

Ehrlichiose en phase aigue chez les femelles laitières :
volet biochimique de l'étude nationale SNGTV* Rapport intermédiaire.

*DMV Guy JONCOUR, 22160 Callac. Coordinateur de l'étude nationale « cas aigus d'EGB »
Callac.Veto@wanadoo.fr <http://www.zoopole.com/ispaia/urgtvbretagne2003.htm>

Afin de rendre compte aux praticiens utilisateurs du site et inventeurs des cas cliniques, il nous est apparu opportun de fournir un rapport intermédiaire, à « mi-route » de la réalisation d'une partie de nos objectifs : étudier 50 cas aigus cliniques confirmés d'ehrlichiose granulocytaire bovine (EGH) sur femelles laitières en France.

Guy Joncour, pour le comité scientifique de pilotage (CSP).

Introduction

Il ne s'agit ici que d'une *synthèse préliminaire* des résultats de biochimie pour l'étude nationale SNGTV sur l'ehrlichiose bovine.

Les résultats hématologiques suivront ultérieurement car à l'heure actuelle nous avons recueillis trop peu de données pour les exploiter : au 11 juin, on compte 24 cas positifs. Cependant les cas positifs de ce printemps 2005 pourraient permettre de combler le retard. Suivant le protocole, J0 est défini comme la date de première intervention du vétérinaire. Celui-ci retourne sur l'exploitation en cas de diagnostic PCR positif 7 puis 30 jours après (J7, J30).

	Malade à J0	Malade à J7	Malade à J30	Témoin
Nombre de sérums analysés	17	3	6	24

17 sérums de vaches malades à différents moments d'expression clinique et 24 sérums de vaches témoins relevées dans les mêmes exploitations ont été analysés pour le moment. Les dosages effectués au laboratoire central de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes sont : ASAT, GIDH, GGT et bilirubine.

En juin (du 11 au 29juin), au vu des fiches LDA22 reçues au GV de Callac :

« PCR pos. » : 4, « PCR nég. » : 7, « PS à J7 » : 86, « PS-J30 » : 25, « NFS-J30 » : 4
Nota : ces échantillons ne sont pas pris en compte, pour l'instant.

Les problèmes rencontrés lors de l'analyse

1/ Qualité des prélèvements

La qualité des sérums est globalement bonne. On compte environ 18 tubes modérément hémolysés sur un total de 50 tubes analysés soit 36% des prélèvements. L'hémolyse peut perturber certaines analyses en particulier majorer artificiellement jusqu'à 10 % de la concentration en bilirubine. Dans ces conditions, l'analyse ne peut être interprétée que **qualitativement**. Pour limiter l'impact de l'hémolyse, nous avons donc classé les différents

sérums en « négatif » ou « augmenté », en tenant compte de l'effet de l'hémolyse dans notre classement.

2/ J0

J0 est défini dans le protocole SNGTV comme le premier jour de présentation du cas suspect au vétérinaire de l'élevage. Ce souci pratique se heurte au souci de l'expérimentateur. La bibliographie concernant l'ehrlichiose bovine considère généralement qu'après une phase d'incubation de 4 à 7 jours, la phase aigue débute par une poussée de fièvre coïncidant généralement avec l'observation d'*Anaplasma phagocytophilum* dans les leucocytes.

J0 peut donc être le premier ou le deuxième jour de la phase aigue voir même parfois plus tard. Par exemple, un J0 date du 2 juin, alors que la vache a présenté des signes cliniques le 27 avril !

J0 doit être reconsidéré en fonction du premier jour d'observation chez l'animal de signes cliniques évocateurs d'une ehrlichiose (principalement hyperthermie et agalaxie).

Il n'est évidemment pas possible d'obtenir pour chaque cas un prélèvement au premier jour de déclaration des signes cliniques. Il paraît par contre primordial que le praticien essaie de préciser J0 en s'informant auprès de l'éleveur.

Note du CSP : c'est une « étude-terrain ». En ce sens, elle diffère de celles réalisées, par exemple, sur des inoculations expérimentales, comme celles de Nicola PUSTERLA, en Suisse : dans ce cas, le moment J0 est connu précisément, par relevé systématique de la température rectale.

