinents pour établir des recommandations aux éleveurs afin de diminuer la prévalence et l'incidence des AOAJ et leur impact économique.

Toutefois, la quantification des effets des différents facteurs de risque implique également une problématique statistique avec la nécessité de prendre en compte et de gérer des effets de confusion et des corrélations importantes entre les facteurs de risque potentiels explorés. En effet, les multiples données relatives à un même domaine comme l'alimentation par exemple sont très liées, de même que les données relatives à des domaines différents comme par exemple la croissance et la génétique (figure 1-3). Par ailleurs, en conditions réelles d'élevage, il existe une forte ressemblance entre les sujets issus d'un même haras (effet dit de clustering), qu'il conviendra de prendre en compte également.

Les mécanismes d'apparition des AOAJ étant complexes et leur cause initiale n'étant pas connue, la question de l'unicité étiologique des AOAJ selon l'entité ou le site atteint est régulièrement posée sans pouvoir y apporter de réponse. L'objectif de la thèse n'est pas d'élucider l'étiopathogénie des AOAJ. Cependant, l'épidémiologie peut apporter sa contribution dans la compréhension des caractéristiques de survenue de ces affections. Ainsi, la réponse à la problématique de classement global du SOA des poulains permettra d'explorer les éventuelles différences entre les facteurs de risque en fonction de la présence, des entités, et de la sévérité des AOAJ.

Enfin, l'évaluation de l'aspect informatif du dosage sanguin de marqueurs biochimiques du métabolisme osseux paraît essentielle afin d'évaluer l'intérêt de tels dosages dans la détection précoce des AOAJ et le suivi de la progression de la maladie.

4. Objectifs, étapes et contenu de la thèse

L'objectif principal de la thèse était de quantifier l'effet de la génétique, de la croissance, des pratiques d'alimentation, et des pratiques d'élevage sur la prévalence des AOAJ chez le foal. L'objectif secondaire était d'évaluer le caractère informatif de marqueurs biochimiques sur la présence d'AOAJ chez le foal.

Les étapes de travail qui ont permis de répondre à ces objectifs sont présentées dans la figure 1-4.

Les travaux rapportés dans les différentes étapes de travail sont organisés en 4 chapitres :

- Matériels : ce chapitre présente les données sur l'échantillon d'étude, les AOAJ, la croissance, les pratiques d'alimentation, et les pratiques d'élevage sur lesquelles la thèse est basée et qui ont été recueillies dans le cadre de l'étude ESOAP ;
- Statut ostéo-articulaire du poulain : ce chapitre présente le traitement préalable réalisé sur les données relatives aux AOAJ, la validation interne de ces données, l'exploration des variations raciales dans la distribution des AOAJ, et le classement des poulains selon leur SOA ;
- Facteurs de risque des AOAJ : ce chapitre présente le traitement préalable réalisé sur les données relatives aux facteurs de risque potentiels des AOAJ, ainsi que les résultats de la mise en relation avec le SOA des poulains ;
- Marqueurs de risque des AOAJ : ce chapitre présente l'étude du caractère informatif des marqueurs du métabolisme osseux sur la présence d'AOAJ.
- Certains chapitres se rapportent à des articles soumis, en cours de soumission ou acceptés. Dans ce cas les articles constituant pour partie le présent manuscrit sont insérés avec, selon les cas, des préalables ou des compléments aux résultats des articles.

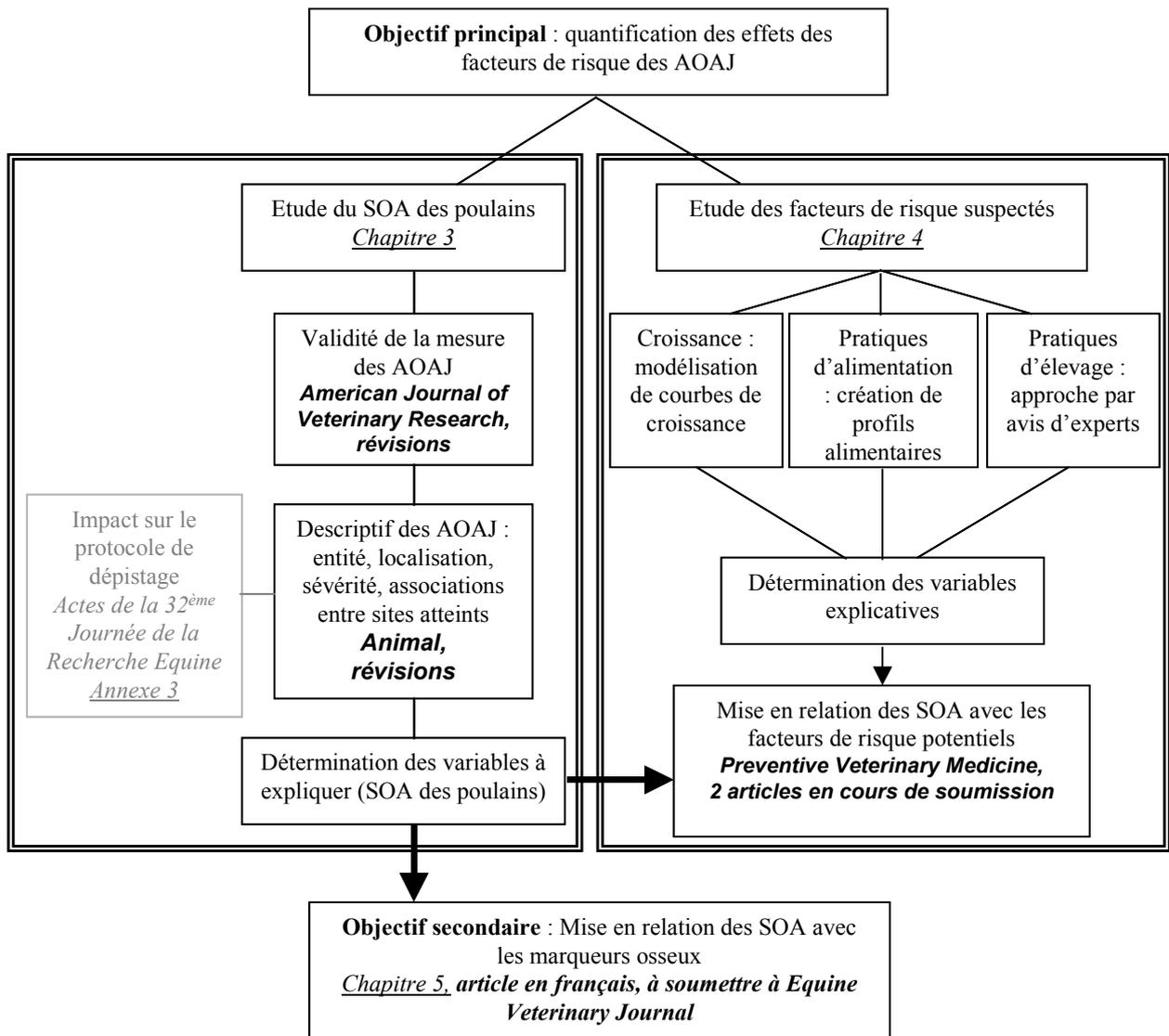


Figure 1-4 : Etapes de travail réalisées pour la réponse aux objectifs de la thèse, chapitres de thèse correspondants, état des articles et revues cibles

Chapitre 2 : Matériels

1. Echantillon d'étude

Pour répondre à nos objectifs, la thèse s'est basée sur une vaste étude lancée en 2002, intitulée ESOAP. Financée par les Haras Nationaux et le conseil régional de Basse-Normandie, l'étude ESOAP a été construite et mise en œuvre par l'UMR BPLC INRA-ENVA 957 et l'UP de Nutrition de l'ENVA. Le recueil des données a débuté à l'automne 2001 pour s'achever à l'automne 2005. La thèse a donc débutée alors que le recueil de données était quasiment achevé.

Trois cohortes de poulains nés en 2002, 2003, ou 2004 ont été incluses. L'échantillonnage était de convenance, incluant 21 haras Bas-Normands sur la base du volontariat. Chaque haras élevait en général une seule race de chevaux parmi le SF, TF, et PS. La taille et les activités des haras étaient hétérogènes. Six haras avaient pour objectif majeur de présenter leur production annuelle lors des ventes de foals et de yearlings qui se déroulent du mois d'août au mois d'octobre. Ces haras possédaient entre 15 et 80 poulinières avec au minimum 12 naissances par an. Les autres haras étaient plus traditionnels avec des activités d'élevage et d'entraînement. Ces derniers possédaient de 4 à 40 poulinières, avec au minimum 3 naissances par an.

Les enquêteurs ont sélectionné au plus 16 poulains par élevage et par année, de manière à pouvoir effectuer les examens radiographiques des poulains d'un même haras en une journée. Au total, 393 poulains ont été suivis dès la naissance et jusqu'à l'âge de 18 mois environ. Des informations relatives aux AOAJ, à la croissance du poulain et à ses bio-marqueurs, à l'alimentation de la mère et du poulain, et aux pratiques d'élevage ont été régulièrement relevées. Le recueil de ces données dépendait de plusieurs collaborateurs et partenaires en fonction des domaines (figure 2-1). Les données sur les pratiques d'alimentation et les pratiques d'élevage ont été recueillies de manière rétrospective par interrogation des éleveurs, ou des responsables des haras, sur leurs pratiques pour chacun des poulains. Pour chaque domaine, le collaborateur ou partenaire engagé avait pour rôle de définir les informations à recueillir, de les recueillir et les saisir informatiquement, puis de les exploiter telles quelles puis en relation avec les AOAJ. Le travail de thèse visait quant à lui, d'une part à mettre en relation l'ensemble de ces facteurs de risque potentiels (la génétique représentée par la race et le sexe, la croissance, et les pratiques d'alimentation et d'élevage)

avec les AOAJ, et d'autre part à établir le caractère informatif ou non des marqueurs biochimiques sur les AOAJ.

Même si l'ensemble des données a été recueilli entre 0 et 18 mois, la thèse était centrée sur la période 0-6 mois uniquement. Seule la partie « 2. » du chapitre 3 a porté à la fois sur les radiographies effectuées à 6 et à 18 mois, car il s'agissait d'évaluer la validité interne d'une méthode de gradation des AOAJ. Ainsi, dans la suite, le recueil des données radiographiques est décrit entre 0 et 18 mois alors que seules les données recueillies sur les facteurs et marqueurs de risque entre 0 et 6 mois sont décrites.

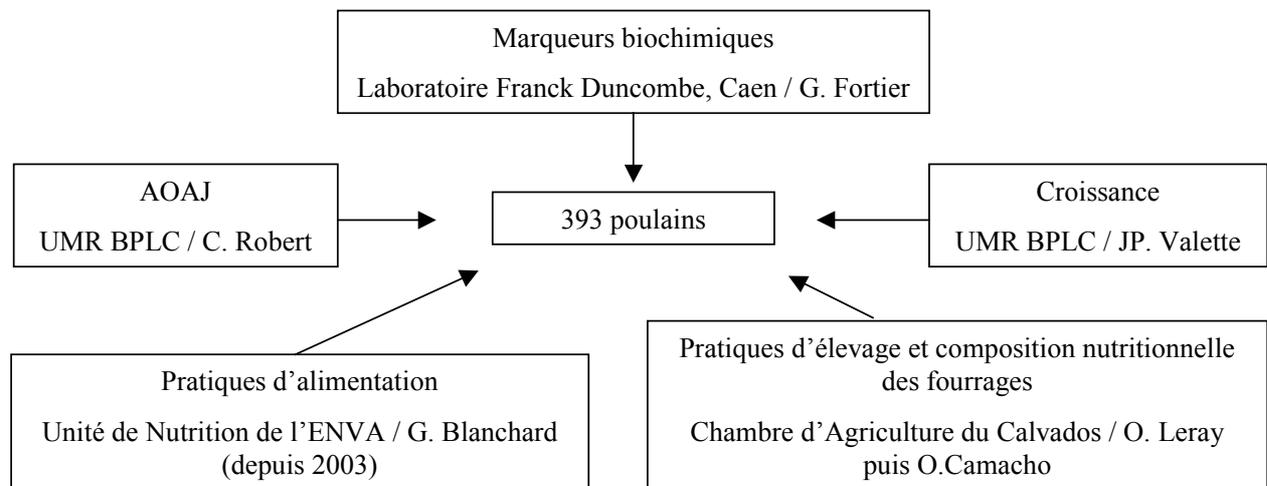


Figure 2-1 : Identification des collaborateurs et partenaires responsables du recueil, de la saisie et du traitement des différentes données exploitées dans le cadre de cette thèse (Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ), Unité Mixte de Recherches (UMR), Biomécanique et Pathologie Locomotrice du Cheval (BPLC), Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (ENVA))

2. Données sur les AOAJ : protocole radiographique

Les poulains ont été radiographiés dans les haras à l'âge de 6 mois (172 ± 38 jours) et 18 mois (515 ± 62 jours). Le protocole radiographique incluait 5 incidences bilatérales (figure 2-2), soit 10 clichés au total : les doigts antérieur et postérieur de profil (incluant l'articulation du boulet), le carpe de face, et le jarret et le grasset de profil. Les radiographies ont été réalisées par le même opérateur pour tous les poulains.

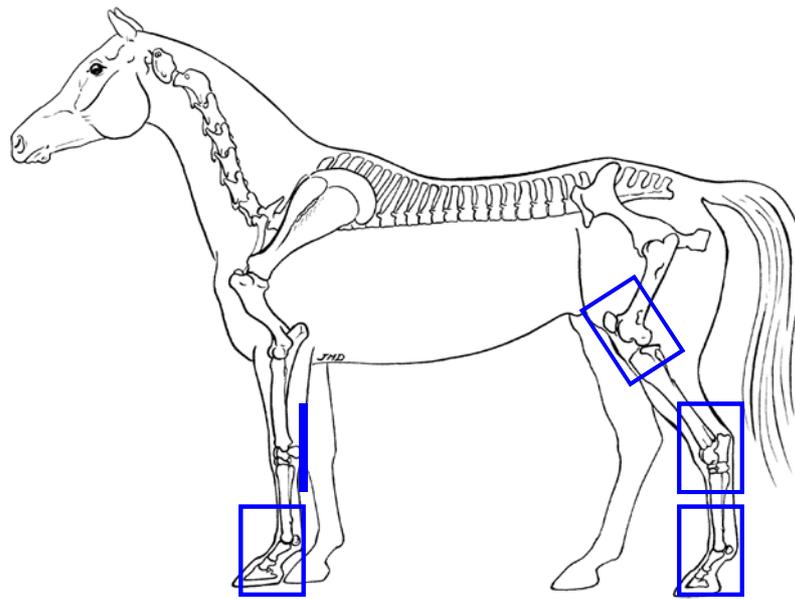


Figure 2-2 : Incidences bilatérales réalisées dans le protocole 10 clichés d'après Denoix et coll. 1995

Les clichés ont été interprétés par un collège de 3 vétérinaires expérimentés (Jean-Marie Denoix, Sandrine Jacquet et Céline Robert). Les 10 clichés d'un même poulain étaient interprétés à la suite, par paire de clichés homologues. Pour chaque poulain, toutes les IR considérées comme anormales identifiées sur les clichés étaient consignées dans une grille de recueil (figure 2-3) pour chacun des poulains. Sur les 5 incidences bilatérales réalisées, 15 sites anatomiques ont été différenciés (tableau 2-1). Pour des raisons de commodité de présentation des résultats, dans l'article 1 (cf. 2., chapitre 3) les sites SD, P3, IPD, et Aut ont été regroupés sous l'appellation « pied antérieur » (« fore foot »). Dans l'article 2 (cf. 3.2., chapitre 3), le site Aut n'a pas été cité car aucune AOAJ n'a été identifiée sur ce site chez les foals.

**ESOAP - EXAMEN RADIOGRAPHIQUE A 6 MOIS
FICHE RÉCAPITULATIVE**

(15 sites anatomiques) → N° Rx: 201, Père, G. père, Date de naissance

NOM: Heras, Score de sévérité

Nom de l'IR: G

Date Radio: 13/09/2004

note 6 mois, note 18 mois, évolution

		G		D			
PIED	Sésam. Dist.						
	Phal. Dist.						
	IPD						
	Autre	2	pied bot	pied bot	2		
IPP (Paturon)							
AMcP (Boulet)							
CARPE (Genou)	1	encoche ulna					
POSTÉRIEURS							
PIED POST							
IPP (Paturon)							
AMp (Boulet)	Dorsal						
	Plantaire						
TARSE (Jerret)	Proximal	6	OCD1 + LL Talus	OCD1 + LL Talus	6		
	Distal						
GRASSET	A. Fém. Pat.						
	A. Fém. Tib.						

Score Radiographique Catégorie

Score Radiographique 6 mois : 17 **Score Radiographique 18 mois :**

Catégorie (1 = excellent ; 2 = bon à moyen ; 3 = moyen à médiocre) 6 mois : 3 18 mois :

évolution des images entre 6 et 18 mois : a = aggravée ; d = disparue ; m = mieux ; n = nouvelle ; s = stable

Figure 2-3: Grille de recueil individuelle des images radiographiques (IR) pour chacun des 15 sites anatomiques distingués sur les 5 clichés bilatéraux

Tableau 2-1 : Sites anatomiques (15) identifiés sur les 5 clichés bilatéraux réalisés

Cliché radiographique	Sites anatomiques
Doigt antérieur	Os Sésamoïde Distal (SD) Phalange Distale (P3) Articulation InterPhalangienne Distale (IPD) Autres sites du pied antérieur (Aut) Articulation InterPhalangienne Proximale antérieure (IPPa) (<i>i.e.</i> paturon) Articulation MétacarpoPhalangienne (AMcP) (<i>i.e.</i> boulet antérieur)
Carpe	Carpe
Doigt postérieur	Pied postérieur (Pied) Articulation InterPhalangienne Proximale postérieure (IPPs) (<i>i.e.</i> paturon) Articulation MétatarsoPhalangienne dorsale (AMtPd) Articulation MétatarsoPhalangienne plantaire (AMtPp) (AMtPd et AmtPp forment le boulet postérieur)
Jarret	Etage Proximal du Tarse (TP) Etage Distal du Tarse (TD)
Grasset	Articulation Fémoro-Patellaire (AFP) Articulation Fémoro-Tibiale (AFT)

Pour chaque site anatomique, le nom de l'IR identifiée était précisé, et un score de sévérité compris entre 0 et 8 était affecté selon 4 critères : la taille, les complications associées, le positionnement dans l'articulation, et l'impact sur le fonctionnement de l'articulation locomotion (Denoix et coll. 2000, Lepeule et coll., *American Journal of Veterinary Research, en révision*). Au final, un score radiographique (SR) global représentant la somme des scores obtenus sur les 30 sites (15 sites bilatéraux) était calculé pour chaque poulain. En fonction du SR global obtenu, les poulains étaient classés dans une des 3 catégories, associées à des classes définissant le SOA du poulain (Jacquet et coll. 2002) (tableau 2-2). Les poulains avec un SOA excellent à bon (SR=0 ou 1) étaient considérés par les cliniciens comme n'ayant pas d'anomalie notable et pouvant être mis à l'entraînement et à la compétition sans restriction. Les poulains avec un SOA bon à moyen (SR = [2-5]) étaient considérés par les cliniciens comme ayant un tableau lésionnel modéré, avec un pronostic favorable à réservé pour envisager l'entraînement et la compétition. Enfin, les poulains avec un SOA moyen à médiocre (SR > 5) étaient considérés par les cliniciens comme ayant des lésions majeures, avec un pronostic réservé à défavorable pour envisager l'entraînement et la compétition.

Tableau 2-2 : Définition des catégories et des classes selon le score radiographique, d'après Jacquet et coll. 2002

Score radiographique	Catégorie	Classe
0-1	1	Excellent à bon
2-5	2	Bon à moyen
>5	3	Moyen à médiocre

3. Données sur les facteurs de risque potentiels

3.1. Mesures de croissance

La HG et le PT en centimètres (cm) ont été régulièrement relevés. Les mesures étaient réalisées lors de visites dédiées à cet effet et lors de l'examen radiographique à 6 mois. Cependant, celles-ci n'étaient faites ni à âge égal, ni à intervalle égal pour tous les foals. Ainsi, 91,5% des foals avaient été mesurés au moins 3 fois, et 17% l'avaient été entre 5 et 11 fois avant l'examen radiographique. Seize foals avait été mesurés à la naissance, et 298 avant l'âge de 1 mois. Une mesure du Poids Vif (PV) en kilogrammes (kg) contemporaine de l'examen radiographique a été obtenue.

3.2. Pratiques d'alimentation

L'alimentation des mères a été décrite mensuellement du 8^{ème} mois de gestation au 6^{ème} mois de lactation, ainsi que celle des poulains de la naissance à la date des radiographies, par interrogation des éleveurs sur leurs pratiques. Trois composantes ont été distinguées : l'herbe lorsque les animaux avaient accès au pâturage, les fourrages conservés, et la ration concentrée qui a été décomposée en deux sous-parties : les concentrés et les Aliments Minéraux Vitaminés (AMV) (tableau 2-3). Le lait de la mère apporté au poulain n'a pas été pris en compte. La composition des aliments étudiés a été décrite à l'aide des paramètres suivants et exprimée par kg de matière sèche : énergie en Unités Fourragères Chevals (UFC), Matière Azotée Digestible Cheval (MADC) en grammes (g), macro-éléments minéraux en g (Ca et P), oligo-éléments en milligrammes (mg) (Cu Zn), et vitamines (A, D, et E) en Unités Internationales (UI). La teneur affichée en vitamines n'était disponible que pour la ration concentrée.

Tableau 2-3 : Données disponibles en termes de quantité et de composition de l'alimentation des mères et des foals en herbe pâturée, fourrages conservés, ration concentrée (incluant les concentrés et les Aliments Minéraux Vitaminés), et lait pour les foals

	Mère			}	Foal			
	Herbe pâturée	Fourrages conservés	Ration concentrée		Lait	Herbe pâturée	Fourrages conservés	Ration concentrée
Quantité	-	-	X		-	-	-	X
Composition	120	77	X		-	120	77	X
	analyses	analyses				analyses	analyses	

- : donnée inconnue ; X : donnée connue

La quantité offerte de fourrages n'a pas été relevée. En revanche, des prélèvements d'herbe (120) et de foin (77) ont été réalisés entre 2002 et 2005 puis analysés. Ainsi, parmi les 241 parcelles pâturées par les mères et les poulains dans les 21 haras de l'étude entre 2002 et 2005, la composition de l'herbe était connue pour 120 d'entre elles, pour une saison donnée d'une année donnée. De même, parmi tous les fourrages conservés utilisés dans les 21 haras entre 2002 et 2005, 77 ont été prélevés et analysés.

La quantité et la composition des concentrés et AMV distribués ont été recueillies. Les concentrés incluaient des concentrés du commerce ou des céréales. La composition était celle fournie par les fabricants pour les concentrés du commerce et AMV. Lorsqu'il s'agissait de céréales, la composition fournie par les tables INRA a été considérée (INRA 1990). Lorsqu'il s'agissait d'un mélange réalisé par le haras, un échantillon de l'aliment était analysé. Lorsque les animaux étaient nourris en groupe, la quantité distribuée à chacun a été considérée comme la quantité totale distribuée divisée par le nombre d'animaux présents.

3.3. Pratiques d'élevage

De nombreuses données concernant les pratiques d'élevage ont été recueillies de la naissance du poulain à la date des radiographies, mois par mois le plus souvent. Ces données portaient sur le haras et son organisation, et sur les conditions de logement, d'exercice et de contention des foals. Ainsi, concernant le haras et son organisation, des informations sur la surface disponible, le nombre d'animaux, l'effectif du personnel et la répartition des tâches, et la présence d'infrastructures telles qu'un manège ou un rond de longe ont été relevées à mon initiative et seulement pour la dernière cohorte. Concernant les conditions de logement, d'exercice et de contention des foals, des informations ont été relevées pour les 3 cohortes sur les :

- logements : nature (box, stabulation), taille, type de sol, litière ;
- parcelles : surface, pente, présence de trous, cailloux ou accidents ;

- sorties : durée, fréquence, allotement de la parcelle, présence de bovins ;
- sevrage : type, âge.

Les informations suivantes ont été recueillies à mon initiative et uniquement pour la dernière cohorte :

- contacts avec l'homme : type de contact (licol, pansage, ...), durée, fréquence, lieu, mode de contention, âge au premier licol, mode de déplacement sur le haras ;
- mise bas : lieu, présence d'autres chevaux, aidée ou non ;
- caractères des poulains : leader/suiveur, comportement avec l'homme ;
- transports : mode de transport, âge, durée, motif ;
- évènements de santé : maladie, traitement, durée ;
- confinements exceptionnels : lieu, âge, durée, présence de la mère, motif ;
- évènements de maréchalerie : type, âge, fréquence.

4. Marqueurs de risque potentiels

Les prélèvements sanguins ont été réalisés à la même fréquence que les mesures de croissance, soit tous les 2 mois environ. Les analyses incluaient une numération formule ainsi que le dosage des protéines (g/l), des bio-marqueurs suivants : l'HXP (mg/l), l'OST (mg/ml) et la PALoss (UI/l) (depuis 2003), et des macro- et oligo-éléments (mg/l) suivants : Ca, P, Cu, Zn.

5. Conclusion

Au total, la participation à une telle étude demandait un investissement en temps important pour les éleveurs, et seul un échantillonnage de convenance a pu être réalisé. De nombreuses informations ont été recueillies au niveau individuel pour chaque foal ainsi que quelques informations au niveau élevage. Le recueil a été effectué par un spécialiste de chacun des domaines d'intérêt à savoir, les AOAJ, la croissance, les pratiques d'alimentation, et les pratiques d'élevage.

Chapitre 3 : Evaluation du statut ostéo-articulaire du poulain

Le SOA des poulains est le paramètre à expliquer dans notre étude. Trois étapes ont été définies pour l'appréhender. Du fait de la saisie exhaustive des IR identifiées (incluant les AOAJ, mais aussi d'autres lésions) et non adaptée à une exploitation épidémiologique, la première étape a consisté à remettre en forme les données en se limitant aux AOAJ et en les classant de manière standardisée et la plus pertinente possible par rapport à la pathogénie et à la littérature. L'analyse des facteurs de risque des AOAJ va reposer sur l'interprétation des clichés radiographiques des poulains faite par le collège des 3 vétérinaires expérimentés. La deuxième étape a donc été de s'assurer de la cohérence interne de l'interprétation faite par le collège (dépendante de leur expérience clinique). Enfin, les données sur les AOAJ étant nombreuses, il était difficile d'obtenir une information synthétique sur le SOA des poulains. La troisième étape a donc consisté à rechercher d'éventuelles associations entre sites articulaires atteints d'AOAJ, afin de classer les poulains selon leurs ressemblances lésionnelles.

1. Mise sous forme exploitable des données relatives aux AOAJ

1.1. Sélection des données relatives aux AOAJ

Lors des lectures radiographiques, toutes les IR ont été relevées puis saisies conduisant parfois à la présence de données sur des IR dont la qualification sous le terme d'AOAJ est discutable :

- les IR d'origine traumatique telle qu'une fracture accidentelle ;
- les IR dont le score de sévérité était nul et qui correspondaient en l'état à de simples variantes anatomiques ;
- certaines anomalies d'aplomb, qu'elles soient radiographiques ou physiques.

Ces IR ont donc été supprimées des fichiers.

Pour 58 poulains, deux AOAJ avaient été identifiées sur un même site articulaire, avec, selon les cas, un ou deux scores de sévérité. Ces sites ont été reconsidérés afin de définir et conserver, soit l'AOAJ initiale suspectée d'avoir provoqué l'apparition de la seconde, soit l'AOAJ la plus sévère. Lorsque 2

AOAJ différentes (non liées) étaient présentes et de même score de sévérité, les clichés 18 mois ont été utilisés pour définir l'AOAJ la plus sévère à conserver.

Pour 14 poulains, des signes cliniques de malformations des vertèbres cervicales et/ou d'ostéochondrite disséquante de l'épaule ont été observés. Lorsque ces anomalies étaient confirmées radiographiquement (les propriétaires ont pu faire radiographier leurs poulains en dehors du protocole 10 clichés mis en oeuvre dans notre étude) (3 cas), ou lorsqu'elles avaient nécessité une euthanasie (2 cas), un score de sévérité de 8 a été ajouté à ces poulains afin de limiter les erreurs de classement et de ne pas les considérer comme sains.

Au final, le SR de chaque poulain a été recalculé en tenant compte de toutes ces modifications.

1.2. Restructuration en entités

Telle qu'elle avait été recueillie et saisie, il n'était pas possible d'exploiter l'information concernant la nature des AOAJ car elle était très détaillée (cf. annexe 2). En effet, pour chacun des 15 sites le nombre d'intitulés différents pour nommer les AOAJ pouvait varier de 2 pour les sites à faible prévalence à 47 pour les sites à prévalence plus élevée. Les AOAJ ont été regroupées en 5 grandes familles appelées entités, en fonction de leur nature et de leur localisation : les Fragmentations Ostéo-Chondrales (FOC), les KOSC, les Epiphysites, les Affections Dégénératives Articulaires Juvéniles (ADAJ), les Enthésopathies Juvéniles (JEP).

2. Validité interne des données brutes

Article 1 : « Un système de gradation de la sévérité des images radiographiques observées sur les membres des poulains : présentation et évaluation de la répétabilité »

Résumé

A ce jour, aucun consensus n'existe sur la méthode de gradation de la sévérité des IR. Quelques études ont développé des systèmes de scoring mais ils sont très hétérogènes, non-validés en interne, et le plus souvent ciblés sur une articulation et/ou une entité précises. L'objectif était donc d'établir un système de scoring des IR des membres de jeunes chevaux basé sur des critères applicables à plusieurs articulations, et d'en évaluer la répétabilité.

Le système de scoring des IR était basé sur 4 critères : la taille, les complications associées, la position dans l'articulation, et l'interférence avec le fonctionnement de l'articulation. Parmi les 15 sites, 9 présentaient une prévalence des IR suffisante pour permettre une analyse statistique valide. Un sous-échantillon de 270 clichés (soit 551 sites) réalisés sur des foals et yearlings

a été sélectionné au hasard et évalué une seconde fois en aveugle par le même collègue de lecteurs. Les IR étaient sur-représentées par rapport à l'effectif d'origine afin d'assurer un effectif suffisant pour la mesure de répétabilité de la sévérité des IR. La répétabilité a été évaluée à l'aide des pourcentages de bien-classés (PB) et des coefficients de concordance Kappa (K) pour la présence/absence d'IR et Kappa pondéré (Kw) pour la sévérité des IR. La qualité de la mesure de concordance a été interprétée selon les recommandations de Fleiss 1981.

La plupart des IR étaient gradées 1 ou 2, les IR gradées 8 étant observées seulement sur le jarret et le grasset. La concordance globale était bonne pour la présence/absence d'IR avec un PB=83,5% (Intervalle de Confiance (IC) 95%=80,4-86,6) et un K=0,63 (IC_{95%}=0,56-0,69), et excellente pour la sévérité des IR avec un PB=71,5% [IC_{95%}=63,7-79,3] et un Kw=0,82 (IC_{95%}=0,75-0,87). Concernant les différents sites, le PB était toujours supérieur à 60%, et le K était bon ou excellent pour 5 sites pour la présence/absence d'IR. Le PB était toujours supérieur à 50%, et le Kw était bon ou excellent pour 7 sites pour la sévérité des IR. La plupart des discordances sur la présence/absence d'IR (84,6%) concernaient des IR non relevées lors de la seconde lecture, et majoritairement gradées 1 lors de la première lecture. La plupart des discordances sur la sévérité des IR (70,3%) concernaient des IR gradées 1 puis 2, ou 2 puis 1, à la première et seconde lecture respectivement. Le carpe et le boulet antérieur affichaient les moins bons résultats avec des K et Kw < 0,4.

Les résultats de concordance obtenus sont comparables ou meilleurs que ceux obtenus dans des études similaires sur des radiographies osseuses en santé humaine. Nos résultats ont donc montré que le système de scoring des IR était répétable pour tous les sites sauf le carpe et le boulet antérieur, pour lesquels, malgré des biais possibles liés aux méthodes calculatoires du K et Kw, les IR doivent être interprétées en regard de leur répétabilité parfois insuffisante. Dans ces cas, des incidences radiographiques supplémentaires pourraient permettre une meilleure représentation des structures osseuses (surtout pour le carpe) et une meilleure concordance.

A severity scoring system for radiographic findings in the limbs of foals and yearlings: presentation and evaluation of the intra-assessor reliability

Johanna Lepeule, Céline Robert, Nathalie Bareille, Jean-Paul Valette, Sandrine Jacquet, Henri Seegers, Jean-Marie Denoix

American Journal of Veterinary Research

(Re-soumis après révision le 07 Juillet 2007)

ABSTRACT

Objective

The purpose of the present study was to provide a severity scoring system of radiographic findings (RF) on young horses, based on criteria which can be applied to several limb joints.

Sample population

A database of 7270 X-rays performed on the limbs of 393 young horses was used.

Procedures

A standardised severity scoring system of RF based on 4 criteria was developed (score 0-1-2-4-8). It was applied to grade the RF found on the limbs of 393 foals. The repeatability of the scoring system was evaluated on 551 anatomical sites from 270 randomly selected x-rays.

Results

Most RF were graded 1 or 2. RF graded 8 were only observed in the stifle and tarsus. The overall agreement on the presence or absence of RF was good with a kappa of 0.63 [Confidence Interval (CI) 95% = 0.56-0.69], and was excellent for the severity of RF with a weighted kappa of 0.82 [CI 95% = 0.75-0.87]. Disagreements mainly concerned RF graded 1 and mainly on the fore fetlock joint and the carpus.

Conclusions

Our results have shown that the scoring system of RF for young horses was a stable and reliable intra-observer procedure for most limb joints. Such a scoring system has not previously been proposed.

Clinical relevance

This scoring system may be used in routine practice to assess the RF severity in young horses, allowing a standardised approach of RF which is crucial to providing homogenous interpretations in sales, and in clinical and epidemiological studies.

2.1. Introduction

Radiographic findings are a common sign in certain orthopaedic disorders that may cause pain and lameness for sport and race horses, which limits their performance (1, 2) and depreciates their commercial and breeding value. Limb radiographs in pre-sale examinations before training or use for breeding, have become standard practice in horses in recent years (2, 3). Its objective is to highlight early RF, in order to prepare the career of the horse and to decide if early preventive treatments are needed. For this purpose, radiography is considered an important additional diagnostic procedure and, frequently, the price of the horse depends on the interpretation of a specific RF (4).

There is no consensus on the methods used to interpret RF in the limbs of horses, which is usually performed by a unique practitioner according to his own assessment system based on his personal experience. Many books and a few reports include a comprehensive and detailed description of possible RF for different limb joints in a descriptive purpose (2, 5). However, only few papers have outlined the methods used to score the severity of RF in limb joints (1, 4, 6-8). In these studies, scoring systems are developed for only one type of RF, usually osteochondritis dissecans, or for only one joint or one part of a joint. The first was proposed by Hoppe in 1984 (1) for RF of osteochondritis dissecans of the intermediate ridge of the tibia. Radiographic findings of osteochondritis dissecans from 133 adult Swedish Standardbred and Warmblood horses were scored on a 6-grade scale depending on the size and the number of defects and visible loose bodies. Shelley and Dyson (7) classified RF for the hock joint in 4 non-numerical classes depending on the nature of the RF. Based on the size of RF on 73 Standardbred yearlings, Alvarado et al. (6) have reported 4 different three-grade scales to score subchondral bone cysts whatever their joint location, osteochondritis dissecans for the intermediate ridge of the distal tibia, for the lateral trochlear ridge of the femur, and for the fetlock joint. Dik et al. (8) classified the radiographic appearances of the intermediate ridge of the distal tibia, the distal aspect of the lateral trochlear ridge of the talus and the midregion of the lateral ridge of the femoral trochlea on a unique 5-grade scale depending on the bony contour, the density, and the size of RF. In order to summarise RF for pre-purchase examinations on adult horses from various breeds, van Hoogmoed et al. (4) assigned severity on 3 four-grade scales to the distal phalanx of the front feet, the navicular bones of the front feet, and the tarsus. These scoring systems are very heterogeneous concerning the joint studied, the nature of RF considered, the classification criteria, and the horse population used. Moreover, no published study has used a repeatability analysis to assess the internal consistency of its developed scoring system.

The purpose of the present study was to provide a severity scoring system of RF on young horses, based on criteria which can be applied to several limb joints. Thus, a standardised scoring system based on 4 criteria for RF and that could be applied to multiple limb joints was developed. To illustrate its use for practitioners, examples of RF and explanation of their classifications are

provided; the range of the severity scores of the most frequent RF found on a sample of foals is also given. Repeatability of the proposed scoring system was assessed on a sample of young horses x-rays.

2.2. Materials and methods

2.2.1. Horses

A database of 7270 X-rays performed on the limbs of 393 young horses was used. Horses were born in 2002 (39.8%), 2003 (18.6%), or 2004 (41.6%), in 21 volunteer stud farms located in Normandy, France. Three breeds were represented: French Trotter Standardbreds (41.1%), Selle-Français horses (25.0%), and Thoroughbreds (33.9%). The limbs of horses were X-rayed twice when they were foals (mean \pm s.d. 5.7 ± 1.3 months of age) and yearlings (17.2 ± 2.4 months of age). Horses were sedated before X-ray examination. All the foals were X-rayed, but only 334 yearlings were. The study protocol was reviewed and approved by the ethical committee of the Veterinary School of Maisons-Alfort. Informed consent was obtained for each horse from its owner or his representative.

2.2.2. X-ray examination

X-ray examination included joints that could easily be X-rayed in the stud farms with a mobile unit. Five bilateral views were performed: the lateromedial view of the front- and hind-digits (including the interphalangeal and fetlock joints), the dorsopalmar view of the carpus, and the lateromedial view of the hock and of the stifle. These joints were chosen because they are known to be frequently carrying RF (9).

X-ray data were analysed considering 12 bilateral anatomical sites: the fore foot, fore proximal interphalangeal joint, and fore fetlock (front-digit view); the carpus (carpus view); the hind foot, hind proximal interphalangeal joint, dorsal part of the hind fetlock, and plantar part of the hind fetlock (hind-digit view); the proximal part of the hock and the distal part of the hock (hock view); the femoro-patellar and femoro-tibial joints (stifle view).

2.2.3. Scoring system

For each of the 12 anatomical sites, the same three experienced equine veterinarians gave a common assessment for the presence or absence of RF, their nature and severity, for all the radiographic files of the horses. The severity scoring system for RF was based on more than 15 years of clinical experience. Severity of RF was scored on a 4-grade scale from 1 to 8 (figure 1) using a standardised protocol based on 4 criteria for the RF (table 1):

- the size of the RF evaluated with respect to the size of the joint;
- the position in the joint with regard to the weight-bearing surface;

- the presence/absence and extension of associated complications such as bony proliferation, sclerosis or other changes in bone density;
- the potential interference with joint motion based on anatomical and biomechanical considerations.

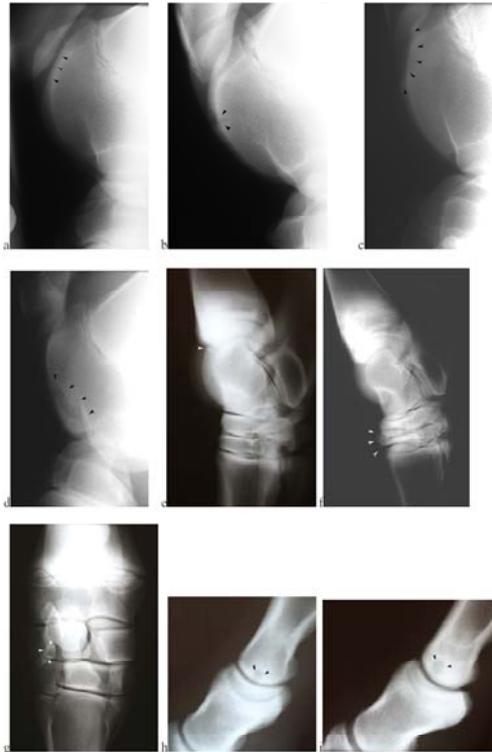


FIGURE 1: Examples of current radiographic findings (arrow-heads) and explanation of their gradation. Images a to d: Osteochondrosis of the lateral trochlear ridge of the femur (LTRF); only the cranial part of the stifle is printed here:

- a. flattening of the LTRF, far from the weight-bearing surface, no sclerosis or bone remodelling, with no interference with joint motion - graded 1*
- b. notch of medium size in the LTRF, close to the weight-bearing surface, no sclerosis or bone remodelling, with little interference with joint motion - graded 2*
- c. large notch in the LTRF, close to the weight-bearing surface, mild sclerosis and bone remodelling, with possible interference with joint motion - graded 4*
- d. large fragmentation of the LTRF, close to the weight-bearing surface, severe bone remodelling, with certain interference with joint motion - graded 8*
- e. Osteochondrosis of the intermediate ridge of the tibial cochlea: fragment of medium size, close to the weight-bearing surface, no sclerosis or bone remodelling, with possible interference with joint motion in full flexion – graded 2*

f. Juvenile degenerative joint disease of the distal hock with bone fragmentation of the third tarsal bone, large size, on the weight bearing surface, severe sclerosis - graded 8

g. Subchondral bone cyst in the ulnar carpal bone; cyst of medium size, on the side of the weight-bearing surface, little sclerosis or bone remodelling - graded 2

h and i: Subchondral bone cysts in the distal condyle of the proximal phalanx:

h. Cyst of small size, on the weight-bearing surface, little sclerosis or bone remodelling – graded 2

i. Cyst of medium size, on the weight-bearing surface, with moderate sclerosis – graded 4

The final gradation of a RF results from a three-step procedure. Firstly, the consideration of the two first criteria, size and position, gives a first estimation of the severity: 1-2, 2-4 or 4-8. Then, the two last criteria (complications and interference) are used concomitantly to decide which of the 2 grades best fits to the RF. Therefore, this gradation firstly uses the most objective features of the RF, then more interpretative features (based on clinical and biomechanical experience) are considered to give a definitive score of severity. The latter is an indication of the middle to long-term consequences of such a RF in terms of clinical expression:

- 1: RF without clinical incidence; rarely associated with synovial effusion and/or lameness
- 2: Abnormal RF with uncertain clinical incidence; rarely associated with synovial effusion and/or lameness
- 4: Abnormal RF with probable clinical incidence; often associated with synovial effusion and/or sometimes lameness
- 8: Abnormal RF with certain clinical incidence; always associated with synovial effusion and lameness

Therefore, a non-linear scoring system was chosen in order to give more weight to abnormal RF with certain future clinical incidence and to limit the effects of RF with little or limited clinical incidence.

Table 1: Criteria used for determination of the score of severity of radiographic findings; criteria are presented in the order of consideration.

<i>If (I</i>	<i>and II</i>	<i>and (IIIa</i>	<i>or IIIb)</i>	<i>then</i>
Size ¹	Position in the joint ²	Associated Complications ³	Interference with joint motion ⁴	Score of severity
• small	• far	• no	• no	1
		• mild	• no	2
	• close	• no	• possible	2
		• mild	• possible	2
• medium	• far	• no	• no	2
		• mild	• no	2
		• moderate	• no	4
	• close	• no	• possible	2
		• mild	• possible	4
		• moderate	• possible	4
	• on	• no	• possible	4
		• mild	• possible	4
		• moderate	• possible	4
• large	• close	• mild	• possible	4
		• moderate	• possible	4
		• severe	• usual	8
	• on	• mild	• possible	4
		• moderate	• usual	8
		• severe	• usual	8

¹ evaluation of the size depends on the joint; for instance, a 0.5 cm fragment is a RF of small size in a stifle, medium size in the proximal part of the hock and large size in the fetlock.

² refers to the distance from the weight-bearing surface.

³ based on the presence and the extension around the lesion of abnormal bony proliferations and sclerosis or other changes in bone density.

⁴ based on anatomical and biomechanical considerations.

2.2.4. Repeatability assessment

Repeatability of the presence or absence of RF, and of the associated severity score, was measured to assess the internal consistency of the severity scoring system proposed. To limit the recall effect, the 2nd collegial assessment was performed anonymously and blindly by the same group of three experienced equine veterinarians, from 3 months to 3 years after the 1st assessment (10).

A restricted random sample of 270 X-rays (56 views of the front-limb digit, 35 of the carpus, 80 of the hind-limb digit, 65 of the hock, and 34 of the stifle),

which corresponded to 551 anatomical sites from 137 horses, was used. Because RF had to be diagnosed at both assessments to allow the severity score agreement's to be measured, the prevalence in this sample was higher than in the initial sample of 7270 X-rays (37.6% versus 7.2% of sites with RF). The agreement was measured for 9 of the 12 anatomical sites. In fact, for three sites (the fore and hind feet, and the femoro-tibial joint), there was not enough X-rays with presence of RF (<25) to perform a valid statistical repeatability analysis.

2.2.5. Statistical analysis

Agreement for the whole sample and for each of the 12 anatomical sites was summarised using percentage observed agreement (PA), Cohen's kappa coefficient (K) (11) for the presence or absence of RF, and quadratic weighted kappa coefficient (Kw) (12) for severity score of RF. Disagreements were described according to the severity score of RF, their nature, the age of horses (foal and yearling), and the year of the 1st assessment.

To assess the quality of agreement, we used guidelines suggested by Fleiss (13). We considered that the higher agreement limit equal to 0.4, of acceptable variability, was appropriate. An agreement of less than 0.40 was considered poor, between 0.41 and 0.59 fair, between 0.60 and 0.74 good, and of 0.75 or more excellent. Statistical analyses were conducted by use of commercially available statistical software^a.

2.3. Results

2.3.1. Severity score range for radiographic findings

There were 573 RF identified for the 393 foals and 441 RF for the 334 yearlings. Most RF were graded 1 or 2. There was no RF graded more than 2 observed in the feet and carpus. RF graded 8 were only observed in the stifle and tarsus. Whatever their location, RF of physitis were mainly graded 1. Radiographic findings of osteochondrosis and subchondral bone cysts were either graded 1 or 2, and seldom 4 or 8, depending on their degree of fragmentation or their size. The range of severity score of the most frequent RF and the detail of the RF graded 8 are reported in table 2.

TABLE 2: Range of the severity score given to radiographic findings (RF) according to the site and nature of RF on a sample of 393 foals then yearlings; only RF found in 8 joints or more or RF graded 8 (in italic) are presented here.

Site	Nature of RF	Score of severity	
Fore proximal interphalangeal joint	physitis proximal P2	1 to 2	
	Fore fetlock	physitis proximal P1	1 to 4
Fore fetlock	modelling dorsal aspect proximal P1	1 to 2	
	fragmentation dorsal aspect distal Mc3	2	
	irregularity distal sagittal ridge Mc3	1	
	Carpus	subchondral bone cyst carpal bones	1 to 4
		fragmentation ulnar carpal bone	1 to 2
Hind proximal interphalangeal joint	cyst distal condyle P1	1 to 4	
	physitis proximal P2	1 to 2	
Dorsal part of the hind fetlock	irregularity distal sagittal ridge Mt3	1 to 2	
	fragmentation dorsal aspect distal Mt3	1 to 2	
	notch dorsal aspect distal Mt3	1 to 2	
	epiphysitis distal Mt3	1	
	dorsal modelling proximal P1	1 to 4	
Plantar part of the hind fetlock	fragment proximal dorsal P1	1 to 2	
	plantar fragmentation proximal P1	1 to 4	
Proximal part of the hock	defect intermediate ridge of tibia	1	
	fragment intermediate ridge of tibia	2	
	fragment lateral trochlear ridge of talus	2 to 4	
Distal part of the hock	collapse of tarsal bones	1 to 4	
	<i>(juvenile bone sparvin)</i>	4 to 8	
	flattening lateral trochlear ridge of femur	1 to 2	
Femoro-patellar joint	fragmentation lateral trochlear ridge of femur	1 to 4	
	<i>(fragmentation LTRF + patella)</i>	4 to 8	
	<i>(tearing peroneus tertius)</i>	8	

2.3.2. Consistency of the scoring system

Among the 551 sites assessed both times, the prevalence of RF was 37.6% at the first assessment and 26.1% at the second one. The same diagnosis on presence or absence of RF was made at both assessments for 83.5% [CI 95% = 80.4-86.6] of the sites (figure 2a). Regardless of the sites, the PA was always higher than 60%. The overall agreement on the presence or absence of RF was good with a K of 0.63 [CI 95% = 0.56-0.69]. It was good or excellent for 5 sites, and two sites (the dorsal part of the hind fetlock and the distal part of the hock) had K coefficients very close to 0.6. The agreement was fair for the fore fetlock, and poor for the carpus.

Among the 130 sites where RF were identified at both assessments, the same severity score was affected at both assessments for 71.5% [CI 95% = 63.7-79.3] of the sites. Regardless of the sites, the PA was always higher than

50%. The overall agreement was excellent with a Kw of 0.82 [CI 95% = 0.70-0.93] (figure 2b). Agreement on the severity score of RF was good or excellent for 7 sites. It was poor for the fore fetlock and the carpus.

Disagreements over presence or absence of RF primarily (84.6%) concerned RF not mentioned at the second assessment. Most disagreements over presence or absence of RF concerned RF with a severity score graded 1 for 78.0%, then RF graded 2 with 19.8%. Disagreements on the severity score mostly (70.3%) concerned RF graded 1 then 2, or 2 then 1, at the first and second assessments respectively. Disagreements on the severity score were essentially (64.9%) due to the fact that RF were graded more severely at the first assessment than at the second one. Disagreements exceeded one class in the scoring system for only two RF. No additional characteristic (the nature of RF, to the age of horses, or to the year of the first assessment) could explain why RF were misclassified.

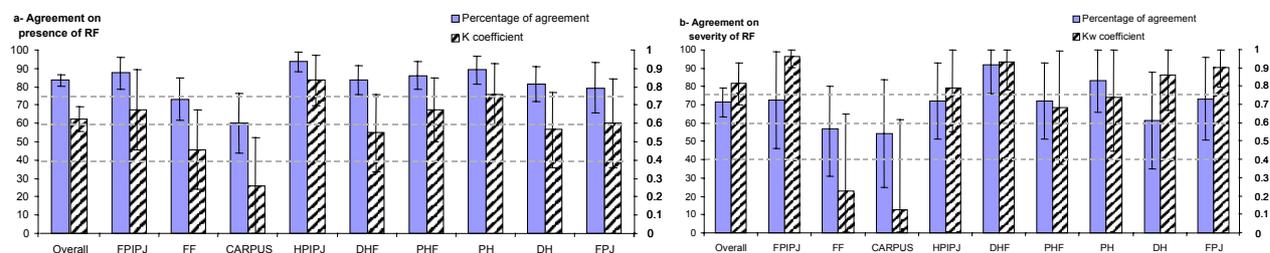


FIGURE 2: Percentage of agreement and Kappa (K) and Weighted Kappa (Kw) coefficients on the presence and severity score of radiographic findings (RF) in limbs of young horses according to the site (Fore Proximal InterPhalangeal Joint (FPIPJ), Fore Fetlock (FF), Hind Proximal InterPhalangeal Joint (HPIPJ), Dorsal part of the Hind Fetlock (DHF), Plantar part of the Hind Fetlock (PHF), Proximal part of the Hock (PH), Distal part of the Hock (DH), Femoro Patellar Joint (FPJ))

2.4. Discussion

The present study proposes a consistent scoring system for RF, which can be applied on multiple joints of the limbs of young horses, and describes the range of their severity score depending on the sites using a large sample of foals. In order to have an overview of the potential impact of RF on the horse locomotion, the severity scoring system of RF took into account the size, but also the precise location of RF in the joint, the associated complications, and the interference with the normal joint motion. Scoring systems have been developed for clinical purposes in the horse: scoring for lameness, laryngeal hemiplegia or laminitis are standardised and widely used. Severity scoring systems have been proposed for radiographic interpretation of specific troubles such as hip dysplasia in dogs or laminitis in horses. Scoring systems for RF in horses have been reported in several studies (1, 4, 6-8). However, no published study has reported a severity scoring system taking into account all these criteria and applied to several limb joints. Moreover, none of the

previous studies has assessed the repeatability of its scoring system developed.

In our results, the scoring system of RF for the limb joints of young horses was a stable and reliable intra-observer procedure for most joints. The overall agreement was good on presence or absence of RF, and excellent for their severity score. Two sites, the carpus and the fore fetlock, presented a fair or a poor agreement on the presence or absence of RF, and on their severity score. X-rays of the carpus joint are difficult to interpret because they imply several osseous structures which could cause superposition and artefacts. Additional X-rays such as lateromedial or oblique views allow a better assessment of RF (1, 14) and would have probably provided better agreement results for the carpus. Thereby, oblique views are usually recommended to allow a better assessment of RF or to detect all forms of osteochondrosis.

Investigation of the disagreements over presence or absence of RF showed that they mainly concerned RF graded 1, highlighted at the first assessment but not at the second one. Two explanations can be presented to explain this: either lacking RF were not seen at the 2nd assessment, either they were over-diagnosed at the 1st assessment. We postulated that clinicians could not have seen these RF that do not exist and that it was not possible to have an overestimation of RF. Moreover, the over-representation of X-rays with RF at the second assessment compared to the first one is in favour of a failure at the second assessment and may explain this result.

We cannot compare our results with those of similar studies because no radiographic repeatability study had been done on the horse joints. However, several human studies provided comparable or poorer performances. In the assessment of osteoarthritis presence in 9 human hand joints from 100 radiographs, Kessler et al. (15) found Ks comprised between 0.4 and 1.0, with Ks less than 0.6 for 2 joints. In the assessment of osteolysis presence for 60 primary total hip arthroplasties, Engh et al. (16) found an overall K of 0.7 and Ks comprised between 0.48 and 0.84 depending on 5 zones. Our performances are comparable with these studies. We showed a fair agreement on the presence or absence of RF for only three sites (the fore fetlock, the dorsal part of the hind fetlock, and the distal part of the hock) out of which two had K very close to 0.6. Moreover, the PA for these three sites was higher than 70.0%. For the carpus, there was a PA higher than 60.0%, but only a poor K. These paradoxical results of high agreement but low K are well known; they have been discussed extensively and explained by the underlying arithmetic (17, 18). They appear when the prevalence is substantially different from 50%, or differs between the observers. In our study, the K values concerning the presence or absence of RF, were influenced by a low prevalence for many sites, and by different prevalences between both assessments for the carpus and the fore fetlock. Thus, the Ks were fragile and must be interpreted with caution for both sites.

On a 4-grade scoring system of osteoarthritis in human hip and knee, Günther and Sun (19) found overall Intraclass Correlation Coefficients (ICC) between 0.77 and 0.93, and between 0.0 and 0.96 depending on the

radiographic feature. On a 3 non-numerical level scale for the interpretation of plain lumbosacral spine radiographs, Espeland et al. (20) found intra-observer Ks averaged on 2 or 3 observers, ranged from 0.31 to 1.00. Our results seem slightly better than those in these studies except for the fore fetlock and the carpus, where the PA was higher than 50.0% but the Kw was poor. The Kw was lower for the fore fetlock than for the carpus, because disagreements concerned RF severity score ranging from 1 to 4 for the fore fetlock, whereas they only concerned RF severity score ranging from 1 to 2 for the carpus.

Probably main reason for low K and Kw per site, was the instability due to small cell sizes resulting in a wider 95% CI around the K and Kw estimates. Recommendations about determination of sample size are very different. Fleiss and Cicchetti (21) recommend a minimum of $16r^2$, r being the number of categories in the scale. Fermanian (22) recommends at least 25 subjects when $r=3$ and 30 subjects when $r=4$ or 5. Considering overall K and Kw, our sample sizes were higher than recommendations of Fleiss and Cicchetti (21) and Fermanian (22) and higher than those of other quoted studies. Considering K and Kw per site, our sample sizes were higher than recommendations of Fermanian (22).

Regarding our objective, for both the overall and individual sites, the variability can be considered as acceptable for the purposes of conducting good clinical studies (13) and our results agree with those of quoted studies which have confirmed their intra-observer reliability for the tool assessed. However, for the fore fetlock and especially for the carpus, despite technical deficiencies of K and Kw, and of sample sizes, RF should be reported in consideration of their somewhat low repeatability of the scoring system, especially for RF of questionable significance (graded 1). To improve these results, the number of views performed can be increase for these joints.

This severity scoring system for RF was developed by experienced veterinarians to be used by other veterinarians in radiographic interpretation. The objective was to provide a detailed method (illustrated by figure 1 and table 1) in order to obtain a consistent judgement of radiographic files in a context of pre-purchase examination as in yearling sales. In order to increase the number of joints and RF evaluated without increasing exaggeratedly time devoted to X-ray interpretation, the present study is based on isolated views of various joints of the limbs as can be obtained at foal or yearling sales. Nevertheless, the scoring system can be applied to multiple views of the same joint: information collected from complementary views would help to better visualize the lesion, and then to give a more precise interpretation and score.

In a practical context, the severity scores obtained for each joint of a horse can be added together to obtain a global "Radiographic Score" corresponding to the osteo-articular status of the 4 limbs. We have chosen to have a non-linear scoring system in that purpose: that way, RF with probable (grade 4) or certain (grade 8) clinical incidence have much more weight than RF with no or little clinical incidence and horses affected with only one severe RF will have a high radiographic score, meaning that they will probably have difficulty in having a normal sport or racing career. This radiographic score may be used

to compare horses examined with the same X-ray protocol. It would be therefore useful for breeders to evaluate their products, for veterinarians to give a sport prognosis and in research programs on osteo-articular disorders such as DOD. Nevertheless, to broaden the use of this scoring system, a reproducibility validation by other veterinarians is needed.

