



Etude nationale sur des cas cliniques aigus d'ehrlichiose granulocytaire bovine (EGB) chez la vache laitière, en pratique courante. Nouveau PROTOCOLE d'investigations

Si le diagnostic de l' **ehrlichiose granulocytaire bovine** à *Anaplasma phagocytophilum*. est désormais assez aisé à établir, les conséquences de cette zoonose ne sont pas encore totalement connues chez l'animal.

Ni chez l'homme, dont la vache peut constituer une « **sentinelle** ».

Profitant d'échanges importants avec le corps médical, il est apparu intéressant de mettre en place une nouvelle étude, au plan national, afin d'évaluer, par analogie, chez les bovins, les éléments suivants :

- **Relation entre phase aiguë et immunodépression induite,**
- **Impact de la phase aigue sur la fonction hépatique des laitières.**

La réunion du 15 mars 2005 du comité scientifique de pilotage (CSP) a abouti à revoir ce protocole, sur la base des résultats obtenus à l'automne 2004 : 61 envois des confrères, de toute la France, au LDA22. Dont 8 dossiers « POSitifs ».

La **leucopénie-thrombopénie** étant un fait établi et, apparemment un signe confortant d'emblée, une suspicion clinique, de la part du praticien, le CSP a pris la décision de privilégier l'étude de ces normes au niveau du terrain afin d'optimiser l'utilisation de ces outils d'accessibles « en routine ». d'autre part, les cellules sanguines voyagent mal !

Cette étude nationale se déroule d'avril 2004 à novembre 2005, toujours dans la limite de 50 cas et de l'enveloppe disponible (8500 eu). Tout praticien confronté à un cas clinique est invité à y participer.

Objectifs :

- Evaluer les moyens de diagnostic des cas aigus d'EGB en pratique courante.
- Confirmer la validation de la **sonde PCR-URGTVB**, mise en œuvre, depuis 2000, au LDA22.
- « Sonder » la fonction hépatique dans le cadre de la pathologie comparée : en clinique « humaine », une des premières investigations diagnostiques permettant **une forte suspicion** est l'exploration de la fonction hépatique (ASAT-GDH).
- Collecter des échantillons de rate sur animaux malades, reconnus « Pos » (en PCR) par le LDA22 et morts pendant l'étude (voir fiche « étude des souches très pathogènes à mortelles »),
- **Montrer qu'un réseau d'investigation vétérinaire national, peut mener à terme des investigations scientifiques.**

Moyens humains et techniques :

- Comité scientifique de pilotage : Pr Claude Chastel (Doyen honoraire UER Brest), Jean-Claude George (médecin généraliste en Meuse), Brigitte Siliart (ENVN), Hervé Morvan (LDA 22), Rosine Danguy-des-Déserts (LDA22), Eric Collin (Commission épidémiologie SNGTV), Philippe Camuset (SNGTV), Guy Joncour (URGTVB), François Moutou (AFSSA), H-J Boulouis (ENVA), R. Maillard (ENVA), J. Brugère-Picoux (ENVA), Jean-François Labbé (URGTVB), D. Remmy (Ceva), G. Dussaulx (Intervet), B. Armange (Virbac), J-F Hitier (Boehringer) et B. Dédina (Bayer).
- Les consœurs et confrères rapporteurs des cas cliniques aigus.
- Un(e) étudiant(e) de l'ENV Nantes, Damien Achard, en T1 Pro, qui collabore à cette étude dans le cadre de sa thèse de doctorat /Pr. B. Siliart. (Voir « Rapport intermédiaire de l'étude hématologique »).
- Les Laboratoires de référence destinataires : **LDA22** / H. Morvan et **LDH-ENVN** / B. Siliart.

Moyens financiers :

Les laboratoires **Ceva, Intervet, Virbac, Boehringer** et **Bayer** contribuent financièrement à la réalisation de cette étude. Cette participation de **8 500 €** permettra de

- Indemniser les confrères pour leur travail, et le stagiaire,
- financer les analyses,
- dédommager de leur temps passé les coordinateurs de cette étude.

PROTOCOLE d'investigation sur les cas aigus d'EGB à <i>A. phagocytophilum</i> Fiche-Terrain
--

J0 : Visite initiale par le vétérinaire « inventeur » : en cas de **suspicion clinique** d'EGB le vétérinaire prélève, à la veine sous-caudale, du sang de l'animal malade dans un tube sec (bouchon rouge, « TS ») et dans deux tubes EDTA (bouchon violet, « TE ») avant tout traitement.

Il remplit la feuille de commémoratifs (jointe) **aussitôt faxée (recto)** au coordinateur (02 96 45 91 58). Elle est ensuite jointe aux tubes (1 rouge, [si le vétérinaire ne dispose pas de centrifugeuse, sinon, le sérum], 1 violet) adressés avec la mention obligatoire « **ETUDE Ehrlichiose - SNGTV, au LDA des Côtes d'Armor. Zoopôle. 7, rue du Sabot. B.P. 54. 22440 PLOUFRAGAN** ».

Le second tube EDTA « TE » : dans la mesure du possible, 1 à 2 lames de frottis sanguin, « de garde », identifiées, sont réalisées par le praticien et stockées, en vue d'envoi, sur demande au LDA22. Elles pourront servir de confirmation ou non, à la PCR.

Il est demandé au praticien de faire effectuer, par ses soins (analyseur) ou par son laboratoire habituel (« humaine ») prestataire de services, une NFS simplifiée « numération leucocytes-thrombocytes ».