Deux cas se présentent alors :

- **L'animal est « malade » depuis 3 jours maximum.** Dans ce cas le prélèvement du vétérinaire sera considéré comme étant un J0 et le *protocole* est *appliquée* jusqu'au bout *sans modification*.
- **L'animal est « malade » depuis 3 à 7 jours.** Dans ce cas on considérera que *le prélèvement fait est un J7*, avec tout ce qu'implique un J7 dans le protocole actuel à savoir : 1 tube sec sur la malade / 3 à 5 tubes secs sur des témoins. Sans oublier toutefois *1 tube EDTA sur la malade pour diagnostic PCR*. Il ne sera **pas fait de NFS** pour cet animal là : elle ne serait pas représentative d'une NFS d'initiation de phase clinique d'ehrlichiose et fausserait les données déjà obtenues.

Pour choisir J30, le clinicien se basera sur le premier jour probable d'expression de la maladie.

Si le praticien doit intervenir plus de 7 jours après le début de la phase clinique, le protocole ne devrait pas être poursuivi, *en théorie* (NdCSP) : la feuille de commémoratifs est lue par le coordinateur ; il apprécie les délais entre le début de l'observation du cas par l'éleveur et la date d'intervention du praticien. La phase aigue est en effet terminée à cette date. De plus, la technique PCR devient, alors, de moins en moins sensible (NdCSP : nous avons eu des PCR « pos » 12 à 13 jours après le début de la phase aiguë).

Pour les dossiers déjà engagés, ces règles ont été appliquées afin d'obtenir les cas de la meilleure qualité possible. De plus, elles évitent la pratique d'analyses inutiles dans le cas où le praticien intervient sur un animal malade depuis un trop long délai.

3 / Quelles valeurs de référence utiliser ?

Les valeurs usuelles des paramètres biologiques des vaches laitières ne sont pas aussi connues que l'on pourrait le croire et en particulier leurs variations en fonction de leur production et de leur passé pathologique. Le choix d'intervalle de référence concernant la biochimie hépatique

des vaches laitières sera donc discuté dans la thèse. Dans un premier temps, nos critères de biologie clinique hépatique sont les suivants :

ASAT	< 175 UI/L
GIDH	< 60 UI/L
GGT	< 50 UI/L
Bilirubine	< 8 µg/L

Valeurs usuelles chez la VL (appareil Hitachi, technique Boehringer., Guelph 2000)

4 / Difficultés de la mise en évidence des conséquences hépatiques de l'ehrlichiose à *Anaplasma phagocytophilum*

Un des objectifs de cette étude est d'essayer de déterminer si l'on peut mettre en évidence biologiquement les conséquences hépatiques de l'EGB à *A. p.* Tout en notant que :

- Nous n'avons pas les moyens de confirmer l'existence de lésions hépatiques lors d'EGB (Ehrlichiose Granulocytaire Bovine). Puisque la mortalité imputable à cette affection est très faible il n'est pas possible de réaliser d'examen nécropsique. D'autre part, il n'est pas possible de réaliser des biopsies hépatiques, autant pour des raisons éthiques que budgétaires.
- Les VLs sont susceptibles d'être atteintes de diverses affections hépatiques, en particulier lipidose et fasciolose. En conséquence, une modification de ces paramètres biochimiques peut révéler une atteinte hépatique sans que l'étiologie *A. phagocytophilum* soit démontrée.
- L'ASAT n'est pas une enzyme uniquement distribuée dans les hépatocytes. Une augmentation de ce paramètre ne sera pas spécifique d'une atteinte hépatique.
- Une hyperbilirubinémie peut être secondaire à une affection hépatique mais aussi à une hémolyse, même si l'hémolyse n'est pas importante (pas d'anémie). De nombreuses inflammations chroniques sont susceptibles de provoquer des coagulations intravasculaires disséminées (CIVD) modérées qui entraînent une augmentation de la bilirubine.

Résultats à J0 Résultats « malades à J0 » (de J0 à J3)

<i>n° travail</i>	<i>ASAT J0</i>	<i>GIDH J0</i>	<i>GGT J0</i>	<i>BILI J0</i>
307	130	64	6	4
547	92	15	25	7
604	96	9	16	8
1290	126	11	27	12
1644	65	14	22	9
1807	100	34	24	5
2287	75	18	22	5
2672	166	30	31	4
3065	86	15	25	8 (H)
4142	75	17	31	6
5905	72	13	54	7
6362	182	9	27	9 (h)
6441	89	17	26	4
7180	122	10	18	12 (H)
8488	84	16	27	8
9030	67	6	48	3
9898	107	10	47	6

ASAT : L'ASAT est une enzyme marqueur de cytolysse hépatique ou musculaire. Deux vaches montrent une élévation nette en ASAT : 2672 et 6362. On note également une augmentation pour les vaches 307, 1290, 7180 et peut-être 9898.