2.5. Conclusion

Such a consistent RF scoring system on multiple limb joints in young horses has not previously been proposed. The application of this system to a large sample of foals provided a piece of information on RF severity scores that could be found in routine radiographic examinations. For now, therefore, this scoring system is one of the few tools available and of convenient use for practitioners because it can be applied to multiple joints to assess the RF severity in young horses. This study is a pragmatic effort to propose a standardised approach for radiographic assessments in young horses, which is crucial to providing homogenous interpretations in sales, and in clinical and epidemiological studies. Inter-observer studies involving different readers are now needed to assess the external validity of this scoring system.

^a SAS, version 8.1, SAS Institute Inc, Cary, NC.

References

1. Hoppe F. Radiological investigations of osteochondrosis dissecans in Standardbred Trotters and Swedish Warmblood horses. *Equine Vet J* 1984;16:425-429.
2. Kane AJ, Park RD, McIlwraith CW, et al. Radiographic changes in Thoroughbred yearlings. Part 1: Prevalence at the time of the yearling sales. *Equine Vet J* 2003;35:354-365.
3. Stock KF, Hamann H, Distl O. Factors associated with the prevalence of osseous fragments in the limb joints of Hanoverian Warmblood horses. *Vet J* 2006;171:147-156.
4. van Hoogmoed LM, Snyder JR, Thomas HL et al. Retrospective evaluation of equine prepurchase examinations performed 1991-2000. *Equine Vet J* 2003;35:375-381.
5. Thrall DE. *Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology*. 3rd Ed. WB Saunders Company, 1998;189-261.
6. Alvarado A, Marcoux M, Breton L. The incidence of osteochondrosis in a Standardbred breeding farm in Quebec. In *Proceedings*. American Association of Equine Practitioners 1989;293-307.
7. Shelley J, Dyson S. The hock. In: *Equine radiography - a guide to interpretation* *Equine Vet J Suppl* 1986;4:27-33.
8. Dik KJ, Enzerink E, van Weeren PR. Radiographic development of osteochondral abnormalities, in the hock and stifle of Dutch Warmblood foals, from age 1 to 11 months. *Equine Vet J Suppl* 1999;31:9-15.

9. Van Weeren P.R. Osteochondrosis. In: Auer J, eds. *Equine Surgery*, 3rd ed. Saunders, Philadelphia, USA, 2006.
10. Bailar BA. Recent research in the re-interview procedures. *J Am Stat Assoc* 1968;63:41-63.
11. Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ Psychol Meas* 1960;20:37-46.
12. Cohen J. Weighted kappa: nominal scale agreement with provision for scaled disagreement or partial credit. *Psychol Bull* 1968;70:213-220.
13. Fleiss JL. *Statistical methods for rate and proportions*. 2nd ed. New York: J. Wiley. 1981.
14. May SA, Wyn-Jones G, Peremans KY. Importance of oblique views in radiography of the equine limb. *Equine Vet J* 1986;18:7-13.
15. Kessler S, Dieppe P, Fuchs J, et al. Assessing the prevalence of hand osteoarthritis in epidemiological studies. The reliability of a radiological hand scale. *Ann Rheum Dis* 2000;59:289-292.
16. Engh CA, Sychterz CJ, Young AM, et al. Interobserver and intraobserver variability in radiographic assessment of osteolysis. *J Arthroplasty* 2002;17:752-759.
17. Feinstein AR, Cicchetti DV. High agreement but low kappa: I. The problem of two paradoxes. *J Clin Epidemiol* 1990;43:543-549.
18. Cicchetti DV, Feinstein AR. High agreement but low kappa: II. Resolving the paradoxes. *J Clin Epidemiol* 1990;43:551-558.
19. Günther KP, Sun Y. Reliability of radiographic assessment in hip and knee osteoarthritis. *Osteoarthritis cartilage* 1999;7:239-246.
20. Espeland A, Korsbrekke K, Albrektsen G, et al. Observer variation in plain radiography of the lumbosacral spine. *Br J Radiol* 1998;71:366-375.
21. Fleiss JL, Cicchetti DV. Inference about weighted kappa in the non-null case. *App Psychol Meas* 1978;2:113-117.
22. Fermanian J. Mesure de l'accord entre deux juges. Cas qualitatif. *Rev Epidemiol Sante Publique* 1990 ;32:140-147.

2.6. Compléments aux résultats de l'article

En complément des résultats de concordance présentés dans l'article 1, les résultats de concordance concernant l'entité identifiée ont également été calculés et sont présentés dans la figure 3-1. Comme pour la concordance concernant la présence/absence d'IR et leur sévérité, on retrouve d'excellents résultats pour la concordance concernant le type d'entité identifiée, avec un pourcentage global de bien classés de 80,0% ($IC_{95\%}=73,1-86,9$) et qui était toujours supérieur à 60% par site, et un K global de 0,74 ($IC_{95\%}=0,66-0,83$) et qui était toujours supérieur à 0,55 pour chaque site.

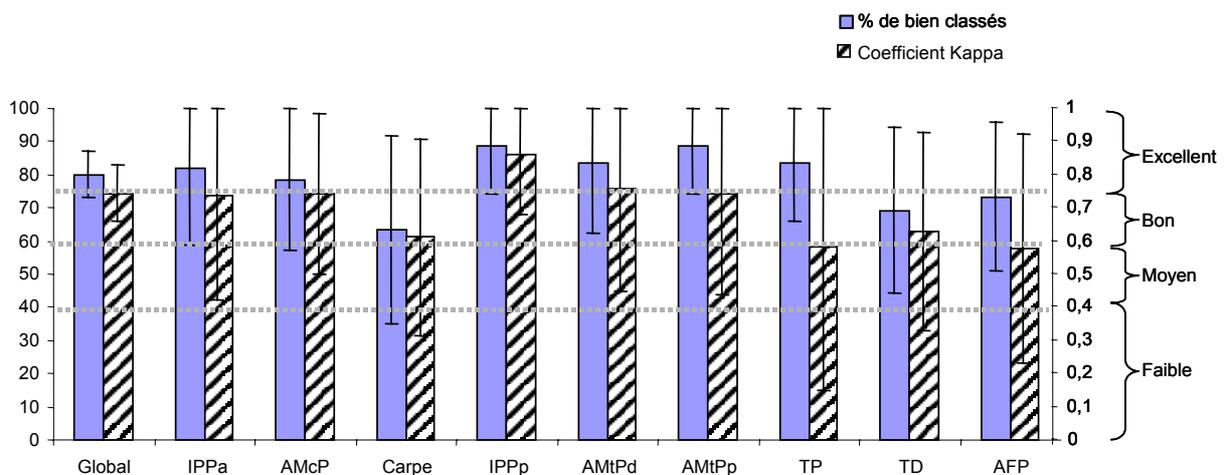


Figure 3-1 : Pourcentage de bien classés, coefficient de concordance Kappa, et interprétation de la qualité de la mesure de concordance selon Fleiss 1981, concernant le type d'entité affectée aux Images Radiographiques en fonction de leur site de localisation sur les membres de jeunes chevaux (Articulation InterPhalangienne Proximale antérieure (IPPa), Articulation MétacarpoPhalangienne (AMcP), Articulation InterPhalangienne Proximale postérieure (IPPs), Articulation MétatarsoPhalangienne dorsale (AMtPd), Articulation MétatarsoPhalangienne plantaire (AMtPp), Etage Proximal du Tarse (TP), Etage Distal du Tarse (TD), Articulation Fémoro-Patellaire (AFP))

3. Prévalence et distribution des AOAJ

Article 2 : « Les AOAJ des membres des poulains : variations raciales dans la prévalence, la localisation et la gravité au sevrage »

3.1. Préalable à l'article

3.1.1. Associations entre sites et entités dans la répartition des AOAJ

Le tableau 3-1 met en évidence un lien fort entre les entités et les sites de localisation des AOAJ. Les sites du pied antérieur (SD, P3, IPD, Aut) ainsi que le pied postérieur et l'AFT étaient très rarement voir jamais affectés par les AOAJ. Les autres sites étaient principalement affectés par une ou deux entités.

Les FOC étaient présentes sur plusieurs sites : les boulets antérieur et postérieur, le carpe, l'étage proximal du jarret, et l'AFP du grasset. En revanche, les autres entités étaient majoritairement situées sur deux ou trois sites (tableau 3-1). Ainsi,

- les KOSC étaient le plus souvent identifiés sur le carpe (60%),
- les épiphysites sur le boulet antérieur (30%) et les paturons (42%),
- les ADAJ sur la partie dorsale du boulet postérieur (29%), le boulet antérieur (20%) et l'étage distal du tarse (20%),
- et les JEP sur le boulet antérieur (31%).

Hormis les sites rarement affectés par les AOAJ précédemment cités, il est remarqué que certaines entités n'étaient jamais retrouvées sur certains sites :

- les FOC sur le paturon antérieur,
- les épiphysites sur l'étage proximal du jarret,
- les ADAJ sur l'AFP du grasset,
- et les JEP sur le carpe et le boulet postérieur (sauf 1 cas).

Tableau 3-1 : Répartition des affections ostéo-articulaires juvéniles en fonction de leur nature (entité) et de leur localisation (site)

Cliché	Site	Entité					Total
		FOC	KOSC	Epiphysite	ADAJ	JEP	
Doigt antérieur	SD	0	0	0	0	1	1
	P3	3	0	0	0	1	4
	IPD	0	0	0	2	0	2
	Aut	0	0	0	0	0	0
	IPPa	0	2	15	2	1	20
	AMcP	25	2	27	7	5	66
Carpe	Carpe	20	48	4	4	0	76
Doigt postérieur	Pied	0	0	0	0	0	0
	IPPs	4	12	23	1	0	40
	AMtPd	55	1	11	10	0	77
	AMtPp	29	2	1	1	1	34
Jarret	TP	38	2	0	1	3	44
	TD	2	3	8	7	1	21
Grasset	AFP	57	1	1	0	1	60
	AFT	0	7	0	0	2	9
Total		233	80	90	35	16	454

Absence d'une entité sur un site. Fragmentation Ostéo-Chondrale (FOC), Kystes Osseux Sous-Chondraux (KOSC), Affection Dégénérative Articulaires Juvéniles (ADAJ), Enthésopathie Juvénile (JEP), Os Sésamoïde Distal (SD), Phalange Distale (P3), Articulation InterPhalangienne Distale (IPD), Autres sites du pied antérieur (Aut), Articulation InterPhalangienne Proximale antérieure (IPPa), Articulation MétacarpoPhalangienne (AMcP), Pied postérieur (Pied), Articulation InterPhalangienne Proximale postérieure (IPPs), Articulation MétatarsoPhalangienne dorsale (AMtPd), Articulation MétatarsoPhalangienne plantaire (AMtPp), Etage Proximal du Tarse (TP), Etage Distal du Tarse (TD), Articulation Fémoro-Patellaire (AFP), Articulation Fémoro-Tibiale (AFT).

Cette association était attendue car l'expression des AOAJ sous la forme de FOC, de KOSC, etc., dépend de la structure de l'articulation et du fonctionnement biomécanique de celle-ci qui engendrera selon les cas plutôt des frottements entre certaines structures, des compressions, etc... favorisant ainsi certaines formes d'AOAJ (Olsson et Reiland 1978).

Du fait de cette association forte entre site et entité, l'étude des deux critères aurait été redondante. Nous avons donc choisi d'explorer la distribution des AOAJ par site qui apportait alors l'information la plus fine, l'alternative étant d'explorer la distribution par entité.

3.1.2. Associations entre sites dans la répartition des AOAJ à l'échelle du poulain

L'étude de la distribution des AOAJ par site (puisque c'est le choix qui avait été fait en première intention) avait pour objectif de pouvoir étudier ultérieurement les facteurs de risque des AOAJ par site afin d'apporter des éléments de réponse sur l'étiologie commune ou non des différentes AOAJ. Dans un contexte de données nombreuses (15 sites bilatéraux) pour exprimer le SOA de chaque poulain en fonction de la localisation des AOAJ, il apparaissait impossible d'explorer les facteurs de risque pour chaque site, car les effectifs de poulains atteints par site étaient trop faibles et les facteurs de risque à explorer étaient trop nombreux. L'objectif était donc de synthétiser l'information sur la présence d'AOAJ sur les 15 sites en : identifiant des associations éventuelles entre les sites affectés par les AOAJ au sein d'un même poulain, puis en regroupant les poulains en fonction de leurs ressemblances lésionnelles.

Pour y parvenir, des méthodes descriptives multidimensionnelles d'Analyse Factorielle de Correspondance (AFC) et de Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) ont été utilisées. De plus, sous l'hypothèse que la sévérité des AOAJ pourrait être liée à leur localisation, celle-ci a également été prise en compte dans cette analyse. Ainsi, de nombreuses classifications ont été effectuées pour tenter de regrouper certains sites entre eux en prenant en compte les informations suivantes pour chaque site :

- la présence d'AOAJ ou non,
- la présence d'AOAJ dont la sévérité était ≥ 2 , ou ≥ 4 ,
- la sévérité des AOAJ gradées 1, 2, 4, ou 8,
- la sévérité des AOAJ en faisant divers regroupements : 1 / 2 / 4-8 ou 1-2 / 4-8 ou 1 / 2-4-8 etc. ;

et également en ne conservant que les poulains ayant plus d'une AOAJ.

L'inclusion de l'information sur la sévérité des AOAJ ne changeait pas les résultats ou alors très faiblement. La structuration des données, bien que peu apparente, était davantage liée à un effet site qu'à un effet sévérité. Cependant, les résultats des différentes classifications allaient tous dans le sens d'une absence de structuration des données et donc d'associations entre sites. Les principaux résultats sont présentés dans l'article 2 dont le résumé figure ci-dessous.

Résumé de l'article 2 : « Les AOAJ des membres des poulains : variations raciales dans la prévalence, la localisation et la gravité au sevrage »

De nombreuses études ont rapporté une prévalence élevée des AOAJ, mais la plupart incluait une seule race, le Trotteur le plus souvent, ou étaient restreintes à l'étude d'une entité, l'ostéochondrose le plus souvent, ou concernaient un nombre limité d'articulations telles que le jarret ou le boulet. De plus, la prévalence était rapportée par articulation explorant rarement les associations entre articulations atteintes au niveau du poulain. L'objectif était donc de décrire les variations raciales entre SF, TF et PS ayant les mêmes systèmes d'élevage, dans la prévalence, localisation, et sévérité des AOAJ au sevrage.

Deux niveaux ont été explorés : les sites et les poulains. Au niveau des sites, les variations raciales de prévalence et de distribution des scores de sévérité des AOAJ ont été explorées à l'aide de tests statistiques. Au niveau des poulains, les associations entre sites atteints, permettant de classer les poulains selon leurs ressemblances lésionnelles, ont été explorées à l'aide de méthodes descriptives multidimensionnelles et successivement selon deux critères : la présence d'AOAJ, et leur score de sévérité. Les variations raciales ont ensuite été étudiées.

Les trois races présentaient des pratiques globales d'élevage et d'alimentation proches, avec cependant une plus faible fréquence de distribution des aliments minéraux vitaminés à la mère pendant la gestation et la lactation pour les poulains SF. La prévalence était de 66,3% de poulains atteints ($IC_{95\%}=61,6-71,0$). Les FOC étaient l'entité la plus fréquente devant les épiphysites et les kystes. La prévalence des poulains atteints et la distribution des scores de sévérité par site dépendaient de la race : les SF étaient plus fréquemment et plus sévèrement atteints que les TF et PS. Au niveau des poulains, les analyses n'ont pas montré d'association franche entre les sites atteints tant pour la présence d'AOAJ que pour leur score de sévérité. Cependant, les poulains SF et PS étaient préférentiellement classés ensemble car majoritairement atteints sur les mêmes sites : l'AMtPd sur le boulet postérieur, l'AMcP sur le boulet antérieur, l'AFP sur le grasset, et le carpe, tandis que les TF étaient répartis dans d'autres classes et étaient majoritairement atteints sur le carpe, l'AMtPp du boulet postérieur, et le TP du jarret.

Notre étude a mis en évidence deux résultats majeurs : la variation raciale dans la distribution des AOAJ par site, surtout pour les TF, et la forte prévalence et sévérité des AOAJ chez les SF. Cependant, une analyse individuelle des facteurs de risque est nécessaire afin de faire la part de la génétique et des pratiques d'élevage et d'alimentation dans la différence de prévalence observée

chez les SF par rapport aux TF et PS. Les comparaisons avec la littérature ont montré davantage de concordances que de discordances sur la prévalence des AOAJ, notamment pour le boulet et le jarret chez le Trotteur. Cependant, pour les raisons précédemment citées, les comparaisons se sont avérées délicates et doivent être interprétées avec précautions. Il s'agit de la première étude épidémiologique qui rapporte les différences raciales dans la distribution et la sévérité des AOAJ des membres du poulain. Ces nouvelles connaissances pourront notamment être utilisées pour améliorer la prévention et le dépistage des AOAJ en fonction de la race.

Developmental Orthopaedic Disease in limbs of foals: between-breed variations in prevalence, location and severity at weaning

Johanna Lepeule, Nathalie Bareille, Jean-Paul Valette, Henri Seegers, Sandrine Jacquet, Jean-Marie Denoix, Céline Robert

Animal

(Accepté le 27 septembre 2007)

Abstract

Developmental orthopaedic disease (DOD) affects all breeds and is a common cause of pain and lameness for horses in sports. A thorough knowledge of between-breed variations for the prevalence of DOD, for its distribution among the various joints, and for its severity, at earlier stages in the disease process is needed in order to improve the relevance and the cost-effectiveness of DOD screening protocols. However, no prevalence study for DOD simultaneously performed on several breeds with similar farming systems and based on radiographic findings (RF) on quite a large number of joints and views, has been reported earlier.

The objective was to describe variations in prevalence, location and severity of DOD in foals at weaning among Warmbloods (Wb), Standardbreds (St), and Thoroughbreds (Tb) with similar farming systems. DOD assessment was based on RF on the limb joints.

Three hundred and ninety two foals from 21 volunteer stud farmers were included. To determine the statuses of foals regarding DOD, they were X-rayed on the front- and hind-limb digit, carpus, hock and stifle joints. X-ray data were analysed by three experienced equine veterinarians who gave a common assessment about the entity and the severity of RF. Between-breed variations were analysed in two steps: one implemented for each anatomical site; the second considered only foals affected by DOD to explore RF association patterns on the affected sites, at foal level.

The three breeds were represented by 25.0% of Wb, 41.1% of St, and 33.9% of Tb. DOD was present in 66.3% of the foals (95% Confidence Interval (CI) = 61.6-71.0%). Prevalence of foals affected by DOD and distribution of the RF severity score on the anatomical sites differed depending on the breed: Wb foals seemed to be the most affected by DOD. Cluster analyses showed no clear association among sites. However, Wb and Tb foals were preferentially classified together because they were affected on the same sites, whereas St foals were distributed in other classes. The most severely affected sites were the proximal part of the hock and the femoro-patellar joint for Wb and St foals, and the fore fetlock and the distal part of the hock for Tb foals.

This is the first epidemiological study reporting between-breed variations in DOD distribution and severity, for the limb joints of foals. These results contribute to broaden knowledge on DOD and are of great interest to improve detection of DOD within a particular breed.

3.2. Introduction

Developmental orthopaedic disorders seen in the growing foal, usually designed as developmental orthopaedic disease (DOD), include several entities such as osteochondritis dissecans (OCD), subchondral bone cysts (SBC), angular limb deformities, physitis, and cuboidal bone abnormalities, resulting from dysregulation of the metaphyseal growth plate (McIlwraith 1986). DOD affects young horses with recognisable radiographic findings (RF) developing within the first year of life (Hoppe 1984, Olstad *et al.* 2007). Fetlock, hock, carpus, stifle, shoulder, and cervical vertebra appear to be the most frequently affected joints (Jeffcott 2005).

DOD is a common cause of pain and lameness for horses in sports, which limits their performance (Hoppe 1984, Kane *et al.* 2003). Therefore, DOD depreciates the commercial and breeding value of affected horses and is recognised as a major economic problem in the horse-breeding industry (Jeffcott 1991). X-ray screening for DOD is becoming more commonly used in young horses, between 6 and 18 months of age. Results of X-ray screening enable breeders to decide early about the future career of horses (public or private sales, surgical treatment, *etc.*) and to prevent them from any further degenerative processes, in order to limit economic losses (Jeffcott 1991 and 1996, Schougaard 1990). However, in most stud farms, this practice remains limited to a restricted number of horses with a high commercial value, because X-ray screening is expensive and time-consuming.

Etiological factors of DOD are still not well known, but the disease appears to be of multifactorial origin. Genetic predisposition (Hoppe and Philipsson 1985, Schougaard *et al.* 1990), body size (Sandgren *et al.* 1993), growth rate (Donabedian *et al.* 2006, van Weeren *et al.* 1999), nutritional excesses or imbalances (Jeffcott 1991), and exercise modalities (van Weeren and Barneveld 1999) are considered to influence the prevalence of DOD. Thus, we hypothesised that usual differences in management practices, as well as genetic selection for many decades, may have led to between-breed variations in the prevalence and severity of DOD. A thorough knowledge of between-breed variations for their prevalence, their distribution in the various joints, and their severity, at earlier stages in the disease process is needed in order to improve the relevance and cost-effectiveness of DOD screening protocols. So, breed-specific protocols could possibly focus on the most frequently affected joints or be limited to certain joints if associations of disorders in several joints exist, depending on the between-breed variations.

Many papers have reported high prevalence of these developmental disorders. However, most of these studies (*i*) were performed on one unique breed, mainly Standardbreds (Alvarado *et al.* 1989, Grondahl and Engeland 1995, Storgaard Jørgensen *et al.* 1997), or (*ii*) were restricted to one entity, such as osteochondrosis (OC), OCD, or both (Grondahl and Engeland 1995, Storgaard Jørgensen *et al.* 1997), or (*iii*) were based on a limited number of X-rayed joints, usually the hock and fetlock (Grondahl and Engeland 1995, Storgaard Jørgensen *et al.* 1997). Moreover, in these studies, prevalence is

mainly reported at joint level and associations of disorders in several joints at individual level were not explored to any great extent in foals. So, no prevalence study of DOD, simultaneously performed on several breeds and based on RF on quite a large number of joints and views, has been reported earlier.

Therefore, the objective was to describe variations in prevalence, location and severity of DOD at weaning between Warmbloods, Standardbreds, and Thoroughbreds with similar farming systems. DOD assessment was based on radiographic findings on the limb joints.

3.3. Materials and methods

3.3.1. Data

The present study used data produced by a larger data collection and research programme conducted on DOD in Normandy, the main horse breeding area in France. The longitudinal survey began in 2002 and is still ongoing. Due to repeated implementation of observations, questionnaires, body measurements, and X-ray examinations for more than 4 years on the same farms, only convenience sampling was deemed feasible. Twenty one stud farms owned by volunteer and motivated farmers were involved. Data here analysed concerned the three cohorts of foals born in 2002, 2003, or 2004, which were checked at least three times between birth and weaning to obtain information on their body development, feeding management, rearing conditions, locomotion, and DOD affection. These foals belonged to the three main sport and racehorse breeds: Warmbloods (Wb), Standardbreds (St) and Thoroughbreds (Tb).

Feeding and housing conditions of horses could depend of several parameters such as season, weather, housing facilities of the stud-farm, etc ... However, all foals included in the study came from the same area of Basse-Normandie, France. Thus, rearing and housing conditions were rather similar among horses included. These data are further described in the results section and some characteristics concerning growth, rearing conditions, and feeding and management practices of foals and mares are reported according to the breed.

To assess the presence of DOD, its distribution among joints, entities and severity levels, foals were sedated and X-rayed at weaning. X-ray examination included all joints that could be X-rayed on the stud farms with a mobile unit. Five bilateral views were performed: the dorsopalmar view of the carpus, the lateromedial view of the front- and hind-digits (including the interphalangeal and fetlock joints) and of the hock and stifle. These joints were chosen because they are known to be frequently affected by DOD (Watkins 1992).

X-ray data were analysed considering 14 bilateral anatomical sites: the distal sesamoid bone, distal phalanx, distal interphalangeal joint, fore proximal interphalangeal joint, and fore fetlock (front-digit view); the carpus (carpus view); the hind foot, hind proximal interphalangeal joint, dorsal part of the hind

fetlock, and plantar part of the hind fetlock (hind-digit view); the proximal part of the hock and the distal part of the hock (hock view); the femoro-tibial and femoro-patellar joints (stifle view).

Depending on RF characteristics, three experienced equine veterinarians gave a common assessment about the status of foals (affected or not by DOD), the entity, and the severity of each RF on each of the 14 bilateral anatomical sites. RF were classified into five entities: osteochondral fragmentation (OCF) (including what is generally named OC and OCD), subchondral bone cysts (SBC), physitis, degenerative joint disease (DJD), and juvenile enthesopathy (JEP). The severity of RF was scored on a four-grade scale from one 1 to 8 according to four criteria: the size, position in the joint, associated complications, and interference with joint motion (table 1). A non-linear scoring system was used in order to give more weight to abnormal RF corresponding to DOD with certain clinical relevance and to limit the weight of RF of little significance.

Table 1 Severity score given to Radiographic Finding (RF) of developmental orthopaedic disease (DOD) according to 4 criteria

Criteria of the RF	
a) size, b) associated complications, c) position in the joint, d) interference with joint motion	Severity score of RF
a) small defect, cyst, fragment, lucency... b) with no sclerosis or associated modelling c) not located on or far from the weight-bearing part of the joint d) does not interfere with normal joint motion	1
a) RF of small or medium size b) with no or limited sclerosis or associated modelling c) not located on or close to the weight-bearing part of the joint d) no or little interference with normal joint motion	2
a) RF of medium or large size b) mild to moderate sclerosis or modelling usually present c) close to or on the weight-bearing part of the joint d) can interfere with normal joint motion	4
a) RF of large size b) moderate to severe sclerosis or modelling present c) located on the weight-bearing part of the joint d) usually interferes with normal joint motion	8

For each of the five entities, a foal was considered affected by one of them if the given entity was identified on at least one of the 14 bilateral anatomical

sites; the severity score associated with the given entity for the foal was the highest severity score observed on the 14 bilateral anatomical sites. For each of the 14 bilateral anatomical sites, a foal was considered affected by DOD if at least one RF was identified on the right or left side; the severity score associated with the site for the foal was the highest one observed from either side.

3.3.2. Strategy of analysis and statistical methods

A two-level approach was performed. The first step was implemented for each of the 14 anatomical sites. Chi square and exact Fisher tests were used to assess between-breed variations in prevalence and in distribution for the RF severity scores. In the second step, only foals affected by DOD were considered to explore RF association patterns on the affected sites and their between-breed variations, at foal level. Both a binary status of the sites (RF presence) and the RF severity score for the affected sites were considered successively. Hierarchical Clustering Analyses (HCA) were performed to classify foals depending on their similarities for RF presence or severity scores. Given the high number of variables, Correspondence Factorial Analyses (CFA) were used before HCA to represent data in a more convenient space with a reduced number of dimensions. The retained number of axes in CFA were determined using the empirical method, which reports that the explained variance percentage by each axis should be higher than the mean (*i.e.* $1/n$, n being the number of classifying variables) (Lebart *et al.* 2000). To prevent scaling effects, CFA variables were standardised prior to HCA (Roux 1991). In the end, we chose the number of classes which combined parsimony in their number and maximisation of the coefficient of determination R^2 , which represents the between-class variance. Due to very low prevalence of RF with a severity score of 4 or 8, the three following scales with respectively three and two grades were used for CFA: 1 / 2 / 4-8; 1 / 2-4-8; 1-2 / 4-8, instead of the initial four-grade scale. Due to very low prevalence of RF on five sites, between-breed variations were not tested and these sites were considered illustrative variables for CFA (the distal sesamoid bone, distal phalanx, distal interphalangeal joint, hind foot, and femoro-tibial joint).

3.4. Results

3.4.1. Study sample characteristics

Out of the 21 stud farms included, six were farms with sales objectives. Their size was comprised of between 15 and 80 mares with at least 12 births a year. The remaining farms were more traditional ones, with breeding and training activities. Their size was comprised of between 4 and 40 mares with at least three births a year.

The data set retained for analysis included 392 foals born between 2002 and 2004. Wb, St, and Tb accounted for 25.0, 41.1, and 33.9% respectively in this number. There were slightly more fillies than colts with 52.5%. The mean

age of foals at X-ray examination was 5.7 months (172 ± 38 days (mean \pm s.d.)).

Global management of the foals and feeding practices for the mare were quite similar among breeds (table 2). In winter and early spring, during the last 4-6 months of pregnancy and until approximately 2 weeks of age of the foal, the mares were kept in box stalls from approximately 16:00 on the afternoon until 8:00 on the following day and were group-housed in pastures during the day. Afterwards, the foals and their mare were group-housed in larger pastures for an increasing duration until 24h/day at approximately 3 or 4 months of age of the foals. The foals were weaned at approximately 6 months of age. Management of the foals and thus rearing and housing conditions, could differ mainly depending on the date of birth, the age when first grass was offered, and the age at weaning (table 2). Most of the foals were born in March or in April. All foals were turned out grass from early 2 or 3 weeks of life. The size of foals seemed to be the same at 30 days with a slightly higher wither height for Wb foals. Approximately 10% of foals were weaned at X-ray examination with slightly more Tb, that were 4 days older in average at weaning than Wb and St. The mean daily amount of concentrates distributed to the mares was quite similar among breeds with a slightly higher level for Tb mares during pregnancy. Distribution of a Mineral and Vitamin supplement (MVS) was frequent for St and Tb with more than 65% of the mares supplemented during pregnancy and lactation periods, whereas only 20% of Wb mares were supplemented during these periods.

Table 2 Parameters characterising management practices of the foals, their rearing conditions, their growth, and their age at X-ray, and characterising feeding practices of the mares, depending on the breed

	Warmblood	Standardbred	Thoroughbred
Foal			
Birth month (median, Q1-Q3)	April, April - May	March, March - April	March, February - April
Age of turning out-grass in weeks (median, Q1-Q3)	2 (1-3)	3 (2-3)	2 (2-3)
Wither Height in cm at 30 days (mean \pm SD)	112.8 \pm 3.6	110.7 \pm 3.6	110.7 \pm 3.3
Girth circumference in cm at 30 days (mean \pm SD)	103.0 \pm 4.8	102.7 \pm 3.8	100.7 \pm 3.7
Weaned at X-ray examination (%)	7.5	8.8	13.8
Age at X-ray examination in days (mean \pm SD)	170.4 \pm 36.8	170.0 \pm 40.6	174.9 \pm 34.6
Feeding practices for the mare			
Daily amount of concentrates during pregnancy in kg (mean \pm SD)	4.4 \pm 2.3	4.1 \pm 3.0	6.3 \pm 2.8
Daily amount of concentrates during lactation in kg (mean \pm SD)	5.0 \pm 2.2	4.2 \pm 2.0	5.6 \pm 1.5
% of mares given MVS during pregnancy	21.9	67.8	71.0
% of mare given MVS during lactation	22.3	65.1	65.6

MVS : Mineral and Vitamin Supplement

3.4.2. Prevalence

DOD was present in 66.3% of the foals (95% Confidence Interval (CI) = 61.6-71.0%). The number of foals affected, the number of RF, and their severity score, were significantly higher for Wb than for St and Tb (table 3). OCF, then phytitis and SBC were the three most frequent entities for the three breeds (figure 1). There were more Wb affected by OCF than St and Tb, but St were more severely affected than Wb.

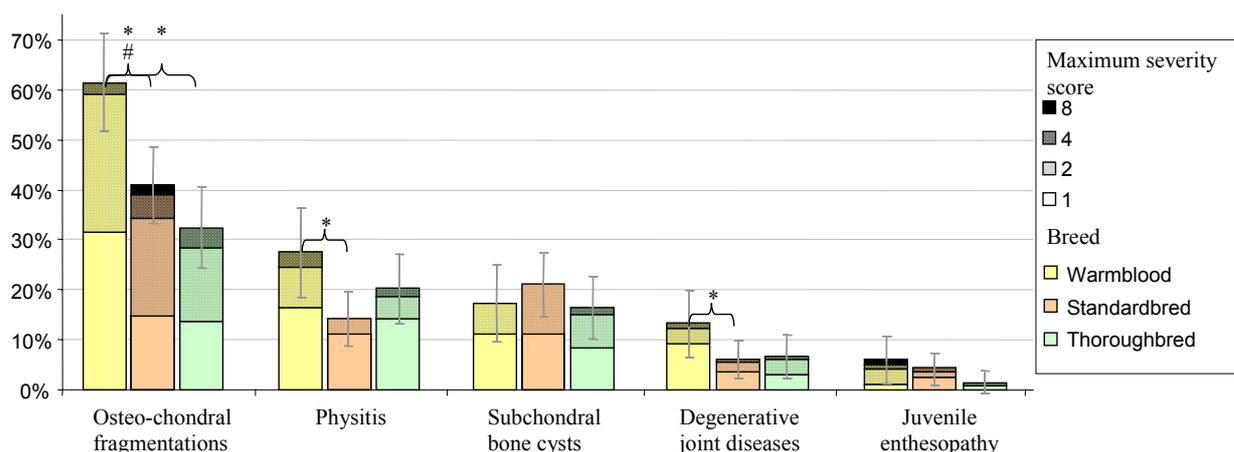


Figure 1 Between-breed variations in prevalence (*) and severity score (#) of limb developmental orthopaedic disease (DOD) depending on the DOD entity on 392 foals (*, #: $P < 0.05$).

Table 3 Prevalence (%) and 95%-Confidence Interval of limb developmental orthopaedic disease (DOD) in 392 foals depending on the breed

Case definition	Warmblood	Standardbred	Thoroughbred
Foals affected by DOD	80.6 ^a	62.7 ^b	60.1 ^b
	[72.8-88.4]	[55.2-70.2]	[51.8-68.4]
Foals with more than 2 radiographic findings	45.9 ^a	17.4 ^b	11.3 ^b
	[36.0-55.8]	[11.5-23.3]	[5.9-16.7]
Foals with at least one radiographic finding severity score > 1	45.9 ^a	36.0 ^b	33.1 ^b
	[36.0-55.8]	[33.5-38.5]	[25.1-41.1]

^{a,b}: Values with different superscripts differ significantly ($p < 0.05$).

The prevalence of foals affected by DOD and the distribution of the RF severity score on the nine frequently affected sites differed depending on the breed (figure 2). For the five remaining sites, in each breed, the prevalence of foals affected by DOD was lower than 3%. Apart from the plantar part of the hind fetlock, there were more Wb foals affected by DOD than St and Tb on every site. Wb and Tb foals were mainly affected on the dorsal part of the hind fetlock, the fore fetlock, the femoro-patellar joint, and the carpus, whereas St foals were mainly affected on the carpus, the plantar part of the hind fetlock, and the proximal part of the hock.

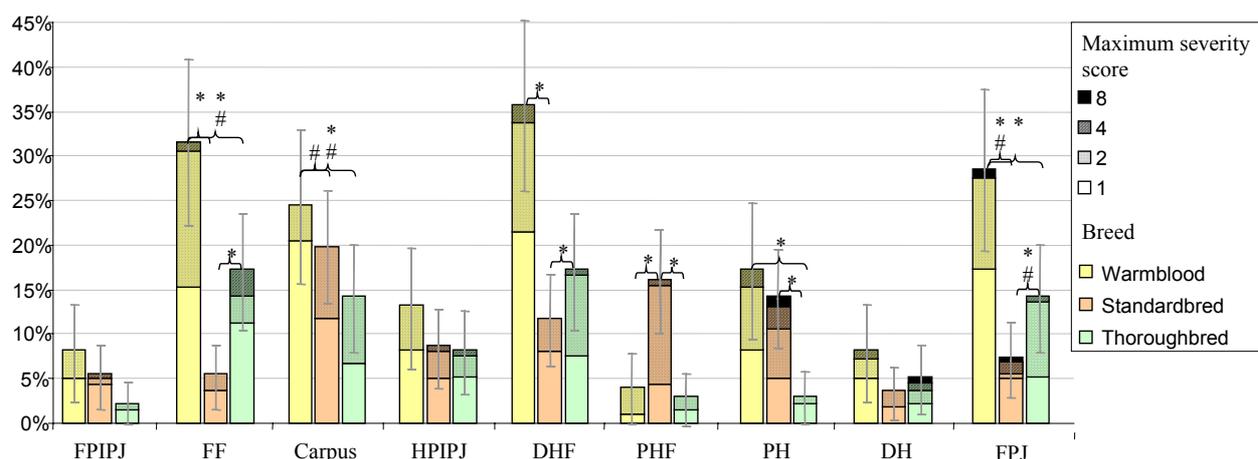


Figure 2 Between-breed variations in prevalence (*) and severity score (#) of limb developmental orthopaedic disease (DOD) depending on the site affected, on 392 foals (Fore proximal interphalangeal joint (FPIPJ), fore fetlock (FF), hind proximal interphalangeal joint (HPIPJ), dorsal part of the hind fetlock (DHF), plantar part of the hind fetlock (PHF), proximal part of the hock (PH), distal part of the hock (DH), femoro-patellar joint (FPJ)) (*, #: $P < 0.05$).

RF graded 4 and 8 were mainly located on the hind limbs and concerned few foals. St and Tb foals had more RF graded 2 than the Wb on the carpus, whereas St foals had more RF graded 4 or 8 than the Wb and Tb on the femoro-patellar joint. The most severely affected sites were the proximal part of the hock and the femoro-patellar joint for Wb and St foals, and the fore fetlock and the distal part of the hock for Tb foals.

3.4.3. Foal profiles for DOD

Analyses regarding the binary DOD status of the sites required six principal factors from CFA to explain 65% of the total variation. Six classes of foals were identified by HCA, corresponding to a between-class variance of 64%. The 1st five classes identified by HCA included foals affected on one particular site: the 1st class comprised all foals affected on the distal part of the hock; the 2nd class comprised foals unaffected on the distal part of the hock but affected on the proximal part of the hock; etc. The 6th class included all remaining foals unaffected on the sites corresponding to the previous five classes (table 4). No particular association between sites affected by DOD was observed in this class yet. This class mainly included Wb and Tb foals, whereas St foals were preferentially distributed over the previous five classes.

Analyses regarding distribution of the RF severity score on the sites (results not presented) did not show any strong association between sites affected either, and classes were quite similar to those described in table 3. Nine to 15 principal factors from CFA were necessary to explain at least 60% of the total variations. At least nine classes of foals were necessary by HCA to get a between-class variance of at least 50%. Thus, 30% to 50% of the classes counted less than seven foals (sometimes only one foal).

Table 4 Classification of 260 foals into profiles of the developmental orthopaedic disease (DOD) distribution on nine anatomical sites according to the breed

Profile Class	Affected site [†]						Breed			
	DH	PH	PHF	Carpus or FPIPJ	HPIPJ	DHF or FF or FPJ	All (%)	Warmblood (%)	Standardbred (%)	Thoroughbred (%)
Class 1	Y	Y/N	Y/N	Y/N	Y/N	Y/N	8.3	10.1	6.3	8.7
Class 2	N	Y	Y/N	Y/N	Y/N	Y/N	13.8	19.0	16.8	5.0
Class 3	N	N	Y	Y/N	Y/N	Y/N	11.0	3.8	24.2	2.5
Class 4	N	N	N	Y	Y/N	Y/N	22.8	24.1	24.2	20.0
Class 5	N	N	N	N	Y	Y/N	9.8	10.1	7.4	12.5
Class 6	N	N	N	N	N	Y	34.3	32.9	21.1	51.3

[†] Abbreviations are: Distal part of the Hock (DH), Proximal part of the Hock (PH), Plantar part of the Hind Fetlock (PHF), Fore Proximal InterPhalangeal Joint (FPIPJ), Hind Proximal InterPhalangeal Joint (HPIPJ), Dorsal part of the Hind Fetlock (DHF), Fore Fetlock (FF), Femoro Patellar Joint (FPJ), Yes (Y), No (N)

3.5. Discussion

In the scientific literature, DOD prevalence in young horses has been covered extensively by studies performed on one breed and very few joints. Our study focused on between-breed variations for the prevalence and distribution of DOD in limbs of foals with similar farming systems, which had never been reported so far. The three main French breeds (Warmblood, Standardbred and Thoroughbred) were studied. Foals were X-rayed at 6 months approximately. We know that OC and more generally DOD start to develop before birth (Carlsten et al. 1993). The time of onset of DOD varies between 1 and 24 months of age, depending on the site of occurrence and on the entity (Jeffcott 2005). Thus, some DOD lesions may develop and then disappear after visualisation at X-ray examination (Dik et al. 1999). Dik et al. (1999) showed that there is a peak at about 6 months of age for the prevalence of DOD lesions in the stifle and in the hock, which can explain the high prevalence estimates that we found. They also showed that RF of DOD in the stifle tend to regress and resolve later, but not after 8 months. The first RF can be detected before 3 months of age (Carlsten et al. 1993). Hence, X-ray examination at 6 months of age appear to be a good compromise to detect visible changes at X-ray when most of them have developed and early enough to set conservative or curative treatments when appropriated. X-ray examinations performed here were not exhaustive. Other joints could have been X-rayed and other views could have been obtained to better document the osteo-articular status of foals. However, for economic and radiation-safety reasons, it was chosen to X-ray more foals instead of multiplying views per foal. Moreover, our approach at the foal level with a summary of the DOD profiles of foals depending on the patterns of RF distribution on the sites, had never been reported either. Because the current study used a procedure of convenient sampling, the external validity of its results is limited to foals at

weaning which share the same main characteristics (e.g., breed, feeding and management practices, *etc.*).

Our study showed two striking results. Firstly, the site distribution of RF representing DOD was specifically designed for St, whereas it was more similar for Wb and Tb. Secondly, Wb foals were more frequently and severely affected by DOD than St and Tb foals. This difference between Wb foals and St and Tb foals can be due to genetic predisposition of Wb foals to DOD or can be due to differences among breeds in exposure to the multiple risk factors of DOD. The description of the rearing conditions and growth parameters of the foals, and of the feeding practices of the mares showed that the three breeds were managed quite similarly. Some small differences were observed for Wb foals which were born slightly later and which were 2 cm higher in average at 30 days than St and Tb. The main difference was observed for the distribution of MVS to the mares which was less frequent for Wb than for St and Tb. The differences of birth month and distribution of MVS for Wb foals correspond to a lower farming intensity with middle term objective and lower profitability for this breed. Mineral imbalances are considered to influence the prevalence of DOD (Knight et al. 1990, Savage et al. 1993). Thus, between breed variations observed in the prevalence of DOD may be possibly partly explained by difference observed in the MVS distribution to the mares. However, all the assessed differences in the prevalence cannot be attributed to this factor because some not supplemented Wb mares had foals not affected by DOD while some supplemented Tb mares had affected foals. Only an individual risk-factor analysis would make it possible to know if the observed differences in prevalence of DOD is due to differences in MVS distribution to the mares.

Because no simultaneous prevalence study on several breeds with similar farming systems has been reported earlier, and also due to differences in X-raying protocols, comparisons to previously published estimates for the prevalence of DOD in young horses should be made with caution. Entities taken into account were often limited to OCF. Moreover, previous prevalence estimates were assessed on a particular population such as horses coming from only one stud farm, or horses genetically predisposed to DOD, or horses presented for public auction or clinical investigations. Therefore, these horses are expected to be more or less affected than a broader horse population, and thus providing possibly biased prevalence estimates. Keeping in mind all these limits in validity of any comparison, only a short overview of apparent similarities and discrepancies was deemed relevant here.

Our results showed that OCF was the most frequent entity for the three breeds which is in accordance with the particularly large distribution of OC recognised by van Weeren and Barneveld (1999); they estimated that the incidence of the OC including all joints and radiographically occult lesions is at least 20-25% in North-Western Europe. In our sample of St foals, 41% were affected by OCF which is slightly higher than the 31.5% reported by Alvarado et al. (1989) on older yearlings. For Wb, our prevalence estimate of 61% of

foals affected by OCF was higher than the 31.4% from Stock *et al.* (2006). However, this difference can be explained by differences in methodology as Stock *et al.* (2006) studied horses selected for sales, aged from 3 to 7 years, and did not X-rayed the stifle and carpus. Moreover, Dik *et al.* (1999) showed that the prevalence of DOD lesions in the stifle and in the hock reach a peak at about 6 months of age, which could explain the high prevalence estimates that we found in our sample of foals X-rayed at 5.7 months on average.

For St foals, the site distribution of RF was different from those of Wb and Tb foals. Our prevalence estimate for St affected foals is only slightly lower than that reported by Alvarado *et al.* (1989) from a study involving only one stud farm of 73 St yearlings X-rayed with the same views as ours: 62.7% versus 75.3%.

Our prevalence estimates on the carpus and the femoro-patellar joint of St foals are consistent with theirs. For the distal part of the hock, our result of 3.7% of St foals affected by DOD is not in keeping with that of Hartung *et al.* (1983), who found 49.7% for German St yearlings affected by spavin on the tarsus.

On the fetlocks of St foals, our prevalence estimates of DOD (6%, 12%, 16% respectively on the fore fetlock, and on the dorsal part and plantar part of the hind fetlock) appear quite consistent with those of several studies. Storgaard Jørgensen *et al.* (1997) reported 16.0% of 243 Danish St yearlings affected by OCF. Carlsten *et al.* (1993) reported between 18.2% and 23.4% foals affected by OCF in 71 St foals from a Swedish stud farm. In the same way, our results are very close to the estimates of Sandgren *et al.* (1993) from a random sample of 674 Swedish St yearlings (2.5% and 3.3% affected by OCF on the fore fetlock, and between 13.7% and 15.7% of yearlings affected on the proximal part of the hind fetlock). However, our results are in sharp contrast to the 31.9% prevalence (limited to OCF) in a study involving 753 Norwegian St X-rayed between 6 and 21 months (Grondhal and Engeland 1995).

For the proximal part of the hock of St foals, the prevalence in our study (14.0%) is consistent with the OCF prevalence reported for Norwegian and Danish St yearlings (Grondhal and Engeland 1995, 14.3%; Storgaard Jørgensen *et al.* 1997, 14.0%). Our results are also quite consistent with those of Swedish St aged 5 months, which showed a prevalence comprised between 19.5% and 23.4% according to their precise location on the site (Carlsten *et al.* 1993).

Considering the severity of DOD in affected St, our results compared well with those of Alvarado *et al.* (1989). In the fetlocks of St yearlings, they found that 54.5% of OCF were graded 1. Comparatively, in the fore fetlock and in the dorsal part of the hind fetlock, we found that approximately 70% of affected St foals had only RF graded 1; in the plantar part of the hind fetlock, we found that 25% of affected St foals had only RF graded 1. In the hock and in the stifle, Alvarado *et al.* (1989) found that 60% of OCF were graded 2 on St

adults and offspring yearlings, whereas we found that in the hock and in the femoro-patellar joint respectively, 70% and 40% of affected St foals had at least one RF graded 2.

Wb foals were the most affected by DOD. The number of foals, the number of RF per foal, and their severity score as well were higher than in St and Tb. Comparisons with previous studies were difficult because no study of DOD prevalence globally on the limb joints had been performed on Wb foals or yearlings. Limited to OCF and from sales-selected horses aged between 3 and 7 years, Stock *et al.* (2006) reported prevalence estimates on 3127 Hanoverian Wb. They found lower estimates than ours on the proximal interphalangeal joint, the fore fetlock, the hind fetlock, and the hock. They reported 4.5% of horses affected on the distal interphalangeal joints, which is concordant with our results. From 167 young German Coldbloods, Wittwer *et al.* (2006) found higher prevalence estimates than ours on the fetlocks and the hock. One reason for the high prevalence in German Coldbloods compared with Wb, or in Wb compared with St and Tb foals, could be seen in weight growth rates or in the body format conducting to a higher weight for Coldbloods and Wb than for St and Tb horses. Sandgren *et coll.* (1993) and Pagan and Jackson (1996) showed that foals with OC lesions were heavier at birth and had a faster weight growth than foals without OC indeed. Another explanation for the high prevalence in German Coldbloods when compared with our prevalence estimate in Wb can be the differences in management practices between our two studies.

For Tb foals, the most affected sites were quite similar to those of Wb foals with lower prevalence estimates. Likewise Wb foals, comparisons with previous studies were difficult because few prevalence studies of DOD had been performed globally on the limb joints of young Tb horses. Through a very detailed examination including 34 views performed on 1130 Tb yearlings at pre- or post-sale in a private veterinary practice on the same joints as in our study, Kane *et al.* (2003) described all RF with more precise and detailed locations than us. For the fetlock, the hock, and the stifle, they reported a large range of prevalence in RF, which is in accordance with our results. For the carpus, they reported a very smaller occurrence of RF than in our protocol, comprised of between 0.1% and 1.7% depending on the precise location.

To explore the DOD profiles of foals according to patterns of site distribution of RF, factorial analyses and classifications were used. These two methods are complementary, because of the difficulty to interpret results from factorial analyses, which is offset by classifications. For factorial analyses, the sites with low prevalence were considered here illustrative to avoid effects due to a nature-specific high contribution of such sites, if they had been introduced as classifying variables. For the same reason, some grades of RF severity score with a low prevalence were regrouped.

In the two ways explored (distribution of RF and distribution of RF severity score), no clear natural class structure with associated affected sites was observed. In fact, a wide variety of classes existed and corresponded to a low R^2 . Most classes were characterised by one particular site affected without any typical association with other affected sites. To obtain a valid R^2 , a larger number of axes and classes was required. However, results from CFA and HCA were concordant with the results obtained in the first part of this study concerning the between-breed variations in the site distribution of foals (affected by DOD based on a binary definition). Indeed, Wb and Tb foals were preferentially classified in the same class because they were preferentially affected on the same sites, whereas St foals were distributed in other classes.

3.6. Conclusion

This is the first epidemiological study reporting between breed variations of the DOD distribution and of the severity of corresponding RF, on the limb joints of foals with similar farming systems. However, few differences were observed in the feeding practices of the mares among breeds, which need to be confirmed by further research. The main challenge for DOD epidemiology is to simultaneously study all the individual risk-factors in order to quantify the roles of genetic predispositions and management practices and to make recommendations to breeders to reduce the prevalence and incidence of DOD.

The results of this study are consistent with those obtained by previous studies performed separately on one breed. Our results showed that the site distribution of DOD is specifically-designed for Standardbreds compared to Warmbloods and Thoroughbreds, which are more similar. The most severe RF are mainly located on the hind limbs, plus the fore fetlock for Thoroughbreds. Moreover, our results suggests that young Warmblood horses are likely more affected than Standardbreds and Thoroughbreds. This study provides a better knowledge about between-breed variations in the distribution of DOD. These results are of great interest to improve DOD screening by adapting X-ray protocols to the breed regarding distribution of prevalence and severity of DOD among joints. Consequently, the X-ray DOD screening could be adapted to the breed and to the screening objectives, which could be to assess the most frequently affected joints or the most severely affected ones. In the same way, the results can help practitioners to focus their clinical examinations towards the most common findings.

Acknowledgements

This work was financially supported by the *Haras Nationaux*, the Conseil Régional de Basse Normandie, the *Institut National de la Recherche Agronomique* and the French Ministère de l'Agriculture.

References

- Alvarado AF, Marcoux M, and Breton L 1989. The incidence of osteochondrosis in a Standardbred breeding farm in Quebec. In: Proceed. Am. Ass. Equine Pract. 293-307.
- Carlsten J, Sandgren B and Dalin G 1993. Development of osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints of Standardbred trotters. I. A radiological survey. Equine Veterinary Journal Supplement 16, 42-47.
- Dik KJ, Enzerink E, van Weeren PR 1999. Radiographic development of osteochondral abnormalities, in the hock and stifle of Dutch Warmblood foals, from age 1 to 11 months. Equine Veterinary Journal Supplement 31:9-15.
- Donabedian M, Fleurance G, Perona G, Robert C, Lepage O, Trillaud-Geyl C, Leger S, Ricard A, Bergero D, Martin-Rosset W 2006. Effect of fast vs. moderate growth rate related to nutrient intake on development orthopaedic disease in the horse. Animal Research 55, 471-486.
- Grondahl AM and Engeland A 1995. Influence of radiographically detectable orthopaedic changes on racing performance in Standardbred trotters. Journal of American Veterinary Medical Association 206 (7), 1013-1017.
- Hartung K, Münzer B and Keller H 1983. Radiologic evaluation of spavin in young trotters. Veterinary Radiology 24, 153-155.
- Hoppe F 1984. Radiological investigations of osteochondrosis dissecans in Standardbred trotters and Swedish Warmblood horses. Equine Veterinary Journal 16 (5), 425-429.
- Hoppe F, Philipsson JP 1985. A genetic study of osteochondrosis dissecans in Swedish Horses. Equine Practice 7 (7), 7-15.
- Jeffcott LB 1991. Osteochondrosis in the horse – searching for the key to pathogenesis. Equine Veterinary Journal 23 (5), 331-338.
- Jeffcott LB 1996. Osteochondrosis – An international problem for the horse industry. Journal of Equine Veterinary Science 16 (1), 32-37.
- Jeffcott LB 2004. Developmental diseases affecting growing horses. In: The growing horse: nutrition and prevention of growth disorders, pp. 231-245. Dijon, France.
- Kane AJ, Park RD, McIlwraith CW, Rantanen NW, Morehead JP and Bramlage LR 2003. Radiographic changes in Thoroughbred yearlings. Part 1: Prevalence at the time of the yearling sales. Equine Veterinary Journal 35 (4), 354-365.
- Knight DA, Weisbrode SE, Schmall LM, Reed SM, Gabel AA, Bramlage LR and Tyznik WI 1990. The effects of copper supplementation on the prevalence of cartilage lesions in foals. Equine Veterinary Journal 22, 426-432.
- Lebart L, Morineau A and Piron M 2000. Statistique exploratoire multidimensionnelle, 3rd edition. Dunod, Paris.
- McIlwraith CW 1986. Incidence of developmental joint problems. In: Proceeding of AQHA Developmental orthopaedic disease symposium, pp. 15-20. AQHA, Amarillo, USA.

- Olstad K, Ytrehus B, Ekman S, Carlson CS, Dolvik NI 2007. Early lesions of osteochondrosis in the distal tibia of foals. *Journal of Orthopaedic Research*. *In press*
- Pagan JD and Jackson SG 1996 The incidence of developmental orthopaedic disease on a Kentucky Thoroughbred farm. *Pferdeheilkunde* 12, 351-354.
- Roux M, 1991. Basic procedures in hierarchical cluster analysis. In: *Applied Multivariate Analysis in SAR and Environmental Studies* (eds J Devillers and W Karchers), pp. 115-135. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Hollande.
- Sandgren B, Dalin G and Carlsten J 1993. Osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints in Standardbred trotters. I. Epidemiology. *Equine Veterinary Journal Supplement* 16, 31-37.
- Savage CJ, McCarthy RN and Jeffcott LB 1993. Effects of dietary phosphorus and calcium on induction of dyschondroplasia in foals. *Equine Veterinary Journal Supplement* 16, 80-83.
- Schougaard H, Falk Ronne J, Phillipson J 1990. A radiographic survey of tibiotarsal osteochondrosis in a selected population of trotting horses in Denmark and its possible genetic significance. *Equine Veterinary Journal* 22(4) 288-289.
- Stock KF, Hamann H and Distl O 2006. Factors associated with the prevalence of osseous fragments in the limb joints of Hanoverian Warmblood horses. *The veterinary journal* 171, 147-156.
- Storgaard Jørgensen H, Proschowsky H, Falk-Rønne J, Willeberg P and Hesselholt M 1997. The significance of routine radiographic findings with respect to subsequent racing performance and longevity in Standardbred trotters. *Equine Veterinary Journal* 29 (1), 55-59.
- van Weeren PR, Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM and Barneveld A 1999. The influence of birth weight, rate of weight gain and final achieved height and sex on the development of osteochondrotic lesions in a population of genetically predisposed Warmblood foals. *Equine Veterinary Journal Supplement* 31, 26-30.
- van Weeren PR and Barneveld A 1999. The effect of exercise on the distribution and manifestation of osteochondrotic lesions in the Warmblood foals. *Equine Veterinary Journal Supplement* 31, 16-25.
- Watkins JP 1992. Osteochondrosis. In: *Equine Surgery* (eds JA Auer, 1st Ed.) pp. 765-778. Saunders, Philadelphia, USA.
- Wittwer C, Hamann H, Rosenberger E, and Distl O 2006 Prevalence of osteochondrosis in the limb joints of south German Coldblood horses. *Journal of Veterinary Medicine* 53, 531-539.

3.7. Compléments aux résultats de l'article

Les distributions du nombre d'AOAJ et du SR des poulains en fonction de la race sont présentées dans les figures 3-2 et 3-3.

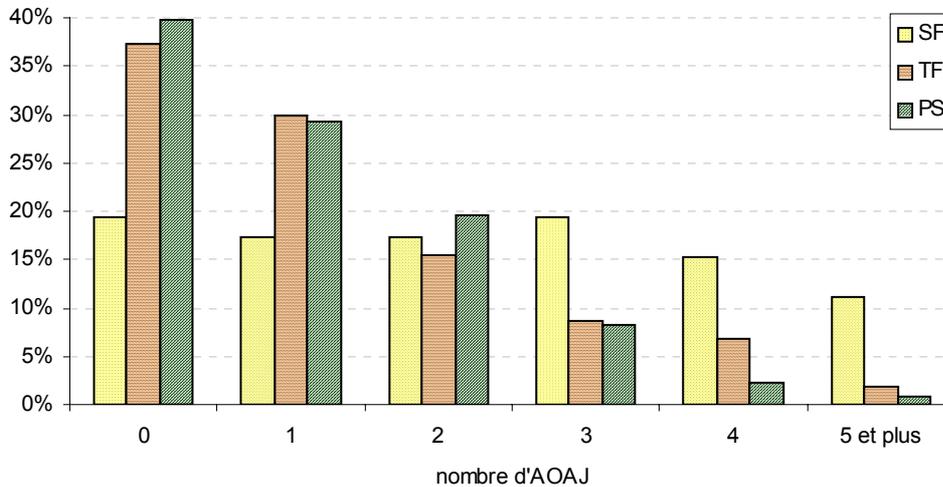


Figure 3-2 : Distribution du nombre d'Affectio n Ostéo-Articulaire Juvéniles (AOAJ) par poulain en fonction de la race

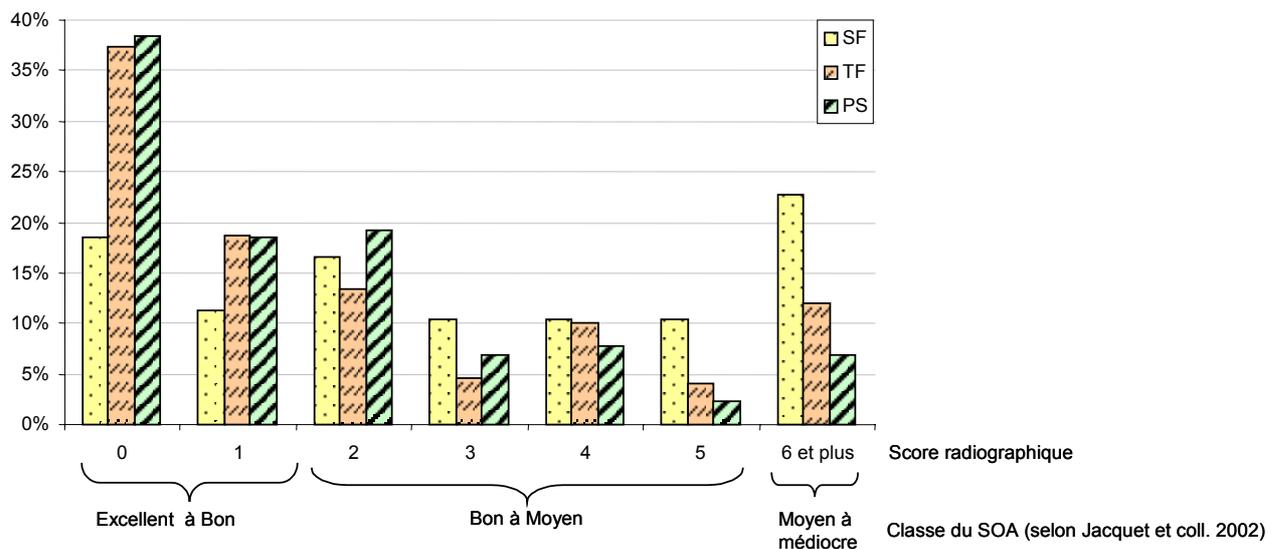


Figure 3-3 : Distribution du score radiographique et de la classe correspondante de Statut Ostéo-Articulaire (SOA) du poulain en fonction de la race

Comme nous l'avons vu précédemment, on observe que seulement un tiers de l'échantillon est constitué de poulains sains. Un quart des poulains ont une seule AOAJ, et environ 40% ont 2 AOAJ ou plus. Le nombre moyen d'AOAJ des poulains atteints était de $2,2 \pm 1,4$ avec une différence raciale significative ($p < 0,05$) ($3,0 \pm 1,8$, $2,0 \pm 1,2$, $1,8 \pm 0,9$, pour les SF, TF, PS, respectivement).

Concernant les classes de SOA, environ 50% des poulains ont un SOA dit excellent à bon, et 13% un SOA dit moyen à médiocre. Le score moyen des poulains atteints était de $3,7 \pm 3,2$ avec une différence raciale significative ($p < 0,05$) ($4,6 \pm 3,5$, $3,7 \pm 3,4$, $2,9 \pm 2,6$, pour les SF, TF, PS, respectivement). Ces résultats confirment nos précédents résultats en ce sens que les SF avaient un nombre d'AOAJ et un SR supérieur aux TF et PS.

En parallèle à l'article 2, les résultats de prévalence et distribution des AOAJ par site ont été valorisés en terme d'impact sur le protocole de dépistage radiographique avec un article en français dans le cadre de la Journée de la Recherche Equine 2006 (cf. annexe 3).

4. Conclusion : variables à expliquer

En conclusion, la détermination des variables à expliquer découle de l'ensemble des résultats présentés sur le SOA des poulains. Trois types de variables à expliquer ont ainsi été définies selon la présence/absence d'AOAJ, les entités présentes et selon la sévérité globale d'atteinte du poulain. Seize poulains pour lesquels le protocole radiographique n'était pas complet ont été exclus.

4.1. Présence ou absence d'AOAJ

Au final, le statut des poulains vis à vis de la présence ou non d'AOAJ a donc été étudié tel que défini ci-dessous :

- atteints d'AOAJ (177) versus sains (200).

Par abus de langage, les poulains non-atteints d'AOAJ avec le protocole radiographique utilisé seront désignés comme « sain ». Du fait des résultats de répétabilité qui montraient que les discordances concernaient principalement les AOAJ de faible sévérité (gradées 1), et pour éviter des erreurs de classement, les poulains ayant une seule AOAJ gradée 1 ont été re-classés parmi les sains.

4.2. Présence ou absence de certaines entités

L'étude sur les éventuelles associations entre sites atteints par les AOAJ n'a pas permis de différencier distinctement les poulains selon leurs ressemblances lésionnelles dans les sites atteints. Ainsi, les sites étant trop nombreux à explorer et le nombre de poulains atteints par site étant trop faible pour permettre une recherche des facteurs de risque pour chaque site, les facteurs de risque ont été explorés par entité. Le statut des poulains vis à vis de chacune des 5 entités a été étudié comparativement aux poulains sains. Deux axes ont été explorés lorsque les effectifs étaient suffisants (>40) : un axe dit non-exclusif, avec l'étude de la présence de chaque entité quelles que soient les autres entités présentes, et un axe dit exclusif, avec l'étude de la présence de chaque entité lorsqu'aucune autre

entité n'est présente. Ainsi, les statuts des poulains tels que définis ci-dessous ont été étudiés :

- au moins atteints de FOC (134) versus sains (200)
- atteints de FOC uniquement (72) versus sains (200)
- au moins atteints d'épiphysite (47) versus sains (200)
- au moins atteints de KOSC (54) versus sains (200)

4.3. Sévérité du statut ostéo-articulaire

Par ailleurs, la sévérité globale du SOA des poulains a été étudiée à l'aide du SR global d'une part et à l'aide du nombre d'AOAJ d'autre part. Ainsi les statuts des poulains tels que définis ci-dessous on également été étudiés :

- $SR=[2-5]$ (127) versus sains (200),
- $SR >5$ (50) versus sains (200),
- $SR >5$ (50) versus $SR=[2-5]$ (127),
- nombre d'AOAJ.

Chapitre 4 : Facteurs de risque des AOAJ

Les données initialement collectées sur les facteurs de risque avaient fait l'objet d'une simple saisie sans vérification par chaque collaborateur/partenaire et sous la forme qu'il souhaitait. C'est pourquoi il a été nécessaire de procéder à des vérifications de saisie aléatoires afin d'évaluer les sources d'erreurs potentielles et de les corriger. De plus, le format de saisie des données n'était pas toujours en adéquation avec les besoins d'une analyse épidémiologique et statistique. Ainsi, les fichiers de données ont parfois dû faire l'objet de remaniements conséquents. C'était notamment le cas des données alimentaires qui avaient été saisies de manière à répondre à une étude analytique en fonction de la couverture des besoins théoriques estimés. Par ailleurs, la plupart des données avaient été recueillies en continu selon différents pas de temps, de la naissance à environ 6 mois. Les données représentant chaque facteur de risque ont donc été tronquées à la date de l'examen radiographique pour respecter autant que possible, la chronologie des événements.

Enfin, les données disponibles pour chaque facteur de risque potentiel étaient trop nombreuses pour être toutes mises en relation avec les différents SOA définis précédemment. De plus, il existait un risque de corrélation entre les variables relatives à un même facteur et donc un risque marqué de surajustement des modèles statistiques. Ainsi, pour chaque thème, la croissance, les pratiques d'alimentation et les pratiques d'élevage, nous avons cherché à représenter ces informations sous une forme plus synthétique cherchant à décrire les grandes lignes des pratiques d'élevage ou de la croissance par exemple.

1. Préalable aux articles : traitement des facteurs de risque potentiels

1.1. Croissance

Les hypothèses *a priori* étaient qu'un grand format ou qu'une vitesse de croissance staturale ou pondérale rapide pouvaient conduire à l'apparition d'AOAJ. Les données recueillies sur la HG et le PT étaient très disparates. La stratégie a donc consisté à représenter, pour chaque paramètre (HG et PT) et pour chaque poulain, les courbes de croissance à partir des mesures réalisées. Les courbes de HG et PT ont ensuite été représentées par leur valeur initiale et leur pente pour chaque poulain. Cette approche permettait d'obtenir des

informations plus synthétiques et sous une forme homogène pour tous les poulains.

Par ailleurs, le format et la vitesse de croissance du poulain sont variables selon la race (Martin-Rosset 2001). Ainsi, tous les paramètres finalement retenus pour être inclus dans l'analyse des facteurs de risque des AOAJ ont été standardisés (centrés-réduits intra-race) pour obtenir une échelle valable quelle que soit la race. Les effets de la croissance seront donc exprimés relativement à la moyenne de la race et pour une augmentation d'une unité d'écart-type.

1.1.1. Hauteur au garrot et périmètre thoracique

La HG et le PT ont été mesurés plusieurs fois pour chaque poulain. Les descriptifs graphiques des courbes de croissance individuelles de la HG et du PT ont donc pu être réalisés sur les 346 foals ayant au moins 3 mesures entre la naissance et l'examen radiographique. Les courbes de croissance de la HG et du PT étaient de forme curvilinéaire croissante (figure 4.1).

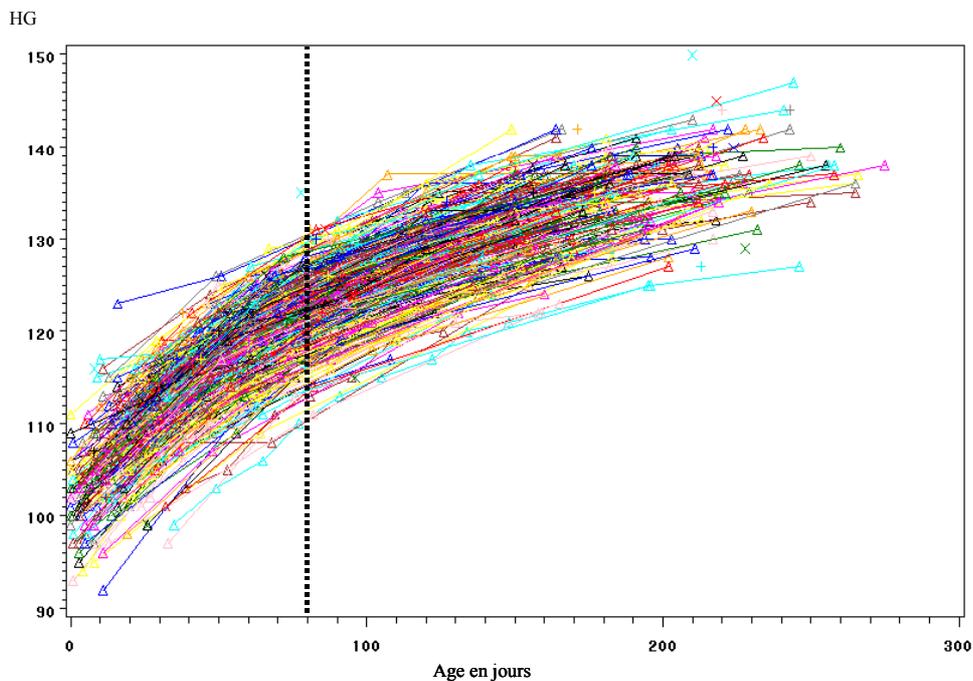


Figure 4-1 : Courbes de croissance individuelles en hauteur au garrot

On observe sur la figure 4.1 que la pente de la courbe (*i.e.* vitesse de croissance) de HG est déterminée essentiellement entre 0 et 80 jours, puis connaît un ralentissement vers 80 jours. Par la suite des courbes de croissance individuelles ont été modélisées pour la HG et pour le PT sur les mêmes poulains à l'aide de modèles polynomiaux du 2nd degré à effets mixtes. Seulement 16 poulains avaient été mesurés à la naissance. L'ordonnée à l'origine du modèle a donc été décalée à 30 jours, âge auquel 298 poulains avaient été mesurés au moins une fois, permettant ainsi un meilleur ajustement

du modèle. Des effets aléatoires par poulain sur l'ordonnée à l'origine (*i.e.* valeur de la mesure à 30 jours), sur la pente (*i.e.* vitesse de croissance), et sur l'âge lors du ralentissement de la pente (*i.e.* ralentissement de la vitesse de croissance) ont été testés. Une matrice de variance-covariance non-structurée, identique pour chaque poulain, a été choisie de manière à prendre en compte la covariance entre les 3 effets aléatoires. La méthode du maximum de vraisemblance a été utilisée pour estimer les paramètres du modèle. Des problèmes de non convergence ont été rencontrés. L'ajout d'une contrainte de positivité sur la matrice de variance-covariance, de même que la modification de sa structure, n'ont pas permis de les résoudre. Le nombre de paramètres à estimer (3 pour les effets fixes et 3 pour les effets aléatoires) pouvait être trop élevé par rapport au nombre de mesures par poulain et par rapport au nombre de poulains. La seule manière d'obtenir la convergence des modèles était de supprimer l'effet aléatoire sur le ralentissement de la pente. Il est donc raisonnable de penser que la non convergence était due au fait que le ralentissement de la pente n'était pas un caractère discriminant pour les poulains. Ce ralentissement de la pente n'a donc pas été pris en compte. Les modèles mis en œuvre pour représenter la HG et le PT étaient donc de la forme suivante :

$$HG_{ij} \text{ (ou } PT_{ij}) = \beta_0 + \beta_1 (\text{Age-30jours})_{ij} + \beta_2 (\text{Age-30jours})^2_{ij} + \gamma_{0i} + \gamma_{1i} (\text{Age-30jours})_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Avec :

$$\gamma_i = \begin{pmatrix} \gamma_{0i} \\ \gamma_{1i} \end{pmatrix} \approx N \left(\begin{bmatrix} 0 \\ 0 \end{bmatrix}, \begin{bmatrix} \sigma^2_{\gamma_0} & \sigma_{\gamma_0\gamma_1} \\ \sigma_{\gamma_0\gamma_1} & \sigma^2_{\gamma_1} \end{bmatrix} \right)$$

$$\varepsilon_{ij} \approx N(0, \sigma_\varepsilon^2)$$

HG_{ij} (PT_{ij}) étant la HG (le PT) en cm du poulain i pour la mesure j . β_0 , β_1 , et β_2 , représentent les coefficients des effets fixes, pour la $HG_{30\text{jours}}$ ($PT_{30\text{jours}}$), la pente de HG (PT), et le ralentissement de la pente, respectivement. γ_{0i} et γ_{1i} sont les coefficients des effets aléatoires spécifiques du sujet i , pour la $HG_{30\text{jours}}$ ($PT_{30\text{jours}}$) et la pente de HG (PT), respectivement.

Ces modèles ayant montré un très bon ajustement des données ($R^2 > 0,95$), les poulains avec seulement 2 mesures ont également été inclus évitant ainsi une perte d'information. L'ajustement des modèles incluant les poulains avec 2 points de mesure était aussi bon que celui des modèles incluant seulement les poulains avec 3 points de mesure, respectivement $R^2 = 0,96$ et $0,96$ pour la modélisation de la HG, et $R^2 = 0,96$ et $0,97$ pour la modélisation du PT.

L'adéquation des modèles était vérifiée avec une homogénéité de la distribution des résidus. Le test de Wald indiquait une covariance significativement différente de zéro entre la $HG_{30\text{jours}}$ et la pente de HG, mais pas entre le $PT_{30\text{jours}}$ et la pente de PT. Une matrice permettant une covariance nulle a donc été testée à l'aide du critère d'Akaike noté AIC (Akaike Information Criteria) (Akaike 1973). Pour les deux modèles représentant la HG et le PT, la matrice non structurée a été conservée, celle permettant une covariance nulle n'ayant pas permis un meilleur ajustement du modèle aux données.

Les prédictions des modèles pour la HG_{30j} et sa pente (*i.e.* vitesse de croissance), ainsi que pour le PT_{30j} et sa pente (*i.e.* vitesse de croissance) ont donc été pris en compte dans l'analyse des facteurs de risque des AOAJ.

1.1.2. Développement du poulain : ratio hauteur au garrot/périmètre thoracique

Le ratio HG/PT informe sur le développement du poulain rapportant sa hauteur à son épaisseur. L'évolution du ratio HG/PT permet en quelque sorte de représenter la croissance staturale par rapport à la croissance pondérale. Compte tenu du fait que les paramètres retenus pour la HG et le PT correspondent principalement aux premiers mois de vie (la phase de croissance ralentie est de pente invariable pour tous les poulains dans le modèle), un ratio HG/PT plus tardif constituant ainsi une information réellement complémentaire a été pris en compte. Ce ratio a été obtenu à partir des valeurs prédites par le modèle d'ajustement de la HG (cf. 1.1.1. de ce chapitre) et par un modèle d'ajustement de $1/PT$ ($R^2=0,94$). Le ratio a été considéré à l'âge de 4 mois pour avoir tous les poulains au même âge et avant la prise des clichés radiographiques.

1.1.3. Poids

Une seule mesure du poids des foals, contemporaine de l'examen radiographique, a été obtenue. L'âge à la pesée étant très variable, et corrélée aux autres mesures de croissance, cette information n'a volontairement pas été prise en compte.

1.2. Pratiques d'alimentation

Les hypothèses *a priori* étaient que des excès d'apports en énergie et en MADC notamment, ou des déséquilibres entre macro- ou oligo-éléments pouvaient favoriser l'apparition d'AOAJ. Pour cette partie, le recueil des données sur les concentrés était très détaillé avec pour chaque poulain et pour chaque nutriment, macro-élément, et oligo-élément, la moyenne des distributions journalières à la mère et au poulain considérée mois par mois. Ces données visaient à une approche nutritionnelle mais n'étaient pas adaptées à une approche épidémiologique globale. En effet, toutes ces variables étaient fortement corrélées entre elles, dépendant des quantités distribuées. Il était donc

nécessaire de rendre cette information plus synthétique, dans l'objectif aussi de ne pas sur-représenter l'alimentation dans l'analyse des facteurs de risque ultérieure, avec un nombre plus important de variables que pour les autres facteurs de risque. La stratégie a donc consisté à décrire les corrélations existant entre les variables pour identifier d'où provenait la variabilité entre poulains.

1.2.1. Fourrages

Les données sur l'herbe et les fourrages conservés ne pouvaient pas être exploitées car les informations manquantes sur la composition étaient trop nombreuses et les quantités ingérées inconnues. Les 120 analyses d'herbe et 77 analyses de fourrages conservés réalisées ne permettaient pas de connaître la composition des fourrages ingérés par les animaux tout au long du suivi et ne permettaient pas non plus d'extrapoler la composition des herbes des parcelles et des fourrages conservés non prélevés. En effet, la teneur des fourrages en nutriments, macro-éléments, et oligo-éléments varie fortement selon les espèces prairiales présentes, la saison, le climat, et selon l'entretien et la gestion des parcelles réalisés par l'éleveur (INRA 1990), et selon le mode de conservation pour les fourrages conservés. Par ailleurs, la quantité d'herbe pâturée par un herbivore est impossible à estimer sans recours à des marqueurs inertes (Corbett et Freer 1995). La consommation fourragère des mères et des poulains était donc méconnue.

Selon les partenaires ayant recueilli les données de pratiques d'alimentation et d'élevage, les chevaux ont eu une alimentation pléthorique en fourrages dans tous les haras, soit pour l'herbe pâturée, soit pour le foin, voire même les deux. Dans ce contexte, il est logiquement difficile d'identifier des différences entre haras ou entre animaux, hormis celles du chargement des haras (surface disponible divisée par le nombre d'animaux) et celles du mois de naissance des poulains qui conditionne en partie les pratiques de pâturage. Un raisonnement en termes de conduite de pâturage a donc été adopté. La variation concernant la disponibilité en herbe pour les couples mère-foal était par conséquent représentée par le mois de naissance des foals, l'âge à la 1^{ère} mise au pâturage des foals, ainsi que par le fait que les foals soient sevrés ou non lors de l'examen radiographique.

Ces informations ont permis de discriminer les poulains par le mode d'alimentation de la mère et du poulain. Ainsi, pour les poulains nés en début de saison (janvier et février), l'alimentation des mères était plutôt constituée de fourrages conservés du 8^{ème} mois de gestation au 2^{ème} ou 3^{ème} mois de lactation, puis de davantage d'herbe jeune ensuite. Pour les poulains nés en pleine saison (mars et avril), l'alimentation des mères était plutôt constituée de fourrages conservés pendant la fin de gestation, puis de davantage d'herbe jeune ensuite. Pour les poulains nés en fin de saison (mai, juin, ou juillet), l'alimentation des mères était plutôt constituée d'herbe en fin de gestation et pendant la lactation.

1.2.2. Concentrés

Par suite, l'exploration des facteurs de risque potentiels sur la seule base des pourcentages de couverture des besoins par la ration totale était impossible puisque la majeure partie de la ration fournie aux mères (fourrages) et aux poulains (fourrages et lait) était inconnue. De plus, le poids des mères, nécessaire pour estimer leurs besoins, n'était pas disponible pour toutes les juments. Ainsi, seul le contenu qualitatif et quantitatif de la ration concentrée a été étudié pour la mère pendant la période de gestation d'une part et de lactation d'autre part, et pour le poulain entre l'âge de 4 mois et l'examen radiographique.

Aucune donnée ne permettait de faire l'hypothèse que l'alimentation de la mère vis à vis des AOAJ du foal avait plus de conséquences pendant un mois donné (au cours des 4 mois de gestation puis des 6 mois de lactation) que pendant les stades globaux de gestation ou de lactation. En revanche, ces deux périodes étant très différentes biologiquement, avec une nutrition fœtale non appréhendable lors de la gestation, elles ont été traitées séparément de manière à pouvoir étudier leur effet propre sur les AOAJ. L'alimentation de la mère a été prise en compte tant que le poulain n'était pas sevré. L'alimentation du poulain a été prise en compte entre l'âge de 4 mois (Martin-Rosset 1990) et l'examen radiographique, considérant que les aliments solides ingérés par le poulain avant 4 mois sont négligeables et que le niveau atteint à 4 mois traduit aussi les apports antérieurs éventuels (augmentation progressive des quantités distribuées au poulain).

1.2.2.1. Nutriments majeurs

Les apports en nutriments n'ont pas été pris en compte en tant que tels car leurs estimations étaient très liées entre elles et à la quantité de concentrés apportée (cf. lien entre apports en UFC et en kg de concentrés, et lien entre apports en MADC et UFC au poulain et à la mère en annexe 4-a et 4-b). Les informations UFC, MADC et quantité de concentrés étaient donc clairement redondantes. De ce fait, une approche basée uniquement sur la quantité de concentrés distribués a été privilégiée. De plus, considérer la quantité de nutriments apportés par les seuls concentrés était une approche pouvant prêter à mauvaise interprétation puisqu'elle ne tenait pas compte des apports par les fourrages.

1.2.2.1.1. Pour la mère

Pour les juments, la quantité journalière de concentrés distribuée variait peu entre les périodes de gestation ([moyenne \pm écart-type ; Q1 ; Q2 ; Q3] $4,9 \pm 2,9$; $2,7$; $4,2$; $6,5$ kg) et de lactation ($4,9 \pm 2,0$; $3,4$; $5,0$; $6,3$ kg). C'est donc la moyenne sur les deux stades qui a été considérée ($4,9 \pm 2,2$; $3,2$; $4,6$; $6,4$ kg) ainsi que la durée de leur distribution en mois (≤ 5 mois, > 5 mois). De plus, les quantités moyennes journalières variaient peu d'un mois à l'autre à l'intérieur des stades de gestation et de lactation (cf. annexe 4-c).

1.2.2.1.2. Pour le poulain

Pour les poulains, la moyenne des apports de concentrés en kg a été prise en compte entre 4 mois et l'âge lors de l'examen radiographique. Cependant, l'âge à l'examen radiographique pouvait varier jusqu'à 10 mois. Prendre la moyenne du niveau de concentrés distribués entre 4 et 10 mois impliquait un niveau de concentrés plus élevé pour les foals radiographiés après 6 mois (car les besoins augmentent) par rapport à ceux radiographiés entre 4 et 6 mois, ce qui pouvait constituer un biais et créait une variable difficile à interpréter. De plus, seulement 29 foals ont été radiographiés après 7 mois. Ainsi, lorsque l'examen radiographique avait lieu après 7 mois, les moyennes des concentrés apportés aux poulains ont été calculées entre 4 et 7 mois ($1,7 \pm 1,07$ kg/jour).

1.2.2.2. Macro-éléments minéraux et oligo-éléments

Contrairement aux concentrés, la composition des AMV distribués était très variable. Du fait de cette variabilité permise par les apports en AMV, les apports en macro-éléments et oligo-éléments contenus dans la partie concentrée de la ration (concentrés et AMV) ont été pris en compte. Les ratios Ca/P et Zn/Cu reconnus pour leur rôle important dans la formation osseuse (Martin-Rosset 2005), et MADC/Ca qui représente le potentiel de croissance permise par les apports en MADC rapporté à la solidité de la trame osseuse permise par les apports en Ca ont été retenus. Les ratios moyens pour chacune des trois périodes (gestation et lactation de la mère, poulain entre l'âge de 4 et 7 mois) ont été calculés (tableau 4-1). la durée des apports en AMV en mois a également été considérée pour chacune des trois périodes.

Tableau 4-1 : Apports journaliers moyens en macro- et oligo-éléments

Ratio	Mère gestation	Mère lactation	Poulain (4-7 mois)
Calcium/Phosphore (moyenne \pm écart-type) 1 ^{er} , 2 ^{ème} , 3 ^{ème} quartiles	$1,4 \pm 0,7$ 0,8 ; 1,6 ; 1,9	$1,3 \pm 0,9$ 0,7 ; 1,3 ; 2,0	$1,5 \pm 0,8$ 1,1 ; 1,5 ; 1,8
Zinc/Cuivre (moyenne \pm écart-type) 1 ^{er} , 2 ^{ème} , 3 ^{ème} quartiles	$4,0 \pm 1,4$ 2,9 ; 3,5 ; 5,0	$3,7 \pm 1,6$ 2,7 ; 3,4 ; 5,0	$3,5 \pm 1,3$ 2,9 ; 3,1 ; 3,9
Matière Azotée Digestible Cheval /Calcium (moyenne \pm écart-type) 1 ^{er} , 2 ^{ème} , 3 ^{ème} quartiles	$21,4 \pm 21,5$ 10,1 ; 11,2 ; 20,0	$19,7 \pm 19,8$ 8,3 ; 13,9 ; 24,0	$12,4 \pm 9,5$ 7,8 ; 11,2 ; 15,3

1.2.3. Variables retenues et traitement réalisé

A ce stade, nous avons retenu les variables suivantes :

- le mois de naissance, l'âge lors de la 1^{ère} mise à l'herbe, et le sevrage ou non lors de l'examen radiographique ;
- les apports journaliers de concentrés en kg à la mère en moyenne au cours de la gestation et de la lactation ;
- les apports journaliers de concentrés en kg au foal en moyenne entre 4 mois et l'examen radiographique (ou 7 mois) ;
- la durée des apports en concentrés à la mère au cours de la gestation et lactation ;
- les ratios moyens journaliers de la ration concentrée Ca/P, Zn/Cu, et MADC/Ca, ainsi que la durée des apports en CMV :
 - à la mère pendant la gestation,
 - à la mère pendant la lactation,
 - au foal entre 4 mois et l'examen radiographique (ou 7 mois).

Pour chacune des variables retenues et distinguées sur les 3 périodes (Ca/P, Zn/Cu, MADC/Ca pendant la gestation, lactation et pour le foal), les apports étaient très variables entre animaux (cf. écart-types tableau 4-1). Cherchant à réduire cette information sous une forme plus synthétique, des classifications automatiques ont été réalisées pour classer les foals en fonction de leurs ressemblances sur les niveaux de ces ratios pendant les trois périodes observées. L'objectif était d'obtenir pour chaque foal une variable synthétique finale représentant le profil d'évolution de chacun de ces ratios sur les 3 périodes. Pour choisir le nombre de classes, nous nous sommes basés sur l'importance des sauts dans l'arbre de classification. Puis, nous avons déterminé le nombre de classes avec parcimonie tout en essayant de maximiser le coefficient de détermination R^2 (variance inter-classes). L'objectif était d'éviter d'obtenir des classes d'effectifs faibles (qui seraient difficiles à exploiter dans l'analyse des facteurs de risque), tout en essayant de maximiser le pourcentage de variation expliqué par les classes. Ainsi, nous avons obtenu les profils d'évolution présentés dans les tableaux 4-2 à 4-5. La dernière colonne de chaque tableau permet de caractériser les profils d'évolution obtenus.

Tableau 4-2 : Profils des couples mère-poulain pour les apports en Calcium/Phosphore dans la ration concentrée représentés par la moyenne \pm écart-type, ainsi que les 1^{er}, 2^{ème}, et 3^{ème} quartiles des distributions pour chacune des trois périodes, $R^2=0,77$

Mère gestation	Mère lactation	Poulain (4-7 mois)	Effectif	Caractérisation des classes
0,5 \pm 0,3 0,2 ; 0,4 ; 0,7	0,6 \pm 0,3 0,3 ; 0,4 ; 0,8	1,1 \pm 0,5 1,0 ; 1,2 ; 1,5	77	Faible- faible- faible
2,1 \pm 0,4 1,9 ; 2,0 ; 2,2	2,0 \pm 0,3 1,7 ; 2,0 ; 2,0	1,6 \pm 0,4 1,4 ; 1,7 ; 1,8	92	Fort- fort - moyen
1,7 \pm 0,2 1,6 ; 1,7 ; 1,8	0,7 \pm 0,2 0,6 ; 0,7 ; 0,9	1,8 \pm 0,2 1,7 ; 1,8 ; 2,0	62	Moyen- faible - moyen
1,2 \pm 0,3 1,0 ; 1,2 ; 1,5	1,3 \pm 0,3 1,2 ; 1,3 ; 1,5	1,3 \pm 0,2 1,2 ; 1,3 ; 1,4	74	Faible- moyen - moyen
1,8 \pm 0,7 1,1 ; 2,3 ; 2,3	3,1 \pm 0,8 2,2 ; 3,4 ; 3,7	3,7 \pm 0,7 3,4 ; 3,7 ; 3,8	23	Moyen- fort - fort

Tableau 4-3 : Profils des couples mère-poulain pour les apports en Zinc/Cuivre dans la ration concentrée représentés par la moyenne \pm écart-type, ainsi que les 1^{er}, 2^{ème}, et 3^{ème} quartiles des distributions pour chacune des trois périodes, $R^2=0,77$

Mère gestation	Mère lactation	Poulain (4-7 mois)	Effectif	Caractérisation des classes
5,4 \pm 0,9 5,0 ; 5,1 ; 5,4	5,8 \pm 1,2 5,0 ; 5,2 ; 6,9	5,4 \pm 0,9 5,0 ; 5,1 ; 6,2	79	Fort- fort- fort
3,2 \pm 0,3 2,9 ; 3,2 ; 3,5	3,4 \pm 0,7 2,8 ; 3,2 ; 3,6	3,1 \pm 0,3 2,9 ; 3,0 ; 3,3	177	Moyen- moyen - moyen
2,8 \pm 1,1 1,9 ; 1,9 ; 4,0	1,8 \pm 0,2 1,7 ; 1,7 ; 2,0	1,8 \pm 0,3 1,6 ; 1,7 ; 1,9	49	Moyen - faible - faible
6,7 \pm 1,1 1,0 ; 1,2 ; 1,5	1,9 \pm 1,3 1,2 ; 1,3 ; 1,5	3,2 \pm 0,2 1,2 ; 1,3 ; 1,4	28	Fort - faible – faible

Tableau 4-4 : Profils des couples mère-poulain pour les apports en Matière Azotée Digestible Cheval/Calcium dans la ration concentrée représentés par la moyenne \pm écart-type, ainsi que les 1^{er}, 2^{ème}, et 3^{ème} quartiles des distributions pour chacune des trois périodes, $R^2=0,68$

Mère gestation	Mère lactation	Poulain (4-7 mois)	Effectif	Caractérisation des classes
11,7 \pm 4,8 9,5 ; 10,5 ; 11,6	10,3 \pm 5,4 6,2 ; 10,4 ; 13,8	9,6 \pm 3,5 6,9 ; 9,4 ; 12,5	188	Faible - faible - faible
60,0 \pm 20,98 45,6 ; 48,5 ; 72,5	8,2 \pm 5,9 2,9 ; 4,9 ; 15,4	11,1 \pm 2,3 10,4 ; 11,7 ; 12,2	42	Fort- moyen - faible
16,8 \pm 6,2 14,3 ; 15,8 ; 19,3	26,2 \pm 7,9 20,3 ; 24,3 ; 30,3	21,1 \pm 4,3 17,8 ; 21,2 ; 23,9	71	Moyen - moyen - moyen
39,4 \pm 36,7 10,2 ; 15,8 ; 82,8	71,6 \pm 8,7 70,4 ; 71,8 ; 73,2	11,9 \pm 7,0 9,3 ; 10,3 ; 17,7	33	Moyen - fort - faible

Tableau 4-5: Profils des couples mère-poulain pour la durée en mois des apports en Aliments Minéraux Vitaminés représentés par les 1^{er}, 2^{ème}, et 3^{ème} quartiles des distributions pour chacune des trois périodes, $R^2=0,85$

Mère gestation	Mère lactation	Poulain (4-7 mois)	Effectif	Caractérisation des classes
4 ; 4 ; 4	4 ; 5 ; 5	1 ; 2 ; 2	70	Long- long- moyen
2 ; 3 ; 4	4 ; 5 ; 5	0 ; 0 ; 0	44	Long- long- court
4 ; 4 ; 4	0 ; 1 ; 1	0 ; 0 ; 0	54	Long- court- court
0 ; 0 ; 0	0 ; 0 ; 0	0 ; 0 ; 0	158	Court- court- court
3 ; 4 ; 4	5 ; 6 ; 6	3 ; 3 ; 4	36	Long- long- long

1.3. Pratiques d'élevage

A priori, les hypothèses étaient qu'un exercice inadapté (fréquence ou durée insuffisantes ou excessives, terrains accidentés, congénères trop nombreux, etc.) ou que des contacts inadaptés avec l'homme pouvaient favoriser l'apparition d'AOAJ soit directement (durée de l'exercice insuffisante), soit indirectement, par la mise en oeuvre de comportements à risque (bagarres avec les congénères lorsqu'ils sont trop nombreux par rapport à la surface de terrain offerte, ou par des comportements agressifs vis à vis de l'homme lorsque les contacts sont inadaptés conduisant à un risque d'AOAJ traumatiques, etc.). Plus de 100 données par poulain ont ainsi été recueillies, avec des corrélations importantes intra-poulain et intra-haras lorsqu'une même donnée est disponible sur plusieurs pas de temps ou lorsque des données sont dépendantes l'une de l'autre, comme

par exemple, la surface des pâtures et le nombre d'animaux qui y séjournent. Par ailleurs, les poulains issus d'un même haras avaient un mode d'élevage souvent semblable. Seules les données disponibles sur les trois cohortes ont été exploitées pour ne pas diminuer la puissance de notre étude avec des données disponibles seulement sur une partie de l'échantillon.

Compte tenu des informations disponibles qui étaient en majorité des données homogènes par haras et entre périodes, une approche à l'aide d'avis d'experts a été privilégiée. En plus des deux experts internes (Jean-Marie Denoix et Céline Robert), quatre autres experts externes ont été sollicités : l'ingénieur de la Chambre d'Agriculture du Calvados qui avait recueilli les données ainsi que trois éleveurs extérieurs à l'étude pour chacune des trois races représentées dans notre échantillon. Ces éleveurs ont été choisis pour leur grande expérience de l'élevage et pour leur intérêt vis à vis de la problématique.

La stratégie adoptée comptait deux étapes, la première en interne à l'aide de nos deux experts, et la seconde en externe à l'aide des quatre experts extérieurs choisis. La méthodologie utilisée pour la première étape a consisté à explorer les données puis à définir des thèmes appelés axes, ainsi que les données disponibles qui se rapportaient à chaque axe. Quatre axes sont alors apparus : l'intensité des sorties, les terrains des sorties, les contacts avec les congénères (ou allotement), et les contacts avec l'homme. Pour chaque axe, des hypothèses de travail quant aux sens des risques ont été avancées sur des bases bibliographiques ou à partir d'expériences plus personnelles. A partir des hypothèses énoncées, la liste des variables correspondantes disponibles a été affectée à chaque axe et utilisée pour construire une ou plusieurs nouvelles variables plus synthétiques (notamment sur les pas de temps) et permettant de répondre aux hypothèses. Des critères et des seuils ont été définis pour créer les catégories de chaque nouvelle variable-axe. Par exemple, un lot était considéré comme petit avec moins de 3 juments suitées, et grand avec plus de 8 juments suitées. Les catégories de ces nouvelles variables ont été créées en fonction de leur pertinence vis-à-vis des hypothèses mais aussi des effectifs de foals concernés. Des regroupements, et donc des choix dans les hypothèses prioritaires à tester, ont donc été faits pour obtenir des effectifs suffisants.

Par ailleurs, des principes valables pour les 4 axes ont été appliqués. Deux périodes ont été distinguées : la période précoce entre 0 et 2 mois, et la période tardive entre 3 mois et l'examen radiographique, car, selon les experts cliniciens de notre étude, le poulain est plus « élastique » durant les deux premiers mois de vie, au contraire d'un poulain plus grand, ce qui conduit probablement à des risques différents. Cependant, pour l'axe des contacts avec l'homme, la période précoce a été définie à 0-1 mois, et la période tardive à 2-6 mois, les foals étant plus dociles et faciles à manipuler avant l'âge d'un mois selon les experts. De même, pour les 4 axes, c'est la présence d'un risque pendant une période minimale dépendante du pas temps de recueil des données (1 semaine en précoce, 1 mois en tardif) qui était considérée. Autrement dit, il n'était pas

nécessaire que la durée d'exposition au risque soit longue pour que le foal soit classé comme présentant des risques. Cependant, concernant l'axe d'intensité des sorties, les foals pouvaient avoir des sorties irrégulières ou de courtes durées pendant les deux premières semaines de vie sans que cela soit considéré comme un risque. Au contraire, pendant ces deux premières semaines, si les foals étaient sortis longuement ou 24h/24h, cela était considéré comme un risque.

La démarche mise en oeuvre et les typologies ainsi obtenues ont ensuite été présentées aux quatre experts extérieurs sur la base d'un document écrit. Puis, les experts, externes et internes à l'étude ont été réunis avec pour objectif de les faire réagir, critiquer, modifier, et enfin valider la proposition. Les pertinences des axes, hypothèses, nouvelles variables créées, catégories des variables, etc. ont toutes été discutées. Des idées nouvelles et des corrections ont été apportées pour aboutir à la typologie finale où 8 variables ont été conservées et mises en relation avec les AOAJ. Le descriptif de ces variables est présenté dans les deux articles suivants.

2. Facteurs de risque de la présence d'AOAJ ou d'ostéochondrose

Article 3 : « Influence de la croissance et des pratiques d'alimentation et d'élevage sur les AOAJ et l'ostéochondrose observées sur les membres de poulains âgés de 6 mois »

Résumé

L'objectif était d'évaluer les effets ajustés de la génétique, représentée par la race et le sexe, de la croissance et des pratiques d'alimentation et d'élevage sur la présence d'AOAJ d'une part, et sur la présence d'OC (*i.e.* FOC) puisque c'est l'entité qui a été la plus étudiée à ce jour d'autre part. Du fait des résultats de répétabilité qui montraient que les discordances concernaient essentiellement des AOAJ gradées 1 (cf. 2.3.2. chap.3) et pour éviter les erreurs de classement, les foals atteints d'une seule AOAJ gradée 1 ont été considérés comme sains. Des modèles de régression logistique incluant un effet aléatoire sur le haras et ajustés sur la race et l'âge à l'examen radiographique ont été mis en oeuvre pour identifier les facteurs de risque d'AOAJ et d'OC. Ainsi, le statut des poulains vis-à-vis des AOAJ et de l'OC a été mis en relation avec les variables de croissance et de pratiques d'alimentation et d'élevage précédemment définies dans ce chapitre. Les poulains atteints d'AOAJ, de même que les poulains atteints d'OC, ont été comparés aux poulains indemnes d'AOAJ.

La prévalence des AOAJ dans l'échantillon était de 46,9% et celle de l'OC de 35,8%. Parmi les 25 variables évaluées en modèles univariés, 15 et 17 ont respectivement été retenues ($p < 0,25$) pour la modélisation multivariée de la présence d'AOAJ et d'OC, alors que les modèles finaux comptaient respectivement 5 et 7 variables ($p < 0,05$). Dans les deux modèles, l'âge à

l'examen radiographique et l'effet aléatoire sur le haras n'étaient pas significatifs. Les SF avaient significativement plus de risque de présenter des AOAJ ou de l'OC que les PS, ainsi que les foals avec une hauteur garrot élevée à trente jours. Pour les AOAJ, le risque d'être atteint était également accru pour les SF par rapport aux TF, pour les foals avec une vitesse de croissance rapide, et pour ceux bénéficiant d'une grande surface de pâture avant l'âge de deux mois. Pour l'OC, le risque d'être atteint était accru pour les foals issus de mères jeunes (<10 ans versus ≥10), pour ceux nés après le mois d'avril (versus mars-avril), ainsi que pour ceux qui avaient connu des périodes de sorties au pâturage irrégulières ou un changement de lot.

Cette analyse a montré un effet majeur de la croissance (indépendamment de l'effet race), de la race, et de certaines pratiques d'élevage. Ces résultats sont en accord avec la littérature sauf pour les pratiques d'alimentation qui n'étaient pas significativement associées au risque d'AOAJ et d'OC. Ceci peut être lié au caractère incomplet de ces données ainsi qu'à leur mode de prise en compte qui n'est pas comparable aux précédentes études réalisées sur le sujet. Les facteurs de risque identifiés variaient quelque peu selon que l'on considérait les AOAJ ou seulement l'OC ; le pouvoir explicatif (R^2) était meilleur pour le modèle expliquant l'OC, mais ce modèle incluait aussi davantage de variables que celui expliquant les AOAJ.

Effects of growth, feeding and management practices on Developmental Orthopaedic Disease in limbs of foals

Johanna Lepeule, Nathalie Bareille, Céline Robert, Pauline Ezanno, Jean-Paul Valette, Sandrine Jacquet, Géraldine Blanchard, Jean-Marie Denoix, Henri Seegers

Preventive Veterinary Medicine

(En cours de soumission)

2.1. Introduction

Developmental Orthopaedic Disease (DOD) is the accepted term to design all orthopaedic disorders seen in the growing foal (McIlwraith 2004). DOD lesions can affect all joints (van Weeren 2006) of young horses and are often attributed to osteochondrosis (OC) (Jeffcott 1991, McIlwraith 2004). They result from a failure in endochondral ossification in growth cartilage of foals (Olsson and Reiland 1978). Depending on the joint and the severity of the endochondral ossification defect, manifestations of OC result in different entities (Jeffcott 1991, McIlwraith 2004). However, DOD lesions are not necessarily manifestations of OC (McIlwraith 2004). The term DOD was defined in 1986 and included five entities such as osteochondritis dissecans (OCD), subchondral bone cysts (SBC), angular limb deformities, physitis, and cuboidal bone malformation (McIlwraith 1986). However, there is no consensus about classification of DOD lesions (Pool 1993, Hurtig and Pool 1996) and most of published studies were limited to OC (generally including OCD lesions) (Sandgren et al. 1993a, Grondhal and Engeland 1995, Storgaard Jørgensen et al. 1997, Stock et al. 2006, Wittwer et al. 2006) excluding SBC, angular limb deformities, physitis, and cuboidal bone abnormalities.

DOD is present in several breeds such as Warmblood, Standardbred, Thoroughbred, or Coldblood (Sandgren et al. 1993a, Pagan and Jackson 1996, Stock et al. 2006, Wittwer et al. 2006). The disease is a common cause of pain and lameness for horses in sports, which limit their performance (Hoppe 1984, Kane et al. 2003) then depreciates their commercial and breeding value. Prevalence estimates vary between studies depending on the joints, number of joints, and entities considered (Alvarado et al. 1989, Sandgren et al. 1993a, Grondhal and Engeland 1995, Storgaard Jørgensen et al. 1997, Stock et al. 2006, Wittwer et al. 2006), but it is internationally recognised that prevalence and incidence of DOD is high (Jeffcott 1993, van Weeren and Barneveld 1999). Therefore, DOD is considered as a major cause of important economic losses in the horse breeding industry too (Schougaard et al. 1990, Jeffcott 1996).

In order to propose recommendations to breeders to reduce these high prevalence and incidence of DOD, a detailed knowledge on its aetiology is required. However, causes of the primary lesion in the growth cartilage are still

unknown (Jeffcott 1991, 2005, Watkins 1992). Etiopathogeny of DOD and OC lesions has been debated in literature for more than twenty years, but few information and consequently no consensus are available on the uniqueness (or not) of the primary lesion and of its further different manifestations (Jeffcott 1991, McIlwraith 2004).

Epidemiological studies can not fully answer to these questions, but could give a few keys to explain DOD prevalence. DOD manifestations appear to have a multifactorial origin (Jeffcott 1991, Hurtig and Pool 1996). Genetic predispositions (Shougaard et al. 1990, Grondhal and Dolvik 1993, Philipsson et al. 1993, Stock and Distl 2005), body size and growth rate (Sandgren et al. 1993b, Pagan and Jackson 1996, van Weeren et al. 1999, Donabedian et al. 2006, Stock et al. 2006), nutritional excesses (Glade and Belling 1984, Savage et al. 1993a) or imbalances (Bridges and Harris 1988, Knight et al. 1990, Savage et al. 1993b, Pearce et al. 1998) are the most studied factors. Conversely, exercise conditions are often mentioned (Watkins 1992, Jeffcott 1993, Martin-Rosset 2001, McIlwraith 2004) but have been less extensively studied (Caure et al. 1998, van Weeren and Barneveld 1999, Wilke et al. 2003).

In studies on DOD, X-ray is the most additional diagnostic procedure used. The age of DOD occurrence depends on the entity and joint affected (Dik et al. 1999, Jeffcott 2005) and DOD lesions are in constant evolution within the first year of life (Hoppe 1984). The first radiological signs can be detected before 3 months of age (Hoppe 1984, Carlsten et al. 1993). In most studies, horses were X-rayed between 5 and 18 months of age.

A lot of experimental studies assessed the impact of one of the potential risk factors of DOD or OC occurrence. However, the implemented study designs did not allow to assess the relative contribution of each potential risk factor of DOD. Observational studies in the reference population are the appropriated design. But, from now on, few were performed (Alvarado et al. 1989, Sandgren et al. 1993a, Jelan et al. 1996, Vervuert et al. 2005, Stock et al. 2006), and none of them has considered all risk factors of DOD to assess adjusted effects of genetic (at least breed and sex), growth, feeding and management practices. Moreover, most of these observational studies classified horses as DOD affected or not on a basis of only one or two joints, mainly the hock and fetlock, and limited their DOD assessment to one entity, usually OC.

The objective of this study was to assess the adjusted effects of genetic represented by the breed and sex, growth, feeding and management practices on the presence of DOD and OC lesions in the limbs of foals.

2.2. Materials and methods

2.2.1. Study population

A prospective cohort study was conducted between 2002 and 2004 in 21 volunteer stud-farms from Normandy, the main horse breeding area in France.

The longitudinal survey began in 2002 and is still ongoing. The three main sport and racehorse breeds were included: French Warmblood (Wb), French Trotter Standardbred (St) and Thoroughbred (Tb). Due to repeated implementation of observations, questionnaires, body measurements, and X-ray examinations for more than 4 years on the same farms, only convenience sampling was deemed feasible. Out of the 21 stud-farms, 393 foals were randomly selected. Foals were followed from the 8th month of the mare pregnancy to the X-ray examination at approximately 6 months of age.

2.2.2. Detection of Developmental Orthopaedic Disease

To assess the presence of DOD, foals were sedated and X-rayed in the stud-farms with a mobile unit. Five bilateral views were performed: the dorsopalmar view of the carpus, the lateromedial view of the front- and hind-digits (including the interphalangeal and fetlock joints) and of the hock and stifle. These joints were chosen because they are known to be frequently affected by DOD (Watkins 1992) and easy to assess with a mobile X-ray unit. X-ray data were analysed by three experienced equine veterinarians who gave a common assessment about the nature of radiographic findings (RF) and their severity. We defined DOD and OC in the following manner. When RF of OC or of osteochondral fragmentation were identified, the foal was considered affected by OC. When RF of OC, osteochondral fragmentation, SBC, physitis, degenerative joint disease, or juvenile enthesopathy were identified, the foal was considered affected by DOD. The severity of RF was assessed using a scoring system including 4 increasing levels: 1, 2, 4, and 8. More details can be found in Lepeule et al. (*American Journal of Veterinary Research, in revision*). In this study, Lepeule et al. showed the internal validity of the scoring system by a repeatability analysis and pointed out that disagreements mainly concerned RF graded 1. Thus, to avoid misclassifications of foals, we choose here to consider foals affected by only one RF of DOD/OCD graded 1 as unaffected foals.

2.2.3. Potential risk factors

Four types of data were studied as potential DOD or OC risk factors (table 1): genetic information represented by breed and gender, growth parameters including Wither Height (WH) and Girth Circumference (GC) measures, related-growth parameters represented by age and parity of the mare, characteristics of rearing conditions and feeding practices, and management practices. The age at X-ray examination, year of birth, Stud-farm row in the study, and the stud-farm identity were considered adjustment factors (table 1).

2.2.3.1. Assessment and processing of growth data

WH and GC of foals were measured at least every 2 to 3 months. More than 85% of the foals were measured at least once before one month of age and at least 3 times between birth and X-ray examination. Description of individual growth curves as function of age showed that WH and GC followed a curvilinear pattern. Increase in WH and GC was very fast up to three months

of age before slowing down afterwards. Two mixed models including a second degree polynomial function of age and considering the foal as a random effect were performed to fit data on WH ($R^2=0.956$) and GC ($R^2=0.965$). Then, WH and GC were considered both by values at one month of age (30 days) and by slope of their increase between birth and X-ray examination. Moreover, in order to represent the body development of the foal we considered the ratio WH/GC at 120 days of age using predictions of the models fitting WH and 1/GC ($R^2=0.937$). Growth parameters vary among breeds (Valette et al. *In Press*). Thus, the values of WH, GC, and WH/GC were standardised by subtracting the observed mean among the breed to each individual value and by dividing by the standard deviation observed among the breed. Pearson's coefficient was computed to describe correlations among WH, GC, and WH/GC variables before standardisation.

2.2.3.2. Assessment and processing of feeding practices and rearing conditions data

Feeding and housing conditions of horses could depend of several parameters such as season, weather, housing facilities of the stud-farm, etc. All the foals included in the study came from the same area of Basse-Normandie, France. Thus, global rearing and housing conditions were quite similar among horses included. Excepted special cases (diseases, injuries, etc.), in winter and early spring, during the last 4-6 months of pregnancy and until approximately 2 weeks of age of the foal, the mares were kept in box stalls from approximately 16:00 on the afternoon until 8:00 on the following day and were group-housed in pastures during the day. Afterwards, most of the foals and their mare were group-housed in larger pastures for an increasing duration until 24h/day at approximately 3 or 4 months of age of the foals. Foals were weaned at approximately 6 months of age. Because global rearing conditions were quite similar among couples of mare-foal, and because the amounts of forage and grass intakes were unknown, only concentrates intakes and some parameters characterising rearing conditions such as the month of birth, the age when first grass was offered to the foal, and the weaning status of foal at X-ray examination were considered.

Two steps were considered in data processing of concentrates intakes. In a first step, feeding practices were described for the mare during late pregnancy (4 last months) and lactation (until weaning of the foal), and for the foal from the 4th month of age to the age at X-ray examination. For these three periods, the amount of concentrates (kg), the distribution duration of concentrates (in months), the amount of Calcium (Ca), Copper (Cu), Zinc (Zn) and Phosphorus (P) included in concentrates and Vitamin and Mineral Supplements (VMS) distributed, and the distribution duration of VMS (in months) were considered.

In a second step, in order to summarise feeding practices data, some variables were regrouped because they showed very few variations between foals or mares, or because they were highly correlated together. Nutrients supply for instance, were highly correlated together and with the amount of

concentrates, thus only the latter was considered. In the same way, only few variations in the amount of concentrates distributed to the mares between pregnancy (4.9 ± 2.9 ; 2.7 ; 4.2 ; 6.5 kg (mean \pm s.d. ; Q1 ; Q2; Q3)) and lactation periods (4.9 ± 2.0 ; 3.4 ; 5.0 ; 6.3 kg) were observed. Thus, the mean daily amount summarised on these two periods (4.9 ± 2.2 ; 3.2 ; 4.6 ; 6.4 kg) was taken into account. In addition, the concentrates distribution duration for the mare and the mean daily amount of concentrates distributed to the foal were considered. Concerning minerals, the usual ratios of Ca/P and Zn/Cu and the VMS distribution duration were considered. In order to summarise these parameters, hierarchical cluster analyses were used for each parameter (Ca/P, Zn/Cu, VMS distribution duration) to group foals with similar characteristics depending on the three periods (mare pregnancy, mare lactation, foal). Five mineral profiles of foals were retained for the Ca/P level and the VMS distribution duration corresponding to R^2 of 0.771, 0.895 (table 1). Four mineral profiles of foals were retained for Zn/Cu level corresponding to R^2 of 0.774.

2.2.3.3. Assessment and processing of management practices data

Information on free exercise of the foals, on the size and accidental risk of the pastures, and on foals interactions with other horses and with humans, were monthly or weekly (for the first two weeks of life) collected from birth to X-ray examination. The surface of pastures, duration of exercise, and batch size varied according to the age of foals: before two weeks of age, before two months, and afterwards. Thus, the classes of these variables varied according to these periods (table 1).

Table 1: Potential risk and adjustment factors variables (and corresponding classes when categorical variables) and their univariate significance (p<0.25) to explain developmental orthopaedic disease (DOD) or osteochondrosis (OC) prevalence

DOD	OC	Potential risk factors (25 variables)
		<u>Genetic information (2 variables)</u>
x	x	Breed: Warmblood; Standardbred; Thoroughbred Gender: female; male
		<u>Growth (standardised by breed) and related-growth parameters (7 variables)</u>
x	x	Wither Height (WH) at 30 days (in cm)
x	x	Slope of the WH increase
		Girth Circumference (GC) at 30 days (in cm)
x		Slope of the GC increase
x	x	WH/GC at 120 days
x	x	Age of the mare in years: >10; [10-15]; >15 Primiparous mare: yes; no
		<u>Rearing conditions and feeding practices (9 variables)</u>
x	x	Month of birth: January-February; March-April; >April
x	x	Age at first turning-out grass for the foal: 1 week; 2 weeks; 3-4 weeks; 2 months; ≥3 months Weaned at X-ray examination: yes; no
		Mean daily amount of concentrates distributed to the mare (in kg)
x	x	Distribution duration of concentrates to the mare: ≤5 months; >5 months
		Mean daily amount of concentrates distributed to the foal (in kg)
x	x	Ca/P level during pregnancy, lactation, and for the foal: low; medium but low in pregnancy; medium but low in lactation; high but medium in pregnancy; high but medium for the foal;
x	x	Zn/Cu level during pregnancy, lactation, and for the foal: low but high in pregnancy; low but medium in pregnancy; medium but low in pregnancy; medium; high
	x	Distribution duration of VMS during pregnancy, lactation, and for the foal: never; only in pregnancy; only in pregnancy and lactation; always but duration restricted for the foal; always
		<u>Management practices (7 variables)</u>
x	x	Batch size: large batch in the EP (period with ≥3 brood mares in the EP and <8 in the LP); always large batch (period with ≥3 brood mares in the EP and period with >8 in the LP); small batch in the EP (always <3 brood mares in the EP)
x	x	Change of batch until X-ray examination: once; none
x	x	Surface of pasture in the EP: large surface (period with surface >1ha before 2 weeks of age or >6ha before 2 months of age); always moderate surface
		Slope of pasture: lived in a pasture with a slope >5%; always ≤5%
x	x	Regularity of exercise: irregular (period with no free exercise or limited to 1-3 days/week); always daily free exercise
		Duration of exercise in the EP: high (period with half day or day or 24/24 before 2 weeks of age, or period with 24/24 before two months of age); moderate
		Type and frequency of handling: free conducted with possible handling; hand conducted with possible handling; hand conducted and frequent handling; no handling
		Potential adjustment factors (4 variables)
		Age at X-ray examination (in days)
x	x	Year of birth: 2002; 2003; 2004
		Stud-farm row in the study: 1; 2; 3
x	x	Stud-farm identity

EP: Early Period, before two months of age; LP: Late Period, after two months of age. x : p<0.25, ∅ : p ≥ 0.25

2.2.4. Statistical analysis

After validation checks for data inconsistencies and missing entries, statistical analyses were carried out using SAS version 8.2 (SAS institute, Carry, USA). The unit of observation taken was the foal. The variables potentially associated with the osteo-articular status (DOD or OC) of the foals were subjected to univariate and then multivariate analyses. Foals affected by DOD were compared to foals not affected by DOD. Foals affected by OC or affected by DOD were compared to the same reference group of foals not affected by DOD.