GIDH : La vache 307 est la seule vache de l'étude à présenter une augmentation de cette enzyme, marqueur de nécrose du tissu hépatique. Cependant des valeurs notables sont à remarquer pour la 1807 et la 2672.

GGT : Seule la vache 5905 présente une augmentation en GGT, enzyme des membranes qui bordent les canalicules biliaires : ils sont à ce titre un marqueur de cholestase. Cependant des valeurs notables sont aussi à remarquer pour la 2672, 4142, 9030, 9898 (et peut-être même 6362, 6441 et 8488).

Bilirubine : Cinq vaches (1290, 1644, 3065, 6362 et 7180) montrent une élévation modérée de la bilirubine sérique (de 8,2 à 12,1). Cependant pour 3 d'entre elles la couleur orangée des sérums indiquait de l'hémolyse. L'hémolyse observée pourrait provenir des conditions de prélèvements et de transport. Cette hémolyse peut aussi s'expliquer par le fait que les sérums proviennent d'animaux malades chez qui il existe une fragilité érythrocytaire. En considérant une majoration maximale de 10 % de la bilirubinémie à cause de l'hémolyse on peut considérer qu'avec 8 et 9 microg/L les vaches 3065 et 6362 ne présentent pas d'hyperbilirubinémie tandis que la vache 7180 avec 12 microg/L présente une hyperbilirubinémie modérée.

Seulement 3 vaches ont un sérum légèrement augmenté en bilirubine.

Comme mentionnée précédemment, cette élévation pourrait avoir une origine pré-hépatique. La vache 1290 montre un hémocrite > 31 % ce qui exclu l'origine hémolytique. Pour les deux autres vaches, nous n'avons pas les valeurs de l'hémocrite.

Si l'on se réfère aux valeurs usuelles citées en référence, sur 4 séries de 17 analyses portant sur l'ASAT, la GIDH, la GGT et la bilirubine, 8 résultats sont au-dessus des valeurs de référence soit environ 12% des résultats. Si l'on examine individuellement chaque animal, on peut suspecter une atteinte hépatique (sans pouvoir en préciser la gravité) chez 8 animaux : 307 (ASAT, GIDH), 1290 (ASAT, GGT), 1807 (ASAT, GIDH, GGT), 2672 (ASAT, GIDH, GGT), 5905 (GGT), 6362 (ASAT, GGT), 9030 (GGT), 9898 (ASAT, GGT)

Ainsi pour 8 vaches malades sur 17, le système hépatobiliaire semble modérément affecté en phase initiale d'EGB. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Pusterla et al sur 3 animaux lors d'infections expérimentales de 10 vaches laitières en 1997. Il faut cependant noter que les valeurs usuelles étaient différentes.

Analyses biochimiques chez des vaches laitières en début de phase aigue d'ehrlichiose après infection expérimentale, d'après Pusterla et al 1997

Variable (unit)	Finding	No. of cows
Creatinine (μ mol/liter)	Normal (65-175)	7
	Increased (>175)	3
Bilirubin (μ mol/liter)	Normal (0.8-8.6)	7
	Increased (>8.6)	3
AST (U/liter)	Normal (40-80)	10
γ -GT (U/liter)	Normal (0-30)	10
GLDH (U/liter)	Normal (4-26)	10
SDH (U/liter)	Normal (4-26)	10
CK (U/liter)	Normal (<200)	10
Sodium (mmol/liter)	Normal (135-155)	10
Potassium (mmol/liter)	Normal (3.5-5.5)	10
Chloride (mmol/liter)	Normal (96-110)	10

Comparaison des résultats des malades à J0 avec la population « témoin » :

Les quelques analyses statistiques qui ont été réalisées pour comparer la population témoin avec la population de vaches atteintes d'EGB n'ont pu montrer de différence significative (on rappelle que la bilirubine n'a pas été prise en compte pour les raisons précitées). En dehors du fait du manque de puissance des tests, on ne peut exclure que les atteintes hépatiques étaient préexistantes à l'infection.

Les résultats à J7 et J30:

Les données ne sont pas suffisantes pour le moment pour justifier une interprétation.

Chez les malades à J7 (entre J4 et J7)

	ASAT J7	GLDH J7	GGT J7	BILI J7
1554	73	10,1	43,1	5,2
2012	169,9	114,7	49,3	7,4
2672	144,4	32	37,8	H

Chez les malades à J30 (entre J30 et J33)

	ASAT J30	GLDH J30	GGT J30	BILI J30
547	114	23	17	4
1290	105	11	24	6
2881	86	22	39	4,9
3065	122	68	27	H
6441	100	19	45,2	3,3
9030	141	32	58	5