Significant variables in univariate analysis ($p < 0.25$) were considered for inclusion in multivariate mixed effects logistic regression models. Pearson and Spearman correlation coefficients were computed among variables in order to prevent from redundant variables and numerical instabilities in the multivariate models. No variable included in the multivariate models was closely correlated (all correlation coefficients < 0.50 or > -0.50). Manual forward selection approaches (Hosmer and Lemeshow 2000) were used, assessing the addition of each variable using likelihood ratio tests ($p < 0.05$). Stud-farm identity was treated as a random effect in the mixed models to adjust for the correlated nature of the sampling design and to take into account any clustering of outcome at this level. Confounding variables were considered when the level of variation of an other estimated parameter already included in the models was higher than 30%. As DOD and OC are in constant evolution within the first year of life (Hoppe 1984), the age of foals at X-ray examination was included in the models to adjust results. In the same way, Tb foals are less susceptible to DOD and OC than Wb and St foals (Lepeule et al. *Animal*, *accepted*). Therefore, the breed was forced in the models and their first order interactions with relevant risk factors were investigated in the final multivariate models. Interaction terms and variables implied were retained when $p < 0.25$ for the interaction term. Model fit of the non-clustered model was checked using the Hosmer-Lemeshow test statistic and delta deviance influence diagnostic statistics (Hosmer and Lemeshow 2000).

Continuous variables were evaluated for normality by examining histograms and for linearity of their relationship with logit by fitting third degree polynomial functions. Akaike's Information criterion AIC (Akaike 1973) was used to choose the best fitted model. When AIC indicated a better fit of the model with polynomial function included, classes were defined in order to convert them into qualitative variables. If not, the quantitative variable was kept. Classes were made according to the range or to the frequency distribution of the variables.

2.3. Results

2.3.1. Sample description

Out of the 21 stud farms included, six were farms with sales objectives. Their size varied between 15 and 80 mares with at least 12 births a year. The

remaining farms were more traditional ones, with breeding and training activities. Their size varied between 4 and 40 mares with at least three births a year. Out of the 21 stud farms included, 43.6% participated in the study for more than one year. Out of the 393 foals included, 39.8% were born in 2002, 18.6% in 2003, and 41.6% in 2004. Births occurred between January and August. Most of them (50.3%) were registered in March or April, whereas 28.3% of foals were born in May or after. Wb, St, and Tb foals accounted for 25.0, 41.1, and 33.9% of the sample respectively. There were slightly more fillies than colts with 52.5%. Foals were X-rayed between 3 and 9 months of age. The mean age at X-ray examination was 5.7 months (172 ± 38 days (mean \pm s.d.)). It did not significantly differ among the three breeds (170.4 days for Wb, 170.0 for St, and 174.9 for Tb (mean)). Half of the mares were less than 10 years old, whereas 12.5% were more than 16 years old. A low proportion of primiparous mares was observed (20.8%). Correlation among growth parameters are presented in table 2.

DOD was present in 177 (46.9%) foals and OC in 135 (35.8%) foals.

2.3.2. Risk factors of Developmental Orthopaedic Disease and osteochondrosis

Out of the 25 potential risk factor variables investigated, fifteen and seventeen variables were retained for the multivariate modelling of DOD and OC, respectively (Table 1). The year of birth was retained for multivariate modelling. In the final multivariate models, five and seven risk factors were significantly ($P < 0.05$) associated with DOD and OC, respectively. Table 3 displays the results for the effects of risk factors on DOD and OC. R^2 of the models were 0.09 and 0.16 respectively for DOD and OC. The Hosmer and Lemeshow statistic supported the model's adequacy for these data. Deviance statistics showed a potential overfitting of the model for DOD. Whatever the disease identified, DOD or OC, analyses did not demonstrate any significant effect for the age at X-ray examination and of the stud-farm random effect.

Wb had a significant higher risk for the diseases than Tb such as foals with a higher WH at 30 days. The risk for DOD was significantly higher for Wb foals than for St foals, for foals with a high slope increase of WH, and for foals free exercised in pastures >1 ha before 2 weeks of age or >6 ha before 2 months of age. The risk for OC was significantly higher for foals born from young mares (<10 years old) than for foals from mares between 10 and 15 years old, and for foals born in May or after than for foals born in March or April. Additionally, foals with a period of irregular exercise (no free exercise or exercise limited to 1-3 days/week) had a significant higher risk of OC than foals daily exercised. In the same way, foals that have changed of batch at least once had a higher risk for OC than foals that remained in the same batch.

Table 2: Person's correlation coefficient among parameters of modelled growth curves

Growth parameters				
	WH ₃₀	GC ₃₀	WH _{inc}	GC _{inc}
GC ₃₀	0.66			
WH _{inc}	-0.31	-0.23		
GC _{inc}	0.06	0.04	0.50	
WH/GC ₁₂₀	0.12	-0.59	0.19	0.15

Wither Height at 30 days in cm (WH₃₀), slope of the WH increase (WH_{inc}), Girth Circumference at 30 days in cm (GC₃₀), slope of the GC increase (GC_{inc}), WH/GC at 120 days (WH/GC₁₂₀)

Table 3: Adjusted developmental orthopaedic disease (DOD) and osteochondrosis (OC) odds ratio (OR) estimates of risk factors variables retained from the multivariate analyses

Risk factor	N	DOD OR [95% CI] (177 vs. 200)	N	OC OR [95% CI] (101 vs. 177)
<u>Genetic information</u>				
<u>Breed</u>				
Warmblood vs. Thoroughbred	96 vs. 130	2.81 [1.22-6.47]	65 vs. 98	2.86 [1.08-7.55]
Standardbred vs. Thoroughbred	151 vs. 130	1.22 [0.57-2.58]	115 vs. 98	1.86 [0.83-4.16]
Warmblood vs. Standardbred	96 vs. 151	2.31 [1.03-5.17]	65 vs. 115	1.54 [0.62-3.82]
<u>Growth and related-growth parameters</u>				
Wither height at 30 days ¹	0.012 ± 0.99 (mean ± sd)	1.35 [1.04-1.77]	0.035 ± 0.94 (mean ± sd)	1.64 [1.15-2.34]
Slope of wither height ²	0.006 ± 1 (mean ± sd)	1.51 [1.13-2.02]		
<u>Age of the mare (years)</u>				
<10 vs. [10-15]			143 vs. 100	2.32 [1.15-4.70]
>15 vs. [10-15]			35 vs. 100	2.75 [1.08-7.01]
>15 vs. <10			35 vs. 143	1.18 [0.47-2.97]
<u>Characteristics of rearing conditions</u>				
<u>Month of birth</u>				
Jan-Feb vs. Mar-Apr			59 vs. 137	2.37 [0.95-5.93]
≥May vs. Mar-Apr			82 vs. 137	2.36 [1.07-5.19]
≥May vs. Jan-Feb			82 vs. 59	0.99 [0.3 – 3.3]
<u>Management practices</u>				
<u>Surface of pastures in the early period</u>				
large vs. always moderate	345 vs. 32	3.55 [1.19-10.58]		
<u>Regularity of exercise</u>				
irregular vs. daily free exercise			47 vs. 231	2.79 [1.23-6.34]
<u>Change of batch until X-ray examination</u>				
once vs. none			199 vs. 79	2.12 [1.02-4.40]

The significant OR are in bold (p<0.05). Results are adjusted for age at X-ray examination and for the stud-farm random effect.

¹ expressed as standard-deviation relative to the mean of the breed: 3.6 for Warmblood and Standardbred, 3.3 for Thoroughbred

² expressed as standard-deviation relative to the mean of the breed: 0.006 for Standardbred, 0.007 for Warmblood, and 0.008 for Thoroughbred

2.4. Discussion

The objective of this study was to assess the adjusted effects of genetic, growth, feeding, and management practices on the prevalence of DOD and OC lesions in the limb joints of foals. Our results confirmed that breed and growth factors were strongly associated with DOD and OC prevalences, without interaction between breed and other risk-factors observed. This study displayed that management practices were associated with the prevalences of DOD and OC in the limb joints of foals, which were few studied up to then. Few significant effects of feeding practices were observed, whereas several studies reported that excess energy intakes (Glade and Belling 1984, Savage et al. 1993a) and deficiencies or imbalances in minerals and trace elements intakes (Bridges and Harris 1988, Knight et al. 1990, Savage et al. 1993b, Pearce et al. 1998) could be causal factors of DOD.

Actually, a lot of experimental studies investigated causal factors of DOD for growth (Thompson et al. 1988, van Weeren et coll. 1999), nutrition (Glade and Belling 1984, Bridges and Harris 1988, Knight et al. 1990, Savage et al. 1993ab, Pearce et al. 1998, Donabedian et al. 2006), and for exercise to a lesser extent (Caure et al. 1998, van Weeren and Barneveld 1999, Wilke et al. 2003). However, the study designs used investigated only one factor when other factors were controlled, which is not representative of real practices in stud-farms. Especially for nutrition studies, experimental design accounted detailed approaches with all nutrition parameters controlled and assessed the effect of one of them.

Thus, our results do not mean that nutrition has no effect on DOD, but they mean that global feeding practices as considered in our study and taking into account other potential risk factors did not show significant association with DOD. Homogeneity of the feeding practices data can also explain this result. In contrast with experimental studies, few descriptive or analytical observational studies were made on DOD and fewer investigated effects of feeding practices. However, in such a study, Coenen et al. (2005) found no significant effect of nutrients, mineral or trace elements intakes on OC prevalence in Hanoverian Warmblood foals.

Only analytic observational designs can assess effects of all potential risk factors on DOD. In this way, several observational studies have attempted to explore risk factors of DOD (Alvarado et al. 1989, Sandgren et al. 1993a, Jelan et al. 1996, Vervuert et al. 2005, Stock et al. 2006). However, to our knowledge, no epidemiological survey assessing adjusted effects of all suspected risk factors of DOD has been reported. Actually, observational published studies only investigated univariate effects of potential risk factors of DOD. Moreover, most of them (Sandgren et al. 1993a, Jelan et al. 1996, Vervuert et al. 2005, Stock et al. 2006) focused on one entity of DOD, generally OC or OCD or both, in a restricted number of joints, mainly the hock and fetlock. Because the current study used a procedure of convenient sampling, the results cannot be extrapolated to general applicability, but can be readily extrapolated to horses with similar farming systems.

High prevalences of DOD and OC lesions have been found in the limbs of young horses (Alvarado et al. 1989, Sandgren et al. 1993a, Grondahl and Dolvik 1995, Storgaard Jørgensen et al. 1997, Torre 2000, Wilke et al. 2003, Vervuert et al. 2005, Stock et al. 2006, Wittwer et al. 2006). Our results showed that OC was the most frequent entity, which is in accordance with the particularly large distribution of OC recognised by van Weeren and Barneveld (1999); they estimated that the incidence of the OC including all joints and radiographically occult lesions is at least 20-25% in North-Western Europe. Because most previous published studies on prevalence and risk factors of DOD were limited to OC, we choose to study risk-factors of DOD and risk-factors restrained to OC.

A radiographic study in stud-farms gives practical constraints, thus X-ray examination performed here was not exhaustive. Other joints could have been X-rayed and other views could have been obtained to better document the osteo-articular status of foals. However, for economic and radiation-safety reasons, it was chosen to X-ray more foals instead of multiplying views per foal. This means that some DOD lesions may have been missed and that some foals can be false negatives, conducting to possibly underestimation of our estimated odds ratios.

Foals were X-rayed at approximately 6 months of age, but we know that OC and more generally DOD start to develop before birth (Carlsten et al. 1993) and that the time of onset of DOD varies between 1 and 24 months of age depending on the site of occurrence and on the entity (Jeffcott 2005). Some DOD lesions may develop then disappear after visualisation at X-ray examination (Dik et al. 1999). Dik et al. (1999) showed that there was a peak at about 6 months of age for the prevalence of DOD lesions in the stifle and in the hock and O'Donohue et al. (1992) indicated a peak incidence and prevalence of DOD in weaned foals during the early winter months. Dik et al. (1999) concluded from their results that OC is permanent at the age of 5 months in the hock and 8 months in the stifle in Warmblood, whereas Carlsten et al. (1993) demonstrated permanent OC at the age of 12 months in the hock and fetlock of Standardbred. The first RF can be detected before 3 months of age (Carlsten et al. 1993). Hence, X-ray examination at 6 months of age appears to be a good compromise to detect visible changes at X-ray when most of them have developed and early enough to set conservative or curative treatments when appropriated.

Our study included a large number of potential risk factors variables. Because of repeated measurements over the period from birth to X-ray examination, and because of dependent parameters measured, some variables were highly correlated. To avoid multicollinearity in the multivariate models, implying unstable coefficients estimates and incorrect standard errors,

we reduced the number of variables using different statistical methods depending on the available data and their description. Due to the study design and the measure of DOD, the authors are aware that the potential major risk of bias of this study is the time sequence between exposure measures to risk factors and DOD assessment. In fact, if a risk factor could cause DOD, exposure should occur before the disease onset. This problem concerns all observational studies that assessed DOD prevalence rather than DOD incidence. However, despite few variations in rearing conditions, and feeding and management practices across time we can suggest that breeders had no totally change their practices from one day to the next, minimising the time-sequence problem.

Our results showed differences between risk-factors of DOD and OC, but global at-risk practices identified were quite consistent. Genetic information, represented by breed, and growth parameters were significant with consistent magnitude of their adjusted effects in both models. Management practices were associated with prevalence of DOD and OC, but risk-factors were different between DOD and OC. Age of the mare and month of birth of the foal were identified as only OC risk-factors.

No previous study on between breed variations or on breed effect on DOD was made. In accordance with literature that reports an important role of genetics (Schougaard et al. 1990, Grondhal and Dolvik 1993, Philipsson et al. 1993, Winter et al. 1994, Willms et al. 1996), our study showed a great effect of breed, especially for Wb compared to Tb or St. However, no interaction between breed and other risk-factors identified was observed in both models, indicating thus invariable effects of the other risk-factors among breeds.

Several authors have found higher prevalences of DOD in males than in females (Alvarado et al. 1989, Sandgren et al. 1993a), or in females than in males (Wittwer et coll. 2006). However, these statements are opposed to the present and other experimental (van Weeren et al. 1999, Gee et al. 2005) and observational studies (Grondhal 1991, Storgaard Jørgensen et al. 1997, Vervuert et al. 2005, Stock et al. 2006) that found no significant sex-related differences in the prevalence of OC and DOD.

High correlations were observed between WH and GC values at 30 days of age (0.66) or for growth slope (0.50). However, small or negative correlations were observed between values at 30 days of age and growth slopes. It means that foals with high early format will grow slower than foals with a small early format. These results are in agreement with those of Hintz et al. (1979) who showed high correlations between weight and WH at age types, whereas small correlations were observed between WH at birth and WH at the later ages.

Growth data were found to be of great influence on DOD and OC in our study. Previous studies on growth effect on DOD are inconsistent. Prevalence of OC in the hock, fetlock, and stifle of young horses was shown to be different depending on weight gain rates and given age (Thompson et al. 1988, Pagan and Jackson 1996, van Weeren et al. 1999, Vervuert et al. 2005). Two studies showed some tendencies to a higher WH for affected horses (Alvarado et al. 1989, Sandgren et al. 1993b), but no significant differences of WH and GC were found between affected and unaffected horses (Alvarado et al. 1989, Sandgren et al. 1993b, Jelan et al. 1996). However, our results are quite consistent with the study of Stock et al. (2006) who performed multivariate analyses of risk factors of OCD on 3749 Warmbloods aged between 3 and 5 years and selected for sales. They showed significant and positive effects of adult WH on OCD prevalence in the hock and fetlock, adjusted for the age.

The higher risk of DOD occurrence found for foals with a high early development or a high increase in growth curve can partly be explained by feeding practices permitting this growth. In fact, few significant adjusted effects of feeding practices on DOD occurrence were found. However, our quantitative approach for feeding practices only considered nutrition parameters of concentrates and VMS intake. Forages intakes were not available, so we considered crude qualitative indicators of rearing conditions for the couple mare-foal with month of birth, age at first turning-out grass of the foal, and weaned or not at X-ray examination. Significant univariate results were showed, for Ca/P intakes in the model explaining DOD prevalence, and for Ca/P, Zn/Cu, duration of VMS, and duration of concentrates intakes in the model explaining OC prevalence. These results are in accordance with previous results of experimental studies (Glade and Belling 1984, Bridges and Harris 1988, Knight et al. 1990, Savage et al. 1993b, Pearce et al. 1998).

The age of the mare has been shown to influence WH and weight of the offspring (Hintz et al. 1979, Gee et al. 2005, Willard et al. 2005), while Sandgren et al. (1993a) found no effect of the age of the mare and of the parity on OC prevalence. In our study, the parity of the mare was not significant in both models explaining DOD and OC prevalences, while the age of the mare was significant in both univariate analyses but was retained only in the final model explaining OC prevalence.

One study did not found any effect of the month of birth on prevalence of DOD (van Weeren et al. 1999), whereas several studies reported an effect (Sandgren et al. 1993a, Pagan and Jackson 1996, Wilke et al. 2003, Wittwer et al. 2006). Similarly, we found that foals born before March or after May had a higher risk to be affected by OC than foals born in March or April. For DOD, this effect was significant only in univariate analysis. These results may be attributed to the fact that earlier- and later-born foals are not conducted in the same manner. The main seasonal effects are feeding practices, rearing conditions and thus housing conditions of the foals which change with time of birth. The feeding practices concerning concentrates and VMS showed no significant adjusted effect on DOD and OC. Thus, the main seasonal influence is more likely to find in the rearing conditions. Another explanation could be

found in housing conditions. Early-born foals are mainly kept indoors with limited exercise, whereas later-born foals spend soon and much more time in pasture. However, duration of exercise has not shown any significant effect in this study.

Few studies were made on the effect of exercise or management practices on DOD or OC prevalence. In our study, it seems that a large surface of pasture at an early age (>1 ha before 2 weeks of age or >6 ha before 2 months of age) is a risk factor for DOD, which is in accordance with an experimental study of Caure et al. (1998) who reported that severity of OC lesions increases with the surface of exercise and the accidental conditions of pastures. In the same way, we found that irregularity of exercise was a risk factor of DOD, which is in agreement with results of an experimental study of van Weeren and Barneveld (1999) who showed that OC lesions observed in the stifle were less severe for foals who have free exercise in pasture than for foals kept in box and than for foals kept in box and exercised once a day. No previous study considered the effect of change of batch in prevalence of DOD lesions.

This study showed difference in risk factors of DOD and OC. The higher R^2 for the model explaining OC prevalence indicates that group of foals affected by OC lesions seem to be more homogenous than group of foals affected by DOD. However, this study does not allow us to conclude about the etiological uniqueness of the different entities included in DOD. Further research is needed about the nature and causes of the DOD lesions at the cell level, and about the etiology of the different entities observed at the foal level. In order to reduce prevalence and incidence of DOD, breeders can follow the WH of their foals and adjust nutrients intakes accordingly to not have too faster growth. They also can limit the surface of pastures offered to the foals, especially before 2 months of age.

References

- Akaike H. 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In: Second International Symposium on Information Theory (Petrov BN, Csaki F, eds). Budapest: Akademiai Kiado, 267–281.
- Alvarado A, Marcoux M, Breton L. 1989. The incidence of osteochondrosis in a Standardbred breeding farm in Quebec. In: Proceeding of American Association of Equine Practitioners 293-307.
- Bridges CH, Harris ED. 1988. Experimentally induced cartilaginous fractures (osteochondritis dissecans) in foals fed low-copper diets. *J Am Vet Med Assoc* 193:215–21.

- Carlsten J, Sandgren B, Dalin G. 1993. Development of osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joint of Standardbred trotters. I. A radiological survey. *Equine Vet J suppl* 16:42-7.
- Caure S, Tourtoulou G, Valette JP, Cosnier A, Lebreton P. 1998. Prévention de l'ostéochondrose chez le trotteur au sevrage : étude expérimentale. *Prat Vet Equine* 30: 49-59.
- Coenen M, Vervuert I, Granel M, Winkelsett S, Borchers A, Christmann L, Bruns E, Distl O, Hertsch B. 2005. Feeding practice in Hanoverian Warmblood mares and foals with regard to the incidence of osteochondrosis. In: *The Growing Horse: Nutrition and Prevention of Growth Disorders* (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen:EAAP Publication, 239–40.
- Dik KJ, Enzerink E, van Weeren PR. 1999. Radiographic development of osteochondral abnormalities, in the hock and stifle of Dutch Warmblood foals, from age 1 to 11 months. *Equine Vet J Suppl* 31:9-15.
- Donabedian M, Fleurance G, Perona G, Robert C, Lepage O, Trillaud-Geyl C, Leger S, Ricard A, Bergero D, Martin-Rosset W. 2006. Effect of fast vs. moderate growth rate related to nutrient intake on development orthopaedic disease in the horse. *Animal Research* 55:471-486.
- Gee EK, Firth EC, Morel PC, Fennessy PF, Grace ND, Mogg TD. 2005. Articular/epiphyseal osteochondrosis in Thoroughbred foals at 5 months of age: influences of growth of the foal and prenatal copper supplementation of the dam, *N Z Vet J* 53:449-457.
- Glade MJ, Belling TH. 1984. Growth plate cartilage metabolism, morphology and biochemical composition in over- and underfed horses. *Growth* 48:473-482.
- Grondahl AM. 1991. The incidence of osteochondrosis in the tibiotarsal joint of Norwegian Standardbred trotters: a radiographic study. *J Equine Vet Sci* 11:272-4.
- Grondahl AM, Dolvik NI. 1993. Heritability estimations of osteochondrosis in the tibiotarsal joint and of bony fragments in the palmar/plantar portion of the metacarpo- and metatarsophalangeal joints of horses. *J Am Vet Med Assoc* 203:101-4.
- Grondahl AM, Engeland A. 1995. Influence of radiographically detectable orthopaedic changes on racing performance in Standardbred trotters. *J Am Vet Med Assoc* 206:1013-17.
- Hintz HF, Hintz RL, van Vleck LD. 1979. Growth rate of thoroughbreds: effect of age of dam, year and month of birth, and sex of foal. *J Anim Sci* 48:480-487.
- Hoppe F. 1984. Radiological investigations of osteochondrosis dissecans in Standardbred Trotters and Swedish Warmblood horses. *Equine Vet J* 16 (5), 425-29.
- Hosmer DW, Lemeshow S. 2000. *Applied logistic regression*. New York: Wiley.
- Hurtig MB, Pool RR. 1996. Pathogenesis of equine osteochondrosis. In: *Joint disease in the horse* (McIlwraith CW, Trotter GW, eds). Philadelphia: Saunders, 335-358.

- Jeffcott LB. 1991. Osteochondrosis in the horse - searching for the key to pathogenesis. *Equine Vet J* 23:331-38.
- Jeffcott LB. 1993. Problems and pointers in equine osteochondrosis. *Equine Vet J Suppl* 16:1-3.
- Jeffcott LB. 1996. Osteochondrosis - an international problem for the horse industry. *J Equine Vet Sci* 16:32-37.
- Jeffcott LB. 2005. Developmental diseases affecting growing horses. In: *The Growing Horse: Nutrition and Prevention of Growth Disorders* (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen:EAAP Publication, 243-55.
- Jelan ZA, Jeffcott LB, Lundeheim N, Osborne M. 1996. Growth rates in Thoroughbred foals. *Pferdeheilkunde* 12:291-295.
- Kane AJ, Park RD, McIlwraith CW, Rantanen NW, Morehead JP, Bramlage LR. 2003. Radiographic changes in Thoroughbred yearlings. Part 1: Prevalence at the time of the yearling sales. *Equine Vet J* 35:354-65.
- Knight DA, Weisbrode SE, Schmall LM, Reed SM, Gabel AA, Bramlage LR, Tyznik WI. 1990. The effects of copper supplementation on the prevalence of cartilage lesions in foals. *Equine Vet J* 22:426-32.
- Lepeule J, Robert C, Bareille N, Valette JP, Jacquet S, Seegers H, Denoix JM. A severity scoring system for radiographic findings in the limbs of foals and yearlings: presentation and evaluation of the intra-assessor reliability. *American Journal Veterinary Research* (in revision).
- Lepeule J, Bareille N, Valette JP, Seegers H, Jacquet S, Denoix JM, Robert C. Developmental orthopaedic disease in limbs of foals: between-breed variations in prevalence, location and severity at weaning. *Animal* (accepted).
- Martin-Rosset W. 2001. Croissance osseuse chez le cheval. In: *Actes de la 27^{ème} Journée de la Recherche Equine*. Paris, Les Haras Nationaux, 73-100.
- McIlwraith CW. Proceeding of the AQHA Developmental Orthopaedic Disease Symposium, 1986, Amarillo, Texas. pp 1-77.
- McIlwraith CW. 2004. Developmental Orthopaedic Disease: Problems of limbs in young horses. *J Equine Vet Sci* 24:475-9.
- O'Donohue DD, Smith FH, Strickland KL. 1992. The incidence of abnormal limb development in the Irish Thoroughbred from birth to 18 months. *Equine Vet J* 24:305-309.
- Olsson SE, Reiland S. 1978. The nature of osteochondrosis in animals. Summary and conclusions with comparative aspects on osteochondritis dissecans in man. *Acta Radiol Suppl* 358 :299-306.
- Pagan JD, Jackson SG. 1996. The incidence of developmental orthopedic disease on a Kentucky Thoroughbred farm. *Pferdeheilkunde* 12:351-4.
- Pearce SG, Grace ND, Wichtel JJ, Firth EC, Fennessy PF. 1998. Effect of copper supplementation on copper status of pregnant mares and foals. *Equine Vet J* 30:200-3.
- Philipsson J, Andreasson E, Sandgen B, Dalin G, Carlsten J. 1993. Osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints in standardbred trotters. II. Heritability. *Equine Vet J suppl* 16:38-41.

- Pool RR. 1993. Difficulties in definition of equine osteochondrosis; differentiation of developmental and acquired lesions. *Equine Vet J suppl* 16:5-12.
- Sandgren B, Dalin G, Carlsten J. 1993a. Osteochondrosis in tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints in Standardbred trotters. I. Epidemiology. *Equine Vet J suppl* 16:31-7.
- Sandgren B, Dalin G, Carlsten J, Lundeheim N. 1993b. Osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints in Standardbred trotters. II. Body measurements and clinical findings. *Equine Vet J suppl* 16:48-53.
- Savage CJ, McCarthy RN, Jeffcott LB. 1993a. Effects of dietary energy and protein on induction of dyschondroplasia in foals. *Equine Vet J Suppl* 16:74-79.
- Savage CJ, McCarthy RN, Jeffcott LB. 1993b. Effects of dietary phosphorus and calcium on induction of dyschondroplasia in foals. *Equine Vet J Suppl* 16:80-83.
- Schougaard H, Falk Ronne J, Philipsson J. 1990. A radiographic survey of tibiotarsal osteochondrosis in a selected population of trotting horses in Denmark and its possible genetic significance. *Equine Vet J* 22:288-9.
- Stock KF, Distl O. 2005. Genetic correlations between conformation traits and radiographic findings in the limbs of German Warmblood riding horses. *Genet Sel Evol* 38 :657-71
- Stock KF, Hamann H, Distl O. 2006. Factors associated with the prevalence of osseous fragments in the limb joints of Hanoverian Warmblood horses. *Vet J* 171:147-56.
- Storgaard Jørgensen H, Proschowsky H, Falk-Rønne J, Willeberg P, Hesselholt M. 1997. The significance of routine radiographic findings with respect to subsequent racing performance and longevity in Standardbred trotters. *Equine Vet J* 29:55-9.
- Thompson KN, Jackson SG, Rooney JR. 1988. The effect of above average weight gains on the incidence of radiographic bone aberrations and epiphysitis in growing horses. In: *Proceeding of the 10th Equine Nutrition & Physiology Symposium, 1987, Fort Collins, Colorado.*
- Torre F. 2000. Osteochondrosis of the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints: incidence and influence on racing performance in a selected group of Standardbred Trotters. In: *Proceeding of AAEP* 287-94.
- Valette JP, Robert C, Denoix JM. Comparison of linear and non-linear functions to describe the growth of young sport and race-horses born in Basse-Normandie. *Animal, In Press.*
- van Weeren PR, Barneveld A. 1999. The effect of exercise on the distribution and manifestation of osteochondrotic lesions in the Warmblood foal. *Equine Vet J Suppl* 31:16-25.
- van Weeren PR, Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan M, Barneveld A. 1999. The influence of birth weight, rate of weight gain and final achieved height and sex on the development of osteochondrotic lesions in a population of genetically predisposed Warmblood foals. *Equine Vet J Suppl* 31:26-30.

- van Weeren. 2006. Osteochondrosis. In: Equine Surgery (Auer JA, eds); Philadelphia: Saunders, 1166-1178.
- Vervuert I, Coenen M, Winkelsett S, Christmann L, Distl O, Bruns E, Hertsch B. 2005. Growth rates in Hanoverian warmblood foals and the development of osteochondrosis. In: The Growing Horse: Nutrition and Prevention of Growth Disorders (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen:EAAP Publication, 85–9.
- Watkins JP. 1992. Osteochondrosis. In: Equine Surgery (Auer JA, eds). Philadelphia: Saunders, 765-778.
- Wilke A, Coenen M, Distl O, Hertsch B, Christmann L, Bruns E. 2003. Effect of locomotion on the development of osteochondrosis in Hanoverian Warmblood foals. In: Proceeding of 54th Annual Meeting of Europe Association for Animal Production, 30 August-3 September 2003, Rome, Italy.
- Willard JG, Williams JL, Willard JC, Knapp JR, Greene EA. 2005. The Effect of Age of Dam on Birth Weight and Growth Rate of Thoroughbred Foals. In: The Growing Horse: Nutrition and Prevention of Growth Disorders (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen:EAAP Publication, 65–6.
- Willms F, Roehe R, Kalm E. 1996. The importance of radiographical investigations of bone diseases in breeding sport horses. In: Proceeding of 47th Annual Meeting of the EAAP. Lillehammer, Norway.
- Winter D, Bruns E, Glodek P, Merz A, Leonhardt K, Hertsch B. 1994. Genetic disposition of bone diseases in sport horse population. In: Proceeding of 45th Annual Meeting of the EAAP, Edimburgh.
- Wittwer C, Hamann H, Rosenberger E, Distl O. 2006. Prevalence of osteochondrosis in the limb joints of south German Coldblood horses. J Vet Med A 53:531-9.

3. Facteurs de risque de l'étendue des AOAJ

Article 4 : « Influence de la croissance et des pratiques d'alimentation et d'élevage sur la sévérité et l'étendue des AOAJ chez des poulains âgés de 6 mois »

Résumé

L'objectif était d'évaluer les effets ajustés de la génétique, représentée par la race et le sexe, de la croissance et des pratiques d'alimentation et d'élevage sur la sévérité de l'atteinte du statut ostéo-articulaire des foals en considérant d'une part, le nombre d'AOAJ par foal, et d'autre part, le SR global par foal en 3 catégories. Du fait des résultats de répétabilité qui montraient que les discordances concernaient essentiellement des AOAJ gradées 1 (cf. 2.3.2. chap.3) et pour éviter les erreurs de classement, les foals atteints d'une seule AOAJ gradée 1 ont été considérés comme sains. Des modèles de régression logistique ont été mis en œuvre pour identifier les facteurs de risque de la sévérité d'atteinte du poulain en fonction des 3 catégories croissantes de SR. Des modèles de comptages ont été réalisés pour distinguer les facteurs de risque d'étendue du nombre d'AOAJ de ceux de présence de la maladie. Les deux types de modèles incluaient un effet aléatoire sur le haras et étaient ajustés sur la race et l'âge à l'examen radiographique.

La prévalence des poulains atteints d'AOAJ dans l'échantillon était de 46,9%. Dans les deux modèles, l'âge à l'examen radiographique n'était pas significatif.

Concernant les catégories de SR, les SF et TF avaient significativement plus de risque que les PS d'être dans les catégories 2 et 3, de même que les foals avec des sorties irrégulières. De même, une HG élevée à trente jours ainsi qu'une croissance rapide après 30 jours étaient des facteurs de risque significatifs dans le modèle comparant la catégorie 3 versus 1, tandis qu'un PT élevé à 30 jours et qu'une première mise à l'herbe tardive étaient significatifs dans le modèle comparant la catégorie 3 versus 2. Une grande surface de pâture avant l'âge de deux mois pouvait augmenter le risque d'être dans la catégorie 2 versus 1.

Concernant le nombre d'AOAJ, une croissance rapide de la HG, une quantité limitée de concentrés distribuée à la mère, et une grande surface de pâture avant l'âge de 2 mois étaient associés à un risque de présence d'AOAJ, tandis qu'une HG élevée à 30 jours, la race SF, une mère plutôt jeune ou plutôt âgée, un faible niveau d'apports par les concentrés en Ca/P, des sorties irrégulières, et l'absence ou l'excès de contacts homme/animal, étaient significativement associés à un plus grand nombre d'AOAJ par foal.

Cette analyse réalisée sur deux mesures de la sévérité d'atteinte des foals a donné des résultats globalement cohérents. Elle confirme l'effet majeur de la croissance (indépendamment de l'effet race) à la fois sur la présence et sur la sévérité des AOAJ. La surface des pâtures est associée à la présence de la maladie alors que la race et la régularité des sorties semblent davantage associées à la sévérité de la maladie. Les autres facteurs rapportés nécessitent d'autres investigations pour confirmer leur effet sur la sévérité et l'étendue des AOAJ.

Effects of growth, feeding and management practices on the severity of Developmental Orthopaedic Disease in French foals

Johanna Lepeule, Henri Seegers, Virginie Rondeau, Céline Robert, Jean-Marie Denoix, Nathalie Bareille

Preventive Veterinary Medicine

(En cours de soumission)

Remarque

Cet article a volontairement fait l'objet d'une discussion courte. Face au manque de données bibliographiques sur les facteurs de risque de la sévérité des AOAJ, les références citées en discussion seraient les mêmes que celles citées dans l'article 3 (cf. 2., chapitre 4). Elles n'ont donc volontairement pas été citées dans la discussion de cet article. De plus, les matériels et méthodes utilisés étant différents, il serait préférable que les résultats de chaque type de modèle soient valorisés dans 2 articles séparés.

3.1. Introduction

Developmental Orthopaedic Disease (DOD) includes a range of skeletal disorders (McIlwraith 1986) that appear (Hoppe 1984) and can progress or regress (Dik et al. 1999, van Weeren and Barneveld 1999) during the first year of life of horses. When DOD is severe, it can cause pain and lameness (Hoppe 1984, Kane et al. 2003), which imply a depreciation of their commercial and breeding value. The disease is diagnosed world wide, and is commonly seen in the Warmblood, Standardbred, Thoroughbred and Coldblood breeds (Sandgren et al. 1993, Pagan and Jackson 1996, Stock et al. 2006, Wittwer et al. 2006). It is internationally recognised that prevalence and incidence of DOD is high (Jeffcott 1993, van Weeren and Barneveld 1999). The different rates of prevalence found in published studies (Alvarado et al. 1989, Sandgren et al. 1993, Grondhal and Engeland 1995, Storgaard Jørgensen et al. 1997, Stock et al. 2006, Wittwer et al. 2006) may reflect differences in X-ray protocol used to detect the lesions and in DOD entities considered, or may be a result of differences in environment, genetic, nutrition, and management practices.

Risk factors of DOD are poorly documented and studies are usually restricted to osteochondrosis (OC) (Sandgren et al. 1993, Jelan et al. 1996, Vervuert et al. 2005, Stock et al. 2006). Moreover, they only study risk factors of DOD or OC presence of at least one lesion versus absence (Alvarado et al. 1989, Sandgren et al. 1993, Jelan et al. 1996, Vervuert et al. 2005, Stock et al. 2006), without considering the extent of the disease such as the number of affected joints, the number of DOD occurrences, or the severity of DOD occurrences. The number of DOD lesions per foal and the severity degree of each DOD lesion vary. Some papers studied the number of radiographic findings of DOD (Robert et al. 2006, Wittwer et al. 2006). On yearlings X-rayed on the fetlocks, carpus, tarsus, and stifles, Robert et al. (2006) reported that half of them was affected by 1 or 2 lesions and that 11.5% were affected by

more than 4 lesions. Wittwer et al. (2006) reported a maximum of 6 lesions per yearling and 36.4% affected by 1 or 2 lesions on the fetlocks and tarsus. Other studies have scored radiographic findings of DOD (Hoppe 1984, Alvarado et al. 1989, Dik et al. 1999, Van Hoogmoed et al. 2003, Robert et al. 2006). On horses aged of 3 years, Hoppe (1984) reported that 95.1% were severely affected on the hock with at least one lesion graded between 3 and 5, considering an ascending severity scale from 0 to 5. Robert et al. (2006) reported the distribution of horses according to their most severe radiographic finding graded 0, 1, 2, 4 or 8 with prevalences of 28.0%, 19.2%, 37.9%, 12.1%, and 2.7%, respectively. Only one study have explored risk factors relative to exercise of foals, on OC severity in the hock and stifle (van Weeren and Barneveld 1999). However, one can assume that risk factors may vary between the presence and the extent of DOD and that variability found among horses could allow to study these risk factors. In the present study, it was of interest to understand the influence of growth, feeding and management practices on the DOD severity of the osteo-articular status of foals by taking into account either the number of DOD occurrences or the sum of the severity score of each DOD lesion.

3.2. Materials and Methods

3.2.1. Study sample

Selection of the 21 participating stud-farms was a convenience sample, based on membership to the Basse-Normandie area, France, and on expected compliance from the breeders. A total of 393 foals were randomly selected and included in the study. Foals from the three main sport and racehorse breeds were included: French Warmblood (Wb), French Trotter Standardbred (St) and Thoroughbred (Tb). They were followed from the 8th month of the mare pregnancy to the X-ray examination at approximately 6 months of age.

3.2.2. Detection of Developmental Orthopaedic Disease

DOD was detected on five bilateral X-rays performed on foals: the dorsopalmar view of the carpus, the lateromedial view of the front- and hind-digits (including the interphalangeal and fetlock joints) and of the hock and stifle. X-ray data were analysed by three experienced equine veterinarians who gave a common assessment about the nature of radiographic findings (RF) and their severity. Foals were considered affected by DOD when RF of osteochondrosis, osteochondral fragmentation, subchondral bone cyst, physitis, degenerative joint disease, or juvenile enthesopathy was identified. The severity of RF was assessed using a scoring system including 4 increasing levels: 1, 2, 4, and 8. More details can be found in Lepeule et al. (*American journal of Veterinary Research, in revision*). A non-linear scoring system was chosen in order to give more weight to RF of DOD with probable (level 4) or certain (level 8) future clinical relevance than to RF of DOD with no or little clinical relevance. The severity scores obtained for each RF of DOD of a horse were added to obtain a Global Radiographic Score (GRS)

corresponding to the osteo-articular status of foals on the four limbs. The GRS was categorised in three classes according to its potential impact on the future training and sport career. Thus, foals having a GRS between 0 and 1 were classed in the category 1, considering that no striking disorder was observed and that no restriction was advised for training. Foals having a GRS between 2 and 5 were classed in the category 2, considering that significant DOD was observed implying a reserved prognosis for training and sport. Foals having a GRS higher than 5 were classed in the category 3, considering that major DOD was observed implying a bad prognosis for training and sport.

3.2.3. Potential risk factors

Four types of data were studied as potential DOD risk factors (table 1): genetic information represented by breed and gender; growth and related parameters including Wither Height (WH) and Girth Circumference (GC) measures, and age and parity of the mare; rearing conditions and feeding practices; and management practices. Because of repeated measurements of risk factors over time, and because of dependent parameters measured, some variables were highly correlated. In order to reduce the number of potential risk-factor variables and to prevent from multicollinearity in the further multivariate analyses, a preliminary processing was done on each type of data. Data processing and thus, variables considered for these analyses are briefly described below, but more details can be found elsewhere (Lepeule et al., *Preventive Veterinary Medicine, submitted*).

3.2.3.1. Growth data

WH and GC measures were used to fit individual growth curves of WH ($R^2=0.956$) and GC ($R^2=0.965$) that followed a curvilinear pattern as function of age using mixed models. Then, WH and GC were considered both by values at one month of age (30 days) and by slope of their increase between birth and X-ray examination. Furthermore, the body development of the foal was considered with the ratio WH/GC at 120 days of age (table 1). WH, GC, and WH/GC were standardised by breed in order to assess the effect of growth regardless of the breed effect.

Chapitre 4 : Facteurs de risque des AOAJ

Table 1: Potential risk and adjustment factors variables (and corresponding classes when categorical variables) and their univariate significance ($p < 0.25$) in logistic regression models.

Cat. 2 vs. 1	Cat. 3 vs. 1	Cat. 3 vs. 2	Potential risk factors (25 variables)
			<u>Genetic information (2 variables)</u>
x	x	x	Breed: Warmblood; Standardbred; Thoroughbred Gender: female; male
			<u>Growth (standardised by breed) and related-growth parameters (7 variables)</u>
	x	x	Wither Height (WH) at 30 days (in cm)
x	x		Slope of the WH increase (in cm relative to mean/standard-deviation by breed)
	x	x	Girth Circumference (GC) at 30 days (in cm)
x		x	Slope of the GC increase (in cm relative to mean/standard-deviation by breed)
x			WH/GC at 120 days
	x	x	Age of the mare in years: >10; [10-15]; >15 Primiparous mare: yes; no
			<u>Rearing conditions and feeding practices (9 variables)</u>
x			Month of birth: January-February; March-April; >April
x	x	x	Age at first turning-out grass for the foal: 1 week; 2 weeks; 3-4 weeks; 2 months; ≥ 3 months Weaned at X-ray examination: yes; no Mean daily amount of concentrates distributed to the mare (in kg)
x	x		Distribution duration of concentrates to the mare: ≤ 5 months; >5 months Mean daily amount of concentrates distributed to the foal (in kg)
x	x		Ca/P level during pregnancy, lactation, and for the foal: low; medium but low in pregnancy; medium but low in lactation; high but medium in pregnancy; high but medium for the foal
x	IMP.	IMP.	Zn/Cu level during pregnancy, lactation, and for the foal: low but high in pregnancy; low but medium in pregnancy; medium but low in pregnancy; medium; high Distribution duration of VMS during gestation, lactation, and for the foal: never; only in gestation; only in gestation and lactation; always but duration restricted for the foal; always
			<u>Management practices (7 variables)</u>
x			Batch size: large batch in the EP (period with ≥ 3 brood mares in the EP and <8 in the LP); always large batch in the EP (period with ≥ 3 brood mares in the EP and period with >8 in the LP); small batch (always <3 brood mares in the EP)
x	x	x	Change of batch until X-ray examination: once; none
x	x		Surface of pasture in the EP: large surface (period with surface >1ha before 2 weeks of age or >6ha before 2 months of age); always moderate surface Slope of pasture: lived in a pasture with a slope >5%; always $\leq 5\%$
	x	x	Regularity of exercise: irregular (period with no free exercise or limited to 1-3 days/week); always daily free exercise
	x	x	Duration of exercise in the EP: high (period with half day or day or 24/24 before 2 weeks of age, or period with 24/24 before two months of age); moderate Type and frequency of handling: free conducted with possible handling; hand conducted with possible handling; hand conducted and frequent handling; no handling
			Potential adjustment factors (4 variables)
			Age at X-ray examination (in days)
	x	x	Year of birth: 2002; 2003; 2004
	x	x	Stud-farm row in the study: 1; 2; 3
x	x	IMP.	Stud-farm identity (random effect)

EP: Early Period, before two months of age; LP: Late Period, after two months of age. x : $p < 0.25$, \emptyset : $p \geq 0.25$. IMP.: models did not converge.

3.2.3.2. *Feeding practices and rearing conditions data*

All the foals included in the study came from the same area of Basse-Normandie, France. Therefore, global rearing and housing conditions were quite similar among couples of mare-foal. The amounts of forage and grass intakes were unknown. Thus, only concentrates intakes, Vitamin and Mineral Supplements (VMS) intakes and some parameters to differentiate rearing conditions, such as the month of birth, the age when first grass was offered to the foal, and the weaning status of foal at X-ray examination, were considered. Feeding practices concerning concentrates and VMS intakes were described for the mare during late pregnancy (4 last months) and lactation (until weaning of the foal), and for the foal from the 4th month of age to the age at X-ray examination. Six variables were considered for the couples mare/foal (table 1): the mean daily amount of concentrates distributed to the mare during late pregnancy and lactation (4.9 ± 2.2 ; Q1=3.2 ; Q2=4.6 ; Q3=6.4 kg); the mean daily amount of concentrates distributed to the foal (1.8 ± 1.1 ; Q1=1.1 ; Q2=1.7 ; Q3=2.1 kg); the distribution duration of concentrates (in months) to the mare; the resumed profiles of foals (including late pregnancy, lactation, and foal between age of 4th and X-ray) for three parameters: Calcium (Ca)/Phosphorus (P), Zinc (Zn)/Copper (Cu), and the distribution duration of VMS (in months). This data processing is described in Lepeule et al. (*Preventive Veterinary Medicine, submitted*).

3.2.3.3. *Management practices data*

Information on free exercise of the foals, on the size and accidental risk of the pastures, and on foals interactions with other horses and with humans, were monthly or weekly (for the first two weeks of life) collected from birth to X-ray examination. The surface of pastures, duration of exercise, and batch size varied according to the age of foals: before two weeks of age, before two months, and afterwards. Thus, the classes of these variables varied according to these periods (table 1).

3.2.4. *Statistical analysis*

Risk factors depending on the severity of DOD were assessed considering first, the three previously defined categories of foals depending on their GRS, and second, the number of DOD occurrences. Risk factors depending on the GRS categories were explored using logistic regression analyses, whereas those depending on the number of DOD occurrences was explored using standard count models such as Poisson and Negative Binomial (NB) regressions and using zero-inflated models such as Zero-Inflated Poisson (ZIP) and Zero-Inflated Negative Binomial (ZINB) regressions. As explained in the results part, the ZIP model was retained to fit the data.

In both models, the variables potentially associated with DOD were subjected to univariate and then multivariate analyses. Significant variables in univariate analyses were considered for inclusion in multivariate mixed effects models ($p < 0.05$). For the logistic regressions, univariate results were

considered significant when $p < 0.25$. Due to a very high number of significant variables in ZIP univariate analysis with $p < 0.25$, variables were considered significant when $p < 0.15$. Manual forward selection approaches were used. Stud-farm identity was treated as a random effect to adjust for the correlated nature of the sampling design and to take into account any clustering of outcome at this level. To further control for confounding DOD risk, covariates breed, age at X-ray examination and year of birth were included in multivariate analyses. Because inclusion of highly correlated variables in the same model will result in unreliable fitness and in numerical instabilities, Pearson and Spearman correlation coefficients were computed among variables. No variable included in the multivariate models was closely correlated (all correlation coefficients < 0.50 or > -0.50). Continuous variables were evaluated for normality by examining histograms and for linearity of their relationship with logit by fitting third degree polynomial functions. Akaike's Information criterion AIC (Akaike 1973) was used to choose the best fitted model. When AIC indicated a better fit of the model with polynomial function included, classes were made according to the range distribution of the variables in order to convert them into qualitative variables. If not, the quantitative variable was kept.

3.2.4.1. Logistic regression models

Foals from the GRS category 3 were compared to foals from the categories 1 and 2. Foals from the GRS category 2 were also compared to foals from the category 1. Multivariate models assessed the opportunity of including each variable using likelihood ratio tests. First order interaction terms with the breed were retained when $p < 0.25$ for the interaction term. Model fit of the non-clustered model was checked using the Hosmer-Lemeshow test statistic and delta deviance influence diagnostic statistics (Hosmer and Lemeshow 2000). Statistical analyses were performed using SAS version 8.2 (SAS institute, Carry, USA).

3.2.4.2. Count models

Poisson regression is the standard basic technique for modelling discrete counts of events such as DOD occurrences, which are likely to be zero or a small integer. However, the Poisson distribution assumes the variance is equal to the mean, an assumption that is often violated, because the data generally exhibits extra variation, resulting in variance being greater than the mean. When there is a population heterogeneity or over-dispersion, a NB model is well suited (Dohoo et al. 2003). While the NB model takes over-dispersion into account, it may not adequately deal with the excess zero counts that arise when the event of interest is not experienced by many of the subjects, such as in our study.

Zero-inflated models can be viewed as finite mixture models deal with extra-zero counts by splitting process that models the probability of a zero outcome by logistic model (or sometimes by a probit model), while the count outcome is modelled using a Poisson (or NB) model (Dohoo et al. 2003, Long and Freese 2006). A zero-inflated model not only fits well but also provides

insights about the processes of the DOD. The zero-inflated models can be interpreted as assessing a two-step disease progression. It is assumed that different underlying mechanisms can be involved in generating zero and non-zero counts. Logistic part of the model deals with the process that puts the subject at-risk, whereas Poisson (or NB) part of the model deals with the process that influences the outcome in the at-risk population. Covariate effects can be incorporated into both the extra-zero and the Poisson (or NB) components of the models. The covariates appearing in these two parts are not necessarily the same. A covariate may or may not have the same direction of impact in both parts. Multivariate models assessed the addition of each of all variables in both the logistic and the Poisson (or NB) parts of the models using the Wald test (Statacorp 2003).

We used several criteria to compare and select among considered models. Vuong tests were used to compare standard models to Zero-Inflated models (Vuong 1989, Long and Freese 2006). Nested models (ZIP is nested within the ZINB model) were tested using a likelihood ratio test. Next we examined the fit of our models using AIC and compared expected probabilities and resulting counts for each model with observed counts. The clustering of foals by stud-farms was accounted for by the Huber-White sandwich estimator of variance (Statacorp 2003). Coefficients of the logistic part were converted into Odds Ratios (OR) before interpreting them and were interpreted as the risk of being free from DOD. Coefficients of the Poisson part were converted into Incidence Rate Ratios (IRR). Statistical analyses were performed using STATA version 8 (Stata Corporation, College Station, Texas, USA).

3.3. Results

3.3.1. Sample description

The description of the stud-farms of the sample was detailed elsewhere (Lepeule et al. *Preventive Veterinary Medicine, Submitted*). Most of births were registered in March or April (50.3%). Other foals were born between May and August (28.3%), or between January and March. The sample included 25.0% of Wb foals, 41.1% of St, and 33.9% of Tb. There were 52.5% of fillies. Age at X-ray examination was 5.7 months in average (SD=1.27, min = 3, max = 9). Foals affected by DOD were 46.9%. The distribution of foals among categories of GRS is described in figure 1. The mean GRS for affected foals was 4.8 ± 3.4 . The mean number of DOD occurrences was 1.25 and the variance was 2.80. This reveals that variance was greater than mean and this violates the Poisson distribution assumption. Examination of figure 2 reveals that, the distribution of the number of DOD occurrences per foal data was skewed to the right and contained a large proportion of zeros (53.1%). The frequency decreased as the number of RF of DOD increased.

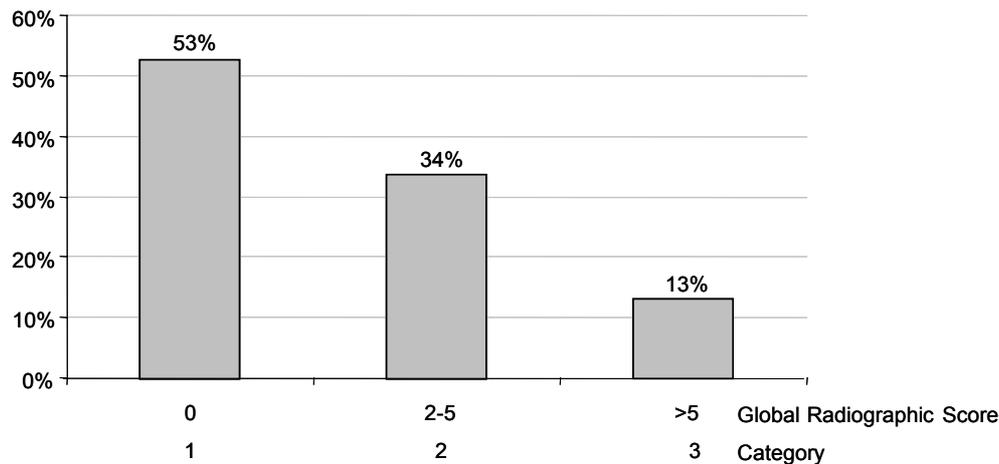


Figure 1: Distribution of the foals among categories of Global Radiographic Score depending on the breed (Thoroughbred (Tb), Standardbred (St), Warmblood (Wb)).

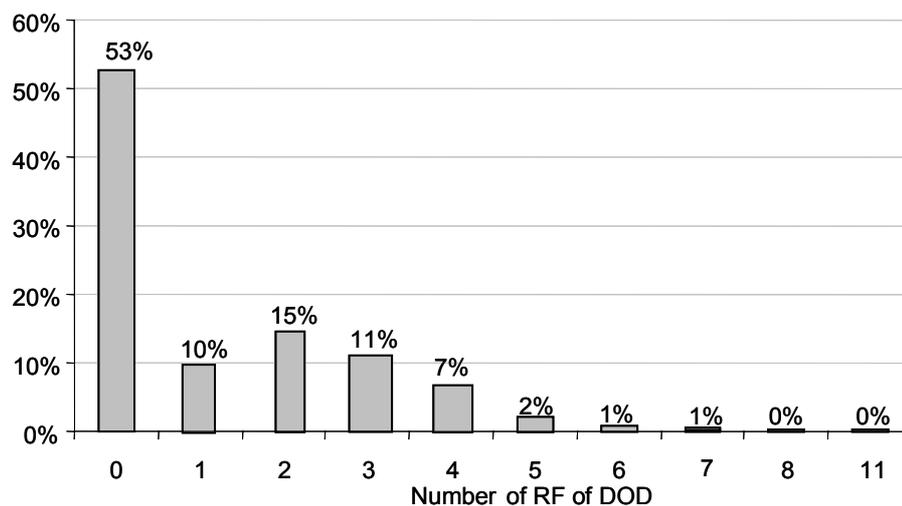


Figure 2: Distribution of the number of Radiographic Finding (RF) of Developmental Orthopaedic Disease (DOD) per foal depending on the breed (Thoroughbred (Tb), Standardbred (St), Warmblood (Wb)).

3.3.2. Risk factors for the DOD severity considering the Global Radiographic Score

Out of the 25 potential risk factor variables investigated, 13, 15, and 11 variables were retained for the multivariate modelling of GRS categories, respectively to compare category 2 versus 1, 3 versus 1 and 3 versus 2 (table 1). In the final multivariate models, respectively 3, 4 and 4 risk factors were significantly ($p < 0.05$) associated with GRS categories. Table 2 displays the results for the effects of risk factors. The Hosmer and Lemeshow statistic supported the model's adequacy for these data. Deviance statistics showed a

potential overfitting of the model comparing category 2 versus 1. Whatever the categories, analyses did not demonstrate any significant effect for the age at X-ray examination and of the stud-farm random effect.

Wb and St had a significant higher risk for a high GRS (categories 2 and 3) than Tb. A high WH at 30 days and its rapid increase were significant risk factors to be category 3 versus 1, whereas foals having a high GP at 30 days were more at risk to be in the category 3 versus 2 of GRS. Foals who turning-out grass after 3 months of age had higher risk to be in the category 3 versus 2 than foals turning-out grass between 3 weeks and 2 months of age. The risk for being in the category 2 versus 1 was significantly higher for foals free exercised in pastures >1 ha before 2 weeks of age or >6 ha before 2 months of age. Foals with a period of irregular exercise (no free exercise or exercise limited to 1-3 days/week) had a significant higher risk to be in category 3 versus 2 than foals daily exercised.

Table 2: Adjusted odds ratio (OR) estimates of risk factors variables retained from the multivariate analyses in the logistic regression models explaining the Global Radiographic Score (GRS) categories.

Risk Factor	Category 2 vs. 1 (111 vs. 173) R ² =0.07			Category 3 vs. 1 (38 vs. 188) R ² =0.15			Category 3 vs. 2* (38 vs. 120) R ² =0.16		
	N	OR [95% CI]		N	OR [95% CI]		N	OR [95% CI]	
<u>Genetic information</u>									
<u>Breed</u>									
Warmblood	56			48			51		
vs. Thoroughbred	vs. 117	2.16	[0.95-4.94]	vs. 85	7.31	[2.18-24.44]	vs. 48	4.38	[1.35-14.24]
Standardbred	111			93			59		
vs. Thoroughbred	vs. 117	1.07	[0.51-2.24]	vs. 85	3.14	[0.88-11.23]	vs. 48	4.41	[1.30-14.97]
Warmblood	56			48			51		
vs. Standardbred	vs. 111	2.02	[0.91-4.53]	vs. 93	2.33	[0.79-6.83]	vs. 59	0.99	[0.39-2.51]
<u>Growth and related-growth parameters</u>									
Wither height at 30 days ¹					2.34	[1.39-3.93]			
Slope of wither height ²		1.35	[1.02-1.79]		2.09	[1.24-3.54]			
Girth Perimeter at 30 days ³								1.84	[1.16-2.90]
<u>Feeding practices</u>									
<u>Age at first turning-out grass for the foal⁴</u>									
1 week							38		
vs. 3-4 weeks							vs. 39	2.17	[0.65-7.29]
2 weeks							47		
vs. 3-4 weeks							vs. 39	1.84	[0.56-6.06]
2 months							24		
vs. 3-4 weeks							vs. 39	0.44	[0.08-2.28]
≥3 months							10		
vs. 3-4 weeks							vs. 39	6.52	[1.06-39.97]
≥3 months							10		
vs. 2 months							vs. 24	14.85	[2.27-97.16]
<u>Management practices</u>									
<u>Surface of pastures in the early period</u>									
large	254								
vs. always moderate	vs. 30	3.66	[1.13-11.86]						
<u>Regularity of exercise</u>									
irregular				35			32		
vs. daily free exercise				vs. 191	3.31	[1.21-9.09]	vs. 126	3.67	[1.07-12.61]

The significant OR are in bold (p<0.05). Results are adjusted for age at X-ray examination and for the stud-farm random effect.

*Model without random effect on the stud-farm, because convergence failed

¹ expressed as standard-deviation relative to the mean of the breed: 3.6 for Warmblood and Standardbred, 3.3 for Thoroughbred

² expressed as standard-deviation relative to the mean of the breed: 0.006 for Standardbred, 0.007 for Warmblood, and 0.008 for Thoroughbred

³ expressed as standard-deviation relative to the mean of the breed: 4.8 for Warmblood, 3.8 for Standardbred, and 3.7 for Thoroughbred

⁴ For these variables, only significant (p<0.05) modalities are described, in order to not surcharge the table.

3.3.3. Risk factors for the DOD severity considering the number of DOD occurrence

Once we obtained our final model, we computed the Vuong (1989) statistic for the Poisson versus ZIP (5.39) and for the NB versus ZINB (25.59) that favoured zero-inflated models. The coefficients and the log-likelihood of the ZINB model were almost identical with those in the ZIP model (details not shown), which revealed that neither model was favoured. Next, we examined the fit of our models using AIC and compared expected probabilities and resulting counts for each model with observed counts. The AIC favoured the ZIP over all other models. However, there was little difference in the ZIP (782.6) and ZINB (784.6) computed AIC values. Plots of the difference between the observed probabilities and the mean prediction based on the Poisson, NB and ZIP models are given in figure 3. Due to a so large estimate of “Inalpha” in the ZINB model, the predicted probabilities cannot be computed (Indiana University 2007). In these situations, we consider estimating the model with Poisson or ZIP instead. The graph shows that ZIP seems to fit better with observed DOD occurrences than Poisson and NB models.

Out of the 25 potential risk factor variables investigated, 9 and 12 variables were retained for the multivariate modelling of the DOD occurrences, respectively for the inflate part and the Poisson part of the ZIP (table 3). In the final multivariate model, 5 and 7 risk factors were significantly ($p < 0.05$) associated with the presence or DOD occurrences, respectively. Coefficients for the final model are shown in table 4, separated into the logit (i.e. inflate) and the Poisson part of the model.

It was found that the batch size was significant in both logit and Poisson parts. This implies that the small batch before 2 months of age was effective in increasing the OR of being an extra-zero, but also in increasing DOD occurrences for those non-zero. The age at X-ray examination was not significant in both parts of the ZIP model, and the breed was significant only in the Poisson part. With regard to the risk of being an extra zero, a high WH increase appeared to be associated with a lower OR, whereas a low mean daily amount of concentrates distributed to the mare was associated with a lower OR. A large surface of pastures before 2 months of age was associated with a lower OR of being an extra-zero. In the Poisson part, a high WH at 30 days, a young or old mare, a low level of Ca/P, an irregular exercise, and no or frequent handling of foals, were significantly related to higher DOD occurrences.

Table 3: Potential risk and adjustment factors variables (and corresponding classes when categorical variables) and their univariate significance (p<0.15) in zero-inflated Poisson model.

INFLATE	POISSON	Potential risk factors (25 variables)
		<u>Genetic information (2 variables)</u>
x	x	Breed: Warmblood; Standardbred; Thoroughbred Gender: female; male
		<u>Growth (standardised by breed) and related-growth parameters (7 variables)</u>
x	x	Wither Height (WH) at 30 days (in cm)
x		Slope of the WH increase (in cm relative to mean/standard-deviation by breed)
	x	Girth Circumference (GC) at 30 days (in cm)
x		Slope of the GC increase (in cm relative to mean/standard-deviation by breed)
	x	WH/GC at 120 days
		Age of the mare in years: >10; [10-15]; >15 Primiparous mare: yes; no
		<u>Rearing conditions and feeding practices (9 variables)</u>
		Month of birth: January-February; March-April; >April Age at first turning-out grass for the foal: 1 week; 2 weeks; 3-4 weeks; 2 months; ≥3 months
		Weaned at X-ray examination: yes; no
x	x	Mean daily amount of concentrates distributed to the mare (in kg) Distribution duration of concentrates to the mare: ≤5 months; >5 months
	x	Mean daily amount of concentrates distributed to the foal (in kg) Ca/P level during pregnancy, lactation, and for the foal: low; medium but low in pregnancy; medium but low in lactation; high but medium in pregnancy; high but medium for the foal Zn/Cu level during pregnancy, lactation, and for the foal: low but high in pregnancy; low but medium in pregnancy; medium but low in pregnancy; medium; high Distribution duration of VMS during gestation, lactation, and for the foal: never; only in gestation; only in gestation and lactation; always but duration restricted for the foal; always
		<u>Management practices (7 variables)</u>
x	x	Batch size: large batch in the EP (<i>period with ≥3 brood mares in the EP and <8 in the LP</i>); always large batch (<i>period with ≥3 brood mares in the EP and period with >8 in the LP</i>); small batch in the EP (<i>always <3 brood mares in the EP</i>)
	x	Change of batch until X-ray examination: once; none
x	x	Surface of pasture in the EP: large surface (<i>period with surface >1ha before 2 weeks of age or >6ha before 2 months of age</i>); always moderate surface
		Slope of pasture: lived in a pasture with a slope >5%; always ≤5%
x	x	Regularity of exercise: irregular (<i>period with no free exercise or limited to 1-3 days/week</i>); always daily free exercise Duration of exercise in the EP: high (<i>period with half day or day or 24/24 before 2 weeks of age, or period with 24/24 before two months of age</i>); moderate
x	x	Type and frequency of handling: free conducted with possible handling; hand conducted with possible handling; hand conducted and frequent handling; no handling
		Potential adjustment factors (4 variables)
		Age at X-ray examination (in days)
	x	Year of birth: 2002; 2003; 2004
	x	Stud-farm row in the study: 1; 2; 3

EP: Early Period, before two months of age; LP: Late Period, after two months of age. x : p<0.15, ∅ : p ≥ 0.15

Chapitre 4 : Facteurs de risque des AOAJ

Table 4: Adjusted Incidence Rate Ratio (IRR) (for the Poisson part) or Odds-Ratio (OR) (for the logit/inflate part, assessing the probability of being an extra-zero) estimates of risk factors variables retained from the multivariate analyses in the zero-inflated Poisson model explaining the DOD occurrences in 295 foals.

Risk Factor	N	IRR & OR [95% CI]*	
INFLATE PART			
<u>Genetic information</u>			
Breed			
	Warmblood vs. Thoroughbred	99 vs. 122	[0.34-1.18]
	Standardbred vs. Thoroughbred	74 vs. 122	0.91 [0.34-2.47]
	Warmblood vs. Standardbred	99 vs. 74	0.70 [0.27-1.82]
<u>Growth parameters</u>			
Slope of wither height ²			0.53 [0.30-0.94]
<u>Feeding practices</u>			
Mean daily amount of concentrates distributed to the mare (in kg) in equal range			
	2 vs. 1	129 vs. 121	0.84 [0.35-2.00]
	3 vs. 1	43 vs. 121	0.93 [0.28-3.03]
	4 vs. 1	2 vs. 121	+∞ [+∞ -+∞]
	3 vs. 2	43 vs. 129	1.11 [0.31-4.02]
	4 vs. 2	2 vs. 129	+∞ [+∞ -+∞]
	4 vs. 3	2 vs. 43	+∞ [+∞ -+∞]
<u>Management practices</u>			
Surface of pastures in the early period: large vs. always moderate	267 vs. 28	0.25	[0.11-0.55]
Batch size: 1-small batch in the EP, 2-large batch in the EP, 3-always large batch			
	2 vs. 1	120 vs. 24	0.26 [0.12-0.60]
	3 vs. 1	151 vs. 24	0.32 [0.13-0.79]
	3 vs. 2	151 vs. 120	1.22 [0.49-3.04]
POISSON PART			
<u>Genetic information</u>			
Breed			
	Warmblood vs. Thoroughbred	99 vs. 122	2.99 [2.00-4.49]
	Standardbred vs. Thoroughbred	74 vs. 122	[0.95-2.45]
	Warmblood vs. Standardbred	99 vs. 74	1.97 [1.24-3.14]
<u>Growth parameters</u>			
Wither height at 30 days ¹			1.23 [1.12-1.35]
Age of the mare (years)			
	<10 vs. [10-15]	156 vs. 101	1.26 [1.02-1.56]
	>15 vs. [10-15]	38 vs. 101	1.74 [1.41-2.13]
	>15 vs. <10	38 vs. 156	1.38 [1.11-1.71]
<u>Feeding practices</u>			
Ca/P level during pregnancy, lactation, and for the foal ³ : 1-low; 2-medium but low in pregnancy; 3-medium but low in lactation; 4-high but medium in pregnancy; 5-high but medium for the foal			
	1 vs. 4	70 vs. 20	2.28 [1.72-3.00]
	5 vs. 4	86 vs. 20	2.47 [1.65-3.70]
	3 vs. 4	77 vs. 20	1.82 [1.06-3.11]
	2 vs. 4	42 vs. 20	1.75 [1.15-2.66]
<u>Management practices</u>			
Regularity of exercise: irregular vs. daily free exercise			1.49 [1.19-1.86]
Batch size: 1-small batch in the EP, 2-large batch in the EP, 3-always large batch			
	1 vs. 2	24 vs. 120	1.92 [1.31-2.80]
	1 vs. 3	24 vs. 151	1.58 [0.98-2.55]
	3 vs. 2	151 vs. 120	1.21 [0.95-1.54]
Type and frequency of handling ³ : 1-no handling; 2-free conducted with possible handling; 3-hand conducted with possible handling; 4-hand conducted and frequent handling;			
	1 vs. 2	21 vs. 35	1.38 [1.15-1.65]
	3 vs. 2	184 vs. 35	2.16 [1.51-3.10]
	4 vs. 2	55 vs. 35	1.70 [1.13-2.54]
	3 vs. 1	184 vs. 21	1.57 [1.00-2.46]

The significant OR/IRR are in bold ($p < 0.05$). Results are adjusted for age at X-ray examination and for the stud-farm random effect.

*Confidence intervals are assessed with robust standard error

¹ expressed as standard-deviation relative to the mean of the breed: 3.6 for Warmblood and Standardbred, 3.3 for Thoroughbred

² expressed as standard-deviation relative to the mean of the breed: 0.006 for Standardbred, 0.007 for Warmblood, and 0.008 for Thoroughbred

³ For these variables, only significant ($p < 0.05$) modalities are described, in order to not surcharge the table.

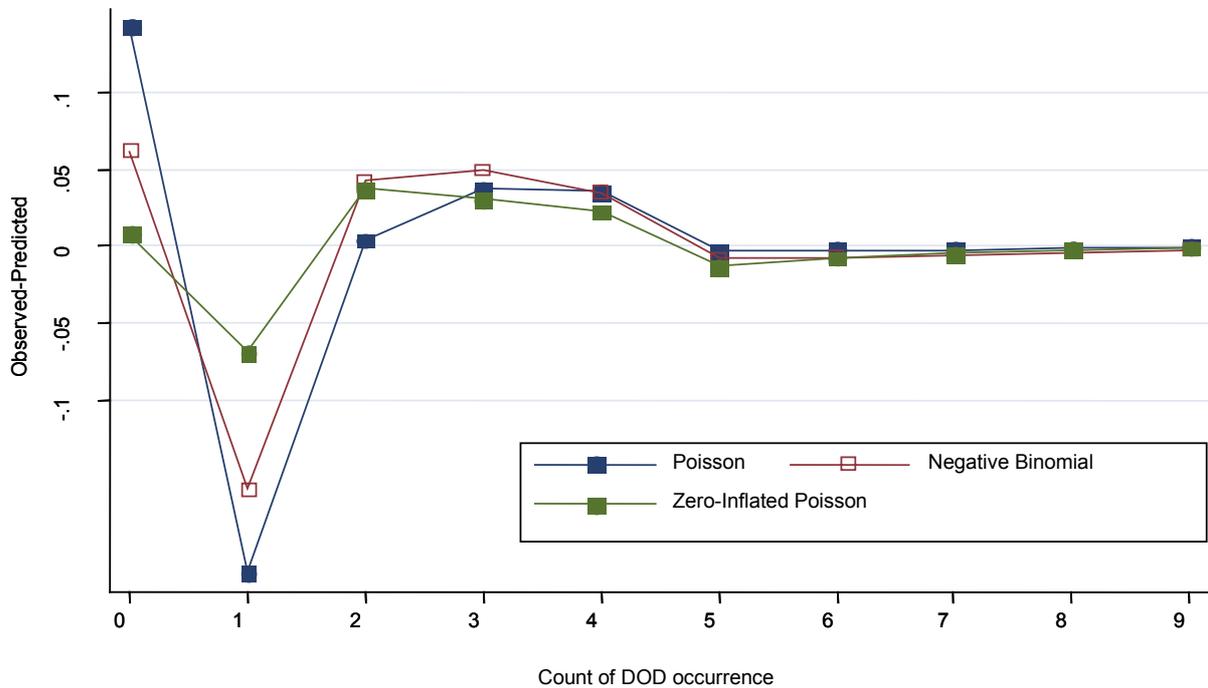


Figure 3: Comparison of observed and predicted counts accross models.

3.4. Discussion

The objective of this study was to assess the adjusted effects of genetic, growth, feeding and management practices on the severity of DOD in the limb joints of foals. The logistic regression models showed that Wb and St breeds, high early WH or high increase in WH, and irregularity of exercise were strongly associated with a more severe GRS for foals. The ZIP model showed that slow WH increase, high mean daily amount of concentrates distributed to the mare, moderate surface of pastures and small batch before 2 months of age were associated with the absence of the DOD, whereas Wb breed, high early WH, young or old mare, low Ca/P level in concentrates, irregularity of exercise, small batch before 2 months of age, and no or frequent handling were associated with higher DOD occurrences.

The results of the logit part of the ZIP model are quite similar to those of the logistic regression model that explain category 2 versus 1 and to those reported in a previous paper on risk factors of DOD presence (Lepeule et al., *Preventive Veterinary Medicine, submitted*). These results showed that growth, especially the high increase of WH, and large surface of pastures before 2 months of age, were risk factors of DOD presence, with quite similar OR estimates.

The results of the Poisson part of the ZIP model could be compared to those of the logistic regression models explaining category 3 versus 1, and category 3 versus 2. The breed seemed to be more likely associated with the severity of DOD than with its presence. Particularly, Wb foals had a higher risk to be more severely affected than Tb and St foals. WH growth seemed to be a risk factor of both presence and severity of DOD. Irregular exercise was associated with the severity of DOD for both, the DOD occurrences and the GRS. However, some risk factors were significant in only one model. Thus, the age at first-turning out grass and the GC were associated with the GRS, whereas the Ca/P level, the handling, and the batch size were associated with the DOD occurrences. These differences of the results can be explained by the differences between outcomes explained by the two types of models. From these results, it seems that the severity of DOD tend to be more associated with factors favouring huge exercise or movements, such as irregular exercise, old age at first turning-out grass and no or frequent handling. These unsuitable management practices may cause trauma and then severe DOD lesions.

The results concerning the batch size and the mean daily amount of concentrates distributed to the mare remains questionable. In fact, the batch size had opposite effects between the logit part and the Poisson part of the ZIP model. The effect of the mean daily amount of concentrates distributed to the mare on the extra zero tended to infinity. Moreover, the high WH increase was associated with a lower risk of being free from DOD. This result is in opposition with the effect of the high main daily amount of concentrates distributed to the mare that appeared to be associated with a higher OR of being an extra zero, whereas a higher amount concentrates is generally associated with a higher growth increase (Martin-Rosset 2005).

Comparisons to previous published studies are difficult because only one have studied risk factors of DOD according to their severity (van Weeren and Barneveld 1999). This experimental study assessed the effect of exercise on OC (including subchondral bone cysts), dividing foals in 3 groups: a box group where foals were confined in box stall; a training group where foals were kept in box stall but were given an increasing number of gallop sprints in a paddock; a pasture group where foals were kept in pastures 24h/day. Our results disagree with those of van Weeren and Barneveld (1999), who report no significant effect of exercise on the number of OC lesions and of their severity score for the tibio-tarsal joint and the femoro-patellar/femoro-tibial joint. However, they showed some tendencies towards a decrease in number and severity of lesions with increasing exercise for both joints for foals of 5 months of age. For foals aged of 11 months, the tendencies are less pronounced even reversed for tibio-tarsal joint. Our results concerning regularity of exercise and age at first turning-out grass are in accordance with tendencies identified by van Weeren and Barneveld (1999).

There are several approaches to handle heterogeneity in the distribution of counts. A current choice is to use the NB distribution instead of the Poisson distribution. However, this method does not recognize an irregular distribution such as that with an extra amount of zeros. The zero-inflated models improve

this failure by simultaneously modelling the two components of the distribution. Moreover, these models provide insights about the risk factors involving zero and non-zero counts. The risk factors identified for both parts of the ZIP model were confirmed by results of other models in our study. This suggests the generalisation of zero-inflated models to study DOD occurrences.

To conclude, this study showed differences in risk factors of DOD occurrences and of global radiographic scores of foals. This is the first study that assesses adjusted risk factors of the DOD severity. In order to reduce prevalence and incidence of severe DOD, and their severity, breeders can follow the WH of their foals and adjust nutrient intakes accordingly to not have too fast growth. They also can limit the surface of pastures offered to the foals, especially before 2 months of age, and they can ensure to foals a regular exercise.

References

- Akaike H. 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In: Second International Symposium on Information Theory (Petrov BN, Csaki F, eds). Budapest: Akademiai Kiado, 267–281.
- Alvarado A, Marcoux M, Breton L. 1989. The incidence of osteochondrosis in a Standardbred breeding farm in Quebec. In: Proceeding of American Association of Equine Practitioners 293-307.
- Dik KJ, Enzerink E, van Weeren PR. 1999. Radiographic development of osteochondral abnormalities, in the hock and stifle of Dutch Warmblood foals, from age 1 to 11 months. *Equine Vet J Suppl* 31:9-15.
- Dohoo I, Martin W, Stryhn H. 2003. *Veterinary epidemiologic research*. Charlottetown: AVC Inc.
- Hoppe F. 1984. Radiological investigations of osteochondrosis dissecans in Standardbred Trotters and Swedish Warmblood horses. *Equine Vet J* 16 (5), 425-29.
- Hosmer DW, Lemeshow S. 2000. *Applied logistic regression*. New York: Wiley.
- Jeffcott LB. 1993. Problems and pointers in equine osteochondrosis. *Equine Vet J Suppl* 16:1-3.
- Indiana University. 2007. Postestimation analysis with Stata. Available: http://www.indiana.edu/~jslsoc/web_spost/spfaq_pralphaerror.htm [accessed 1 June 2007].
- Jelan ZA, Jeffcott LB, Lundeheim N, Osborne M. 1996. Growth rates in Thoroughbred foals. *Pferdeheilkunde* 12:291-295.
- Kane AJ, Park RD, McIlwraith CW, Rantanen NW, Morehead JP, Bramlage LR. 2003. Radiographic changes in Thoroughbred yearlings. Part 1: Prevalence at the time of the yearling sales. *Equine Vet J* 35:354-65.
- Long JS, Freese J. 2006. *Regression Models for Categorical Dependent Variables Using Stata*. Texas: Stata press.
- Martin-Rosset W. 2005. Growth and development in the equine. In: *The Growing Horse: Nutrition and Prevention of Growth Disorders* (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen: EAAP Publication, 15–50.

- McIlwraith CW. Proceeding of the AQHA Developmental Orthopaedic Disease Symposium, 1986, Amarillo, Texas. pp 1-77.
- Pagan JD, Jackson SG. 1996. The incidence of developmental orthopedic disease on a Kentucky Thoroughbred farm. *Pferdeheilkunde* 12:351-4.
- Robert C, Valette JP, Denoix JM. 2006. Correlation between routine radiographic findings and early racing career in French Trotters. *Equine Vet J Suppl* 37:473-8.
- Sandgren B, Dalin G, Carlsten J. 1993. Osteochondrosis in tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints in Standardbred trotters. I. Epidemiology. *Equine Vet J suppl* 16:31-7.
- StataCorp. 2003. Stata Statistical Software: Release 8. Texas: StataCorp.
- Stock KF, Hamann H, Distl O. 2006. Factors associated with the prevalence of osseous fragments in the limb joints of Hanoverian Warmblood horses. *Vet J* 171:147-56.
- Storgaard Jørgensen H, Proschowsky H, Falk-Rønne J, Willeberg P, Hesselholt M. 1997. The significance of routine radiographic findings with respect to subsequent racing performance and longevity in Standardbred trotters. *Equine Vet J* 29:55-9.
- Van Hoogmoed LM, Snyder JR, Thomas HL, Harmon FA. 2003. Retrospective evaluation of equine prepurchase examinations performed 1991-2000. *Equine Vet J* 35:375-81.
- van Weeren PR, Barneveld A. 1999. The effect of exercise on the distribution and manifestation of osteochondrotic lesions in the Warmblood foal. *Equine Vet J Suppl* 31:16-25.
- Vervuert I, Coenen M, Winkelsett S, Christmann L, Distl O, Bruns E, Hertsch B. 2005. Growth rates in Hanoverian warmblood foals and the development of osteochondrosis. In: *The Growing Horse: Nutrition and Prevention of Growth Disorders* (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen:EAAP Publication, 85–9.
- Vuong QH. 1989. Likelihood ratio tests for model selection and non-nested hypotheses. *Econometrica* 57:307-33.
- Wittwer C, Hamann H, Rosenberger E, Distl O. 2006. Prevalence of osteochondrosis in the limb joints of south German Coldblood horses. *J Vet Med A* 53:531-9.

4. Facteurs de risque de la présence d'AOAJ en fonction des entités lésionnelles

Les tableaux 4-6 et 4-7 présentent respectivement les résultats univariés et multivariés issus des modèles expliquant les différentes entités lésionnelles lorsque les effectifs le permettaient. La stratégie d'analyse utilisée pour construire ces modèles a été la même que dans la partie « 2. » de ce chapitre.

Parmi les 25 variables de facteurs de risque testées en univarié, 14, 8, et 10 ont été retenues pour l'étape multivariée, respectivement pour expliquer la présence de FOC uniquement (FOC seule), d'au moins une épiphysite, ou d'au moins un KOSC (tableau 4-6). Tous les facteurs d'ajustement étaient retenus sauf le nombre de participations du haras dans le modèle expliquant les FOC seules. Les résultats multivariés ont montré un effet significatif ($p < 0,05$) de la race seulement pour la présence d'épiphysites avec un risque plus élevé pour les SF par rapport au TF, et PS (tableau 4-8). En plus de la race, seule la vitesse de croissance en HG permettait d'expliquer la présence d'épiphysites (tableau 4-8), alors qu'aucun paramètre de croissance n'était retenu pour expliquer la présence de FOC seule ou de KOSC (tableau 4-7 et 4-9). Les modèles expliquant les FOC seules et les KOSC présentaient des facteurs de risque différents, sauf pour les contacts avec l'homme qui étaient retenus dans les deux modèles, mais avec des effets en sens opposés. Par ailleurs, la présence de FOC seule était plus probable lorsque les sorties étaient irrégulières et lorsque la durée de distribution de concentrés à la mère était inférieure à 5 mois. Le mois de naissance, l'âge à la première mise à l'herbe du foal, et la surface des pâtures étaient significativement liés à la présence de KOSC.

Tableau 4-6 : Facteurs de risque et d'ajustement potentiels, modalités correspondantes, et significativité en univarié ($p < 0,25$) pour les modèles expliquant la présence de Fragmentations Ostéo-Chondrales uniquement (FOC seule), la présence d'au moins une lésion d'épiphysite (Epi) ou d'une lésion de type Kyste Osseux Sous-Chondral (KOSC)

FOC seule	Epi	KOSC	Facteurs de risque potentiels (25 variables)
			<u>Informations génétiques (2 variables)</u>
x	x		Race : Selle-Français ; Trotteur-Français ; Pur-Sang
	x		Sexe : femelle; mâle
			<u>Croissance (standardisée intra-race) et paramètres associés (7 variables)</u>
		x	Hauteur au Garrot (HG) à 30 jours (in cm)
x	x	x	Vitesse de croissance en HG
		x	Périmètre Thoracique (PT) à 30 jours (in cm)
		x	Vitesse de croissance en PT
x			HG/PT à 120 jours
x			Age de la mère en années : >10; [10-15]; >15
	x		Mère primipare : oui ; non
			<u>Conditions de pâturage et pratiques d'alimentation (9 variables)</u>
x		x	Mois de naissance : janvier-fevrier ; mars-avril ; >avril
x	x	x	Age à la première mise à l'herbe du foal : 1 semaine ; 2 semaines ; 3-4 semaines; 2 mois ; ≥3 mois
			Sevré à l'examen radiographique : oui ; non
x	x		Quantité moyenne quotidienne de concentrés distribuée à la mère (kg)
			Durée de distribution de concentrés à la mère : ≤5 mois; >5 mois
		x	Quantité moyenne quotidienne de concentrés distribuée au foal (kg)
			Niveau de Ca/P pendant la gestation, lactation, et pour le foal : faible ; moyen ; moyen mais faible en lactation ; faible mais moyen pour le foal ; élevé
x			Niveau de Zn/Cu pendant la gestation, lactation, et pour le foal : faible ; moyen ; moyen mais faible en gestation ; élevé
x			Durée de distribution de CMV pendant la gestation, lactation, et pour le foal : jamais ; en gestation ; en gestation et lactation ; toujours mais durée restreinte pour le foal ; toujours
			<u>Pratiques d'élevage (7 variables)</u>
	x	IMP.	Taille du lot : grand pendant la Pp (période ≥3 juments suitées en Pp et <8 en Pt) ; grand permanent (période ≥3 juments suitées en Pp et période avec >8 en Pt); petit pendant la Pp (toujours <3 juments suitées en Pp)
x		x	Changement de lot avant l'examen radiographique : au moins 1 ; aucun
IMP.	x	x	Surface des pâtures en Pp : grande surface (période avec surface >1ha avant 2 semaines ou >6ha avant 2 mois); surface modérée permanente
x			Pente des pâtures : vit dans une pâture avec une pente >5%; toujours ≤5%
x			Régularité des sorties : irrégulières (période sans sorties ou limitées à 1-3 jours/semaine); sorties quotidiennes permanentes
x			Durée des sorties en Pp : élevée (période avec ½ ou 1 journée ou 24/24h avant 2 semaines, ou période avec sorties 24/24h avant 2 mois); durée modérée permanente
x		x	Type et fréquence des contacts avec l'homme : libre sur le haras avec contacts possibles ; en main sur le haras avec contacts possibles ; en main sur le haras avec contacts fréquents ; aucun contacts
			Facteurs d'ajustement potentiels (4 variables)
x	x	x	Age à l'examen radiographique (jours)
x	x	x	Année de naissance : 2002 ; 2003 ; 2004
	x	x	Nombre de participations du haras dans l'étude (en années) : 1 ; 2 ; 3
x	x	x	Haras

Pp : Période précoce, avant 2 mois ; Pt : Période tardive, après 2 mois ; IMP. : estimation impossible car séparation des données. x : $p < 0,25$, ∅ : $p \geq 0,25$

Tableau 4-7 : Effets ajustés des facteurs de risque retenus dans l'analyse multivariée pour les poulains atteints uniquement de fragmentations ostéo-chondrales

Facteur de risque	N	Odds-Ratio [Intervalle de confiance 95%] (45 vs. 145)
<u>Informations génétiques</u>		
Race		
Selle-Français vs. Pur-Sang	39 vs. 83	1,74 [0,41-7,43]
Trotteur-Français vs. Pur-Sang	68 vs. 83	1,43 [0,48-4,22]
Selle-Français vs. Trotteur-Français	39 vs. 68	1,22 [0,27-5,49]
<u>Pratiques d'alimentation</u>		
Distribution des concentrés à la mère		
<5 mois vs. ≥5 mois	25 vs. 165	7,78 [1,46-41,45]
<u>Pratiques d'élevage</u>		
Régularité des sorties		
irrégulières vs. quotidiennes permanentes	20 vs. 170	2,99 [1,19-7,48]
Contacts avec l'homme		
1-Main + contacts fréquents vs. aucun contact	36 vs. 10	22,68 [2,04-252,37]
2-Main + contacts possibles vs. aucun contact	114 vs. 10	10,42 [1,02-106,09]
3-Libre + contacts possibles vs. aucun contact	30 vs. 10	9,45 [1,22-73,31]
	2 vs. 1 114 vs. 36	0,46 [0,18-1,17]
	3 vs. 1 30 vs. 36	0,42 [0,10-1,68]
	2 vs. 3 114 vs. 30	0,91 [0,26-3,18]

Les OR significatifs sont en gras (p<0,05). Les résultats sont ajustés sur l'âge lors de l'examen radiographique et sur l'effet aléatoire haras.

Tableau 4-8: Effets ajustés des facteurs de risque retenus dans l'analyse multivariée pour les poulains atteints d'au moins une lésion d'épiphysite

Facteur de risque	N	Odds-Ratio [Intervalle de confiance 95%] (46 vs. 200)
<u>Informations génétiques</u>		
Race		
Selle-Français vs. Pur-Sang	52 vs. 94	2,69 [1,19-6,10]
Trotteur-Français vs. Pur-Sang	100 vs. 94	0,91 [0,41-2,04]
Selle-Français vs. Trotteur-Français	52 vs. 100	2,94 [1,29-6,71]
<u>Croissance</u>		
Vitesse de croissance en Hauteur au Garrot ¹		1,53 [1,07-2,19]

Les OR significatifs sont en gras (p<0,05). Les résultats sont ajustés sur l'âge lors de l'examen radiographique. L'effet aléatoire haras ne permettait d'obtenir la convergence du modèle.

Tableau 4-9: Effets ajustés des facteurs de risque retenus dans l'analyse multivariée pour les poulains atteints d'au moins une lésion de type kyste osseux sous-chondral

Facteur de risque	N	Odds-Ratio [Intervalle de confiance 95%] (49 vs. 162)
<u>Informations génétiques</u>		
Race		
Selle-Français vs. Pur-Sang	38 vs. 92	3,53 [0,51-24,40]
Trotteur-Français vs. Pur-Sang	81 vs. 92	1,65 [0,52-5,22]
Selle-Français vs. Trotteur-Français	38 vs. 81	2,14 [0,33-14,06]
<u>Caractéristiques liées aux conditions de pâturage</u>		
Mois de naissance		
janv-fev vs. mar-avr	49 vs. 109	1,98 [0,57-6,93]
≥mai vs. mar-avr	53 vs. 109	3,73 [1,03-13,50]
≥mai vs. janv-fev	53 vs. 49	1,88 [0,27-12,83]
<u>Pratiques d'alimentation</u>		
Age à la première mise à l'herbe du foal		
1 semaine vs. 2 semaines	41 vs. 86	7,34 [1,92-28,01]
3-4 semaines vs. 2 semaines	58 vs. 86	3,83 [1,22-12,03]
2 mois vs. 2 semaines	21 vs. 86	2,65 [0,55-12,79]
≥3 mois vs. 2 semaines	5 vs. 86	8,97 [0,79-101,97]
≥3 mois vs. 2 mois	5 vs. 21	3,39 [0,24-47,50]
<u>Pratiques d'élevage</u>		
Surface des pâtures en période précoce		
élevée vs. modérée permanente	28 vs. 183	5,51 [1,00-30,39]
Contacts avec l'homme		
1-Main + contacts fréquents vs. aucun contact	36 vs. 17	0,75 [0,06-8,92]
2-Main + contacts possibles vs. aucun contact	136 vs. 17	2,96 [0,36-24,49]
3-Libre + contacts possibles vs. aucun contact	22 vs. 17	0,20 [0,01-2,61]
2 vs. 1	136 vs. 36	3,97 [0,86-18,39]
3 vs. 1	22 vs. 36	0,26 [0,01-5,14]
2 vs. 3	136 vs. 22	15,09 [1,05-217,59]

Les OR significatifs sont en gras ($p < 0,05$). Les résultats sont ajustés sur l'âge lors de l'examen radiographique et sur l'effet haras en aléatoire.

Chapitre 5 : Marqueurs de risque des AOAJ

Cette partie constituait l'objectif secondaire de la thèse et a été réalisée par Arnaud Pépin dans le cadre de son stage de Master 2 sous ma direction et celle de Nathalie Bareille (Pepin 2006).

Article à soumettre en anglais pour le 31/12/2007, revue visée : Equine Veterinary Journal

Lepeule J., Pepin A., Valette J.P., Robert C., Bareille N., Denoix J.M., Fortier G., Seegers H.

1. Introduction

Les Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ) affectent les chevaux durant leur première année de vie (Hoppe 1984). En 1986, McIlwraith incluait dans ces affections l'ostéochondrite disséquante (OCD), les kystes osseux sous chondraux (KOSC), les déformations angulaires des membres, les épiphysites et les malformations des os cuboïdes. Cependant, il n'existe pas de consensus sur les entités à inclure dans les AOAJ (Pool 1993, Hurtig et Pool 1996). Les AOAJ affectent toutes les races de chevaux, et sont principalement retrouvées dans le boulet, le jarret, le carpe, le grasset, l'épaule, et les vertèbres cervicales (Jeffcott 2005).

Ces affections constituent un réel problème pour l'ensemble de la filière équine (élevage, entraînement, compétitions) et de ses acteurs (propriétaires, éleveurs, entraîneurs, cavaliers). En effet, les AOAJ représentent une cause majeure de boiteries et de contre-performances chez le cheval en cours d'exploitation sportive (Hoppe 1984, Kane et coll. 2003). De ce fait, lors de la plupart des ventes, un examen radiographique reflétant le Statut Ostéo-Articulaire (SOA) du cheval est réalisé, pouvant engendrer une dépréciation des chevaux affectés par ces anomalies qui impliquent des pertes économiques élevées pour l'ensemble de la filière équine (Jeffcott 1991).

Plusieurs techniques permettent de diagnostiquer les AOAJ. Cependant, à ce jour, la radiographie est la technique la plus répandue et la plus appropriée (Hoppe 1984, Denoix et coll. 2002). Toutefois, elle présente certaines lacunes quant à l'identification des lésions des tissus mous et du cartilage (Jeffcott

2005). De plus, cette pratique reste onéreuse, notamment pour les éleveurs ayant de nombreux poulains, et difficile à mettre en œuvre sur des animaux encore jeunes et délicats à manipuler.

Le pronostic des AOAJ pourrait être amélioré par un diagnostic plus précoce que celui permis par la radiographie. En effet, les lésions d'ostéochondrose (OC) peuvent se développer dès la croissance embryonnaire, lors de la genèse de l'os sous-chondral (Carlsten et coll. 1993, Olstad et coll. 2007). Les différentes entités n'apparaissent pas au même âge et les périodes d'expression des symptômes sont propres à chacune (Jeffcott 2005). Ainsi des fenêtres de vulnérabilité existent, différentes pour chaque articulation, pendant lesquelles ces dernières sont plus sensibles aux stimuli pathogènes (McIlwraith 2004) et pendant lesquelles les AOAJ peuvent se développer davantage ou même régresser (Carlsten et coll. 1993, Dik et coll. 1999). Dans ce contexte, la détection précoce des AOAJ pourrait s'avérer très utile, permettant d'effectuer les changements nécessaires dans les conduites d'élevage en termes de suivi de la croissance, d'alimentation, et de management des poulains avant l'installation définitive des AOAJ.

Les AOAJ se caractérisent par des dérèglements lors du processus d'ossification endochondrale (Olsson et Reiland 1978, McIlwraith 1993). Les bio-marqueurs, dits encore marqueurs biochimiques, sont des indicateurs des phases normales de formation et de résorption osseuses qui s'opèrent tout au long de la vie du cheval (McIlwraith 2005). Ces marqueurs sont souvent des molécules qui peuvent être retrouvées dans le liquide synovial, dans le sang, ou les urines. Ainsi, il est envisageable que des variations dans les différentes concentrations de ces marqueurs puissent être associées à des dérèglements des mécanismes de formation et résorption osseuses et éventuellement liées à l'apparition ou non d'AOAJ (Perez et coll. 2004).

Depuis quelques années, la plupart des bio-marqueurs du remodelage osseux et cartilagineux utilisés chez l'homme ont été testés chez le Cheval (Delmas 1993, Lepage et coll. 2001, Price et coll. 2001, McIlwraith 2005). Les dosages sanguins sont en général préférés aux dosages dans la synovie ou dans les urines car le sang est le plus facile à prélever, *a fortiori* sur des sujets très jeunes et peu manipulés comme dans le cas des AOAJ. Ainsi, certaines études ont pointé, entre autres (McIlwraith 2005) quelques bio-marqueurs, dont l'ostéocalcine (OST) et la fraction osseuse des Phosphatases Alcalines (PALoss) comme étant des indicateurs faciles à doser, sensibles et précoces pour le diagnostic ou le suivi de certaines affections osseuses chez le cheval (Perez et coll. 2004, Billingham et coll. 2004, Fortier et coll. 2005, McIlwraith 2005). En effet, lors de la phase de formation osseuse, il y a libération dans le sang de molécules caractéristiques de la prolifération, de la maturation, et de la minéralisation de la matrice extracellulaire. Lors de cette maturation, l'activité des Phosphatases Alcaline (PAL) augmente, et plus particulièrement celle de l'iso-enzyme osseuse. Après cette maturation, se produit un phénomène de minéralisation de

la matrice osseuse qui nécessite l'intervention de l'OST. Cette protéine est considérée comme un marqueur fiable et spécifique de la formation osseuse (Delmas et coll. 1990, Lepage et coll. 1997, Fortier et coll. 2001, McIlwraith 2005). Suite à cette phase, ces marqueurs sont libérés dans le sang (Perez et coll. 2004). Pendant la phase de résorption, il se produit une libération dans le sang de nombreux produits tissulaires ou néo-synthétisés par les ostéoclastes. C'est le cas de divers dérivés de l'hydrolyse du collagène dont l'hydroxyproline (HXP) (Perez et coll. 2004). Ce marqueur n'est pas spécifique de l'os, car il peut provenir de la dégradation de plusieurs formes de collagène mais la majorité du collagène se retrouvant dans l'os, on peut le considérer comme un marqueur de la résorption osseuse (Jaeschke 1975, Fortier et coll. 2001). Cependant, ces marqueurs comportent aussi l'inconvénient d'être plus ou moins spécifique des AOAJ, puisqu'ils sont sensibles à différents facteurs comme le sexe (Jackson et coll. 2003), la race (Lepage et coll. 1998), l'âge (Lepage et coll. 1990, Price et coll. 2001), l'exercice (Price et coll. 1995, Jackson et coll. 2003) ou la période de prélèvement (Lepage et coll. 1991, Jackson et coll. 2003).

L'objectif de ce travail était donc d'établir la valeur informative de trois marqueurs biochimiques dosés dans le sang (OST, HXP, PALoss) en tenant compte de leurs facteurs de variation, vis-à-vis du SOA à 6 mois. Ces marqueurs pourraient informer sur le risque d'AOAJ du poulain ; l'éleveur pourrait alors adapter ses pratiques et mettre en place au plus tôt des stratégies préventives ou correctives sur les facteurs environnementaux potentiellement impliqués dans la présence des AOAJ ou même envisager une intervention chirurgicale.

2. Matériels et Méthodes

2.1. Echantillon d'étude

Les analyses se sont basées sur les résultats de 1269 prélèvements sanguins réalisés sur 378 poulains suivis de 0 à 6 mois soit en moyenne 3,4 prélèvements par poulain. Les poulains étaient nés en 2002, 2003, ou 2004 et issus de 21 élevages Bas-normands. Trois races étaient représentées : Selle-Français (SF), Trotteur Français (TF), et Pur-Sang (PS). La quasi-totalité des élevages inclus présentaient une seule race de chevaux, et tous étaient sélectionnés sur la base du volontariat. Le nombre de prélèvements sanguins, l'âge aux prélèvements, ainsi que le délai entre deux prélèvements successifs n'étaient pas constants pour tous les poulains.

2.2. Paramètres biochimiques

Les prélèvements étaient conservés sous couvert du froid jusqu'à leur acheminement au laboratoire dans les 24h suivant la prise de sang. Ils étaient ensuite soit analysés dans la foulée (HXP et PALoss), soit aliquotés et

congelés (OST) ; l'analyse était alors effectuée quelques semaines plus tard, lorsqu'un nombre suffisant de prélèvements était disponible.

Deux marqueurs directs de la formation osseuse (Price et Baukol 1980, McIlwraith 2005), l'OST et la PALoss, ont été dosés, ainsi qu'un marqueur de la résorption osseuse, l'HXP (Delmas 1993). L'OST est une protéine non collagénique de la matrice osseuse produite par les ostéoblastes dont 10 à 25% passent dans la circulation sanguine. Le dosage de l'OST a été réalisé par une méthode radio-immunologique (OSTK, CIS-Bio International, Inc., Gif-sur-Yvette, France), technique caractérisée par sa très grande sensibilité et sa fiabilité. Le seuil de détection sur l'échantillon était de 0,50 ng/ml et les coefficients de variations intra-échantillon et inter-échantillon étaient respectivement de 3% et 5,5%. Le kit commercial a déjà été évalué chez l'homme (Lepage et coll. 1997) et utilisait la même méthode de détection que celle validée pour les chevaux (Delmas et coll. 1990).

La phosphatase alcaline totale est une glycoprotéine peu spécifique de l'os en raison de sa forte activité dans le foie, le tube digestif et le pancréas notamment. En revanche, l'iso-enzyme osseuse (PALoss) produite par les ostéoblastes joue un rôle important dans le processus de formation osseuse (Fortier et coll. 2001, McIlwraith 2005). La PALoss a été dosée par électrophorèse : Automate Hydrasys SEBIA sur gel d'agarose, selon recommandation de l'International Federation of Clinical Chemistry.

L'HXP est un acide aminé relâché pendant la dégradation du collagène tissulaire dont près de 90% est dégradé en acides aminés libres qui circulent dans le plasma, notamment pendant la phase de résorption osseuse. L'HXP a été extraite du sérum puis quantifiée par la méthode colorimétrique utilisée pour le dosage du collagène dans les viandes (Jaeschke 1975).

2.3. Statut Ostéo-Articulaire

Le SOA des poulains a été évalué à l'aide d'un examen radiographique des membres réalisés sous sédation à l'âge de 6 mois environ. L'examen comprenait 5 incidences radiographiques bilatérales sur lesquelles 15 sites anatomiques bilatéraux ont été différenciés : le carpe de face, les doigts antérieur et postérieur de profil, le jarret et le grasset de profil. Chaque dossier radiographique a été interprété par un même collègue composé de trois vétérinaires équitiers. Pour chacun des 15 sites anatomiques bilatéraux, la présence d'images radiographiques d'AOAJ ainsi qu'un score de sévérité de 1, 2, 4 ou 8 ont été consignés. Le détail du protocole radiographique et de l'interprétation des images radiographiques ont été publiés par ailleurs (Lepeule et coll., *American Journal of Veterinary Research, en révision*). La somme des 30 scores de sévérité a permis d'obtenir pour chaque poulain un score radiographique global (SR) reflétant le SOA du poulain au moment du sevrage. En fonction de leur SR, les poulains ont été classés en trois catégories : SOA excellent à bon dits, par

abus de langage « poulains sains » (SR = 0 ou 1), SOA bon à moyen dits aussi « poulains peu lésés » (SR [2-5]), SOA moyen à médiocre, dits aussi « poulains très lésés » (SR > 6). Notre étude (Lepeule et coll., *American Journal of Veterinary Research, en révision*) a montré la validité interne du système de gradation de la sévérité des AOAJ utilisé, à l'aide d'une analyse de répétabilité. Cette analyse montrait que les discordances concernaient essentiellement les lésions gradées 1. Ainsi, pour éviter des erreurs de classement des poulains nous avons choisi de considérer les poulains avec une seule AOAJ de gradée 1 (*i.e.* SR=1) comme des poulains sains.

2.4. Analyse statistique

L'analyse du caractère informatif de l'OST, la PALoss, et l'HXP a été effectuée en deux étapes. La première étape a consisté à identifier les facteurs susceptibles de modifier les concentrations plasmatiques des trois bio-marqueurs étudiés. La seconde étape a consisté à établir la valeur informative de ces trois marqueurs sur le SOA, ajustée des facteurs de variation potentiels, afin de ne pas attribuer à tort aux marqueurs un caractère informatif qui serait finalement dû aux facteurs de variation.

2.4.1. Facteurs de variation des marqueurs

L'âge des poulains a été pris en compte, ainsi que des facteurs liés aux conditions des prélèvements sanguins tels que l'heure et le mois de prélèvement, la présence d'une sédation ou non, et le profil inflammatoire ou infectieux du prélèvement réalisé (protéines totales > 70g/l, fibrinogène > 5g/l, ou numération leucocytaire > 16 000 /mm³).

Pour identifier les facteurs de variation, des modèles linéaires mixtes avec un processus autorégressif d'ordre 1 en temps continu, soit une structure de covariance spatiale, ont été utilisés (Jones et Boadi-Boateng 1991). La transformation logarithmique des concentrations a permis d'obtenir une homoscedasticité de l'erreur. Les 3 marqueurs n'ayant pas une évolution constante au cours du temps, un changement de pente à âge donné a donc été pris en compte et choisi par maximisation de la vraisemblance. Les facteurs de variation avec une p-valeur < 25%, ajustée sur l'âge au changement de pente, ont été retenus pour l'analyse multivariée, pour laquelle une procédure pas à pas descendante (p-valeur < 0,05) a été mise en oeuvre. Les facteurs de confusion ont été conservés lorsque la variation sur les coefficients du modèle était > 20%. Les pourcentages de variations expliquées par les modèles (R²) ont été calculés. Cette stratégie d'analyse a été effectuée indépendamment pour chacun des trois marqueurs.

Les modèles étaient donc de la forme suivante :

$$\text{Log(Marqueur)}_{ij} = \beta_0 + \beta_1 * \text{Age}_{ij} + \beta_2 * (\text{Age}_{ij} - \text{Age}_{cp}) * I_{(\text{Age}_{ij} > \text{Age}_{cp})} + X_{ij}^T \beta + \omega(\text{Age}_{ij})$$

Avec :

- $i=1$ à 393, $j=1$ à n_i ;
- n_i le nombre de mesures pour le poulain i ;
- Age_cp l'âge (en jour) de changement de pente du marqueur ;
- $I_{(Age_{ij}>Age_cp10)}$ qui vaut 1 si $Age_{ij}>Age_cp$ et 0 sinon ;
- X_{ij} la matrice des variables explicatives et β la matrice de leur coefficient ;
- $w(Age_{ij})$ le processus autorégressif ;

et avec l'hypothèse suivante : $\varpi_i \sim N(0, R_i)$, R_i étant la matrice de variance-covariance spatiale. Cette première étape a permis de calculer des valeurs théoriques attendues (ajustées sur les facteurs de variations identifiés) pour l'OST, l'HXP, et la PALoss. Ces valeurs théoriques ajustées des facteurs de variations ont été comparées aux valeurs observées, afin de déterminer le résidu qui pouvait signifier que les valeurs observées étaient plus faibles, plus élevées ou comme attendu. Ensuite, c'est l'aspect informatif des résidus qui a été évalué sur le SOA à 6 mois.

2.4.2. Valeur informative des bio-marqueurs sur le statut ostéo-articulaire

La seconde étape a consisté à étudier indépendamment la valeur informative de l'OST, l'HXP, et de la PALoss sur le SOA à 6 mois, à l'aide de modèles de régression logistique. L'objectif étant de prédire le SOA, nous avons utilisé deux modèles logistiques prenant chacun en compte l'ensemble des poulains et permettant de discriminer les poulains sains ($SR=0$ ou 1) des poulains lésés ($SR>1$), et les poulains sains ou peu lésés ($SR<6$) des poulains très lésés ($SR>5$). De plus, la valeur informative des trois marqueurs sur le SOA a été évaluée de deux manières en considérant soit des dosages ponctuels à âge donné soit l'évolution de plusieurs dosages.

Les modèles logistiques ont permis de déterminer la probabilité d'un poulain d'être affecté par les AOAJ. Pour différents seuils de probabilité à partir desquels on pouvait considérer le poulain atteint, la Sensibilité (Se) et la Spécificité (Sp) de la technique de détection ont été calculées pour chaque seuil. Ces différentes valeurs de Se et Sp ont ensuite servi à construire la courbe ROC (Receiver Operator Characteristic curve). C'est l'aire sous la courbe ROC qui a été utilisée pour évaluer le caractère informatif de chaque modèle.

Lorsqu'un modèle était significatif au seuil de 10% et que l'aire sous la courbe ROC était $\geq 0,7$ (Houe et coll. 2004), un point de coupure a été établi en maximisant l'index de Youden ($Se + Sp - 1$) (Houe et coll. 2004) afin d'obtenir la meilleure combinaison de Se et Sp possible. Toutefois, la Se a été privilégiée par rapport à la Sp car nous nous situons dans un objectif de dépistage. Le point

de coupure devait donc présenter $Se \geq Sp$. Le test de Hosmer-Lemeshow (Hosmer et coll. 1997) a été utilisé pour vérifier l'adéquation des modèles.

2.4.2.1. Valeur informative de dosages ponctuels

Afin de déterminer l'âge auquel les marqueurs étaient les plus informatifs du SOA, les modèles logistiques ont été mis en oeuvre pour différentes classes d'âge. Ces classes d'âges ont été choisies de façon à avoir un effectif suffisamment grand pour chacune sans contenir deux prélèvements du même poulain. Un effectif de 80 poulains dans chaque classe d'âge, et au moins 15 poulains pour chaque modalité du SOA a été fixé comme étant un minimum à respecter. Les classes d'âge retenues ont été les suivantes : [0-1mois[, [1-3mois[, [3-4mois[, [4-6mois[.

L'hypothèse de log-linéarité n'étant pas vérifiée entre les résidus des concentrations des 3 marqueurs et le SOA, l'OST, l'HXP, et la PALoss ont été classées en fonction du premier et du troisième quartile des distributions. Ce codage permettait d'obtenir trois catégories de poulains : les poulains ayant une concentration dite normale (entre le 1^{er} et le 3^{ème} quartile), ceux ayant une concentration dite faible et ceux ayant une concentration dite forte. Ces quartiles ont été calculés pour chaque classe d'âge étudiée.

2.4.2.2. Valeur informative de l'évolution de plusieurs dosages

Pour chaque poulain ayant au moins 3 prélèvements avant 6 mois, une pente moyenne et une valeur à 10 jours (correspondant à l'âge du changement de pente) ont été estimées par la méthode des moindres carrés. Ces deux informations ont été incluses dans les modèles de prédiction ainsi que l'interaction entre la pente estimée et la valeur estimée à 10 jours. Les deux variables ne vérifiant pas l'hypothèse de log-linéarité, elles ont également été codées en fonction des quartiles comme pour l'approche par dosages ponctuels, permettant ainsi de définir des pentes normalement décroissantes (entre le 1^{er} et le 3^{ème} quartile), fortement décroissantes, ou faiblement décroissantes.

Les différentes analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS[®] (version 8.1 ; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3. Résultats

3.1. Caractérisation de l'échantillon

La caractérisation de l'échantillon selon la race, le sexe et l'année de naissance des poulains est résumée dans le tableau 5-1. La distribution des potentiels facteurs de variation des bio-marqueurs est résumée dans le tableau 5-2. L'âge lors des bilans radiographiques était de 5,7 mois (172 ± 38 jours). La moitié des poulains avait un SOA à 6 mois très bon, et à l'inverse, 13% avaient un SOA qualifié de moyen à médiocre (tableau 5-3).

Tableau 5-1 : Répartition des poulains et des prélèvements sanguins réalisés au cours du suivi selon la race, le sexe et l'année de naissance des poulains

Caractéristique	Poulains (%)	Prélèvements sanguins (%)
Race		
Selle-Français	25,9	23,2
Trotteur Français	39,7	38,6
Pur-Sang Anglais	34,4	38,2
Sexe		
Mâle	47,4	47,9
Femelle	52,6	52,1
Année de naissance		
2002	38,4	37,3
2003	18,5	22,1
2004	43,1	40,6

Tableau 5-2: Répartition des prélèvements sanguins réalisés au cours du suivi selon le mois, l'heure, la sédation, et le profil inflammatoire ou non lors du prélèvement

Caractéristique	Prélèvements sanguins (%)
Mois de prélèvement	
Janv-Fev-Mars	10,0
Avril-Mai-juin	43,2
Juil-Aout-Sept	34,2
Oct-Nov-Dec	12,6
Heure de prélèvement	
Avant 10h	20,5
[10h ; 13h]	31,0
[13h ; 16h]	27,5
16h et plus	21,0
Sédaté	30,2
Profil inflammatoire ou infectieux	17,7

Tableau 5-3 : Répartition du statut ostéo-articulaire (SOA) des 378 foals selon leur score radiographique à l'âge de 6 mois environ

Score radiographique	Classe de SOA	Poulain (%)
0-1	excellent à bon	49,7
2-5	bon à moyen	37,3
>5	moyen à médiocre	13,0

3.2. Facteurs de variation des marqueurs

Le tableau 5-4 présente les facteurs de variation mis en évidence pour l'OST, l'HXP et la PALoss. Pour ces trois marqueurs, le changement de pente dans l'évolution des concentrations avait lieu à l'âge de 10 jours.

Tableau 5-4 : Estimation des effets fixes significatifs ($p < 0,05$) pour les modèles expliquant les logarithmes des concentrations plasmatiques en ostéocalcine (OST), hydroxyproline (HXP) et pour la fraction osseuse des phosphatases alcalines (PALoss)

Variable du modèle	Marqueurs biochimiques		
	(Effectif (N), R ²)		
	OST (N=882, R ² =0,54)	HXP (N=1220, R ² =0,72)	PALoss (N=1202, R ² =0,71)
Intercept	4,691	2,334	7,782
Age en jours	0,019	0,027	-0,130
- Différence de pente	-0,024	-0,031	0,124
Heure de prélèvement (versus <10h)		NS	
[10h-13h[-0,077		-0,010
[13h-16h[-0,006		0,054
[16h et plus[-0,009		0,085
Mois de prélèvement (versus Oct-Nov-Dec)	NS		NS
Janv-Fev-Mars		0,257	
Avril-Mai-Juin		0,238	
Juillet-Aout-Sept		0,005	
Profil inflammatoire ou infectieux (versus sains)	-0,128	-0,033	NS
Sédatis (versus non-sédatis)	NS	-0,080	-0,152

Les chiffres en gras sont significatifs (p -valeur $< 0,05$). Non-Significatif (NS)

Le principal facteur de variation de la concentration plasmatique en OST, HXP et PALoss était l'âge. La concentration plasmatique en OST et en HXP augmentait significativement pendant les 10 premiers jours de vie du poulain,

avant de décroître significativement avec l'âge avec une pente moyenne de $-0,005$ pour le logarithme (log) de l'OST et de $-0,004$ pour le log de l'HXP. La PALoss diminuait fortement avec l'âge du poulain durant les premiers jours de vie, puis continuait de décroître mais moins rapidement avec une pente moyenne de $-0,006$.

En ce qui concerne les conditions de prélèvement, l'heure du prélèvement avait un effet sur la concentration en OST et PALoss. En effet, les poulains prélevés en début de matinée avaient des concentrations en OST plus élevées que les poulains prélevés en fin de matinée, et des concentrations en PALoss plus faibles que ceux prélevés après 16h. Pour l'HXP, les poulains prélevés dans les 6 premiers mois de l'année avaient une concentration plus élevée que ceux prélevés à l'automne. Des différences de concentrations en OST et HXP selon le profil inflammatoire ou infectieux du poulain au moment de la prise de sang ont également été mises en évidence. Les poulains présentant un profil inflammatoire ou infectieux avaient une concentration en OST et HXP significativement plus faible au moment de ce prélèvement que les autres. Enfin, le fait d'avoir tranquilisé les poulains pour certains prélèvements a modifié les concentrations en HXP et PALoss. Les poulains tranquilisés avaient des concentrations plus faibles que celles obtenues pour les poulains non tranquilisés.

3.3. Valeur informative des marqueurs du métabolisme osseux vis-à-vis du statut ostéo-articulaire

Des liens significatifs ont été identifiés entre les concentrations en OST ($p < 0,01$) et HXP ($p < 0,05$) et le SOA à 6 mois. Ainsi, les poulains ayant un niveau d'OST élevé entre l'âge de 4 et 6 mois auraient plus de chances d'être sains à 6 mois par rapport aux poulains ayant un niveau d'OST faible (Odds Ratio (OR)_{forte/faible}=0,37, Intervalle de Confiance (IC) à 95%=[0,16-0,88]). De même, les poulains ayant un niveau d'OST élevé entre l'âge de 2 et 3 mois auraient plus de chances d'être sains ou peu lésés à 6 mois par rapport aux poulains ayant un niveau d'OST faible (OR_{forte/faible}=0,20, IC95%=[0,04-0,91]).

Pour l'HXP, entre l'âge de 2 et 3 mois, les poulains ayant un niveau élevé auraient plus de risques d'être lésés à 6 mois par rapport aux poulains ayant un niveau d'HXP faible (OR_{forte/faible}=2,83, IC 95%=[1,29-6,21]), et par rapport aux poulains ayant un niveau d'HXP normal (OR_{forte/normale}=2,28, IC 95%=[1,16-4,49]). De même, toujours entre l'âge de 2 et 3 mois, les poulains ayant un niveau élevé d'HXP auraient plus de risques d'être gravement lésés à 6 mois par rapport aux poulains ayant un niveau d'HXP faible (OR_{forte/faible}=6,05, IC 95%=[1,26-29,1]).

Cependant, les résultats de cette étude ont montré que le dosage de ces trois marqueurs de façon ponctuelle ou en tenant compte de leur évolution entre 0 et 6 mois n'apporte que peu d'information sur le SOA du poulain à 6 mois (tableaux

5-5 à 5-8). En effet, quels que soient les modèles testés, l'aire sous la courbe ROC était toujours <0,7 indiquant une capacité de prédiction du modèle insuffisante.

Tableau 5-5 : Valeur informative de la concentration en ostéocalcine vis-à-vis du statut ostéo-articulaire à 6 mois exprimé par le score radiographique (SR) pour les différentes classes d'âge en mois

Classe d'âge en mois	SR [0-1] vs. SR≥2				SR [0-5] vs. SR≥6			
	SR [0-1]	SR≥2	ASC	p-valeur	SR [0-5]	SR≥6	ASC	p-valeur
	N	N			N	N		
[0-1[140	138	0,52	0,82	244	34	0,57	0,31
[1-2[71	76	0,59	0,14	129	18	0,53	0,92
[2-3[12	80	0,56	0,36	121	21	0,65	0,07
[3-4[44	42	0,61	0,18	69	17	0,59	0,37
[4-6[55	78	0,61	0,07	111	22	0,61	0,24

ASC : Aire Sous la Courbe ROC (Receiver Operator Characteristic)

Tableau 5-6 : Valeur informative de la concentration en hydroxyproline vis-à-vis du statut ostéo-articulaire à 6 mois exprimé par le score radiographique (SR) pour les différentes classes d'âge en mois

Classe d'âge en mois	SR [0-1] vs. SR≥2				SR [0-5] vs. SR≥6			
	SR [0-1]	SR≥2	ASC	p-valeur	SR [0-5]	SR≥6	ASC	p-valeur
	N	N			N	N		
[0-1[154	154	0,52	0,79	271	37	0,56	0,46
[1-2[85	91	0,56	0,32	154	22	0,59	0,31
[2-3[111	109	0,59	0,02	197	23	0,65	0,05
[3-4[61	59	0,51	0,98	100	20	0,56	0,62
[4-6[117	125	0,52	0,86	215	27	0,57	0,26

ASC : Aire Sous la Courbe ROC (Receiver Operator Characteristic). Les résultats significatifs (p<0,05) sont en gras.

Tableau 5-7: Valeur informative de la concentration en phosphatase alcaline osseuse vis-à-vis du statut ostéo-articulaire à 6 mois exprimé par le score radiographique (SR) pour les différentes classes d'âge en mois.

Classe d'âge en mois	SR [0-1] vs. SR≥2				SR [0-5] vs. SR≥6			
	SR [0-1]	SR≥2	ASC	p-valeur	SR [0-5]	SR≥6	ASC	p-valeur
	N	N			N	N		
[0-1[152	150	0,52	0,83	268	34	0,56	0,44
[1-2[86	91	0,54	0,53	155	22	0,52	0,92
[2-3[108	108	0,51	0,98	193	23	0,54	0,77
[3-4[58	58	0,54	0,66	96	20	0,62	0,17
[4-6[116	126	0,52	0,86	214	28	0,53	0,85

ASC : Aire Sous la Courbe ROC (Receiver Operator Characteristic)

Tableau 5-8 : Valeur informative de l'évolution de la concentration des trois bio-marqueurs dans les 6 premiers mois de vie du poulain vis-à-vis du statut ostéo-articulaire à 6 mois exprimé par le score radiographique (SR)

Marqueur	SR [0-1] vs. SR≥2					SR [0-5] vs. SR≥6				
	SR [0-1] N	SR≥2 N	ASC	P- valeur pente	P- valeur valeur _{10i}	SR [0-5] N	SR≥6 N	ASC	P- valeur pente	P- valeur valeur _{10i}
OST	42	68	0,57	0,58	0,86	92	18	0,65	0,17	0,77
HXP	96	105	0,60	0,34	0,05	181	20	0,67	0,13	0,23
PALoss	97	105	0,56	0,64	0,71	182	20	0,66	0,20	0,73

ASC : Aire Sous la Courbe ROC (Receiver Operator Characteristic), Ostéocalcine (OST), Hydroxyproline (HXP), fraction osseuse des Phosphatases Alcalines (PALoss)

4. Discussion

La valeur informative des marqueurs a été établie dans les 6 premiers mois de vie du poulain. En fait, d'un point de vue préventif, il semblait intéressant de dépister les AOAJ le plus tôt possible de façon à mettre en place des stratégies préventives ou correctives très rapidement, sachant que certaines affections détectées après 8 mois (Dik et coll. 1999) ne peuvent plus être corrigées (sauf par chirurgie pour certaines affections). Nos résultats ont montré que l'information apportée par les concentrations en OST, HXP, et PALoss obtenues à partir de prélèvements ponctuels ou répétés entre 0 et 6 mois n'ont que peu d'intérêt dans le dépistage des poulains atteints d'AOAJ à 6 mois. Cependant, nous avons tout de même montré que la probabilité pour le poulain de présenter des AOAJ variait en fonction de la concentration en OST et en HXP obtenue à partir de prélèvements sanguins effectués à certains âges, et ceci ajusté sur les différents facteurs de variation mis en évidence pour chacun des trois marqueurs.

Notre analyse a permis de mettre en évidence des nombreux facteurs de variations des concentrations plasmatiques en OST, HXP et PALoss liés à l'âge, aux conditions de prélèvement sanguin, ou à l'état de santé du poulain au moment du prélèvement. Ces modèles expliquaient plus de 70% des variations de concentration pour deux de ces trois marqueurs, d'où la nécessité de les corriger de ces facteurs de variation. Il est possible que la part de variation des concentrations inexpliquée par ces modèles provienne de dérèglements dans l'ossification et ne soit pas liée à des facteurs extra-osseux.

D'autres auteurs ont mis en évidence des variations de ces marqueurs ont fonction du sexe (Jackson et coll. 2003) alors que Lepage et coll. (1992) n'en ont pas montré, ainsi qu'en fonction de la race (Lepage et coll. 1998), de l'exercice (Price et coll. 1995, Jackson et coll. 2003, Perez et coll. 2004), ou encore de l'alimentation (Perez et coll. 2004). Nous avons choisi de ne pas inclure ces facteurs car ceux-ci sont par ailleurs des facteurs de risque des AOAJ (Jeffcott 1991). Inclure ces facteurs aurait pu conduire à un surajustement des modèles et à des résultats biaisés. Cependant, nous avons tout de même évalué

le caractère prédictif des concentrations en OST, HXP, et PALoss ajustées sur les facteurs de variation significatifs tels que la race, le sexe, le mois de naissance, et la vitesse de croissance. Les résultats étaient sensiblement les mêmes et n'amélioreraient pas la qualité de la prédiction.

Nous avons montré un effet de l'âge pour les trois marqueurs avec un changement dans les évolutions des concentrations à partir de 10 jours. Pour l'OST et l'HXP, les concentrations augmentent pendant les 10 premiers jours avant de décroître. Pour la PALoss, la concentration décroît très fortement pendant les 10 premiers jours puis de façon plus modérée. Cette relation inverse entre les trois bio-marqueurs étudiés et l'âge est conforme aux résultats de travaux précédents (Lepage et coll. 1990, Hank et coll. 1993, Price et coll. 1995, Black et coll. 1999).

En ce qui concerne les conditions de prélèvement, un effet de l'heure de prélèvement a été constaté sur les concentrations en OST et PALoss. Certaines études ont prouvé l'existence d'un rythme circadien de remodelage osseux, entraînant de fortes variations de la concentration plasmatique pour certains marqueurs selon l'heure de prélèvement sanguin. Ainsi, Lepage et coll. (1991) montraient que les concentrations en OST et en Phosphatase Alcaline totale (PALtot) évoluaient au cours de la journée. Pour la PALoss, nos résultats sont cohérents avec ceux obtenus par Lepage et coll. (1991), puisqu'ils détectent un pic pour la PALtot entre 16 et 17h, et nous trouvons une concentration en PALoss significativement plus élevée après 16h par rapport aux prélèvements effectués avant 13h. En revanche, en ce qui concerne la concentration en OST, nos résultats montrant des différences entre les poulains prélevés avant 10h et entre 10h et 13h sont contradictoires avec ceux établis par Lepage et coll. (1991) qui n'ont pas mis en évidence de différence dans l'évolution de l'OST entre 8h et 17h, mais plutôt entre 20h et 8h. Toutefois, dans l'étude faite par Lepage et coll., les poulains étaient prélevés dans les mêmes conditions de vie tout au long de la journée. Or certaines études ont montré que la pratique d'exercice (Price et coll. 1995, Jackson et coll. 2003, Perez et coll. 2004) ou le mode d'alimentation (Perez et coll. 2004) pouvait modifier les concentrations de certains bio-marqueurs chez les animaux. Nous pouvons donc penser dans notre cas que cet effet de l'heure de prélèvement peut être en partie dû à la pratique d'exercice et au rythme journalier de remodelage osseux. Un poulain prélevé à 7h n'aura probablement pas eu d'activité physique contrairement à un poulain prélevé à 11h. Pour l'HXP, un effet du mois de prélèvement a été détecté mais aucune autre étude n'a mis en évidence ce facteur de variation, même si certaines suspectent l'existence de modifications saisonnières sur les bio-marqueurs (Souberbielle et coll. 1997).

Pour l'OST et l'HXP, nous avons constaté des concentrations plus faibles chez les chevaux présentant un profil inflammatoire ou infectieux au moment du prélèvement. De même, Perez et coll. (2004) ont montré que les affections hépatiques ou rénales sont responsables d'une augmentation de la concentration

en OST et à l'inverse, que d'éventuels traitements à base de corticoïdes produisent une réduction de l'activité ostéoblastique qui entraîne une diminution de la concentration en OST.

La valeur informative des trois marqueurs a été étudiée sous deux approches différentes, à l'aide de dosages individuels et de dosages répétés. Toutefois, ces deux approches ont permis de mettre en évidence un excès de risque dans certains cas, mais pas un pouvoir prédictif de ces marqueurs vis-à-vis du SOA à 6 mois. En effet, la discrimination n'était pas assez nette entre les concentrations des marqueurs des poulains sains et celles des poulains lésés. Ainsi il s'agit de marqueurs du risque d'AOAJ, mais qui ne peuvent ni être considérés comme des prédicteurs du risque d'AOAJ car leur pouvoir prédictif est insuffisant, ni comme des facteurs de risque. En effet, les facteurs de risque nécessitent d'être observés avant l'apparition des AOAJ. Or, les bio-marqueurs sont des témoins contemporains des AOAJ et ne peuvent pas être considérés comme des facteurs de risque.

Le SR, classé en trois catégories, utilisé pour étudier la valeur informative de ces trois marqueurs reflète un statut global mais ne tient pas compte de l'information spécifique à chaque articulation. Le SOA déterminé à partir de ce score reflète à la fois le nombre et la gravité des lésions. Ainsi, un poulain ayant quatre lésions de gravité 1 par exemple, a dans notre cas le même SOA qu'un poulain ayant une lésion de gravité 4. Il pourrait être intéressant d'étudier la valeur informative de ces marqueurs vis-à-vis d'un SOA évalué différemment, à partir du nombre de lésions, du type de lésion, etc. Par ailleurs, le processus dynamique des AOAJ a pu influencer nos résultats et conduire à la non-significativité du caractère prédictif observé. En effet, des AOAJ ont pu apparaître ou disparaître entre la réalisation des dosages et de l'examen radiographique, conduisant ainsi à des résultats discordants entre les deux tests. Cependant, cette hypothèse semble valide uniquement pour les poulains faiblement atteints.

Les résultats de la bibliographie qui avaient mis en avant ces marqueurs comme d'éventuels outils permettant le dépistage des AOAJ ou de l'OC, se basaient respectivement sur des méthodes de comparaison de moyennes (Fortier et coll. 2005) ou sur des corrélations (Billinghurst et coll. 2004). Une différence significative pour certaines concentrations avait été mise en évidence entre les poulains sains et les lésés. Toutefois, une différence de moyenne ou une corrélation différente de zéro et un valeur informative satisfaisante sont deux notions différentes ; la première permet d'obtenir une information au niveau d'une population globale alors que pour la seconde, l'information souhaitée se situe au niveau de l'individu. Dans notre cas, il existe bien pour certaines classes d'âge et pour certains marqueurs, une différence significative entre la moyenne

de la concentration des poulains sains et des lésés, mais cette différence n'est pas suffisamment importante pour pouvoir dépister les AOAJ d'un individu. Pour discriminer les poulains quant à leur SOA, la différence entre la distribution de la concentration des poulains sains et des lésés n'était pas suffisante. Nos résultats sont en accord avec ceux de Price et coll. (2001) qui ont montré qu'un dosage ponctuel de certains bio-marqueurs (dont l'OST) a une faible valeur informative sur certaines pathologies incluses dans les AOAJ.

5. Conclusion

Les concentrations en OST et HXP à partir de prélèvements sanguins réalisées à âges donnés ou suivis pendant un temps donné informent sur le risque de présence d'AOAJ à 6 mois. Cependant, la variabilité des concentrations d'OST, d'HXP, et de PALoss même corrigée des facteurs de variation ne permet pas de discriminer les poulains atteints et non-atteints pour pouvoir prédire la présence d'AOAJ à 6 mois.

Références

- Billingham RC, Brama PA, van Weeren PR, Knowlton MS, McIlwraith CW. Evaluation of serum concentrations of biomarkers of skeletal metabolism and results of radiography as indicators of severity of osteochondrosis in foals. *Am J Vet Res* 2004;62:143-150.
- Black A, Schoknecht PA, Ralston SL, Shapes SA. Diurnal variation and age differences in biochemical markers of bone turnover in horses. *J Anim Sci* 1999;77:75-83.
- Carlsten J, Sandgren B, Dalin G. Development of osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joint of Standardbred trotters. I. A radiological survey. *Equine Vet J suppl* 1993;16:42-47.
- Delmas P, Christiansen C, Mann KG, Price PA. Bone Gla Protein (Osteocalcin) Assay standardization report. *J bone Miner Res* 1990;5:5-11.
- Delmas P. Biochemical markers of bone turnover. *J Bone Miner Res* 1993;8:S549-55.
- Denoix JM, Audigié F, Tapprest J, Jacquet S, Coudry V. Les Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ) : Nature des lésions et diagnostic. In : *Compte-rendu de l'AVEF*. Le Touquet, France, 2002. 217-20.
- Dik KJ, Enzerink E, van Weeren PR. Radiographic development of osteochondral abnormalities, in the hock and stifle of Dutch Warmblood foals, from age 1 to 11 months. *Equine Vet J Suppl* 1999;31:9-15.
- Fortier G. Utilisation de paramètres biochimiques pour l'évaluation de la qualité de la croissance du poulain. *Bilan de l'action de vulgarisation et de démonstration sur l'alimentation équine en Basse Normandie*. 2001.
- Fortier G, Toquet MP, Valette JP, Robert C, Heymann D, Redini F, Denoix JM. Evolution de marqueurs biochimiques de la croissance des poulains en relation avec leur statut ostéo-articulaire. In: les Haras Nationaux, eds. *Actes de la 31ème Journée de la Recherche Equine*, 2 mars 2005, Paris. pp 21-33.

- Hank AM, Hoffmann WE, Sanecki RK, Schaeffer DJ, Dorner JL. Quantitative determination of equine alkaline phosphatase isoenzymes in foal and adult serum. *J Vet Intern Med* 1993;7:20-4.
- Hoppe F. Radiological investigations of osteochondrosis dissecans in Standardbred Trotters and Swedish Warmblood horses. *Equine Vet J* 1984;16(5):425-9.
- Hosmer DW, Hosmer T, Cessie S, Lemeshow S. A comparison of goodness-of-fit tests for the logistic regression model. *Stat Med* 1997;16: 965-80.
- Houe H, Ersboll AK, Toft N. Evaluating diagnostic tests. In: Houe H, Ersboll AK, Toft N, eds. *Introduction to Veterinary Epidemiology*. Frederiksberg, Denmark: Biofolia; 2004, pp 143-51.
- Hurtig MB, Pool RR. Pathogenesis of equine osteochondrosis. In: McIlwraith CW, Trotter GW, eds. *Joint Disease in the Horse*, Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1996. pp 335-57.
- Jackson BF, Blumsohn A, Goodship AE, Wilson AM, Price JS. Circadian variation in biochemical markers of bone cell activity and insulin-like growth factor-I in two-year-old horses. *J Anim Sci* 2003;81:2804-10.
- Jaeschke G. Routine determination of free hydroxyproline in horse serum methods and normal values. *Zentralbl Veterinarmed A* 1975;22:89-101.
- Jeffcott LB. Osteochondrosis in the horse - searching for the key to pathogenesis. *Equine Vet J* 1991;23:331-8.
- Jeffcott LB. Developmental diseases affecting growing horses. In: The Growing Horse: Nutrition and Prevention of Growth Disorders (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen:EAAP publication, 2004;243-56.
- Jones R, Boadi-Boateng F. Unequally spaced longitudinal data with AR(1) serial correlation. *Biometrics* 1991;47(1):161-75.
- Kane AJ, Park RD, McIlwraith CW, Rantanen NW, Morehead JP, Bramlage LR. Radiographic changes in Thoroughbred yearlings. Part 1: Prevalence at the time of the yearling sales. *Equine Vet J* 2003;35(4):354-65.
- Lepage OM, Marcoux M, Tremblay A. Serum osteocalcin or bone gla-protein, a biochemical marker for bone metabolism in horses : differences in serum levels with age. *Can J Vet Res* 1990;54:223-6.
- Lepage OM, Descoteaux L, Marcoux M, Tremblay A. Circadian Rhythms of Osteocalcin in Equine Serum. Correlation with Alkaline Phosphatase, Calcium, Phosphate and Total Protein Levels. *Can J Vet Res* 1991;55:5-10.
- Lepage OM, Marcoux M, Tremblay A, Dumas G. Sex does not influence serum osteocalcin levels in standardbred horses of different ages. *Can J Vet Res* 1992;56:379-81.
- Lepage OM, Eicher R, Uebelhart B, Tschudi P. Influence of type and breed of horses on serum osteocalcin concentration and evaluation of the applicability of a bovine RIA and a human IRMA. *Am J Vet Res* 1997;5:48-57.
- Lepage OM, Hartmann DJ, Eicher R, Uebelhart B, Tschudi P, Uebelhart D. Biochemical markers of bone metabolism in draught and warmblood horses. *Vet J* 1998;156:169-75.
- Lepage OM, Carstanjen B, Uebelhart D. Non-invasive assessment of equine bone : an update. *Vet J* 2001;161:10-23.
- Lepeule J, Robert C, Bareille N, Valette JP, Jacquet S, Seegers H, Denoix JM. A severity scoring system for radiographic findings in the limbs of foals and yearlings: presentation and evaluation of the intra-assessor reliability. *American Journal Veterinary Research, en révision*.

- McIlwraith CW. Proceeding of the AQHA Developmental Orthopaedic Disease Symposium, 1986, Amarillo, Texas. pp 1-77.
- McIlwraith CW. Inferences from referred clinical cases of osteochondritis dissecans. *Equine Vet J Suppl* 1993;16:27-30.
- McIlwraith CW. Developmental Orthopaedic Disease: Problems of limbs in young horses. *J Equine Vet Sci* 2004;24(11):475-479.
- McIlwraith CW. Use of synovial fluid and serum biomarkers in equine bone and joint disease: a review. *Equine Vet J* 2005;37(5):473-482.
- Olsson SE, Reiland S. The nature of osteochondritis in animals. Summary and conclusions with comparative aspects on osteochondritis dissecans in man. *Acta Radiol Suppl* 1978;358:299-306.
- Olstad K, Ytrehus B, Ekman S, Carlson CS, Dolvik NI 2007. Early lesions of osteochondrosis in the distal tibia of foals. *J Orthop Res. In press.*
- Pépin, A. Valeur prédictive du dosage précoce de paramètres biochimiques vis-à-vis du statut ostéo-articulaire du poulain. Mémoire de Master Professionnel 2ème année, *Institut de Santé Publique, d'Épidémiologie et de Développement, Université de Bordeaux 2*, 2006;64 pages.
- Perez M, Verde MT, Gonzalez JM. Marqueurs biochimiques du remodelage osseux : Possibilités d'utilisation en médecine vétérinaire. *Rev Med Vet* 2004;155:331-8.
- Pool RR. Difficulties in definition of equine osteochondrosis; differentiation of developmental and acquired lesions. *Equine Vet J Suppl* 1993;16:5-12.
- Price SJ, Baukol SA. 125-dihydroxyvitamin D3 increases synthesis of the vitamin K-dependant bone protein by osteosarcoma cells. *J Biol Chem* 1980;255:11660-3.
- Price JS, Jackson BF, Eastell R, Wilson AM, Russell RG, Lanyon LE, Goodship AE. The response of the skeleton to physical training: a biochemical study in horses. *Bone* 1995;17:221-7.
- Price JS, Jackson BF, Gray JA, Harris PA, Wright IM, Pfeiffer DU, Robins SP, Eastell R, Ricketts SW. Biochemical markers of bone metabolism in growing thoroughbreds : a longitudinal study. *Res Vet Sci* 2001;71:37-44.
- Souberbielle JC, Cormier C, Porquet D. Exploration biologique des ostéoporoses. *Journal d'Information Biomédicale* 1997;188:1-35.

Chapitre 6 : Discussion générale

Les travaux rapportés avaient pour objectif de quantifier le rôle relatif de la génétique, représentée par la race et le sexe, de la croissance, des pratiques d'alimentation et des pratiques d'élevage dans la prévalence des AOAJ chez le foal. La finalité à moyen terme de ce type d'étude est d'établir des recommandations aux éleveurs en vue de diminuer l'incidence et la prévalence des AOAJ. La première étape de cette démarche épidémiologique a été d'évaluer la qualité de la mesure de la maladie. Une étude de répétabilité de l'interprétation des radiographies a ainsi mis en évidence la cohérence des conclusions de lecture concernant les AOAJ. La validité interne de la mesure étant confirmée, la seconde étape a consisté à étudier la distribution de la présence, des différentes entités, et de la sévérité des AOAJ sur les différents sites anatomiques du poulain, dans l'objectif de définir une ou plusieurs mesures permettant de qualifier le SOA global au niveau du poulain. Les essais de classification des poulains ont mis en évidence des tendances sur des associations préférentielles entre sites atteints. Cependant, les types d'associations possibles étaient trop nombreux et insuffisamment représentés dans l'échantillon, pour permettre de classer simplement les poulains selon leurs ressemblances lésionnelles. A l'issue de ces deux premières étapes, le SOA des foals a donc été caractérisé de différentes manières : en considérant la présence ou non d'AOAJ, la présence ou non de certaines entités, le score radiographique global du poulain et le nombre d'AOAJ présentes. La troisième étape s'est intéressée aux facteurs de risque potentiels des AOAJ qui étaient trop nombreux et trop corrélés entre eux pour tous être inclus dans les modèles permettant d'expliquer le SOA des foals. Pour y remédier, chaque type de donnée parmi la croissance, les pratiques d'alimentation et les pratiques d'élevage, a fait l'objet d'une analyse préalable à l'aide de méthodes épidémiologiques et statistiques appropriées pour définir des variables plus synthétiques. Enfin, la dernière étape a consisté à mettre en relation ces variables synthétiques avec les différents SOA des poulains définis précédemment, afin de quantifier l'effet de chaque facteur de risque relativement aux autres, sur la présence d'AOAJ, la présence de certaines entités, et la sévérité de l'atteinte du poulain. Par ailleurs, une analyse du caractère informatif des dosages de certains marqueurs biochimiques sur le SOA des poulains à 6 mois a été réalisée afin d'évaluer leur intérêt dans le dépistage de ces affections. Ainsi, l'objectif initial a été atteint moyennant plusieurs étapes préalables qui ont chacune fait l'objet d'un travail de recherche à part entière.

L'objectif de cette discussion générale est de compléter les discussions des articles acceptés ou soumis, inclus dans les différents chapitres de la thèse. Cette partie permettra d'identifier les atouts et les limites de nos travaux liés au protocole d'étude et au recueil des données, d'une part, et liés aux différentes analyses réalisées, d'autre part. La contribution de nos travaux à la réflexion autour de l'étude de la prévalence des AOAJ et de leurs facteurs de risque sera résumée en fin de chaque partie. Enfin, les perspectives seront présentées dans une dernière partie. Les références bibliographiques déjà énoncées par ailleurs dans le manuscrit n'ont volontairement pas été citées afin de ne pas surcharger cette discussion. Seuls des appels à certaines parties du manuscrit, ainsi que les références bibliographiques concernant des idées nouvelles, ont été incluses ici.

1. Protocole d'étude et synthèse des données recueillies

Les principaux atouts et limites de nos travaux résident dans le protocole d'étude qui a été mis en oeuvre. Face à une demande pressante des éleveurs et plus généralement de la filière équine, l'unité BPLC a été sollicitée pour réaliser ce projet vu qu'elle avait déjà été impliquée dans une précédente étude visant à évaluer l'impact de l'alimentation sur les AOAJ. Le projet et la question globale initiale étaient très ambitieux et tout à fait pertinents et novateurs, incluant une large couverture thématique des facteurs de risque potentiels. Pour mener à bien ce projet, l'unité a fait appel à d'autres compétences en s'entourant d'experts pour chaque thématique abordée et qui ont chacun construit une partie du protocole. Ce mode de fonctionnement a induit une richesse des compétences certaine dans la mise en oeuvre de l'étude. Cependant, le protocole a été assemblé au détriment d'une certaine cohérence, manquant ainsi de coordination, de questions de recherche précises et d'une stratégie globale d'analyse définie *a priori*. Il a essentiellement été réalisé par des vétérinaires et était déjà mis en oeuvre avant le début de la thèse, sans collaboration avec des épidémiologistes et statisticiens. Par conséquent, deux problèmes majeurs se sont posés. D'une part, le schéma d'étude observationnelle choisi ne permettait pas toujours de répondre aux questions initialement posées. D'autre part, les données recueillies présentaient l'avantage d'être très détaillées et d'apporter une matière première riche, mais avec l'inconvénient d'être parfois touffues, redondantes et non-adaptées à une approche épidémiologique, voire même parfois inexploitable et donc dénuées d'intérêt pour une telle analyse.

Concernant le schéma d'étude réalisé, celui-ci peut être qualifié de cohorte prospective puisque les poulains ont été suivis entre la naissance et l'âge de 6 mois environ, durée pendant laquelle des mesures d'exposition aux facteurs de risque ont été réalisées, puis les foals ont fait l'objet d'une mesure de la maladie à l'âge de 6 mois environ. Cependant, ce schéma ne permettait pas de vérifier strictement la cohérence de la séquence exposition-maladie qui doit respecter

l'antériorité de l'exposition aux facteurs de risque par rapport à l'apparition des AOAJ. Pour tenter de pallier à ce problème, et afin de tendre au maximum vers le respect de cette séquence, les données sur les facteurs de risque ont été tronquées pour chaque animal à la date de l'examen radiographique. Toutefois, les AOAJ observées sur les radiographies pouvaient être présentes depuis de nombreux mois, rendant ainsi l'exposition étudiée en partie postérieure à l'apparition des AOAJ. Ainsi, vu le caractère dynamique des AOAJ, baser un tel schéma d'étude sur la prévalence à 6 ou à 18 mois, puisque ces données étaient celles disponibles, plutôt que sur l'incidence ne permettait pas d'étudier *sensu stricto* les facteurs de risque d'apparition des AOAJ, ce qui était l'objectif initial du projet. En effet, les AOAJ pouvant progresser ou régresser entre deux points de suivi, une approche d'analyse de survie, basée sur l'incidence des AOAJ et incluant davantage de points de suivi radiographique, aurait été plus adéquate pour représenter et étudier la dynamique d'occurrence et de régression des AOAJ ainsi que les facteurs de risque ou d'amélioration correspondants. Bien que nous disposions de deux examens radiographiques à 6 et 18 mois, le nombre de points de suivi était insuffisant pour réaliser ce type d'analyse. De plus, la réalisation d'une telle étude impliquerait d'autres problématiques telles que la nécessité de qualifier l'évolution du SOA global du poulain entre deux points de suivi en fonction de l'évolution de la localisation des AOAJ, de leur nombre, des entités observées, et de leur sévérité. Par ailleurs, le suivi de l'exposition aux facteurs de risque entre deux points de suivis entre l'âge de 6 mois et le début de l'exploitation sportive (18 mois pour les PS et TF, et 3 ans pour les SF) devient parfois très hasardeux chez le Cheval surtout pour les SF et les TF. En effet, après le sevrage, ceux-ci sont généralement groupés en lot au pâturage jusqu'à environ 18 mois pour les TF et 3 ans pour les SF. L'attention des éleveurs se focalise alors sur la prochaine génération de poulains et sur les autres activités du haras telles que les activités agricoles. Les pratiques d'alimentation et d'élevage des poulains varient alors beaucoup moins qu'entre 0 et 6 mois, mais sont plus difficiles à recueillir et à caractériser individuellement (ou par lot) de manière fiable. La situation est un peu différente pour les PS, qui font généralement l'objet de davantage d'attentions et sont souvent rentrés au box quotidiennement. Pour clore ce point de discussion, il est également nécessaire de rappeler que les études sur des données de survie impliquent des contraintes considérables en termes de coût et de temps passé pour le suivi des chevaux, à la fois pour les expérimentateurs et pour les éleveurs qui acceptent de participer, ce qui les rend difficile à mettre en oeuvre.

Concernant le traitement des données recueillies, à la fois sur la maladie et sur les expositions, une importante part des travaux de thèse a consisté à travailler avec chacun des experts de chaque domaine (AOAJ, croissance, pratiques d'alimentation et d'élevage) ayant recueilli les données, afin de comprendre la problématique sous-jacente et de parvenir à une approche plus

synthétique et adaptée à une analyse de facteurs de risque, tout en restant pertinente.

Pour les AOAJ, le passage d'une approche clinique à une approche épidémiologique moins détaillée et plus globale, a notamment été permis par l'étude de répétabilité, puis par le re-classement de la nature très détaillée des AOAJ en cinq entités, et par les approches au niveau du poulain permettant de définir globalement son statut ostéo-articulaire.

Pour les données concernant les facteurs de risque, le nombre de mesures de croissance par poulain a facilement permis de modéliser des courbes individuelles qui présentaient un très bon ajustement aux mesures réalisées. Seul le poids vif n'a pas été pris en compte car il avait été obtenu à des âges très variables. De plus, il s'agit d'une mesure peu fiable car variable selon le moment de la journée à laquelle elle est réalisée et qui est très corrélée à la hauteur au garrot et au périmètre thoracique (INRA 1990, Blanchard et coll. 2005). La partie des données sur l'alimentation portant sur la composition des fourrages n'a pas pu être exploitée car la majorité des fourrages conservés et de l'herbe pâturée dans les parcelles n'avait pas été prélevée à chaque saison. Or, la composition des fourrages est variable selon les espèces prairiales présentes, la saison, le climat, et selon l'entretien et la gestion des pâtures (INRA 1990). Par ailleurs, la synthèse des données alimentaires a consisté à passer d'une approche à visée nutritionnelle où la quantité alléguée de chaque nutriment distribué par la ration concentrée était détaillée, à un concept de pratiques d'alimentation plus global intégrant le fait que seules les informations sur les concentrés étaient exploitables et paraissaient discriminantes, à la différence des fourrages. De même, pour les données de pratiques d'élevage, la synthèse à l'aide d'avis d'experts a conduit à écarter certaines variables de l'analyse et à en regrouper d'autres recueillies sur des pas de temps très courts. Cette synthèse de l'ensemble des données recueillies a nécessairement conduit à une perte d'informations élémentaires. Cependant, cette étape était nécessaire pour entreprendre l'analyse statistique des facteurs de risque des AOAJ. En effet, d'une part, le nombre de variables potentielles à inclure dans les modèles était trop élevé par rapport au nombre de poulains étudiés, et d'autre part, ces variables étaient souvent très corrélées entre elles et risquaient de provoquer un sur-ajustement des modèles et des instabilités dans les estimations des coefficients et de leurs écart-types.

2. Recueil rétrospectif et niveau d'étude des pratiques d'alimentation et d'élevage

Parmi tous les facteurs de risque explorés, les données sur les pratiques d'alimentation et d'élevage sont celles qui ont posé le plus de difficultés de traitement, du fait de leur recueil réalisé de manière rétrospective et à l'échelle du poulain.

Concernant l'aspect rétrospectif du recueil, les visites avaient lieu environ deux fois (ou trois au maximum) par an et par haras avec des données enregistrées le plus souvent par pas de temps d'un mois. Ce principe faisait donc essentiellement appel à la mémoire des éleveurs, rendant ainsi les données moins fiables que lors d'un recueil prospectif (Bouyer et coll. 1995). De plus, le recueil étant réalisé « à dire d'éleveurs », certaines déclarations qui ne correspondaient visiblement pas aux pratiques réelles n'ont pas pu être vérifiées et donc exploitées, conduisant à des données manquantes pour certains haras. Par ailleurs, pour les pratiques d'alimentation, l'UP de nutrition n'est intervenue dans le recueil des données qu'à partir de la deuxième année de l'étude. Ceci a conduit à faire appel à la mémoire des éleveurs sur un délai long et à des données inexploitable pour 3 haras issus de la première cohorte. Ces nombreuses données manquantes, surtout pour les pratiques d'alimentation, ont probablement joué un rôle dans les résultats obtenus, en plus du mode de traitement réalisé sur ces données et de leur caractère incomplet sur les fourrages.

Par ailleurs, le choix du niveau de recueil des pratiques d'alimentation et d'élevage s'est porté au niveau du poulain plutôt qu'au niveau du haras, ce qui a entraîné de nombreuses colinéarités et effets de confusions entre variables et entre poulains d'un même haras. Les approches visant à synthétiser les différentes informations ont permis de résoudre partiellement ce problème. Les résultats obtenus ont facilement associé des odds-ratios significatifs à des paramètres particuliers. Cependant, dans des situations de fortes colinéarités entre variables, les facteurs mis en évidence peuvent effectivement être des facteurs de risque des AOAJ, impliquant un mécanisme potentiellement causal, mais pas seulement. Ils peuvent aussi simplement être des facteurs associés statistiquement aux AOAJ car ils représentent d'autres facteurs non explorés dans l'étude. Dans ce cas, les facteurs associés ne sont en général pas des causes d'AOAJ. Dans notre analyse, cela pourrait être par exemple le cas de la variable représentant les contacts homme/animal qui apparaît significative dans plusieurs modèles. Toutefois, on peut se demander s'il s'agit réellement d'un facteur de risque majeur d'AOAJ ou si cette variable représente une autre caractéristique particulière ou une conduite globale d'élevage qui serait le facteur de risque réel. Les colinéarités entre poulains d'un même haras ont été prises en compte par l'ajout d'un effet aléatoire par haras. Les problèmes de colinéarité entre variables pourraient quant à eux être résolus par le recueil de données au niveau du haras plutôt qu'au niveau du poulain, l'objectif étant, à partir de 3 ou 4 variables de pouvoir décrire les pratiques globales d'alimentation et d'élevage en cours dans ce haras. Il pourrait s'agir de typologies des haras qui permettraient de représenter globalement les conditions de vie des poulains. En santé humaine, ces problèmes liés au niveau d'étude sont rares. Les conditions de vie sont en partie dépendantes de la catégorie socio-professionnelle et sont, en général, représentées par l'inclusion de cette variable. En santé animale, l'équivalent n'existe pas car les conditions de vie des animaux dépendent des

choix de l'éleveur et sont difficilement appréhendables, *a fortiori* pour l'élevage de chevaux. En effet, si l'élevage de bovins, porcins, ou autres animaux de rente fait l'objet de conduites quasi-identiques pour tous les animaux ou lots d'un élevage donné, les conduites sont plus individualisées dans l'élevage de chevaux. Les conduites en lot existent également mais les lots changent et ne sont pas nécessairement tous conduits de la même manière. La problématique du niveau d'étude est donc très délicate et constituerait un point de recherche à part entière. A ce titre, les données recueillies sur les pratiques d'alimentation et d'élevage de notre étude pourraient constituer une base de départ.

3. Evaluation et définition opérationnelle du statut ostéo-articulaire des poulains pour ce type d'étude

La qualification du SOA des poulains était basée sur les caractéristiques de présence, nombre, sévérité et type d'entité des AOAJ identifiées sur les 5 clichés radiographiques bilatéraux effectués. Notre évaluation était plus étendue en termes d'articulations radiographiées et d'entités lésionnelles relevées que celle des précédentes études réalisées sur le sujet. Cependant, comme cela a déjà été discuté dans les articles, le protocole radiographique utilisé n'était pas exhaustif pour des raisons économiques et de sécurité des opérateurs de radiographie (cf. 3.3.1., chapitre 3 / 3.5., chapitre 3) et parce que les études en élevages commerciaux impliquent des contraintes (cf. 2.2.2., chapitre 3 / 2.4., chapitre 4) qui font que certaines articulations ne peuvent pas être radiographiées car elles nécessitent des appareils non-transportables et uniquement utilisables dans une clinique. C'est notamment les cas des articulations vertébrales et scapulo-humérale (épaule). Malgré ces limites, la question de l'évaluation du statut global des poulains a été exploitée en regard des résultats des deux premières étapes de la thèse qu'étaient la répétabilité et la description des AOAJ. Cette question n'ayant jamais été traitée dans la littérature, ou en tout cas pas avec autant de sites articulaires explorés, et à défaut de pistes plus ciblées, tous les types de classement ont été envisagés : présence, sites atteints, type d'entité, score radiographique global, nombre d'AOAJ.

Bien que l'étude de répétabilité ait validé la cohérence des données sur les AOAJ, les résultats de cette étude ont mis en évidence que les discordances concernaient essentiellement des AOAJ de faible sévérité (gradées 1) et allaient dans le sens d'une sous-estimation lors de la lecture de répétabilité (cf. 2.4., chapitre 3), et sur 2 sites particuliers (le carpe et l'articulation métacarpophalangienne). Ainsi, ces sites auraient pu être exclus de la suite des analyses pour éviter d'éventuelles erreurs de classement des poulains pouvant conduire à des biais dans l'analyse des facteurs de risque des AOAJ. Cependant, il a été décidé de les conserver car des biais dans l'élaboration du protocole de répétabilité indiquaient que la concordance sur les AOAJ, notamment celles de faible score de sévérité, était probablement meilleure que celle observée dans les conditions de cette étude. En effet, lors de la lecture de répétabilité, les

radiographies étaient lues par paires de clichés homologues, mais les deux clichés d'une même paire n'étaient pas issus du même poulain. De ce fait, l'évaluation du score de sévérité des AOAJ était d'une part, plus difficile car la base de comparaison était biaisée et ne correspondait pas au controlatéral de référence du poulain, et d'autre part, différente de celle de la première lecture. De plus, la sur-représentation des clichés avec des AOAJ lors de la lecture de répétabilité a pu conduire à une sous-estimation des lésions de faible sévérité (cf. 2.4., chapitre 3). Ainsi, afin d'éviter les biais de classement, les corrections n'ont pas été réalisées au niveau des AOAJ, mais au niveau du SOA des poulains. Les malformations des vertèbres cervicales et les OCD de l'épaule (détectées au cours des visites de suivi) ont été prises en compte (cf. 1.1., chapitre 3) pour éviter les poulains faux négatifs. Cependant, du fait de la non exhaustivité du protocole radiographique, d'autres poulains faux négatifs sont très probablement présents dans l'échantillon. De même, suite aux résultats de répétabilité, et après discussion avec les cliniciens, les poulains avec un score radiographique de 1 ont été considérés comme sains pour éviter les faux positifs (cf. 4.1., chapitre 3 / 2.2.2. chapitre 4). Ces reclassements sont discutables. En toute rigueur, il aurait mieux valu exclure ces poulains dont le SOA posait question. Il a cependant été choisi de les conserver afin de ne pas diminuer davantage les effectifs (cf. 4., chapitre 3). Ces erreurs de classement ont pu se répercuter en termes de biais sur les résultats des analyses de facteurs de risque. Dans notre cas, l'erreur de classement la plus probable consiste en un défaut de sensibilité, considérant que le défaut de spécificité est moins plausible (cf. 2.4., chapitre 3). A priori, aucune hypothèse ou argument ne permet de suspecter que les erreurs de classement persistantes affectent majoritairement les poulains exposés aux facteurs de risque ou bien les poulains non-exposés, ce qui aurait alors laissé craindre des biais dans les effets estimés. Dans notre cas, il est raisonnable de supposer une répartition plutôt équilibrée des erreurs de classement entre les poulains exposés et non-exposés, conduisant ainsi à une perte de puissance des estimations sans toutefois affecter le niveau du risque. Cette probable perte de puissance a pu affecter l'ensemble des analyses de facteurs de risque que ce soit pour la présence d'AOAJ, la présence de certaines entités, le score global, ou le nombre d'AOAJ.

Concernant, l'évaluation qualitative du SOA en fonction des sites ou des entités, l'absence de structure dans la répartition des AOAJ par site et d'associations franches entre sites n'a pas permis d'exprimer le SOA des poulains en fonction de la localisation des AOAJ. Il est possible que ce résultat soit lié au relativement faible effectif de notre échantillon et que la structure aurait été plus visible sur un échantillon plus grand et / ou mono-racial. Cependant, l'absence d'association des lésions sur différents sites est également suggérée par les études de génétique quantitative. En effet, dans la plupart des études, les corrélations entre lésions d'OC sur différents sites sont faibles qu'il

s'agisse de corrélations phénotypiques (Grondahl et Dolvik 1993, Touzot-Jourde et coll. 1998) ou génotypiques (Grondahl et Dolvik 1993, Philipsson et coll. 1993, Stock et Distl 2005, 2006). Seule une approche par entité a pu être réalisée, tout en sachant que la localisation et la nature des AOAJ sont très liées (cf. 3.1.1., chapitre 3). Cependant, et mis à part pour les FOC (dites aussi OC dans les articles), l'étude des entités n'a pas pu être réalisée de manière exclusive faute d'effectifs suffisants. Les classements étudiés étaient donc du type « au moins une lésion appartenant à l'entité xxx » plutôt que « uniquement des lésions appartenant à l'entité xxx ».

Concernant l'évaluation quantitative de la sévérité du SOA des poulains, celle-ci a été caractérisée à l'aide de catégories dépendantes du score radiographique et à l'aide du nombre d'AOAJ. Plusieurs notions sont discutables dans de tels classements : l'affectation de scores de sévérité non-équidistants (1, 2, 4, 8) pour les AOAJ, la définition d'un score radiographique global par poulain mettant à la même hauteur un poulain avec 4 AOAJ gradées 1 et un poulain avec 1 AOAJ gradée 4, et enfin, la définition des seuils pour classer le SOA des poulains en fonction de ce score radiographique. L'utilisation de scores croissants et non équidistants avec l'aggravation des AOAJ est justifiée par le caractère très invalidant des AOAJ gradées 4 et 8 par rapport aux AOAJ gradées 1 ou 2 (cf. 2.2.3., chapitre 3/ 3.3.1., chapitre 3). L'utilisation d'un score, quel qu'il soit, est souvent insatisfaisante car il amalgame nécessairement différentes structures et c'est bien l'objectif recherché. Il est cependant nécessaire de remettre cette notion en perspective lors de l'interprétation des résultats et de ne pas restreindre l'analyse au seul score, ce qui est notre cas. La définition de seuils pertinents est un problème récurrent en épidémiologie (Bouyer et coll. 1995, Dohoo et coll. 2003). La réponse à ce type de discussion réside dans le lien entre les seuils définis et ce que l'on cherche à expliquer. Dans notre cas, les seuils définis avaient pour objectif de discriminer les poulains en fonction de l'impact probable du SOA sur la mise au travail et la gestion de l'entraînement des foals (cf. 2., chapitre 2).

Au final, la prise en compte de l'ensemble des articulations qui peuvent être radiographiées avec un appareil mobile et qui permettent une bonne qualité des clichés, ainsi que de l'ensemble des entités incluses dans les AOAJ sans se limiter à l'OC (cf. 2.2., chapitre 1), a permis des avancées conséquentes dans la description et la construction d'une grille de lecture des AOAJ, la description de la distribution et des caractéristiques des AOAJ, l'étude des associations entre sites atteints, et la définition du SOA des poulains. Lorsque l'on souhaite étudier les facteurs de risque d'une maladie, les étapes de définition de celle-ci sont essentielles. Dans cet objectif, nos travaux ont permis de proposer une grille de lecture cohérente des AOAJ, dont les critères sont les mêmes pour toutes les articulations des membres des poulains, ce qui constitue un paramètre important de praticité pour les futurs utilisateurs. Cette grille permet de juger de la

présence d'AOAJ et du type d'entité, mais donne surtout des critères pour l'évaluation de la sévérité des AOAJ, ce qui jusque là était une caractéristique évaluée de manière très hétérogène dans la littérature (cf. 2.1.4., chapitre 1). Il s'agit d'une première étape pour la validation de la méthode en vue d'une homogénéisation des évaluations radiographiques en France (ventes publiques ou privées) et à l'international, qui favoriserait une meilleure comparabilité entre études pour le secteur de la recherche.

Par ailleurs, la richesse de l'information sur la maladie a conduit à qualifier globalement le SOA des poulains de différentes manières. Nos travaux ont montré que peu d'associations existaient entre sites atteints et qu'il n'était pas possible de différencier distinctement un petit nombre de groupes de poulains en fonction de leurs ressemblances lésionnelles intra-groupe. Cette étude a cependant apporté une meilleure connaissance des caractéristiques d'occurrence des AOAJ qui a été valorisée par un article décrivant les différences raciales de la distribution des AOAJ en fonction des entités, des sites de localisation, et de la sévérité de celles-ci (Lepeule et coll., *Animal, accepté*). Ces résultats ont par ailleurs été valorisés en terme d'impact sur le protocole de dépistage radiographique avec un article en français dans le cadre de la Journée de la Recherche Equine 2006 (cf. annexe 3). Le SOA des poulains a alors été qualifié par la présence/absence de certaines entités. De plus, l'échelle du score de sévérité utilisé pour grader chaque AOAJ prend en compte et permet une utilisation dans un calcul de score radiographique plus global du poulain permettant de représenter la sévérité de l'atteinte du SOA du poulain. La définition de tels statuts permet d'en étudier les différents marqueurs et facteurs de risque.

4. Détermination de marqueurs de risque des AOAJ

Les concentrations des paramètres biochimiques varient en fonction des processus inflammatoires et des altérations métaboliques du poulain (McIlwraith 2005). Dans notre étude, le choix de les considérer comme des marqueurs plutôt que comme des facteurs de risque, a été principalement guidé par ces hypothèses biologiques qui les placent comme des témoins quasi-immédiats des AOAJ (McIlwraith 2005), et par leur caractère non-opérationnel pour la maîtrise (il n'est pas possible d'agir directement sur ces affections par leur intermédiaire). Quelle que soit la maladie étudiée, et qu'il s'agisse de santé animale ou humaine, les études visant à démontrer que le dépistage d'une maladie (dès lors qu'un traitement ou une prévention secondaire ou tertiaire sont possibles) est envisageable grâce à un simple dosage dans un fluide biologique sont très en vogue et appréciées du public. En effet, selon la maladie d'intérêt, un simple dosage est souvent moins invasif, moins coûteux, et plus rapide que certains examens complémentaires. Ces pratiques de dépistage entraînent ainsi

une compétition entre les différents examens complémentaires, liée à l'intérêt économique pour ceux qui les pratiquent. Pour prouver l'efficacité des méthodes de dépistage, certaines études se basent sur des comparaisons de moyennes entre groupes. Elles permettent alors de montrer des tendances ou d'identifier éventuellement des facteurs de risque, mais ne permettent pas de juger de l'aptitude de la méthode à discriminer les individus sains et atteints. C'est ce type d'étude qui avait été réalisé antérieurement à la nôtre (cf. 4., chapitre 5) alors qu'au niveau individuel, nous n'avons montré aucun caractère prédictif de nos modèles. *Stricto sensu*, le terme de caractère prédictif des dosages sur le SOA n'est pas adapté dans notre cas puisque les variations des concentrations sont concomitantes ou quasi-immédiates après l'apparition des AOAJ. Le terme prédictif fait donc référence à l'examen radiographique, car les dosages des marqueurs peuvent être réalisés avant celui-ci. La principale limite de notre étude concerne les dosages pris en compte qui n'étaient pas toujours accompagnés de radiographies au même moment. Or, vu le caractère dynamique des AOAJ, ceci a pu influencer les résultats. Une solution serait d'analyser à nouveau les données en utilisant uniquement les dosages concomitants aux examens radiographiques, ainsi qu'en excluant les poulains avec un score radiographique de 1 reclassés parmi les sains. Cette approche diminuerait cependant considérablement les effectifs. Par ailleurs, il convient de distinguer les caractéristiques informatives intrinsèques des dosages par rapport au SOA (sensibilité et spécificité), de la valeur prédictive des dosages qui va dépendre de la prévalence dans la population prélevée. Ainsi, un test avec une bonne sensibilité (95%) pourra avoir une valeur prédictive positive mauvaise si la prévalence est faible. De même, un test avec une mauvaise sensibilité (70%) pourra avoir une valeur prédictive positive bonne si la prévalence est élevée. Des analyses ultérieures pourraient permettre de représenter les valeurs prédictives en fonction de la prévalence dans la population, ainsi que d'évaluer le pouvoir prédictif de plusieurs marqueurs combinés sur les SOA.

Au final, il faut rappeler que ces marqueurs ne sont pas spécifiques des AOAJ et qu'ils peuvent également varier en fonction d'autres anomalies osseuses et en fonction de facteurs extra-osseux (cf. 3.2., chapitre 5). De plus, à l'heure actuelle, la réalisation de dosages tels que l'ostéocalcine, l'hydroxyproline, ou les phosphatases alcalines osseuses reste coûteuse (entre 25 et 40 euros par marqueur) et par nature moins informative sur la localisation, et la sévérité des AOAJ qu'un examen radiographique. En l'état actuel des recherches, les bio-marqueurs étudiés pourraient éventuellement être utilisés de manière complémentaire mais non-substituable à la radiographie pour le dépistage des AOAJ.

5. Détermination de facteurs de risque des AOAJ

Pour cette partie de la discussion, le lecteur peut se référer au tableau 6-1 récapitulatif de l'ensemble des résultats issus des analyses multivariées de régression logistique (voir aussi le tableau des résultats issus de l'analyse multivariée à l'aide du modèle ZIP (cf. 3.3., chapitre 4). Au vu de l'état de la bibliographie sur les AOAJ et leurs facteurs de risque, l'analyse multivariée que nous avons réalisée consistait en un travail novateur, mais aussi très exploratoire et dont l'aboutissement a nécessité des étapes préalables tout autant exploratoires et non moins complexes. Malgré tout, une certaine cohérence des résultats des différentes modélisations peut être observée. Une hauteur au garrot élevée à 30 jours ou dont la vitesse d'accroissement est rapide, et ceci indépendamment de la race, sont apparus dans de nombreux modèles comme des facteurs de risque majeurs des AOAJ, de même que la race avec par ordre décroissant du risque les SF, TF, puis les PS. Ce rôle majeur de la croissance peut en partie être lié à la génétique, bien que peu influente sur la vitesse de croissance avant sevrage (cf. 2.2.2., chapitre 1). Dans une moindre mesure, l'irrégularité des sorties ainsi que les grandes surfaces d'exercice ont souvent été identifiées comme des facteurs de risque d'AOAJ dans les différentes modélisations. Contrairement à ce que l'on pouvait attendre (cf. 2.1.2.2., chapitre 1), l'âge à la radiographie n'est apparu significatif que lorsque des lésions d'OC (*i.e.* FOC) étaient présentes sans autres entités (*i.e.* FOC stricte), ou lorsqu'au moins un KOSC était observé.

Les facteurs de risque des AOAJ en fonction de leur site de localisation n'ont pas pu être explorés du fait de l'absence d'associations franches entre sites ne permettant pas de classer les poulains atteints, et du fait d'effectifs de poulains atteints par site trop faibles pour être étudiés individuellement. Seuls les facteurs de risque par entité ont pu être explorés, et peuvent être par ailleurs interprétés relativement à leur site d'occurrence préférentiel (cf. 3.1.1. chapitre 3). Cependant, ces résultats doivent être interprétés avec précautions car les modèles incluaient peu de poulains affectés pour chaque entité étudiée individuellement.

Le modèle expliquant la présence d'épiphysites incluait uniquement la race et la vitesse de croissance en hauteur au garrot comme variables significatives. Ce résultat concorde avec les hypothèses biologiques puisque les épiphysites sont des inflammations temporaires des épiphyses des os longs dues à une vitesse de croissance trop rapide (Jeffcott 2004). La plupart de ces lésions disparaissent spontanément (Turner 1987).

Tableau 6-1 : Récapitulatif des odds-ratios estimés à partir des différentes modèles réalisés à l'aide de régressions logistiques

Facteur de risque	AOAJ (177) vs. sains (200) R ² =0,09	OC (101) vs. sains (177) R ² =0,16	OC seule (45) vs. sains (145) R ² =0,11	Physite (46) vs. sains (200) R ² =0,06	KOSC (49) vs. sains (162) R ² =0,19	SR [2-5] (111) vs. [0-1] (173) R ² =0,07	SR >5 (38) vs. [0-1] (188) R ² =0,15	SR >5 (38) vs. [2-5] (120) R ² =0,16	
<u>Informations génétiques</u>									
Race	SF vs. PS	2,8	2,9	1,7	2,7	3,5	2,2	7,3	4,4
	TF vs. PS	1,2	1,9	1,4	0,9	1,6	1,1	3,1	4,4
	SF vs. TF	2,3	1,5	1,2	2,9	2,1	2,0	2,3	1,0
<u>Caractéristiques liées aux conditions de pâturage</u>									
Mois de naissance	janv-fév vs. mar-avr		2,4			2,0			
	≥mai vs. mar-avr		2,4			3,7			
	≥mai vs. janv-fév		1,0			1,9			
<u>Croissance et paramètres liés</u>									
Vitesse de croissance en HG ¹	1,5			1,5		1,3		2,1	
HG à 30 jours ¹	1,3	1,6						2,3	
PT à 30 jours ¹								1,8	
Age de la mère (en années)	<10/[10-15]		2,3						
	>15/[10-15]		2,7						
	>15/<10		1,2						
<u>Pratiques d'alimentation</u>									
Distribution des concentrés à la mère									
Age à la 1 ^{ère} mise à l'herbe du foal	<5 vs. ≥5 mois			7,8					
Age à la 1 ^{ère} mise à l'herbe du foal	1 semaine vs. 2 semaines					7,3			2,2
	3-4 semaines vs. 2 semaines					3,8			1,8
	2 mois vs. 2 semaines					2,6			0,4
	≥3 mois vs. 2 semaines					9,0			6,5
	≥3 mois vs. 2 mois					3,4			14,8
<u>Pratiques d'élevage</u>									
Surface des pâtures en période précoce									
élevée vs. modérée	3,5				5,5	3,7			
Régularité des sorties									
Irrégulières vs. quotidiennes		2,8	3,0					3,3	3,7
Changement de lot									
oui vs. non		2,1							
Contacts avec l'homme									
1-Main + contacts fréquents vs. Ø contact				22,7		0,7			
2-Main + contacts possibles vs. Ø contact				10,4		3,0			
3-Libre + contacts possibles vs. Ø contact				9,4		0,2			
2 vs 1				0,5		4,0			
5 vs 1				0,4		0,3			
5 vs 2				0,9		15,1			
<u>Facteurs d'ajustement</u>									
Age aux radiographies	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ), Hauteur au Garrot (HG), Kyste Osseux Sous-Chondral (KOSC), Ostéochondrose (OC), Périmètre Thoracique (PT), Pur-Sang (PS), Selle-Fran Score Radiographique (SR), Trotteur-Français (TF). Les chiffres en gras sont significatifs (p<0,05). ¹ pour une augmentation d'un écart-type par rapport à la moyenne de la race.

Concernant le modèle expliquant l'OC seule sans autre entité (*i.e.* « FOC stricte ») et celui expliquant les « KOSC », ni la race, ni les variables de croissance n'étaient significatives. En revanche, les contacts avec l'homme apparaissaient comme un facteur de risque dans les deux modèles. Dans le modèle « OC seule », les contacts quels qu'ils soient, entraînaient un risque supérieur d'AOAJ par rapport aux poulains sans contact, alors que, dans le modèle « KOSC », seul le fait de mener les poulains au licol plutôt que librement apparaissait risqué. Ces résultats allaient dans le même sens dans le modèle expliquant le nombre d'AOAJ. Ce résultat remet en question nos hypothèses qui étaient que les contacts pouvaient jouer un rôle protecteur ou délétère selon la manière dont ils étaient réalisés, rendant l'animal plus ou moins docile et donc éventuellement sujet aux comportements potentiellement dangereux pour ces articulations. De plus, un effet aussi fort n'était pas attendu et semble indiquer une variable ou pratique cachée/induite par les contacts. Il est également envisageable que les modes de contacts des éleveurs avec leurs poulains reflètent par ailleurs un ensemble de pratiques d'élevage attenantes. Pour l'« OC seule », une durée de distribution des concentrés aux mères inférieure à 5 mois (*i.e.* arrêt de distribution vers le 1^{er} ou 2^{ème} mois de lactation), était associée à un risque plus élevé de présence d'OC. Cependant, ce risque peut être lié au fait que les poulains dont les mères ont eu une distribution de concentrés inférieure à 5 mois étaient en grande partie des poulains nés en fin de saison (*i.e.* mai et après), ce qui a par ailleurs été identifié comme un facteur de risque dans d'autres modèles. Pour les « KOSC », l'âge à la première mise à l'herbe du foal apparaissait de manière surprenante comme un facteur de risque pour ceux mis à l'herbe pour la première fois avant l'âge de 2 semaines par rapport à ceux mis à l'herbe à cet âge précis. Il est possible que cette variable représente indirectement la durée et la régularité des sorties qui n'étaient pas significatifs par ailleurs dans ce modèle.

La comparaison entre les résultats de la modélisation de la présence d'AOAJ et de celle d'OC a été effectuée dans l'article 3 (cf. 2. chapitre 4). Les résultats des modèles expliquant l'OC et l'OC seule diffèrent sauf pour la régularité des sorties, présente dans les deux modèles (tableau 6-1). Globalement, pour un même nombre de variables, le modèle expliquant la présence d'AOAJ présente un R² (pouvoir explicatif du modèle) plus faible que les autres modèles. Ce résultat est concordant avec l'hypothèse que les AOAJ ne sont probablement pas toutes issues du même processus pathogénique et donc pas toutes secondaires à une lésion initiale d'OC (cf. 2.1.2.1., chapitre 1).

Le modèle ZIP mis en oeuvre pour expliquer le nombre d'AOAJ distingue les facteurs de risque de présence de la maladie de ceux d'extension de la maladie. Les résultats obtenus sur ce modèle peuvent être comparés à ceux obtenus à l'aide de régressions logistiques expliquant la

présence/absence d'AOAJ ainsi que, dans une moindre mesure à ceux expliquant le SOA des poulains via les classements en fonction du score radiographique qui est un autre moyen de représenter l'étendue de la maladie. Ainsi, la race était retrouvée dans le modèle ZIP comme facteur de risque significatif de l'étendue des AOAJ mais pas de leur présence. Ceci concorde avec les résultats des modèles expliquant le SOA bon, moyen ou médiocre, où la race était significative dans les modèles « SOA médiocre versus bon » et « SOA médiocre versus moyen » mais pas dans le « SOA moyen versus bon » (cf. 3.4., chapitre 4). Les paramètres de croissance en hauteur au garrot étaient retrouvés dans les deux types de modèles (ZIP et régressions logistiques). La grande surface a été identifiée comme facteur de risque de la présence d'AOAJ dans les deux type de modèles, sans être impliquée dans l'étendue des AOAJ ou la sévérité du SOA. Par ailleurs, la taille des lots, la durée des sorties après l'âge de deux mois, et la quantité moyenne de concentrés distribuée à la mère étaient des facteurs de risque de la présence d'AOAJ dans le modèle ZIP uniquement. De même la taille des lots et le niveau de Ca/P étaient des facteurs de risque d'étendue des AOAJ qui n'étaient significatifs dans aucun autre modèle, alors que les contacts avec l'homme et l'âge de la mère, précédemment retrouvés dans d'autres modèles étaient également significatifs.

Globalement, dans l'ensemble des modèles réalisés, le sens des effets observés était celui attendu et était concordant entre les modèles, sauf pour quelques variables. C'est le cas notamment des variables de contacts avec l'homme et d'âge de la première mise à l'herbe. Dans les deux cas, il est surprenant de mettre en évidence des effets aussi forts. De plus, le sens des effets est parfois contradictoire entre modalités de la même variable ou entre les différents modèles. C'est le cas notamment de la taille des lots dans le modèle ZIP (cf. 3.3., chapitre 4). Pour toutes ces variables, dont le degré de signification, le sens des effets, et le niveau de risque posent encore question, de nouvelles recherches devraient permettre de confirmer ou non leurs effets sur les AOAJ. Par ailleurs, d'autres variables sont souvent apparues significatives lors de l'analyse univariée sans toutefois persister dans l'analyse multivariée et mériteraient également une attention particulière dans les études ultérieures telles que la pente des pâtures, la durée des sorties, et le profil des apports en Zn/Cu par les concentrés et AMV. La parité de la mère et le sexe du poulain n'étaient quasiment jamais significatifs que ce soit dans l'analyse uni- ou multivariée. Dans l'ensemble des modèles réalisés, les pratiques d'alimentation étaient rarement identifiées comme des facteurs de risque d'AOAJ. Ces résultats ne signifient pas que l'alimentation n'influe pas sur les AOAJ, mais signifie plutôt que la manière synthétique dont elle a été prise en compte dans notre étude, incluant seulement les concentrés, et ajustée sur d'autres variables, n'a pas permis de mettre en évidence un effet majeur de telles pratiques d'alimentation (cf. 2.4., chapitre 4).

D'un point de vue méthodologique, les stratégies de modélisation statistique employées sont également à discuter, et d'autres stratégies auraient éventuellement pu mener à des résultats légèrement différents. Un modèle de régression logistique polytomique aurait pu être mis en œuvre pour expliquer le SOA des poulains en fonction du score radiographique, évitant ainsi de réaliser trois modèles de régressions logistiques simples. Cependant, ces modèles font souvent l'hypothèse d'une linéarité du risque entre le passage d'un SOA bon à moyen et moyen à médiocre, ce qui était une hypothèse jugée trop forte dans notre cas. De plus, les résultats auraient très probablement été les mêmes. Pour tous les modèles ZIP et de régressions logistiques, une stratégie d'inclusion ascendante des variables a été préférée à une stratégie descendante du fait du nombre important de variables. En effet, inclure la totalité des variables impliquait le plus souvent la non-convergence des modèles. Du fait des nombreuses colinéarités entre variables, l'inclusion des facteurs de confusion au fur et à mesure de la construction des modèles entraînait de trop nombreuses instabilités sur les degrés de signification et les niveaux de risque des autres variables présentes dans les modèles. De plus, les facteurs de confusion étaient le plus souvent les variables de pratiques d'alimentation pour lesquelles il y avait de nombreuses données manquantes, ce qui modifiait parfois considérablement les échantillons d'étude d'une étape à l'autre des modélisations, rendant l'interprétation difficile. Les facteurs de confusion ont donc été testés une fois tous les facteurs de risque significatifs inclus. Un lien de cause à effet unit *a priori* les pratiques d'alimentation et les paramètres de croissance. Toutefois, les pratiques d'alimentation étaient connues de manière incomplète dans notre étude. De ce fait, et probablement aussi du fait de la construction des variables de pratiques d'alimentation, celles-ci étaient peu corrélées aux variables de croissance. Les deux types d'information ont donc été incluses dans les modèles. Aucun effet de confusion ou d'instabilité des paramètres estimés n'a par ailleurs été observé entre ou du fait de ces deux types de variables. De plus, ce choix a permis d'ajuster les effets de la croissance sur les pratiques d'alimentation lorsqu'elles étaient significatives et inversement. Afin de prendre en compte l'effet de clustering lié à l'appartenance de plusieurs poulains au même haras, un effet aléatoire lié au haras a été inclus dans chaque modèle. Le nombre de haras était trop élevé, et le nombre de poulains par haras parfois trop faible par rapport à l'effectif total de poulains de l'échantillon pour pouvoir estimer un effet fixe par haras. De plus, l'estimation de l'effet de chaque haras n'était pas une information essentielle à obtenir. L'effet aléatoire n'était pas toujours significatif, ce qui était en partie lié à la présence de la race dans les modèles, qui étaient deux variables très liées puisqu'en général, un haras élevait une seule race. La non-convergence des modèles incluant l'effet aléatoire, pour expliquer la présence d'épiphysites et le SOA moyen à médiocre versus bon

à moyen était probablement liée à des effectifs insuffisants. Notre stratégie a consisté à inclure systématiquement la race, l'âge aux radios, et l'effet aléatoire sur le haras dans tous les modèles, puisque ces facteurs nous paraissaient essentiels à prendre en compte.

L'inclusion de la race reste cependant un choix discutable. Elle se justifie par le fait que les races représentent en grande partie l'effet génétique de par les sélections dont elles ont fait l'objet depuis de nombreuses années. Cependant, la race est également très liée aux pratiques d'alimentation et d'élevage (Miraglia 2005). Nos modèles ont montré l'absence d'interaction entre la race et les autres facteurs inclus, ce qui prouve que les niveaux des effets des facteurs de risque identifiés ne variaient pas selon la race. Cependant, l'inclusion systématique de la race a pu masquer l'identification de certaines pratiques d'alimentation et d'élevage comme des facteurs de risque d'AOAJ. Plusieurs solutions pourraient permettre de répondre à cette question. Des modèles par race peuvent être réalisés, mais seront d'autant moins puissants et délicats à mettre en œuvre que les effectifs seront plus faibles. La solution la plus adéquate serait de réaliser des modèles en excluant l'effet race et de les comparer à nos résultats actuels. Ce travail a été réalisé pour le seul modèle expliquant la présence d'AOAJ. Les résultats montrent que l'exclusion de la race conduit à inclure la durée de distribution des concentrés à la mère et la régularité des sorties, bien que ces deux variables soient peu corrélées à la race (-0,04 et 0,1, respectivement). Par ailleurs, les autres variables incluses sont les mêmes, avec une très faible variation des risques estimés. Dans le premier temps d'analyse, nous avons choisi d'obtenir des résultats généraux sur les facteurs de risque qui soient ajustés sur l'effet race. Des analyses ultérieures excluant la race des modèles permettraient d'apporter une information plus précise quant à son rôle propre sur les AOAJ et le potentiel effet génétique qu'elle représente.

Au final, nos travaux ont identifié et quantifié les effets ajustés des facteurs de risque majeurs concernant la présence d'AOAJ, la présence de certaines entités et la sévérité de l'atteinte du SOA du poulain à l'aide du nombre d'AOAJ identifiées et du score radiographique global. La croissance, en hauteur au garrot surtout, la race, une grande surface d'exercice, et des sorties irrégulières sont liées à une plus grande prévalence d'AOAJ. Les facteurs de risque varient en fonction des entités, du nombre d'AOAJ et de la sévérité du SOA. Ces résultats semblent aller à l'encontre de l'hypothèse d'unicité étiopathogénique des différentes entités incluses dans les AOAJ, et suggèrent d'étudier celles-ci de manière distincte. Par ailleurs, les modèles expliquant le nombre d'AOAJ et la sévérité du SOA ont finalement peu de facteurs en commun. Ces deux modèles n'expliquent effectivement pas la même chose et suggèrent que le nombre d'AOAJ et leur sévérité ne sont peut être pas liés au même processus. La régularité des sorties semble être

essentiellement liée aux lésions d'OC et à l'étendue de la maladie, à la fois pour le nombre d'AOAJ et pour la sévérité du SOA. Toutes ces approches n'avaient jamais été réalisées jusque là et ont permis de nombreuses avancées dans la compréhension de la distribution et des caractéristiques d'occurrence des AOAJ ainsi que de leurs facteurs de risque. Ces travaux permettent de fournir les premiers éléments pour une meilleure prévention des AOAJ. Cependant, les perspectives de poursuite de ces travaux sont considérables ; nos résultats restent encore très exploratoires en regard de la bibliographie disponible sur ces thèmes et demandent à être confirmés en vue de la création d'un guide de bonnes pratiques pour les éleveurs.

6. Perspectives

Les perspectives de ces travaux sont distinguées à plusieurs échéances et niveaux. Des perspectives à court terme au niveau des données utilisées pour les travaux de thèse sont immédiatement envisageables, ainsi que d'autres perspectives au niveau de données disponibles facilement. A moyen terme, deux propositions d'études directement liées à nos travaux sont décrites ainsi que des besoins de recherche au niveau international.

Les travaux réalisables à court terme permettraient de compléter et confirmer certains résultats afin d'établir des recommandations plus fines et plus abouties pour les éleveurs. Ainsi, sur la base des données utilisées pour la thèse, la richesse des informations sur les pratiques d'élevage mériterait une étude plus approfondie, notamment pour préciser les résultats que nous avons obtenus sur les risques d'AOAJ liés à certaines pratiques d'élevage. Une réflexion pourrait être menée sur la manière d'explorer ces données pour aboutir à une typologie des élevages selon leurs pratiques. L'exclusion systématique de la race et la réalisation de tous les modèles décrits, permettra de préciser le rôle de la race sur les AOAJ en termes d'effet génétique et d'effet lié aux conduites d'élevage qui sont variables selon les races. Concernant l'identification de marqueurs pour détecter les AOAJ, de nouvelles analyses restreintes à l'échantillon des prélèvements concomitants aux examens radiographiques pourront être réalisées pour confirmer nos résultats. De plus, des analyses évaluant la valeur informative de plusieurs marqueurs biochimiques combinés pourront également être réalisées.

Par ailleurs, concernant les données existantes, l'ensemble des travaux effectués dans le cadre de la thèse sur les 393 foals suivis jusqu'à l'âge de 6 mois, pourront être réalisés de la même manière sur les 317 yearlings suivis jusqu'à l'âge de 18 mois. Seule l'étude de répétabilité qui incluait des clichés aux deux âges ne nécessite pas de nouvelle analyse. L'intérêt de l'analyse des facteurs de risque des AOAJ à 18 mois réside dans le fait que les yearlings sont en général mis à l'entraînement ou vendus à cet âge. Il sera alors possible d'explorer les marqueurs et facteurs de risque entre 0 et 18

mois sur le SOA à 18 mois. De même, il est prévu d'étudier, avant la fin du contrat de thèse, les facteurs de risque entre 0 et 6 mois de l'évolution du SOA entre 6 et 18 mois. Par suite, les facteurs de risque entre 6 et 18 mois de l'évolution globale du SOA pendant la même période pourront être explorés, ainsi que les facteurs de risque de l'incidence des AOAJ entre ces deux âges. Une autre perspective de cette étude serait d'évaluer le caractère informatif du protocole 10 clichés utilisé sur le SOA du poulain par rapport à un protocole plus complet. En effet, de nombreux poulains âgés de 6 et 18 mois ont été radiographiés dans le cadre des ventes avec en général des protocoles incluant de 12 à 30 clichés. Ces données pourraient être utilisées pour évaluer le gain d'information apporté par des clichés supplémentaires, de la même manière que cela a été fait pour l'article valorisé dans le cadre de la Journée de la Recherche Equine (cf. annexe 3). Ce type d'investigation permettrait également de quantifier les probables erreurs de classement des poulains dans nos travaux.

A moyen terme, deux études particulièrement pertinentes pourraient être mises en oeuvre. La première concerne l'évaluation de la reproductibilité de la grille de lecture utilisée qui est l'étape ultime pour la valider. Cette étude serait peu coûteuse, facile à mettre en place, et permettrait de valoriser le savoir-faire et les outils créés par l'équipe de cliniciens depuis de nombreuses années. De plus, il apparaît un besoin clair de ce type d'outil dans le cadre des ventes et de la pratique clinique quotidienne, ainsi que dans un cadre plus scientifique au niveau de la littérature internationale sur ce sujet. Cette étude serait donc facilement et amplement valorisable et une telle validation permettrait d'homogénéiser les évaluations radiographiques réalisées en France et à l'international pour une meilleure comparabilité des résultats entre évaluations réalisées par différents cliniciens dans le cadre de ventes ou d'études scientifiques.

La seconde étude concerne un nouveau protocole réalisé sur la base des acquis de nos travaux qui aurait pour objectif de préciser les rôles de la croissance, de l'alimentation et des pratiques d'élevage sur la dynamique des AOAJ, en rendant certains facteurs variables et d'autres non. Un schéma d'étude expérimental mais avec des conditions de vie proches de celles rencontrées dans les élevages commerciaux permettra d'utiliser les résultats pour affiner les recommandations aux éleveurs. Une seule race pourrait être considérée afin de limiter les facteurs de variation. Selon les effectifs, l'échantillon pourrait ensuite être séparé en 2 ou 3 groupes avec des pratiques d'alimentation variables inter-groupes, puis, séparer à nouveau chaque groupe en 2 ou 3 sous-groupes avec des pratiques d'élevage variables inter-groupe. Des mesures de croissance et des examens radiographiques avec au moins 5 à 6 points de suivi à âges égaux pourraient être réalisés. Ce type d'étude est envisageable sur la même période 8^{ème} mois de gestation-6^{ème} mois du poulain ou sur une période plus restreinte et précoce. Une telle

étude pourrait être analysée à l'aide de méthodes de survie (Hill et coll. 2001) afin de mieux représenter la dynamique des AOAJ et d'identifier les facteurs majeurs d'apparition des AOAJ. Par ailleurs, la séquence exposition-maladie serait respectée, et la maîtrise des facteurs permettrait de s'affranchir des nombreux problèmes de colinéarité entre variables et entre pas de temps que nous avons rencontré dans nos travaux, tout en conservant une variabilité permettant l'étude des principaux facteurs de risque des AOAJ. Les effets de la croissance pourraient être distingués de ceux de l'alimentation. La limite majeure d'une telle étude est le coût et l'effectif de poulains à réunir. Cette étude pourrait être envisagée après l'analyse des facteurs de risque des AOAJ à 18 mois et de leur évolution entre 6 et 18 mois afin de prendre en compte les connaissances apportées dans la création de ce protocole.

A moyen terme toujours mais dans un espace plus large, les recherches au niveau international pourraient à présent privilégier les études épidémiologiques observationnelles sur de grands effectifs avec une contrainte d'homogénéité dans la définition de la maladie afin d'obtenir des résultats comparables entre études. L'étude de grands effectifs associée à une exploration des AOAJ sur de multiples articulations, favoriserait la poursuite des travaux entrepris concernant les associations entre sites atteints, la définition du statut global des poulains, et l'étude des facteurs de risque, dans l'objectif de diminuer l'impact de ces affections sur la filière équine.

Chapitre 7 : Conclusion générale

De par leur prévalence élevée et leur caractère plus ou moins invalidant, les AOAJ du Cheval causent de nombreuses pertes économiques, notamment pour les éleveurs. L'objectif des travaux présentés était de quantifier les effets de la génétique, de la croissance, des pratiques d'alimentation et des pratiques d'élevage sur la prévalence des AOAJ du foal. La réponse à cette question a nécessité plusieurs étapes et travaux préalables.

La réalisation d'une étude de répétabilité des conclusions de lecture des images radiographiques d'AOAJ a validé la cohérence du système de gradation utilisé. Cette étude a ainsi permis de proposer un système de gradation basé sur 4 critères et applicable à l'ensemble des AOAJ et à toutes les articulations des membres de jeunes chevaux qui peuvent être radiographiées en élevages commerciaux avec une bonne qualité de restitution. Ce système peut être utilisé sur la base du protocole radiographique réalisé incluant 5 clichés bilatéraux sur 5 articulations, mais peut aussi inclure davantage d'incidences radiographiques par articulation. En l'absence de gold-standard, seules les performances de dépistage du protocole radiographique, par défaut, par rapport à des protocoles plus allégés, ont été évaluées. La répétabilité du système de gradation des AOAJ sur le protocole 10 clichés est une première étape pour la validation de cet outil. L'évaluation de sa reproductibilité permettrait d'achever cette validation et de proposer un outil commun de gradation des AOAJ afin d'homogénéiser le recueil des données sur ces affections et de faciliter les comparaisons entre études.

Nous avons étudié la distribution des AOAJ en fonction des entités, des sites de localisation, et de la sévérité des AOAJ et exploré des associations de distribution des AOAJ entre sites atteints. Les résultats ont montré des variations raciales dans la distribution des AOAJ, mais pas d'associations particulières entre sites atteints qui auraient justifié d'étudier les différents groupes de poulains selon leurs ressemblances lésionnelles. Ainsi, afin de synthétiser les informations au niveau du poulain, le statut global des poulains a été caractérisé par la présence ou non d'AOAJ ou de certaines entités, et par la sévérité de l'atteinte qualifiée, d'une part, à l'aide du score radiographique global considérant toutes les AOAJ, et d'autre part, à l'aide du nombre d'AOAJ identifiées.

La mise en relation des différents statuts ostéo-articulaires ainsi définis avec les données recueillies sur les facteurs de risque potentiels a permis d'estimer les

effets ajustés des principaux facteurs de risque des AOAJ. De plus, l'utilisation de techniques statistiques adaptées au traitement de données d'observation a permis de traiter les problématiques de corrélation, de confusion, et de clustering des données. La race et la croissance staturale des poulains sont apparues comme des facteurs majeurs explicatifs de présence d'AOAJ et de la sévérité de l'atteinte. Par ailleurs, la surface des pâtures et la régularité des sorties semblaient être associées à la présence d'AOAJ et à la sévérité de l'atteinte, respectivement. Par conséquent, le suivi de la courbe de croissance des poulains ainsi qu'un ajustement adapté de l'alimentation, de même qu'une surface de pâture limitée avant l'âge de 2 mois et des sorties régulières quotidiennes pourraient permettre de limiter la prévalence des AOAJ. Par ailleurs, nos résultats ont montré des facteurs de risque parfois différents entre entités lésionnelles, suggérant une étiopathogénie différenciée.

Enfin, une analyse de la valeur informative des concentrations sanguines en ostéocalcine, hydroxyproline et phosphatase alcaline osseuse, a montré l'intérêt limité de tels dosages dans le dépistage précoce des AOAJ.

Au final, nos travaux ont permis des avancées majeures sur le plan de la mesure des AOAJ, sur la description de la distribution de ces affections, sur la définition du statut ostéo-articulaire des poulains, et sur la connaissance des facteurs de risque des AOAJ. Toutefois, du fait de l'ampleur des questionnements liés aux AOAJ, d'une part, et à leurs facteurs de risque, d'autre part, les perspectives restent nombreuses. L'évaluation de la reproductibilité du système de gradation des AOAJ permettrait d'achever la validation de cet outil et d'en promouvoir l'utilisation à grande échelle. Bien que les travaux sur les facteurs de risque soient très novateurs et utiles, les résultats restent très exploratoires. En collaboration avec les experts qui ont participé à l'étude, ces résultats peuvent être utilisés comme base pour des premières recommandations aux éleveurs. Cependant, pour la construction d'un guide de bonnes pratiques, ces résultats nécessitent un approfondissement du rôle de la race dans les analyses réalisées, et une exploitation des données disponibles sur le suivi des poulains jusqu'à l'âge de 18 mois. A moyen terme et en fonction de ces résultats, un nouveau protocole, sur un plus petit nombre de sujets, avec un suivi de la dynamique des AOAJ, éventuellement focalisé sur une période précoce, pourra être réalisé pour préciser le rôle des facteurs de risque sur la genèse des AOAJ.

Références

Certaines références bibliographiques n'ont pas été évaluées par un comité de lecture. Cependant, elles ont tout de même été citées car elles permettent de considérer des données françaises.

1. Akaike H. 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In: Second International Symposium on Information Theory (Petrov BN, Csaki F, eds). Budapest: Akademiai Kiado, 267-81.
2. Alvarado A, Marcoux M, Breton L. 1989. The incidence of osteochondrosis in a Standardbred breeding farm in Quebec. In: Proceeding of American Association of Equine Practitioners 293-307.
3. Billingham RC, Brama PA, van Weeren PR, Knowlton MS, McIlwraith CW. 2004. Evaluation of serum concentrations of biomarkers of skeletal metabolism and results of radiography as indicators of severity of osteochondrosis in foals. *Am J Vet Res* 62:143-50.
4. Blanchard G, Valette JP, Robert C, Denoix JM, Paragon BM. 2005. Linear measurement for weight prediction in broodmares of three breeds. *Pferdeheilkunde Suppl* 21:127-8.
5. Bouyer J, Hémon D, Cordier S, Derriennic F, Stücker I, Stengel B, Clavel J. 1995. *Epidémiologie. Principes et méthodes quantitatives*. Paris : Les Editions INSERM.
6. Bridges CH, Harris ED. 1988. Experimentally induced cartilaginous fractures (osteochondritis dissecans) in foals fed low-copper diets. *J Am Vet Med Assoc* 193:215-21.
7. Carlsten J, Sandgren B, Dalin G. 1993. Development of osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joint of Standardbred trotters. I. A radiological survey. *Equine Vet J Suppl* 16:42-7.
8. Caure S, Tourtoulou G, Valette J-P, Cosnier A, Lebreton P. 1998. Prévention de l'ostéochondrose au sevrage : étude expérimentale. *Pratique Vétérinaire Equine* 30:49-59.
9. Caure S, Lebreton P. 2004. Ostéochondrose chez le trotteur au sevrage et corrélation avec divers paramètres. *Pratique Vétérinaire Equine* 36:47-57.
10. Coenen M, Vervuert I, Granel M, Winkelsett S, Borchers A, Christmann L, Bruns E, Distl O, Hertsch B. 2005. Feeding practice in Hanoverian Warmblood mares and foals with regard to the incidence of osteochondrose. In: *The Growing Horse: Nutrition and Prevention of*

- Growth Disorders (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen:EAAP Publication, 239–40.
11. Corbett JL, Freer M. 1995. Ingestion et digestion chez les ruminants au pâturage. In: Nutrition des ruminants domestiques, ingestion et digestion. (Jarrige R, Ruckebusch Y, Demarquilly C, Farce MH, Journet M, eds). Paris:INRA publications, 872-900.
 12. Couroucé-Malblanc A, Geffroy O, Valette JP. 2002. Developmental orthopaedic lesions in young French trotters: prevalence and relation to racing performance. In: Proceeding of Conference on Equine Sports Medicine And Science. Saumur, France:A. Lindner, 99-107.
 13. Delmas P. 1993. Biochemical markers of bone turnover. *J Bone Miner Res* 8:S549-55.
 14. Delmas P, Christiansen C, Mann KG, Price PA. 1990. Bone Gla Protein (Osteocalcin) Assay standardization report. *J bone Miner Res* 5:5-11.
 15. Denoix 1991 : Valeurs et limites de l'examen radiographique lors de visite d'achat. In : Compte rendu de la 17^{ème} journée d'étude CEREOPA, 133-141.
 16. Denoix JM, Houliez D, Moreau H, Audigié F, Robert C, Blanchard L, Perrot P, Bousseau B, Busoni V, Heiles P, Tavernier L. 1995. Pathologie ostéo-articulaire juvénile chez le cheval - Etat actuel des recherches en France. In: Actes de la 21^{ème} Journée de la Recherche Equine. Paris, Institut du Cheval, 39-46.
 17. Denoix JM, Valette JP, Robert C, Houliez D, Heiles P. 1996. Prévalence des images radiographiques anormales dans les membres de 575 chevaux de races françaises âgés de 3 ans. *Pratique Vétérinaire Equine* 28:97-104.
 18. Denoix JM, Valette JP, Heilès P, Ribot X, Tavernier L. 2000. Etude radiographique des affections ostéo-articulaires juvéniles (AOAJ) chez des chevaux de races françaises, âgés de 3 ans : présentation globale des résultats sur 1180 sujets. *Pratique Vétérinaire Equine* 126:35-41.
 19. Denoix JM, Audigié F, Tapprest J, Jacquet S, Coudry V. 2002. Les Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ) : Nature des lésions et diagnostic. In : Compte-rendu de l'AVEF. Le Touquet, France, 217-20.
 20. Dik KJ, Enzerink E, van Weeren PR. 1999. Radiographic development of osteochondral abnormalities, in the hock and stifle of Dutch Warmblood foals, from age 1 to 11 months. *Equine Vet J Suppl* 31:9-15.
 21. Dohoo I, Martin W, Stryhn H. 2003. Veterinary epidemiologic research. Charlottetown:AVC Inc.
 22. Donabedian M, Fleurance G, Perona G, Robert C, Lepage O, Trillaud-Geyl C, Leger S, Ricard A, Bergero D, Martin-Rosset W. 2006. Effect of fast vs. moderate growth rate related to nutrient intake on development orthopaedic disease in the horse. *Anim Res* 55:471-86.
 23. Dutra F, Carlsten J, Ekman S. 1999. Hind limb skeletal lesions in 12-month-old bulls of beef breeds. *Zentralbl Veterinarmed A* 46:489–508.

24. Fleiss JL. 1981. Statistical methods for rate and proportions. 2nd ed. New York: J. Wiley.
25. Fleurance G, Donabédian M, Perona G, Trillaud-Geyl C, Léger S, Robert C, Bergero D, Lepage O, Martin-Rosset W. Effet de deux modèles nutritionnels sur la croissance et le développement au cours de la première année postnatale du cheval de sport. In: Actes de la 32^{ème} Journée de la Recherche Equine. Paris, Les Haras Nationaux, 85-93.
26. Fortier G. 2001. Utilisation de paramètres biochimiques pour l'évaluation de la qualité de la croissance du poulain. Bilan de l'action de vulgarisation et de démonstration sur l'alimentation équine en Basse Normandie.
27. Fortier G, Toquet MP, Valette JP, Robert C, Heymann D, Redini F, Denoix JM. 2005. Evolution de marqueurs biochimiques de la croissance des poulains en relation avec leur statut ostéo-articulaire. In: Actes de la 31^{ème} Journée de la Recherche Equine. Paris, Les Haras Nationaux, 21-33.
28. Foursin M. 2002. Les affections ostéo-articulaires juvéniles chez les galopeurs (AOAJ) : résultats d'une enquête de dépistage. In : Comptes-rendu de l'AVEF. Le Touquet, France, 244-7.
29. Gabel A. 1988. Metabolic bone disease: problems of terminology. *Equine Vet J*, 20:4-6
30. Gee EK, Firth EC, Morel PC, Fennessy PF, Grace ND, Mogg TD. 2005. Articular/epiphyseal osteochondrosis in Thoroughbred foals at 5 months of age: influences of growth of the foal and prenatal copper supplementation of the dam, *N Z Vet J* 53:449-57.
31. Geffroy O, Couroucé A, Valette JP, Kraft E. 1997. Pathologie ostéo-articulaire juvénile chez le cheval Trotteur Français : étude préliminaire. *Pratique Vétérinaire Equine* 29:191-9.
32. Glade MJ, Belling TH. 1984. Growth plate cartilage metabolism, morphology and biochemical composition in over- and underfed horses. *Growth* 48:473-82.
33. Grondahl AM. 1991. The incidence of osteochondrosis in the tibiotarsal joint of Norwegian Standardbred trotters: a radiographic study. *J Equine Vet Sci* 11:272-4.
34. Grondahl AM, Dolvik NI. 1993. Heritability estimations of osteochondrosis in the tibiotarsal joint and of bony fragments in the palmar/plantar portion of the metacarpo- and metatarsophalangeal joints of horses. *J Am Vet Med Assoc* 203:101-4.
35. Grondahl AM, Engeland A. 1995. Influence of radiographically detectable orthopedic changes on racing performance in Standardbred trotters. *J Am Vet Med Assoc* 206:1013-17.
36. Hartung K, Mynzer B, Keller H. 1983. Radiologic evaluation of sparvin in young trotters. *Vet Radiol* 24:153-5.
37. Hill C, Com-Nougué C, Kramar A, Moreau T, O'Quigley J, Senoussi R, Chastang C. 2001. Analyse statistique des données de survie. Paris: Flammarion.

38. Hintz HF, Hintz RL, van Vleck LD. 1979. Growth rate of thoroughbreds: effect of age of dam, year and month of birth, and sex of foal. *J Anim Sci* 48:480-487.
39. Hoppe F. 1984. Radiological investigations of osteochondrosis dissecans in Standardbred Trotters and Swedish Warmblood horses. *Equine Vet J* 16:425-29.
40. Hoppe F, Philipsson JP. 1985. A genetic study of osteochondrosis dissecans in Swedish Horses. *Equine Practice* 7:7-15.
41. Hurtig MB, Pool RR. 1996. Pathogenesis of equine osteochondrosis. In: *Joint disease in the horse* (McIlwraith CW, Trotter GW, eds). Philadelphia:Saunders, 335-58.
42. INRA. *L'alimentation des Chevaux*. Martin-Rosset W(ed), Paris.
43. Jackson BF, Blumsohn A, Goodship AE, Wilson AM, Price JS. 2003. Circadian variation in biochemical markers of bone cell activity and insulin-like growth factor-I in two-year-old horses. *J Anim Sci* 81:2804-10.
44. Jacquet S, Valette JP, Frojet FJ, Denoix JM. 2002. Répartition des scores radiographiques chez de jeunes chevaux de races Trotteur Français et Pur-sang Anglais. In: *Actes de la 28^{ème} Journée de la recherche équine*. Paris, Les Haras Nationaux, 149-56.
45. Jaeschke G. 1975. Routine determination of free hydroxyproline in horse serum methods and normal values. *Zentralbl Veterinarmed A* 22:89-101.
46. Jeffcott LB. 1991. Osteochondrosis in the horse - searching for the key to pathogenesis. *Equine Vet J* 23:331-8.
47. Jeffcott LB. 1993. Problems and pointers in equine osteochondrosis. *Equine Vet J Suppl* 16:1-3.
48. Jeffcott LB. 1996. Osteochondrosis - an international problem for the horse industry. *J Equine Vet Sci* 16:32-7.
49. Jeffcott LB, Henson FM. 1998. Studies on growth cartilage in the horse and their application to aetiopathogenesis of dyschondroplasia (osteochondrosis). *Vet J* 156:177-92.
50. Jeffcott LB. 2005. Developmental diseases affecting growing horses. In: *The Growing Horse: Nutrition and Prevention of Growth Disorders* (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen:EAAP Publication, 243-56.
51. Jelan ZA, Jeffcott LB, Lundeheim N, Osborne M. 1996. Growth rates in Thoroughbred foals. *Pferdeheilkunde* 12:291-5.
52. Kane AJ, Park RD, McIlwraith CW, Rantanen NW, Morehead JP, Bramlage LR. 2003. Radiographic changes in Thoroughbred yearlings. Part 1: Prevalence at the time of the yearling sales. *Equine Vet J* 35:354-65.
53. Knight DA, Weisbrode SE, Schmall LM, Reed SM, Gabel AA, Bramlage LR, Tyznik WI. 1990. The effects of copper supplementation on the prevalence of cartilage lesions in foals. *Equine Vet J* 22:426-32.

54. Lepage OM, Marcoux M, Tremblay A. 1990. Serum osteocalcin or bone gla-protein, a biochemical marker for bone metabolism in horses : differences in serum levels with age. *Can J Vet Res* 54:223-6.
55. Lepage OM, Descoteaux L, Marcoux M, Tremblay A. 1991. Circadian Rhythms of Osteocalcin in Equine Serum. Correlation with Alkaline Phosphatase, Calcium, Phosphate and Total Protein Levels. *Can J Vet Res* 55:5-10.
56. Lepage OM, Eicher R, Uebelhart B, Tschudi P. 1997. Influence of type and breed of horses on serum osteocalcin concentration and evaluation of the applicability of a bovine RIA and a human IRMA. *Am J Vet Res* 5:48-57.
57. Lepage OM, Hartmann DJ, Eicher R, Uebelhart B, Tschudi P, Uebelhart D. 1998. Biochemical markers of bone metabolism in draught and warmblood horses. *Vet J* 156:169-75.
58. Martin-Rosset W. 2001. Croissance osseuse chez le cheval. In: Actes de la 27^{ème} Journée de la Recherche Equine. Paris, Les Haras Nationaux, 73-100.
59. Martin-Rosset W. 2005. Growth and development in the equine. In: *The Growing Horse: Nutrition and Prevention of Growth Disorders* (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen:EAAP Publication, 15–50.
60. Martin-Rosset W, Ellis AD. 2005. Evaluation of energy and protein requirements and recommended allowances in growing horses. In: *The Growing Horse: Nutrition and Prevention of Growth Disorders* (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen:EAAP Publication, 103–36.
61. McIlwraith CW. 1986. Proceeding of the AQHA Developmental Orthopaedic Disease Symposium. Amarillo, Texas.
62. McIlwraith CW. 2004. Developmental Orthopaedic Disease: Problems of limbs in young horses. *J Equine Vet Sci* 24:475-9.
63. McIlwraith CW. 2005. Use of synovial fluid and serum biomarkers in equine bone and joint disease: a review. *Equine Vet J* 37:473-82.
64. Miraglia N. 2005. Influence of management and nutrition on growth in the young horse. In: *The Growing Horse: Nutrition and Prevention of Growth Disorders* (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen:EAAP Publication, 223–36.
65. OESC. 2005. L'élevage du cheval en France en 2004.
66. Olsson SE, Reiland S. 1978. The nature of osteochondritis in animals. Summary and conclusions with comparative aspects on osteochondritis dissecans in man. *Acta Radiol Suppl* 358:299-306.
67. Olstad K, Ytrehus B, Ekman S, Carlson CS, Dolvik NI. 2007. Early lesions of osteochondrosis in the distal tibia of foals. *J Orthop Res*. In press
68. Ott E. Energy and protein metabolism of normal growth. In: *The Growing Horse: Nutrition and Prevention of Growth Disorders* (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen:EAAP Publication, 91–102.

69. Pagan JD, Jackson SG. 1996. The incidence of developmental orthopedic disease on a Kentucky Thoroughbred farm. *Pferdeheilkunde* 12:351-4.
70. Paragon BM, Valette JP, Blanchard G, Denoix JM. 2000. Alimentation et maladies du développement ostéo-articulaire chez le poulain. In: *Compte Rendu de l'AVEF*. Strasbourg, France, 34-7.
71. Paragon BM, Blanchard G, Valette JP, Wolter R. 2001. Alimentation et statut ostéo-articulaire du cheval en croissance : résultats du suivi de 76 yearlings issus de 14 élevages en région Basse-Normandie. In: *Actes de la 27^{ème} Journée de la recherche équine*. Paris, Les Haras Nationaux, 125-34.
72. Pearce SG, Grace ND, Wichtel JJ, Firth EC, Fennessy PF. 1998. Effect of copper supplementation on copper status of pregnant mares and foals. *Equine Vet J* 30:200-3.
73. Perez M, Verde MT, Gonzalez JM. 2004. Marqueurs biochimiques du remodelage osseux : Possibilités d'utilisation en médecine vétérinaire. *Rev Med Vet* 155:331-8.
74. Philipsson J, Andreasson E, Sandgen B, Dalin G, Carlsten J. 1993. Osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints in standardbred trotters. II. Heritability. *Equine Vet J Suppl* 16:38-41.
75. Pool RR. 1993. Difficulties in definition of equine osteochondrosis; differentiation of developmental and acquired lesions. *Equine Vet J Suppl* 16:5-12.
76. Poulos PW, Reiland S, Elwinger K, Olsson SE. 1978. Skeletal lesions in the broiler, with special reference to dyschondroplasia (osteochondrosis). Pathology, frequency and clinical significance in two strains of birds on high and low energy feed. *Acta Radiol Suppl* 358:229-75.
77. Price SJ, Baukol SA. 1980. 125-dihydroxyvitamin D3 increases synthesis of the vitamin K-dependant bone protein by osteosarcoma cells. *J Biol Chem* 255:11660-3.
78. Price JS, Jackson BF, Eastell R, Wilson AM, Russell RG, Lanyon LE, Goodship AE. 1995. The response of the skeleton to physical training: a biochemical study in horses. *Bone* 17:221-7.
79. Price JS, Jackson BF, Gray JA, Harris PA, Wright IM, Pfeiffer DU, Robins SP, Eastell R, Ricketts SW. 2001. Biochemical markers of bone metabolism in growing thoroughbreds : a longitudinal study. *Res Vet Sci* 71:37-44.
80. Rejno S, Stromberg B. Osteochondrosis in the horse. II. Pathology. 1978. *Acta Radiol Suppl* 358:153-78.
81. Ricard A, Valette JP, Denoix JM. 2001. Héritabilité des anomalies ostéo-articulaires juvéniles chez le cheval de sport. In: *Actes de la 27^{ème} Journée de la recherche équine*. Paris, Les Haras Nationaux 153-64.
82. Ricard A, Couroucé-Malblanc A, Denoix JM, Valette JP. 2002. Héritabilité des anomalies ostéo-articulaires juvéniles. In : *Compte-rendu de l'AVEF*. Le Touquet, France, 262-72.

83. Robert C, Jacquet S, Viennet E, Valette JP, Denoix JM. 2003. Corrélations entre le statut ostéo-articulaire et les performances en course chez les Pur-Sang Anglais présentés aux Ventes de Deauville. In: Actes de la 29^{ème} Journée de la Recherche Equine. Paris, Les Haras Nationaux, 185-92.
84. Sandgren B, Dalin G, Carlsten J. 1993a. Osteochondrosis in tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints in Standardbred trotters. I. Epidemiology. *Equine Vet J Suppl* 16:31-7.
85. Sandgren B, Dalin G, Carlsten J, Lundeheim N. 1993b. Osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints in Standardbred trotters. II. Body measurements and clinical findings. *Equine Vet J Suppl* 16:48-53.
86. Savage CJ, McCarthy RN, Jeffcott LB. 1993a. Effects of dietary energy and protein on induction of dyschondroplasia in foals. *Equine Vet J Suppl* 16:74-9.
87. Savage CJ, McCarthy RN, Jeffcott LB. 1993b. Effects of dietary phosphorus and calcium on induction of dyschondroplasia in foals. *Equine Vet J Suppl* 16:80-3.
88. Schougaard H, Falk Ronne J, Philipsson J. 1990. A radiographic survey of tibiotarsal osteochondrosis in a selected population of trotting horses in Denmark and its possible genetic significance. *Equine Vet J* 22:288-9.
89. Shelley J, Dyson S. 1986. The hock. In: *Equine radiography - a guide to interpretation*. *Equine Vet J Suppl* 4:27-33.
90. Stashak TS. 2002. *Adam's lameness in horses*. 5th ed. Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins.
91. Stock KF, Distl O. 2005. Prediction of breeding values for osseous fragments in fetlock and hock joints, deforming arthropathy in hock joints and pathologic changes in the navicular bones of Hanoverian Warmblood riding horses. *Livest Prod Sci* 92:77-94.
92. Stock KF, Distl O. 2006. Genetic correlations between osseous fragments in fetlock and hock joints, deforming arthropathy in hock joints and pathologic changes in the navicular bones of Warmblood riding horses. *Livestock Science* 105:35-43.
93. Stock KF, Hamann H, Distl O. 2006. Factors associated with the prevalence of osseous fragments in the limb joints of Hanoverian Warmblood horses. *Vet J* 171:147-56.
94. Storgaard Jørgensen H, Proschowsky H, Falk-Rønne J, Willeberg P, Hesselholt M. 1997. The significance of routine radiographic findings with respect to subsequent racing performance and longevity in Standardbred trotters. *Equine Vet J* 29:55-9.
95. Thompson KN, Jackson SG, Rooney JR. 1988. The effect of above average weight gains on the incidence of radiographic bone aberrations and epiphysitis in growing horses. 1987. In: *Proceeding of the 10th Equine Nutrition & Physiology Symposium*. Fort Collins, Colorado.

96. Tourtoulou G, Caure S, Domaingue MC. 1997. La prévalence des lésions d'ostéochondrose chez le poulain trotteur au sevrage. *Pratique Vétérinaire Equine* 29:237-44.
97. Touzot-Jourde G, Ricard A, Denoix JM. 1998. Estimation de l'héritabilité des affections ostéo-articulaires juvéniles sur le pied antérieur dans un effectif de chevaux affiliés par le père. CEREOPA-ERPC, 24^{ème} journée d'étude 135-46.
98. Turner S. 1987. Diseases of bones and related structures. In: Adam's lameness in horses. (Stashak TS, ed). Philadelphia:Lea & Febiger, 293-338.
99. Valette JP, Denoix JM, Boulet C, Monnet Y. 2000. Pathologie ostéo-articulaire juvénile : bilan de l'étude sur 246 poulains de 1 et 2 ans provenant de la région Basse-Normandie. In: Actes de la 26^{ème} Journée de la recherche équine. Paris, Les Haras Nationaux, 13-32.
100. Valette JP, Denoix JM. 2001. Analyse rétrospective des scores radiographiques des chevaux présentés aux concours d'achat des étalons nationaux entre 1996 et 2000. In: Actes de la 27^{ème} Journée de la recherche équine. Paris, Les Haras Nationaux 147-52.
101. Van Heelsum AM, van Veldhuizen AE, Brascamp EW, Dik KJ, van der Meij GJW, Barneveld A. 1996. A radiographical investigation into the heritability of bone quality traits in the legs of Dutch Warmblood riding horses. In: Proceeding of 47th Annual Meeting of the EAAP. Lillehammer, Norway.
102. Van Hoogmoed LM, Snyder JR, Thomas HL, Harmon FA. 2003. Retrospective evaluation of equine prepurchase examinations performed 1991-2000. *Equine Vet J* 35:375-81.
103. Van Weeren PR, Barneveld A. 1999. The effect of exercise on the distribution and manifestation of osteochondrotic lesions in the Warmblood foal. *Equine Vet J Suppl* 31:16-25.
104. Van Weeren PR, Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan M, Barneveld A. 1999. The influence of birth weight, rate of weight gain and final achieved height and sex on the development of osteochondrotic lesions in a population of genetically predisposed Warmblood foals. *Equine Vet J Suppl* 31:26-30.
105. Van weeren PR, Knaap J, Firth EC. 2003. Influence of liver copper status of mare and newborn foal on the development of osteochondrotic lesions. *Equine Vet J* 35:67-71.
106. Van Weeren P.R. 2006. Osteochondrosis. In: *Equine Surgery* (Auer J, ed). Philadelphia:Saunders.
107. Vervuert I, Coenen M, Winkelsett S, Christmann L, Distl O, Bruns E, Hertsch B. 2005. Growth rates in Hanoverian warmblood foals and the development of osteochondrosis. In: *The Growing Horse: Nutrition and Prevention of Growth Disorders* (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen:EAAP Publication, 85-90.

108. Watkins JP. 1992. Osteochondrosis. In: Equine Surgery. (Auer JA, ed). Philadelphia:Saunders, 765-78.
109. Wilke A, Coenen M, Distl O, Hertsch B, Christmann L, Bruns E. 2003. Effect of locomotion on the development of osteochondrosis in Hanoverian Warmblood foals. In: Proceeding of 54th Annual Meeting of Europe Association for Animal Production. Rome, Italy.
110. Willard JG, Williams JL, Willard JC, Knapp JR, Greene EA. 2005. The Effect of Age of Dam on Birth Weight and Growth Rate of Thoroughbred Foals. In: The Growing Horse: Nutrition and Prevention of Growth Disorders (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen:EAAP Publication, 65–6.
111. Willms F, Roehle R, Kalm E. 1996. The importance of radiographical investigations of bone diseases in breeding sport horses. In: Proceeding of 47th Annual Meeting of the EAAP. Lillehammer, Norway.
112. Winter D, Bruns E, Glodek P, Merz A, Leonhardt K, Hertsch B. 1994. Genetic disposition of bone diseases in sport horse population. In: Proceeding of 45th Annual Meeting of the EAAP, Edimburgh.
113. Wittwer C, Hamann H, Rosenberger E, Distl O. 2006. Prevalence of osteochondrosis in the limb joints of south German Coldblood horses. *J Vet Med A* 53:531-9.
114. Wolter R. 1994. L'alimentation du cheval. Paris : Editions France Agricole.
115. Wolter R. 1996. Ostéochondrose et alimentation chez le cheval. *Pratique Vétérinaire Equine* 28:85-96.
116. Wu FM, Hedhammar A, Krook L. 1974. Overnutrition and skeletal disease. An experimental study in growing Great Dane dogs. IX. The long bones. *Cornell Vet* 64:83–114.

Liste de publications et communications

Article dans périodiques internationaux à comité de lecture

Article en cours de soumission

Lepeule J, Bareille N, Robert C, Ezanno P, Valette JP, Jacquet S, Blanchard G, Denoix JM, Seegers H. Effects of growth, feeding and management practices on Developmental Orthopaedic Disease in the limbs of foals. *Preventive Veterinary Medicine*.

Lepeule J, Seegers H, Rondeau V, Robert C, Denoix JM, Bareille N. Effects of growth, feeding and management practices on the severity of Developmental Orthopaedic Disease in the limbs of foals. *Preventive Veterinary Medicine*.

Article soumis

Lepeule J, Robert C, Bareille N, Valette JP, Jacquet S, Seegers H, Denoix JM. A severity scoring system for radiographic findings in the limbs of foals and yearlings: presentation and evaluation of the intra-assessor reliability. *American Journal Veterinary Research* (Soumis le 06 juillet 2007)

Lepeule J, Bareille N, Valette JP, Seegers H, Jacquet S, Denoix JM, Robert C. Developmental orthopaedic disease in limbs of foals: between-breed variations in prevalence, location and severity at weaning. *Animal*, *accepté*.

Communications orales dans congrès ou symposium

Lepeule J, Robert C, Bareille N, Valette JP, Jacquet S, Seegers H, Denoix JM. 2007. Un Système de scoring pour évaluer la sévérité des images radiographiques (IR) identifiées sur les membres de jeunes chevaux. *Journées de l'AVEF*, Deauville, France, 18-20 octobre.

Lepeule J, Bareille N, Robert C, Valette JP, Jacquet S, Denoix JM, Blanchard G, Seegers H. 2007. Effets de la croissance, des pratiques alimentaires et des pratiques d'élevage sur les affections ostéo-articulaires juvéniles sur des foals Bas-Normands. *Journées de l'AVEF*, Deauville, France, 18-20 octobre.

Lepeule J, Robert C, Bareille N, Valette JP, Jacquet S, Seegers H, Denoix JM. 2007. Developmental orthopaedic disease screening in horses: Which X-ray

protocol for which horse ? *European Association of Veterinary Diagnostic Imaging*, Chalkidiki, Grèce, 29 août-1^{er} septembre.

Lepeule J, Bareille N, Robert C, Denoix JM, Seegers H. 2007. Effects of feeding and management practices on Developmental Orthopaedic Disease in French foals. *European Association of Animal Production*, Dublin, Irlande, 26-29 août.

Lepeule J, Robert C, Bareille N, Valette JP, Jacquet S, Seegers H, Denoix JM. 2007. Developmental Orthopaedic Disease : adapting the X-ray exam for a mass screening. *13th Società Italiana Veterinari per Equini congress*, Bologne, Italie, 26-28 janvier.

Lepeule J, Robert C, Bareille N, Valette JP, Jacquet S, Seegers H, Denoix JM. 2006. Developmental Orthopaedic Disease : adapting the X-ray exam for a mass screening. *European Equine Veterinary Meeting*, Versailles, France, 12-14 octobre.

Lepeule J, Robert C, Bareille N, Valette JP, Jacquet S, Seegers H, Denoix JM. 2006. Dépistage des AOAJ chez le foal et le yearling : quel protocole pour quel poulain ? Journée de la Recherche Equine, Paris, 1^{er} mars, 117-26 (texte intégral).

Lepeule J. 2005. Taille d'échantillon et méthodes pour évaluer la répétabilité et reproductibilité de données qualitatives et quantitatives : état des lieux bibliographique et application à un protocole de lecture de clichés radiographiques. *Premières Rencontres Jeunes Statisticiens*, Aussois, France, 29 août-02 septembre.

Communications affichées dans congrès ou symposium

Lepeule J, Robert C, Bareille N, Valette JP, Jacquet S, Seegers H, Denoix JM. 2007. A severity scoring system for radiographic findings in the limbs of young horses. *European Association of Veterinary Diagnostic Imaging*, Chalkidiki, Grèce, 29 août-1^{er} septembre.

Lepeule J, Robert C, Bareille N, Valette JP, Jacquet S, Seegers H, Denoix JM. 2007. Prévalence et distribution des Affections Osteo-Articulaires Juvéniles chez le poulain au sevrage : conséquences sur le protocole de dépistage de ces lésions. *Journées Scientifiques de l'Association pour l'Etude l'Epidémiologie des Maladies Animales*, Maisons-Alfort, France, 31 mai-1^{er} juin.

Lepeule J, Bareille N, Robert C, Denoix JM, Seegers H. 2007. Effects of growth, feeding and management practices in Developmental Orthopaedic Disease in French foals. *Society of Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine*, Helsinki, Finlande, 28-30 mars.

Annexe 1 : Processus pathologique des AOAJ

Les AOAJ semblent liées à des anomalies de croissance qui débutent avec la transformation du cartilage en os lors du processus d'ossification endochondrale.

1. L'ossification endochondrale

Le processus d'ossification endochondrale a été largement décrit (Martin-Rosset 2001, Hurtig et Pool 1996, Jeffcott 1991). Le squelette est composé du tissu osseux, du cartilage de conjugaison ou plaque épiphysaire (pendant la croissance) et du cartilage articulaire (Martin-Rosset 2001) (figure 1).

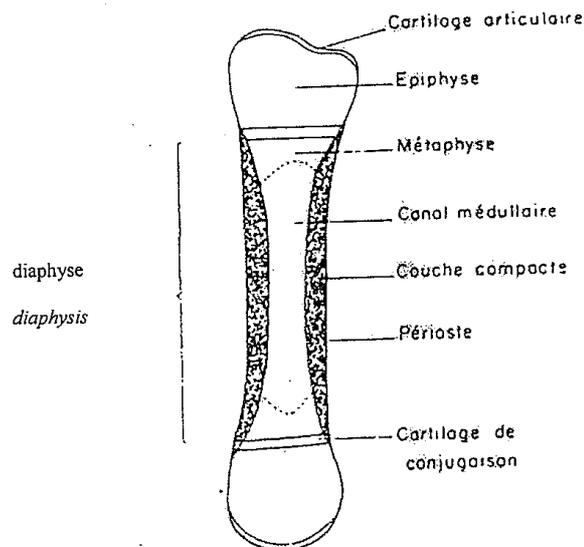


Figure 1 : Structure d'un os long (d'après Martin-Rosset 2001)

Le tissu osseux du cheval adulte est le siège d'un remodelage continu qui permet à l'os de jouer son rôle de réserve minérale et de se renouveler pour conserver ses propriétés mécaniques. Le tissu osseux se développe et acquiert ses caractéristiques très tôt. Au cours des 24 mois qui suivent la fécondation, et notamment au cours de la première année qui suit la naissance, la phase importante de croissance osseuse du poulain détermine sa constitution osseuse (Martin-Rosset 2001) (figure 2).

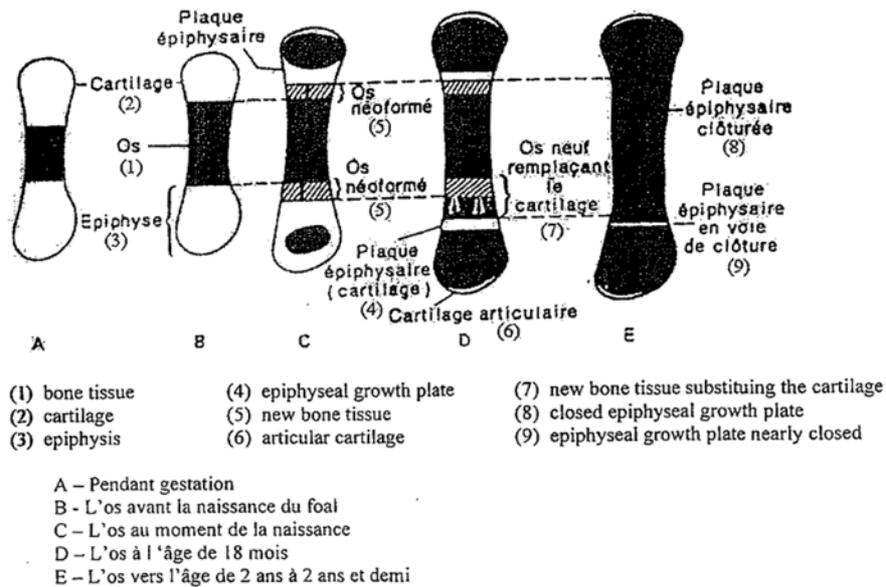


Figure 2 : Croissance d'un os long (d'après Rossdall et Ricketts 1978, repris par Martin-Rosset 2001)

L'ossification endochondrale est une étape clé de l'ostéogénèse. Durant l'ossification endochondrale, les cellules sont disposés en quatre couches (figure 3) :

- la zone germinale ou cellules « au repos »,
- la zone de prolifération des chondrocytes,
- la zone de cartilage hypertrophique ou dégénératif,
- la zone de calcification.

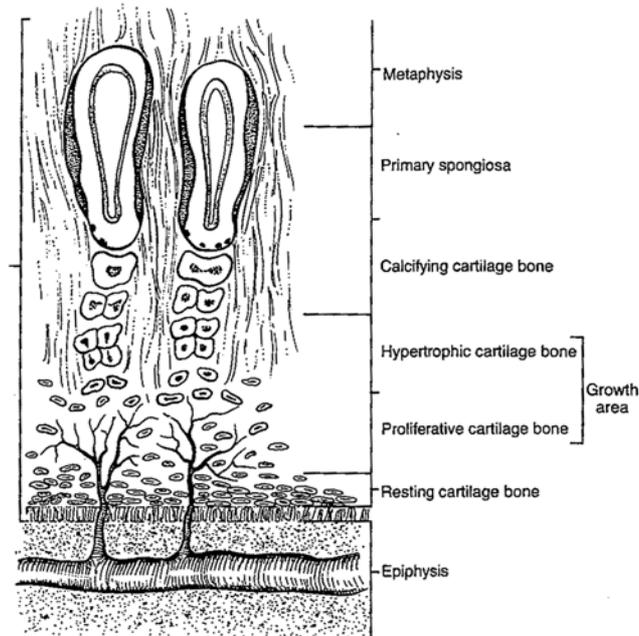


Figure 3 : Anatomie de la plaque de croissance (d'après Watkins 1992)

Les zones germinale et de prolifération sont constituées de cellules responsables de la réplication cellulaire. Ces cellules se différencient en cellules appelées chondrocytes et alimentent ainsi la zone de cartilage. La prolifération des chondrocytes produit et sécrète la matrice de cartilage extracellulaire formée de proteoglycanes et de collagènes. Lors de leur différenciation en chondrocytes hypertrophiés, les cellules vont s'aplatir et prendre du volume. Des changements apparaissent également dans la constitution de la matrice qui est réduite pour préparer la minéralisation et l'installation des vaisseaux capillaires. Au stade final de la différenciation, on observe une couche de chondrocytes calcifiés. Pendant la phase finale d'ossification endochondrale, les capillaires et les ostéoblastes (cellules responsables de la synthèse du collagène) envahissent la matrice de minéralisation du cartilage et les chondrocytes disparaissent progressivement. Les ostéoblastes sécrètent de l'os spongieux qui se transforme ensuite en os mature.

Les zones germinale et de prolifération sont constituées de cellules responsables de la réplication cellulaire. Ces cellules se différencient en cellules appelées chondrocytes et alimentent ainsi la zone de cartilage. La prolifération des chondrocytes produit et sécrète la matrice de cartilage extracellulaire formée de proteoglycanes et de collagènes. Lors de leur différenciation en chondrocytes hypertrophiés, les cellules vont s'aplatir et prendre du volume. Des changements apparaissent également dans la constitution de la matrice qui est réduite pour préparer la minéralisation et l'installation des vaisseaux capillaires. Au stade final de la différenciation, on observe une couche de chondrocytes calcifiés. Pendant la phase finale d'ossification endochondrale, les capillaires et les ostéoblastes (cellules responsables de la synthèse du collagène) envahissent la matrice de minéralisation du cartilage et les chondrocytes disparaissent progressivement. Les ostéoblastes sécrètent de l'os spongieux qui se transforme ensuite en os mature.

2. Physiopathologie

L'OC est une maladie caractérisée par le dérèglement du processus normal de différenciation des chondrocytes dans le cartilage de croissance qui mène à un traumatisme lors de l'ossification endochondrale (Olsson et Reiland 1978, McIlwraith 1993). La cause initiale de la lésion au niveau cellulaire reste inconnue (Jeffcott 1991, 2005, Watkins 1992).

L'OC peut engendrer différentes manifestations en fonction du site et du type de perturbation dans le processus d'ossification endochondrale. Ces manifestations incluent plusieurs entités lésionnelles : l'Ostéo-Chondrite Dissécente (OCD), les Kystes Osseux Sous-Chondraux (KOSC), les épiphysites, les déviations angulaires des membres acquises, les contractures/laxités tendineuses, les malformations des os carpaux/tarsaux (ou Affection

Dégénérative Articulaire Juvénile (ADAJ)), les malformations des vertèbres cervicales, les malformations acquises des vertèbres thoraciques et lombaires. Cependant, ces entités lésionnelles peuvent aussi être engendrées par d'autres mécanismes et être observées sans lésions d'OC.

Histologiquement, l'OC est caractérisée par la persistance des chondrocytes dans la zone hypertrophique et par l'échec de la vascularisation. Les capillaires ne pénètrent pas la région distale de la zone dégénérative, ce qui conduit à un échec de l'étape finale de la maturation des cartilages et une modification de la matrice qui les entoure (Jeffcott 1991, Watkins 1992). Les cartilages ne se minéralisent pas correctement, ils s'épaississent et finissent par affaiblir le complexe cartilagineux articulaire ou épiphysaire.

Les forces appliquées sur le cartilage peuvent alors provoquer une séparation au niveau de l'interface chondro-osseuse. C'est le cas des lésions les plus typiques d'OC. On observe un cartilage extensif et une dégénérescence de l'os sous-chondral. L'excès de cartilage se fissure et peut même se détacher sous forme d'un fragment ostéo-cartilagineux. Ce dernier peut être résorbé mais il peut aussi rester libre dans l'articulation ou s'ossifier. On note ce type de lésions OCD (Jeffcott 1991, Watkins 1992). L'OCD est considérée comme une manifestation d'OC (Stromberg 1979). Cependant, une OCD peut aussi se développer sans défaut de l'os et par conséquent sans défaut de l'ossification endochondrale (McIlwraith 2004).

Les **KOSC** sont, comme les OCD, fréquemment considérés comme des manifestations d'OC sur la base de données histopathologiques (Stromberg 1979). Dans ce cas, les dommages affaiblissent l'os et provoquent un repli de cartilage qui se résorbe partiellement dans ce dernier. On observe alors la formation d'une lésion kystique sous-chondrale qui communique avec la surface de l'articulation (Watkins 1992). Mais la encore des mécanismes différents existent et les kystes peuvent aussi être dus à des traumatismes ou à des stress biomécaniques (Watkins 1992, McIlwraith 2004). Ils sont plus souvent observés dans le grasset (condyle médial du fémur) et le boulet (métacarpe distal) (McIlwraith 2004).

Toutes les entités lésionnelles suivantes peuvent être associées ou liées à des lésions d'OC mais aussi à d'autres mécanismes encore mal connus (McIlwraith 2004). Les **épiphysites** se présentent comme une déformation autour des plaques de croissance du radius distal et du métacarpe distal et sont donc plus souvent retrouvées dans le boulet. Dans un petit nombre de cas, les **déviations angulaires** des membres peuvent aussi être une manifestation d'OC lorsqu'elle se produit au sein de l'épiphyse. Les **contracture/hyperlaxité tendineuses** peuvent être d'origine congénitale ou acquise. Les déformations congénitales ont une pathogénie mal connue et peuvent impliquer le carpe et le boulet (articulation interphalangienne distale notamment). Les déformations acquises

se manifestent dans les 18 premiers mois de vie et concernent le boulet (l'articulation interphalangienne distale et métacarpo-phalangienne). Les **anomalies des os carpaux/tarsaux** sont généralement dues à de l'immaturation et sont plus souvent rencontrées chez les poulains prématurés, dans le carpe et le jarret. L'arthrose juvénile (ou ADAJ), concerne principalement le boulet (articulation métacarpo-phalangienne) et le l'étage distal du jarret. Les **malformations des vertèbres cervicales** se caractérisent par une sténose du canal des vertèbres cervicales qui provoque une compression de la moelle épinière. Les **malformations acquises des vertèbres thoraciques et lombaires** se manifestent par des cyphoses et lordoses qui consistent en des courbures de la colonne vertébrale.

Références

- Hurtig MB, Pool RR. 1996. Pathogenesis of equine osteochondrosis. In: Joint disease in the horse (McIlwraith CW, Trotter GW, eds). Philadelphia:Saunders, 335-58.
- Jeffcott LB. 1991. Osteochondrosis in the horse - searching for the key to pathogenesis. *Equine Vet J* 23:331-8.
- Jeffcott LB. 2005. Developmental diseases affecting growing horses. In: The Growing Horse: Nutrition and Prevention of Growth Disorders (Julian V, Martin-Rosset W, eds). Wageningen:EAAP Publication, 243-56.
- Martin-Rosset W. 2001. Croissance osseuse chez le cheval. In: Proceeding of 27^{ème} Journée de la recherche équine. Paris, Les Haras Nationaux, 73-100.
- McIlwraith CW. 1993. Inferences from referred clinical cases of osteochondritis dissecans. *Equine Vet J Suppl* 16:27-30.
- McIlwraith CW. 2004. Developmental Orthopaedic Disease: Problems of limbs in young horses. *J Equine Vet Sci* 24:475-9.
- Olsson SE, Reiland S. 1978. The nature of osteochondritis in animals. Summary and conclusions with comparative aspects on osteochondritis dissecans in man. *Acta Radiol Suppl* 358:299-306.
- Stromberg B. 1979. A review of the salient features of Osteochondrosis in the Horse. *Equine Vet J* 11:211-4.
- Watkins JP. 1992. Osteochondrosis. In: *Equine Surgery* (Auer JA, ed). Philadelphia:Saunders, 765-78.

Annexe 2 : Exemple de la nature des images radiographiques observées

Détail de la saisie concernant la nature des images radiographiques (IR). Illustration sur les IR observées sur l'articulation métacarpo-phalangienne, et sévérité et entité correspondante dans le classement des AOAJ

Nature des IR	Sévérité	Entité
collapsus épiphysaire	1 ou 2	Epiphysite
concavité palmaro distale condyle	1	FOC
concavité palmaro distale de l'épiphyse prox P1	2	FOC
courbure condyle Mc3 (dysplasie?)	2	FOC
défaut de courbure	2	FOC
densification épiphysaire	0	variante anatomique
densité SP irr	0	variante anatomique
densité SP irr	1	JEP
encoche dorsale	1	FOC
enthésophyte LSO	0	variante anatomique
enthésophyte palmaire	0	variante anatomique
Epiphysite	1	Epiphysite
épiphysite Mc3	0	variante anatomique
épiphysite Mc3	1	Epiphysite
épiphysite prox P1+épiphysite distale Mc3	2	Epiphysite
Epiphysite proximale P1	2	Epiphysite
épiphysite+petits sésamoïdes prox	1	Epiphysite
FOCSA	2 ou 4	FOC
FOCSA condyle Mc3	4	FOC
fracture fatigue SP	2	FOC
fragment OCSA dorsal	2	FOC
image transp dors AmcP	0	variante anatomique
image transp SP+méplat condyle palmaire	1	JEP
irr dors condyle Mc3	1	FOC
irrégularité dorsale condyle Mc3	1	FOC
irrégularité dorsale relief sagittal condyle Mc3	1	FOC
irrégularité dorsale+remodelage apex SP	1	FOC
Kyste condyle Mc3	2	KOSC
nodule condyle Mc3	2	FOC
ostéolyse condyle dorsal	2	FOC
ostéolyse SP+nodule sés phalangien	2	JEP

ostéolyse supra-condyloire dorsale	1	FOC
ostéophyte dorsal	1	ADAJ
Remodelage dorsal P1	1 ou 2	ADAJ
Remodelage dorsal+inflexion métaphysaire	1	ADAJ
SP allongés	0	variante anatomique
SP oblique	0	variante anatomique
Varus	0	variante anatomique
VARUS DIGITAL	0	variante anatomique

Affections Dégénératives Articulaires Juvéniles (ADAJ), Fragmentations Ostéo-Chondrales (FOC), Enthésopathies Juvéniles (JEP), Kystes Osseux Sous Chondraux (KOSC)

Annexe 3 : Dépistage des AOAJ chez le foal et le yearling : quel protocole pour quel poulain ?

117



les Haras
nationaux

32^{ème} journée d'étude
01 mars 2006

DEPISTAGE DES AOAJ CHEZ LE FOAL ET LE YEARLING : QUEL PROTOCOLE POUR QUEL POULAIN ?

Par :

J. Lepeule^{1,2}, C. Robert¹, N. Barelle¹, J.-P. Valette², S. Jacquet¹, H. Seegers¹, J.-M. Denoix²

¹ UMR ENVNantes-INRA de Gestion de la Santé Animale, Atlanpole-Chantrerie, BP 40706, 44307

Nantes Cedex 03

² UMR INRA-ENVAIfort de Biomécanique et Pathologie Locomotrice du Cheval, 7 Avenue du Général de Gaulle, 94704 Maisons-Alfort Cedex

Résumé

Les bilans radiographiques de dépistage des Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ) effectués entre 6 et 18 mois sont coûteux et parfois longs et délicats à réaliser sur de jeunes animaux. L'objectif de cette étude était d'évaluer la valeur informative de protocoles d'examen allégés, adaptés à la race et l'âge des poulains, ainsi qu'aux attentes des acheteurs, éleveurs, et des vétérinaires selon qu'ils souhaitent : s'assurer que le poulain est sain ; ou dépister un maximum de poulains atteints d'AOAJ, ou les plus gravement atteints, ou encore ceux pour lesquels une chirurgie précoce peut être envisagée. L'étude a porté sur 395 poulains Bas-Normands de race Trotteur Français, Selle-Français et Pur-Sang. Les AOAJ ont été évaluées à 6 et 18 mois avec un protocole comprenant 5 clichés bilatéraux. La prévalence des foals lésés était de 68,2% et de 68,6% pour les yearlings. Les lésions sévères étaient rares avec 7,1% des foals et 9,8% des yearlings, et situées en majorité sur les membres postérieurs. Trois clichés bilatéraux permettent de dépister quasiment 90,0% des foals et des yearlings atteints d'AOAJ. Les protocoles diffèrent en fonction de la race et des objectifs du dépistage, mais le cliché du doigt postérieur apparaît incontournable. A race et objectif fixés, les protocoles proposés pour les foals et les yearlings sont quasiment identiques.

Mots-clés : Affections ostéo-articulaires juvéniles, poulain, dépistage, radiographie, prévalence

Summary

Radiographic assessments between 6 and 18 months of age used to detect Developmental Orthopaedic Disease (DOD) are expensive and can be time-consuming and difficult to realise on young horses. Our objective was to assess the informative value of a limited number of radiographs, according to the breed and the age of the horse and to the expectations of the purchaser, breeders, and veterinarians. Their expectations can be to make sure that the horse is sound or can be to detect a maximum number of horses affected by DOD, or only those severely affected, or those for which an early surgical treatment is possible. 395 young horses from Normandie were included. Three breeds were represented with French Trotters, Selle Français, and Thoroughbreds. DOD were assessed at 6 and 18 months of age with 5 bilateral radiographic projections including the front and hind interphalangeal and fetlock joints, carpi, hocks and stifle joints. The prevalence of horses affected by DOD was 68.2% for foals and 68.6% for yearlings. There were few severe lesions with 7.1% of foals and 9.8% of yearlings, and mainly were located on the hindlimb. Three bilateral projections allow us to detect almost 90.0% of the foals and yearlings affected by DOD. The preferred sites vary when the number of radiographs is limited, according to the breed and the objectives of the detection, but the radiography of the hind digit is always necessary. For a given breed and a given objective, the preferred sites proposed for foals and yearlings are almost identical.

Key-words : Juvenile developmental orthopaedic disease, horse, detection, radiography, prevalence

Introduction

Le dépistage radiographique des Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ) chez les poulains entre 6 et 18 mois est une pratique de plus en plus fréquente. Pour les acheteurs, le résultat du dépistage intervient dans leurs choix d'acquisition des poulains. Pour les éleveurs et les vétérinaires, le dépistage est utilisé pour orienter au plus tôt la carrière future des poulains (ventes aux enchères, ventes à l'amiable, utilisation sportive par l'éleveur, élevage, réforme, ...). Il permet également de dépister précocement les poulains atteints afin de mettre en place des stratégies correctives, lorsque c'est possible. Celles-ci peuvent aller de simples mesures d'hygiène à des traitements chirurgicaux, permettant ainsi de prévenir les complications secondaires (distension articulaire, arthrose, ...). Le protocole classiquement utilisé (en dehors des ventes aux enchères publiques) comporte 10 clichés (soit 5 clichés bilatéraux) : les doigts antérieurs et postérieurs, les carpes, les jarrets et les grassets. Cependant, ces bilans radiographiques de dépistage sont coûteux, longs à réaliser et souvent délicats à mettre en oeuvre sur de jeunes animaux, ce qui rebute parfois les éleveurs et les vétérinaires.

L'objectif de cette étude était d'évaluer la valeur informative de protocoles d'examen radiographique allégés, adaptés à chaque race et à l'âge des poulains, en fonction des attentes de l'acheteur et de l'éleveur qui peuvent être : de s'assurer que le poulain est sain ; ou de dépister les poulains atteints d'AOAJ, ou les poulains les plus gravement atteints, ou encore ceux pour lesquels un traitement chirurgical précoce peut être envisagé.

1. Matériel et méthodes

1.1. Echantillon

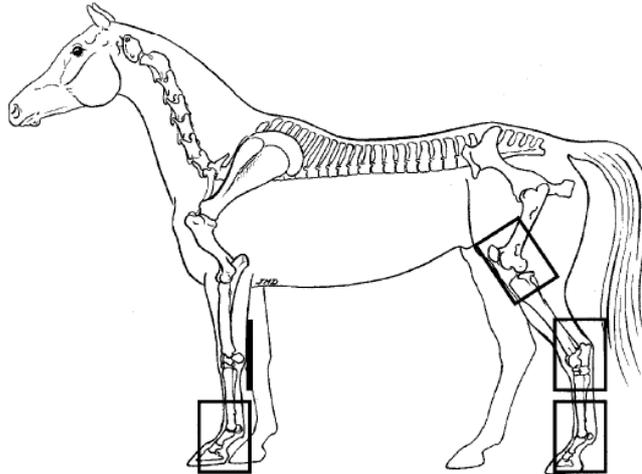
L'étude a porté sur 395 poulains de race Trotteur Français (TF), Selle-Français (SF) et Pur-Sangs (PS), issus de 21 élevages Bas-Normands qui ont accepté de participer au programme Elevage Statut Ostéo-Articulaire et Performances (ESOAP). Ainsi, l'échantillonnage n'a pas été aléatoire, mais de convenance. Les poulains ont été suivis régulièrement de la naissance jusqu'à l'âge de 18 mois environ. La collecte des données a débuté en 2002 et s'est achevée en 2005. Les AOAJ ont été évaluées à l'aide de deux examens radiographiques effectués à 6 et 18 mois environ.

Parmi les 395 poulains inclus, 210 ont été suivis jusqu'à l'âge de 18 mois. En effet, sur les deux premières cohortes (poulains nés en 2002 et 2003), 44 foals ont été perdus de vue avant le 2^{ème} bilan radiographique à 18 mois, et sur la dernière cohorte (poulains nés en 2004) les résultats de 141 yearlings n'étaient pas encore disponibles.

1.2. Protocole

Les poulains ont été soumis à un examen radiographique des membres au sevrage (6 mois) et à 18 mois environ, âge qui correspond au départ de l'élevage pour les TF et PS. Le protocole d'examen comprenait 10 clichés (5 bilatéraux) : profil des doigts antérieurs et postérieurs incluant le pied, le paturon et le boulet ; face des carpes ; profil des jarrets et profil des grassets (figure 1).

Figure 1 :
 Incidences bilatérales réalisées dans le protocole 10 clichés et sites radiographiés
 (Denoix et al. 1995).
Bilateral radiographic projections performed in the classical assessment with 10 projections and sites included
 (Denoix et al. 1995)



Les dossiers radiographiques à 6 et 18 mois ont été lus de manière collégiale par les 3 mêmes vétérinaires pendant toute la durée de l'étude. Les images radiographiques (IR) suspectes ou anormales ont été relevées et classées en fonction de l'entité lésionnelle identifiée et de sa sévérité. Les trois principales entités lésionnelles identifiées sont les Fragmentations (et nodules) Ostéo-Chondrales (FOC), les kystes, et les épiphysites (Denoix et al. 2002). La sévérité des lésions a été notée 1, 2, 4 ou 8 (Denoix et al. 2000). Une lésion de sévérité 1 est définie comme une image suspecte transitionnelle susceptible d'évoluer vers une image anormale. Une lésion de sévérité 2, 4, ou 8 est définie comme une image anormale dont l'expression clinique est respectivement incertaine, probable, ou certaine.

1.3. Analyse des données

Le suivi à 18 mois des poulains de la dernière cohorte n'étant pas encore disponible pour la majeure partie, nous avons traité d'une part l'échantillon des 395 foals, et d'autre part le sous-échantillon des 210 poulains dont le suivi complet, foal et yearling, était disponible afin de pouvoir établir des comparaisons foals / yearlings.

Trois approches ont été réalisées, avec pour chacune un traitement séparé par race et par âge (6 et 18 mois) afin de permettre aux acheteurs, éleveurs, et vétérinaires de choisir le protocole le plus adapté à leurs animaux et à leurs objectifs. Pour chacune des approches, l'objectif était de proposer des protocoles allégés, en fonction du nombre de clichés souhaité par l'acheteur, l'éleveur, ou le vétérinaire, permettant de dépister un maximum de poulains lésés.

Les protocoles allégés proposés ont été comparés au protocole complet comprenant 5 clichés bilatéraux. Un poulain était considéré lésé dès qu'il présentait une AOAJ sur au moins un des clichés du protocole radiographique complet ; il était considéré sain s'il ne présentait aucune AOAJ sur tous les clichés du protocole complet. Un poulain était considéré positif dès qu'il présentait une AOAJ sur au moins un des clichés du protocole radiographique allégé ; il était considéré négatif s'il ne présentait aucune AOAJ sur tous les clichés du protocole allégé.

Les qualités intrinsèques des protocoles allégés proposés ont été évaluées, mais seule la sensibilité était informative. Elle correspond à la capacité d'un protocole radiographique allégé versus le protocole radiographique complet, à dépister tous les sujets lésés (éviter les faux négatifs). La valeur prédictive négative (VPN) a également été évaluée. Elle correspond au pourcentage de poulains sains (selon le protocole complet) parmi ceux qui étaient négatifs avec le protocole allégé. La spécificité et la valeur prédictive positive n'étaient pas évaluables (égales à 100%) car il n'y avait pas de poulains classés faux positifs dans notre approche.

La première approche réalisée était globale. Elle portait sur le statut sain ou lésé des poulains, quelles que soient l'entité lésionnelle et la sévérité des lésions. La deuxième approche était basée sur les lésions les plus sévères, cotées 4 ou 8, quelle que soit l'entité lésionnelle. Un poulain était considéré lésé dès qu'il présentait au moins une AOAJ cotée 4 ou 8 sur un des clichés du protocole radiographique complet ; il était considéré « sain » s'il ne présentait aucune AOAJ sur tous les clichés du protocole complet ou si leur sévérité n'excédait pas 2. La dernière approche s'intéressait aux FOC présentes à 6 mois car elles peuvent faire l'objet d'un traitement chirurgical précoce. Un foal était considéré lésé dès qu'il présentait au moins une FOC sur un des clichés du protocole radiographique complet ; il était considéré « sain » s'il ne présentait aucune FOC sur tous les clichés du protocole complet.

Pour ces trois approches, les VPN obtenues dépendent de la prévalence des poulains atteints d'AOAJ dans l'échantillon. Une simulation a donc été effectuée sur un exemple, pour observer l'impact d'une variation de la prévalence des poulains atteints sur la VPN des protocoles allégés, en conservant la même distribution des lésions sur les différents sites.

Le test du Khi-2 de Pearson et le test exact de Fisher ont été utilisés pour qualifier la distribution de la prévalence en fonction de la race. Le seuil de signification retenu était de 5%. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (Statistical Analysis System (version 8.1), SAS Institute, Inc., Cary, North Carolina).

2. Résultats

2.1. Caractérisation de l'échantillon

Les 395 poulains sont issus de 3 cohortes : 40,0% sont nés en 2002, 18,5% en 2003, et 41,5% en 2004. La répartition par sexe est équilibrée avec 47,6% de femelles et 52,4% de mâles. Les trois races sont réparties comme suit : 162 TF, 99 SF, et 134 PS. L'âge de radiographie des foals varie de 75 à 275 jours (soit environ, 2,5 à 9 mois) avec un âge médian situé à 169 jours (5,6 mois). Dans le sous-échantillon des poulains ayant un suivi complet, l'âge de radiographie des yearlings varie de 363 à 715 jours (soit environ, 12 à 24 mois), avec un âge médian de 513 jours (17,1 mois).

2.2. Prévalence

La prévalence des poulains lésés chez les foals atteignait 68,2% dans l'échantillon. La distribution de la prévalence, en terme de poulains lésés ainsi qu'en terme de nombre de lésions par poulain, était significativement différente selon la race ($p < 0,01$). Les SF étaient les plus lésés devant les TF, puis les PS (tableau 1). Dans le sous-échantillon des poulains ayant un suivi complet, la prévalence diminuait légèrement entre 6 et 18 mois, respectivement 71,4% puis 68,6%. Cette tendance est confirmée pour les TF et SF alors que la prévalence chez les PS tend, au contraire, à augmenter (tableau 1).

Tableau 1 : Distribution de la prévalence (en %) des poulains atteints d'affections ostéo-articulaires juvéniles quelle que soit leur sévérité, en fonction de la race et de l'âge. Programme ESOAP, 395 poulains Bas-Normands, 2002-2005.
Distribution of the prevalence (%) of young horses affected by developmental orthopaedic diseases whatever their severity, according to the breed and age. ESOAP programme, 395 young horses from Normandie, 2002-2005.

Race	Foals*	Sous-échantillon des foals suivis en yearlings	
		Foals*	Yearlings*
Trotteur Français	64,1	70,6	64,0
Selle-Français	82,5	85,2	75,0
Pur-sang	62,6	60,0	69,3

* la distribution est significativement différente selon la race $p < 0,05$.

2.3. Dépistage des lésions quelle que soit leur sévérité

Les tableaux 2 (pour les foals) et 3 (pour les yearlings) présentent les clichés à privilégier (parmi les 5 clichés du protocole complet) en fonction du nombre souhaité, ainsi que la sensibilité et la VPN cumulées correspondantes, lorsque l'objectif est de dépister un maximum de poulains atteints d'AOA). Quels que soient la race et l'âge, 3 clichés bilatéraux permettaient de dépister quasiment 90,0% des poulains atteints d'AOA). Les poulains négatifs sur ces trois clichés avaient au moins 80,0% de chances d'être sains (selon le protocole complet) sauf pour les foals SF dont la VPN n'était que de 68,0%.

Ainsi, pour les foals (tableau 2) les doigts postérieurs sont les clichés à réaliser en première intention quelle que soit la race, car il s'agit du site où la sensibilité était la plus élevée. Ce site permettait de dépister 57,0% des TF, 60,0% des SF, et 43,9% des PS atteints d'AOA). Les clichés des doigts antérieurs viennent en seconde intention pour les SF et les PS. Pour les TF, ce site ne vient qu'en quatrième intention : il était précédé du jarret et du carpe qui étaient deux sites dont la sensibilité était très proche.

Tableau 2 : Sensibilité et valeur prédictive négative (VPN) cumulées en fonction du nombre de sites radiographiés à 6 mois pour chaque race. Programme ESOAP, 395 foals Bas-Normands, 2002-2005.
Cumulated sensitivity and negative predictive value according to the number of radiographic projections performed at 6 months for each breed. ESOAP programme, 395 foals from Normandie, 2002-2005.

Trotteur Français			Selle-Français			Pur-sang		
Cliché	Sensibilité (%)	VPN (%)	Cliché	Sensibilité (%)	VPN (%)	Cliché	Sensibilité (%)	VPN (%)
Doigt postérieur	57,0	56,6	Doigt postérieur	60,0	34,7	Doigt postérieur	43,9	51,6
Jarret	77,0	70,9	Doigt antérieur	81,2	53,1	Doigt antérieur	70,7	67,1
Carpe	93,0	88,9	Grasset	90,0	68,0	Carpe	89,0	84,5
Doigt antérieur	97,0	94,9	Jarret ou	97,5	80,9	Grasset	96,3	94,2
Grasset	100,0	100,0	Carpe	100,0	100,0	Jarret	100,0	100,0

Concernant les yearlings (tableau 3), on retrouve, comme pour les foals, la prédominance du cliché des doigts postérieurs avec, cependant, une inversion avec le cliché du doigt antérieur pour les PS. Ces deux sites avaient une sensibilité très proche pour les yearlings PS.

Tableau 3 : Sensibilité et valeur prédictive négative (VPN) cumulées en fonction du nombre de sites radiographiés à 18 mois pour chaque race. Programme ESOAP, 210 yearlings Bas-Normands, 2002-2005.
Cumulated sensitivity and negative predictive value according to the number of radiographic projections performed at 18 months for each breed. ESOAP programme, 210 yearlings from Normandie, 2002-2005.

Trotteur Français			Selle-Français			Pur-sang		
Cliché	Sensibilité (%)	VPN (%)	Cliché	Sensibilité (%)	VPN (%)	Cliché	Sensibilité (%)	VPN (%)
Doigt postérieur	50,9	53,3	Doigt postérieur	66,7	50,0	Doigt antérieur	46,5	45,2
Carpe	77,2	71,1	Doigt antérieur	83,3	66,7	Doigt postérieur	72,1	61,3
Jarret ou	91,2	86,5	Carpe	92,9	82,3	Carpe	88,4	79,2
Doigt antérieur	100,0	100,0	Jarret	97,6	93,3	Jarret	97,7	95,0
Grasset	100,0	100,0	Grasset	100,0	100,0	Grasset	100,0	100,0

Nous avons observé que, pour chaque race, les protocoles 3 clichés « yearling » restaient globalement les mêmes que pour les foals. L'ordre d'intention était parfois inversé, mais ces inversions n'excédaient pas une place sauf pour les SF. En effet, le cliché des grassets, classé en troisième position pour les foals, était considéré comme peu informatif du statut de sain ou lésé des yearlings (dernière position). Cependant, il convient de rester prudent sur la comparaison des protocoles foals et yearlings puisque l'échantillon des yearlings était très incomplet pour la cohorte 2004 et aucun yearling SF de cette cohorte ne figurait dans le sous-échantillon.

2.4. Dépistage des lésions les plus sévères

L'échantillon comptait peu de poulains gravement lésés (au moins une lésion de sévérité 4). Parmi les foals la prévalence était de 7,1%. Le sous-échantillon des poulains ayant un suivi complet montrait que la prévalence des lésions graves était identique à 6 et à 18 mois (9,8%). Intra-race, nous n'avons pas observé de différence

majeure entre 6 et 18 mois (tableau 4) mais ce résultat devra être confirmé avec l'échantillon complet des yearlings.

Tableau 4 : Prévalence (en %) des poulains atteints d'au moins une affection ostéo-articulaire juvénile sévère (cotée 4 ou 8) en fonction de la race et de l'âge. Programme ESOAP, 395 poulains Bas-Normands, 2002-2005.
Prevalence (%) of young horses affected by at least one severe (cotation 4 or 8) developmental orthopaedic disease, according to the breed and age. ESOAP programme, 395 young horses from Normandie, 2002-2005.

Race	Foals	Sous-échantillon des foals suivis en yearling	
		Foals	Yearlings
Trotteur Français	8,0	10,0	10,3
Selle-Français	7,2	9,3	7,1
Pur-sang	6,1	10,0	11,3

Les sites du jarret, grasset et du doigt postérieur étaient le siège des lésions les plus graves des foals et des yearlings de race TF et SF. Pour les PS, tous les sites étaient concernés sauf le carpe. Quelle que soit la race, aucun foal n'était gravement lésé sur le carpe et seulement un yearling l'était. Les effectifs de poulains gravement lésés étant très faibles, il n'était pas pertinent d'établir un classement des clichés à effectuer par ordre d'intention.

2.5. Dépistage des fragmentations ostéo-chondrales du foal

Indépendamment de la race, 41,5% des foals présentaient des FOC sur au moins un des sites radiographiés. Ces lésions étaient plus fréquentes chez les SF puisque 57,7% étaient concernés, puis les TF avec 38,7% et enfin les PS avec 32,8% ($p < 0,001$). Ce type de lésions concernait en premier lieu le doigt postérieur (tableau 5) surtout chez les TF et les PS pour lesquels ce site permettait de dépister environ la moitié des foals atteints de FOC. Pour les TF, ajouter les clichés des jarrets et des grassets permettait d'atteindre 95,0% de sensibilité. Pour les SF et les PS, ajouter les clichés des doigts antérieurs et des grassets permettait d'atteindre respectivement plus de 80,0% et plus de 90,0% de sensibilité. Les foals négatifs sur les trois premiers clichés proposés avaient plus de 80,0% de chances d'être sains pour les SF, et plus de 95,0% pour les TF et PS.

Tableau 5 : Sensibilité et valeur prédictive négative (VPN) cumulées, concernant le dépistage des foals atteints de fragmentations ostéo-chondrales, en fonction du nombre de sites radiographiés à 6 mois pour chaque race. Programme ESOAP, 395 foals Bas-Normands, 2002-2005.

Cumulated sensitivity and negative predictive value about the detection of foals affected by osteochondrose lesions according to the number of radiographic projections performed at 6 months for each breed. ESOAP programme, 395 foals from Normandie, 2002-2005.

Trotteur Français			Selle-Français			Pur-sang		
Cliché	Sensibilité (%)	VPN (%)	Cliché	Sensibilité (%)	VPN (%)	Cliché	Sensibilité (%)	VPN (%)
Doigt postérieur	55,0	77,9	Grasset	46,4	57,7	Doigt postérieur	46,5	79,3
Jarret	81,7	89,6	Doigt antérieur ou postérieur	71,4	61,2	Grasset	81,4	91,7
Grasset	95,0	96,9		83,9	82,0	Doigt antérieur	90,7	95,6
Carpe	98,3	99,0	Jarret	92,9	91,1	Carpe ou Jarret	95,3	97,8
Doigt antérieur	100,0	100,0	Carpe	100,0	100,0		100,0	100,0

2.6. Bilan des variations de la sensibilité et de la VPN

Au total, on constate que quelle que soit l'approche retenue, le doigt postérieur et le jarret sont les sites les plus sensibles chez les TF lorsqu'on souhaite dépister les AOAJ (tableau 6). Pour les SF il s'agit plutôt du doigt postérieur et du grasset et enfin pour les PS ce sont les doigts postérieurs et antérieurs.

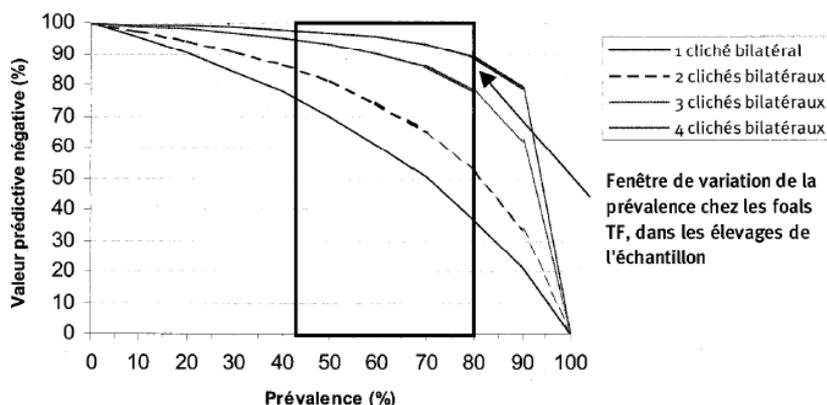
Tableau 6 : Synthèse des sites les plus sensibles pour dépister les poulains atteints d'AOAJ en fonction de la race et de l'approche retenue. Programme ESOAP, 395 poulains Bas-Normands, 2002-2005.
Synthesis of the most sensitive projections to detect young horses affected by developmental orthopaedic diseases according to the race and the objectives. ESOAP programme, 395 young horses from Normandie, 2002-2005.

	Trotteur Français			Selle-Français			Pur-sang		
	Globale	Gravité	FOC	Globale	Gravité	FOC	Globale	Gravité	FOC
Doigt antérieur				X		X	X	X	X
Carpe	X			yearlings			X		
Doigt postérieur	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Jarret	X	X	X		X			X	
Grasset		X	X	foals	X	X		X	X

Pour l'approche globale, les trois premiers clichés les plus sensibles ont été retenus.
 FOC : Fragmentation Ostéo-Chondrale à 6 mois

Le résultat de la simulation sur les foals TF a montré qu'une baisse de la prévalence globale des poulains atteints d'AOAJ augmentait la VPN, et inversement avec une augmentation de la prévalence, la distribution des lésions sur les différents clichés étant fixée (figure 2). Ainsi, tout en conservant une VPN supérieure ou égale à 80,0%, nous avons constaté que les protocoles pouvaient être allégés : à 4 clichés bilatéraux lorsque la prévalence était comprise entre 80,0% et 90,0%, à 3 clichés bilatéraux lorsque la prévalence était comprise entre 55,0% et 80,0%, et à 2 clichés bilatéraux lorsque la prévalence était inférieure à 55,0%.

Figure 2 : Exemple d'évolution de la valeur prédictive négative en fonction de la prévalence globale des poulains atteints d'affections ostéo-articulaires juvéniles, selon le nombre de clichés du protocole allégé proposé pour les foals Trotteur-Français. Programme ESOAP, 395 foals Bas-Normands, 2002-2005.
Example of modification of the cumulated negative predictive value when the prevalence of young horses affected by developmental orthopaedic diseases vary, according to the number of radiographic projections realised for French Trotter foals. ESOAP programme, 395 foals from Normandie, 2002-2005.



3. Discussion et Conclusion

Le statut ostéo-articulaire d'un poulain est un facteur déterminant dans sa valeur commerciale. En effet pour la plupart des ventes aux enchères, les poulains présentés doivent être accompagnés d'un dossier radiographique où chaque image lésionnelle est susceptible de les déprécier. Face à ces exigences « qualité », les examens radiographiques sur les foals ont tendance à se systématiser dans les élevages.

3.1. Prévalence des AOAJ

Nos résultats doivent être interprétés avec prudence, car l'échantillon n'a pas été sélectionné de manière aléatoire. Cependant, notre étude confirme la prévalence élevée des AOAJ chez les poulains Bas-Normands avec 68,2% de foals atteints. Valette et al. en 2000 avaient déjà décrit ce phénomène avec 79,3% de poulains atteints d'AOAJ, sur un autre effectif de 246 poulains Bas-Normands de race TF, SF, PS et Pur-sang arabe, âgés de 1 à 2 ans, et radiographiés selon le même protocole. Cependant, dans une étude précédente, Valette et al. (1999) ont montré que le département de la Manche et la région Nord-Est notamment, présentaient des prévalences plus élevées que la Basse-Normandie. De plus, la prévalence élevée des AOAJ dans notre étude doit être interprétée en parallèle avec la sévérité des lésions observées. En effet, les lésions sévères sont rares avec 7,1% des foals, ce qui confirme les résultats d'une précédente étude sur des yearlings TF Bas-Normands (Jacquet et al. 2003). Ces lésions sévères correspondent aux AOAJ dont l'expression clinique est jugée probable ou certaine. Parmi les 68,2% de foals atteints d'AOAJ, la majeure partie sont donc des foals qui présentent des AOAJ, à priori, peu graves (images qualifiées d'images suspectes transitionnelles et/ou d'images anormales dont l'expression clinique est incertaine).

Nos résultats montrent également que la prévalence est différente selon la race des poulains. Dans notre échantillon, les SF sont les plus souvent atteints, suivis de près par les TF, puis les PS. D'autres études intra-race, surtout pour les TF, menées à l'étranger, rapportent des résultats semblables. Ainsi, dans un échantillon de 73 yearlings trotteurs issus d'un élevage Québécois, Alvarado et al. en 1993, rapportaient que 75,3% présentaient au moins une anomalie radiographique. Les sites radiographiés étaient les mêmes, mais avec 9 incidences radiographiques bilatérales. Toujours pour les yearlings trotteurs, d'autres auteurs rapportent des prévalences plus faibles de l'ordre de 42,2% (Grondhal et Engeland en 1995) et de 60,9% (Storgaard Jørgensen et al. en 1997), mais ils ne tiennent pas compte des grassets et des carpes. De même, sans tenir compte des grassets et des carpes, Schober et al. en 2003 observaient une prévalence de 31,7% d'ostéochondrose sur 624 chevaux de selle allemands âgés de 5 à 10 mois.

Les comparaisons restent cependant difficiles à établir car aucun standard concernant les protocoles d'examen et les protocoles de lecture n'a été défini à ce jour. Les sites radiographiés et les types d'incidences réalisées sont donc très hétérogènes selon les auteurs. Il en est de même pour les protocoles de lecture où les entités lésionnelles relevées ne sont pas toujours définies et où la cotation de la sévérité des lésions n'est pas toujours évaluée. Le seuil de détection des lésions varie donc probablement entre les auteurs, sans qu'on puisse l'évaluer.

On peut donc conclure que le poulain complètement sain à la radiographie est rare. Par ailleurs, un poulain sain à la radiographie ne signifie pas qu'il est indemne d'AOAJ. Les sites radiographiés et les incidences réalisées dans un objectif de dépistage sont des clichés qui permettent un dépistage optimal des AOAJ et non pas intégral.

3.2. Protocoles de dépistage proposés

Sur le protocole radiographique complet, il est impossible de quantifier les faux positifs et les faux négatifs car aucun gold-standard n'existe permettant de montrer qu'un poulain est véritablement lésé ou sain. Par conséquent, la spécificité et la valeur prédictive positive de protocoles allégés versus des protocoles plus complets, ne peuvent pas être évaluées, et seules la sensibilité et la VPN sont informatives.

La réalisation de protocoles limités à 3 clichés (bilatéraux) permet de dépister environ 90,0% des foals et des yearlings lésés. Parmi les foals et yearlings classés comme non-lésés sur les protocoles 3 clichés, environ 80,0% sont sains, sauf pour les foals SF pour lesquels seulement 68,0% sont sains. Pour les foals SF, et plus généralement pour les élevages où on s'attend à une prévalence supérieure à 80,0%, il vaut mieux éviter d'alléger le protocole, car le risque de faux négatifs augmente. Par ailleurs, un acheteur potentiel qui souhaite s'assurer que le poulain est sain aura peu d'intérêt à alléger le protocole au vu du prix d'achat du poulain par rapport au prix des clichés supplémentaires. Hormis ces cas particuliers, un protocole restreint aux clichés les plus sensibles permet aux éleveurs de faire un dépistage plus massif, car moins coûteux, des AOAJ chez leurs poulains, tout en conservant des performances optimales pour le dépistage (variables selon le nombre de clichés réalisés).

Les protocoles allégés doivent être adaptés à la race et aux objectifs du dépistage. Quelles que soient les attentes de l'acheteur ou de l'éleveur, la race, et l'âge, le cliché du doigt postérieur est incontournable pour dépister un maximum de poulains atteints d'AOAJ, ceux atteints d'AOAJ graves, ou ceux atteints de FOC. En effet, ce cliché permet de visualiser le boulet qui est très souvent touché par ces affections (Jacquet et al. 2003) et le paturon qui l'est dans une moindre mesure. Chez les SF et surtout chez les PS, le boulet antérieur (Robert et al. 2003) est également souvent porteur d'AOAJ et le cliché du doigt antérieur est le deuxième cliché d'intérêt quel

que soit l'objectif du dépistage. Grondhal et Engeland en 1995 rapportaient des résultats concordants aux nôtres avec 31,9% de sujets atteints d'ostéochondrose dans les boulets antérieurs et postérieurs chez des trotteurs norvégiens yearlings. En revanche, Storgaard Jørgensen et al. en 1997 rapportaient une prévalence plus faible sur 243 trotteurs danois yearlings avec 17,7%. Pour les chevaux de selle, Schober et al. en 2003 observaient une prévalence de 21,1% d'ostéochondrose dans les boulets antérieurs et postérieurs sur des foals, ce qui est moins élevé que dans notre échantillon mais le type des lésions prises en compte n'est pas défini précisément.

Les lésions du carpe étant en majorité des lésions mineures avec un impact clinique limité, le cliché du carpe ne se justifie que par la forte prévalence des images radiographiques anormales sur ce site. Dans les protocoles visant à détecter un maximum de poulains atteints d'AOA, une alternative peut être de remplacer les clichés des carpes par le suivant, en général le jarret ou le grasset, qui présentent tous deux un intérêt non négligeable dans la détection des poulains les plus sévèrement atteints.

Les lésions les plus sévères sont en majorité situées sur les membres postérieurs. Un protocole visant à établir un pronostic sportif devrait donc privilégier les clichés correspondants.

Les images radiographiques présentes chez le foal ne sont pas entièrement représentatives du statut ostéo-articulaire yearling et encore moins adulte : certaines lésions ont un fort pouvoir cicatriciel alors que d'autres sont absentes chez les sujets immatures (Jacquet et al. 2005). Néanmoins, notre étude montre que les protocoles radiographiques proposés pour les foals et yearlings sont très semblables, les quelques inversions d'ordre devant être confirmées ou infirmées lorsque l'échantillon complet des yearlings sera disponible.

3.3. Conclusion

Les protocoles radiographiques allégés et ciblés sont un outil utile et pratique pour orienter le dépistage en fonction des attentes de l'éleveur, de l'âge, et de la race de ses animaux. Cependant, les protocoles allégés proposés doivent être interprétés avec souplesse et adaptés au contexte. Les sites à radiographier dans les protocoles 2 clichés sont facilement identifiables et très discriminants par rapport aux autres sites car ils ont une sensibilité élevée. Les sites à privilégier lorsqu'on ajoute un 3^{ème} ou 4^{ème} cliché sont moins discriminants car leur sensibilité est très proche. Le choix doit donc se faire selon le contexte du dépistage et les caractéristiques de l'animal.

Par ailleurs, la réduction du protocole à 3 clichés (ou moins) ne se conçoit que dans un objectif pratique et économique visant un dépistage de masse plutôt qu'un dépistage sélectif sur quelques poulains de valeur avec un maximum de sites radiographiés.

Le dépistage mis en oeuvre peut donc être basé sur un protocole minimal ; il devra ensuite être adapté en fonction de l'examen clinique du poulain, de son risque génétique potentiel, de son historique, et de ses conditions d'élevage, ...

Remerciements

Nous remercions les éleveurs qui nous ont permis de mener à bien cette étude en mettant leurs poulains à notre disposition, ainsi que le Conseil Régional de Basse-Normandie qui a assuré le financement du programme ESOAP.

Nous remercions également les Haras Nationaux, la DGER et le Département de Santé Animale de l'INRA qui soutiennent financièrement les travaux de l'UMR INRA-ENVA « Biomécanique et Pathologie Locomotrice du Cheval ».

Bibliographie

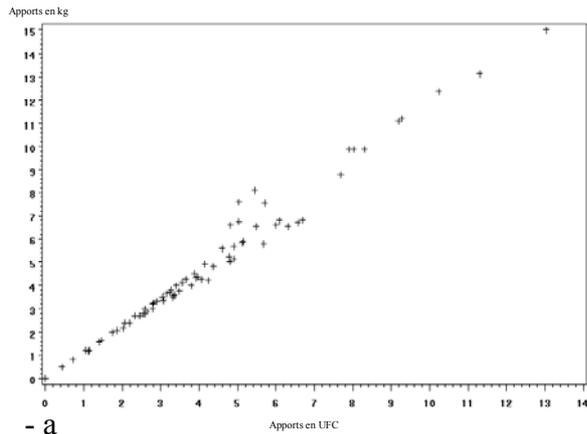
Alvarado, A., Marcoux, M., et Breton, L. (1993) Manifestations radiologiques de maladie articulaire dégénérative juvénile chez de jeunes chevaux standardbreds avant l'entraînement. *Prat. Vet. Equine*, 25, 11-18.

Denoix, JM., Houliez, D., Moreau, H., Audigé, F., Robert, C., Blanchard, L., et al. (1995) Pathologie ostéo-articulaire juvénile chez le cheval – Etat actuel des recherches en France. In : *Compte-rendu de la 21ème Journée d'étude*, 39-46.

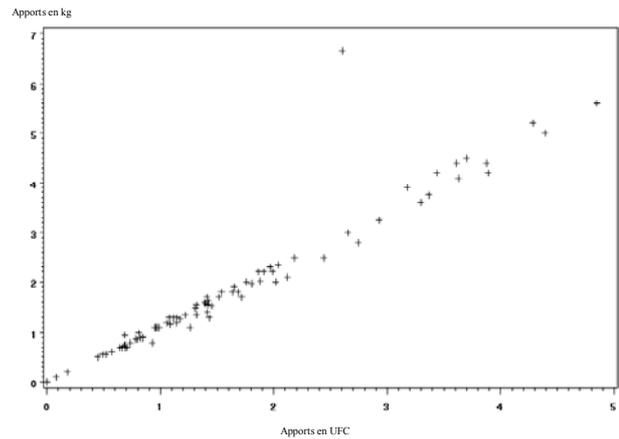
Denoix, JM., Valette, JP., Heilès, P., Ribot, X., et Tavernier, L. (2000) Etude radiographique des affections ostéo-articulaires juvéniles (AOA) chez des chevaux de races françaises, âgés de 3 ans : présentation globale des résultats sur 1180 sujets. *Prat. Vet. Equine*, 126, 35-41.

- Denoix, JM., Audigié, F., Tapprest J., Jacquet S., Coudry V. (2002) Les Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ) : Nature des lésions et diagnostic. In : *Compte-rendu de l'AVEF*, 217-220.
- Grondahl, AM. et Engeland, A. (1995) Influence of radiographically detectable orthopaedic changes on racing performance in Standardbred trotters. *JAVMA*, 206 (7), 1013-1017.
- Jacquet, S., Robert, C., Courtin, G., Valette, JP., Coudry, V., et Denoix, JM. (2003) Corrélations entre le statut ostéo-articulaire et les performances sportives de 129 Trotteurs Français de Basse Normandie. In : *Compte-rendu de la 29ème Journée de la Recherche Équine*, 83-91.
- Jacquet, S., Robert, C., Valette, JP., et Denoix, JM. (2005) Affections ostéo-articulaires juvéniles : dépistage et évolution des images radiographiques entre 6 et 18 mois. In : *Compte-rendu de la 31ème Journée de la Recherche Équine*, 13-20.
- Robert, C., Jacquet, S., Viennet, E., Valette, JP., et Denoix, JM. (2003) Corrélations entre le statut ostéo-articulaire et les performances en course chez les Pur-Sang Anglais présentés aux ventes de Deauville. In : *Compte-rendu de la 29ème Journée de la Recherche Équine*, 185-192.
- Schober, M., Coenen, M., Distl, O., Hertsch, B., Christmann, L., et Bruns, E. (2003) Estimation of genetic parameters of osteochondrosis (OC) in Hanoverian warmblood foals. In: *Proceeding of 54th Annual Meeting of Europe Association for Animal Production*, Rome, Italy.
- Storgaard Jorgensen, H., Proschowsky, H., Falk-Ronne, J., Willeberg, P., et Hesselholt, M. (1997) The significance of routine radiographic findings with respect to subsequent racing performance and longevity in standardbred trotters. *Equine Vet. J.*, 29, 55-59.
- Valette, JP., Degien, C., Denoix, JM. (1999) Etude épidémiologique des affections ostéo-articulaires juvéniles chez le cheval. *Epidémiol. Santé Anim.* 35, 73-79.
- Valette, JP., Denoix, JM., Boulet, C., et Monnet, Y. (2000) Pathologie ostéo-articulaire juvénile : Bilan de l'étude sur 246 poulains de 1 et 2 ans provenant de la région de Basse-Normandie. In : *Compte-rendu de la 26ème journée de la Recherche équine*, 13-32.

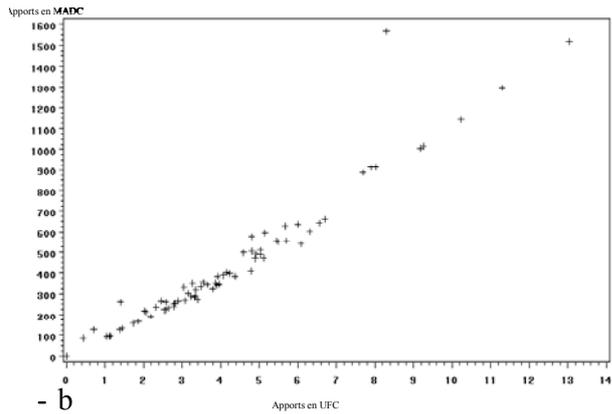
Annexe 4 : Corrélations entre les variables d'alimentation



Relation entre les apports moyens journaliers de concentrés en kilogrammes (kg) et en Unités Fourragères Cheval (UFC) à la mère lors du 8^{ème} mois de gestation

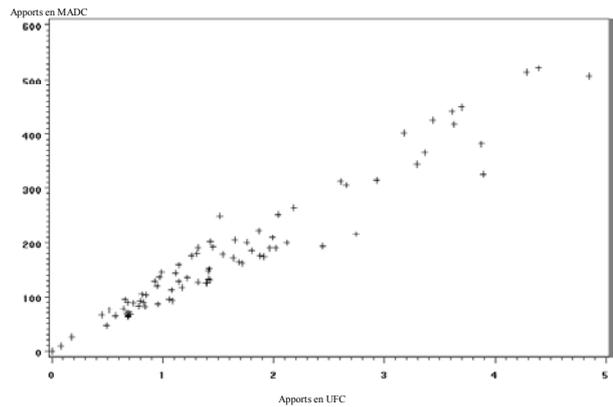


Relation entre les apports moyens journaliers de concentrés en kilogrammes (kg) et en Unités Fourragères Cheval (UFC) au poulain à l'âge de 4 mois

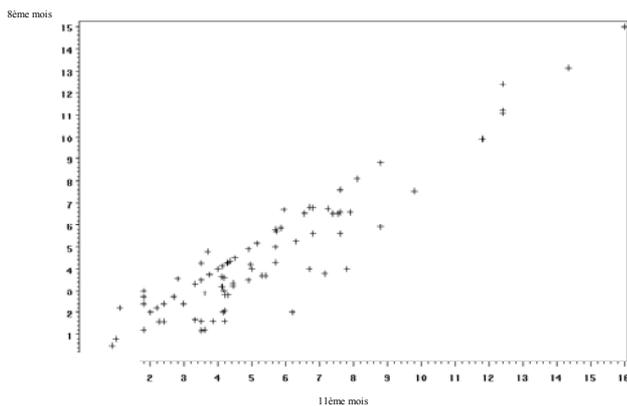


- b

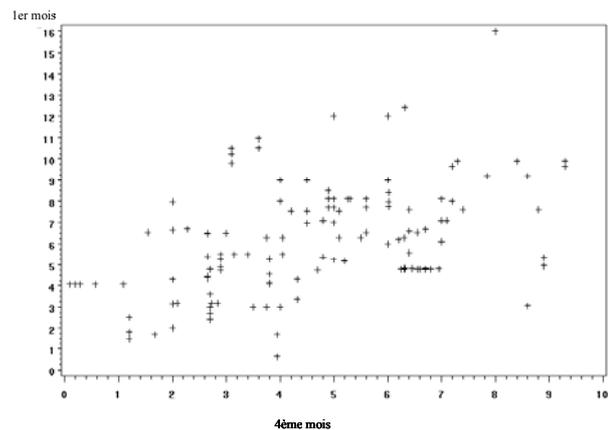
Relation entre les apports moyens journaliers de Matière Azotée Digestible Cheval (MADC) et d'Unités Fourragères Cheval (UFC) contenues dans les concentrés distribués à la mère pendant le 8^{ème} mois de gestation



Relation entre les apports moyens journaliers de Matière Azotée Digestible Cheval (MADC) et d'Unités Fourragères Cheval (UFC) contenues dans les concentrés distribués au poulain à l'âge de 4 mois



Relation entre les apports moyens journaliers de concentrés en kilogramme (kg) à la mère entre le 8^{ème} et le 11^{ème} mois de gestation



Relation entre les apports moyens journaliers de concentrés en kilogramme (kg) à la mère entre le 1^{er} et le 4^{ème} mois de lactation

RESUME

De par leur prévalence élevée et leur caractère potentiellement invalidant, les Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles (AOAJ) sont à l'origine de pertes économiques substantielles pour l'industrie des courses et du cheval de sport. L'objectif des travaux présentés était de quantifier les effets ajustés de la génétique, de la croissance, et des pratiques d'alimentation et d'élevage sur les AOAJ du foal. Une étude épidémiologique a permis de suivre 393 poulains dans 21 haras de Basse-Normandie. La validité de la mesure des AOAJ a été vérifiée par une étude de répétabilité des conclusions de lecture des radiographies. L'étude de la distribution des AOAJ en fonction des entités, de leur localisation, et de leur sévérité a montré des variations raciales, mais pas d'associations entre articulations atteintes. Les résultats de l'analyse des facteurs de risque a conduit à recommander un suivi de la croissance des poulains avec un ajustement adapté de l'alimentation, de même qu'une surface de pâture limitée avant l'âge de 2 mois et des sorties régulières quotidiennes afin de limiter la prévalence des AOAJ.

Mots clés : Affections Ostéo-Articulaires Juvéniles ; Epidémiologie ; Modélisation statistique ; Cheval ; Facteurs de risque ; Croissance ; Conduite d'élevage

ENGLISH TITLE & SUMMARY

Descriptive and analytical epidemiology of Developmental Orthopaedic Disease in the Horse

Developmental Orthopaedic Disease (DOD) can cause pain and lameness. For this reason and due to its high prevalence, DOD causes important economic losses in the horse breeding industry. The aim of this study was to assess the adjusted effects of genetic, growth, feeding and management practices on DOD of foals. An epidemiological study that followed 393 foals from 21 stud-farms from Normandy, France, was used. The consistency of the disease assessment was checked by a repeatability analysis of the conclusions from radiographic evaluation. The study of the distribution of DOD occurrences depending on the entities, their location, and their severity showed between breed variations, but no association among affected joints. In order to reduce prevalence of DOD, the results of the risk factor analysis conducted to recommend to follow the growth of foals and adjust nutrients intakes accordingly to prevent too faster growth, to limit the surface of pastures offered to the foals, especially before 2 months of age, and to provide daily free exercise to foals.

Key-words: Developmental Orthopaedic Disease; Epidemiology; Statistical Modelling ; Horse ; Risk factors; Growth ; Management practices ;