Les résultats de la NFS réalisée en clientèle sont adressés au coordinateur.

Le LDA 22 réalise un diagnostic par PCR (envoi sous 24 h. Coût : 27,84 eu), dès réception.

- Si le diagnostic est négatif, le cas est exclu de l'étude. Les investigations sont arrêtées.
- Si le diagnostic du LDA 22 confirme la suspicion clinique par PCR (sous 7 jours au maximum), le vétérinaire inventeur en est informé, par fax, par le LDA 22.

J7 : Si la PCR est positive, le vétérinaire inventeur, **informé par fax par le LDA 22**, se rend de nouveau dans l'exploitation afin de réaliser

- un prélèvement sanguin (TS ou sérum, si centrifugeuse) sur un lot « témoin » : au minimum 3 animaux de même production (laitières. De même rang et niveau de production, dont, éventuellement, « génisses » ou « tarées ») **représentatifs de l'historique de la malade** (exemple : « vaches introduites, achetées », dans le troupeau). Cliniquement sains. (→ 3 à 5 TS).
- un prélèvement sanguin (TS ou sérum, si centrifugeuse) sur la vache malade déjà prélevée à J0.

Identification des tubes (sérum ou sang total) et envoi → **LDA22**.

L'envoi des sérum (bouchon rouge, TS) pour dosage « ASAT » et « GDH » des malades et témoins vers le LDH / ENVN est assuré par le LDA 22. Rythme des envois à définir entre prestataires / Labos.

J30 : Les animaux (la malade et, au moins les 3 VLs « témoin » → 4 tubes TS, au minimum) sont de nouveau prélevés par le vétérinaire inventeur du cas :

- **1 tube sec (TS) pour l'ensemble +**
- **1 tube EDTA (TE) pour la seconde NFS de la « convalescente ».**

Bien identifiés, les tubes secs sont envoyés pour centrifugation-stockage au LDA22 [si le vétérinaire ne dispose pas de centrifugeuse, sinon, le sérum]. Ces prélèvements sont adressés **au LDA 22**.

La seconde NFS simple « numération leucocytes-thrombocytes » de la convalescente est laissée aux soins du praticien. Il transmet les résultats par fax au coordinateur (02 96 45 91 58)

Un nouveau dosage des constantes hépatiques est réalisé sur ces mêmes animaux, au LDH-ENVN du Pr. B. Siliart.

Chaque envoi comportera la mention obligatoire :

« Etude Ehrlichiose - SNGTV »

au LDA des Côtes d'Armor. Zoopôle. 7, rue du Sabot. B.P. 54. 22440 PLOUFRAGAN.

Discussion : Critères d'inclusion, d'exclusion et coûts.

- Zone d'étude : le **territoire national** mais uniquement les femelles -en lactation ou non- dans des troupeaux laitiers.
- Le cas est inclus dans l'étude dès que le diagnostic par PCR est confirmé par le LDA 22. Le vétérinaire inventeur est alors responsable de la réalisation des autres prélèvements et des envois de documents (résultats NFS **simplifiée** « leucocytes-thrombocytes »).
- Un des objectifs étant d'apprécier la fiabilité (sensibilité / spécificité) de l'outil cyto-hématologique (« numération des leucocytes et des plaquettes / thrombocytes ») **en pratique courante**, il est apparu opportun de laisser réaliser ce type d'investigation **dans le cadre du terrain**. Les 8 cas positifs référés à l'automne 2004 présentent des convergences « NFS » :
 - forte **thrombopénie** (ex. : 400 000 thrombocytes [sur un témoin »] *versus* 94 000 pour la malade),
 - **leucopénie** (ex. : 11 000 / mm³ leucocytes [sur un témoin »] *versus* 5 000 / mm³ pour la malade), significatives.
- Evaluation de la fonction hépatique dans le cadre de la pathologie comparée : même si l'on montre une détérioration de la fonction hépatique, dans la mesure où celle-ci est très sollicitée, ne pourrait-on penser que c'est l'insuffisance hépatique (IH) qui a permis l'apparition de la forme aiguë ? Une certitude concernant la pathogénie, l'EGB induit des pathologies associées et intercurrentes non exceptionnelles. L'étude de ces paramètres de la fonction hépatique chez des vaches laitières, déjà très sollicitées, revêt d'autant plus d'intérêt : peu de références bibliographiques existent en France. D'autre part, les cabinets vétérinaires ont de plus en plus recours à ces types d'investigations.
- Les analyses sont prises en charge financièrement dans les conditions suivantes :
 - Renvoi systématique et préalable de la fiche initiale de commémoratifs, par *fax* au coordinateur (et des résultats NFS, ensuite).
 - Confirmation du diagnostic en PCR, par le LDA 22 (**Si la PCR est négative, le LDA facture l'examen normalement à la SNGTV [38,50 eu]** → merci de bien cibler les suspicions cliniques [fiche diagnostic, à consulter]).
 - Respect du protocole en ce qui concerne les prélèvements sanguins, menés à terme.
- Le vétérinaire inventeur recevra **6 AMO par cas retenu dans l'étude menée à terme**, en indemnisation
 - des prélèvements sanguins
 - du coût NFS « simple » (numération leucocytaire et thrombocytaire / plaquettaire)
 - de la rédaction de la fiche des commémoratifs téléchargeable sur le site ci-dessous.
 - du conditionnement et de l'envoi des tubes de sang au LDA 22
 - des frais postaux et des déplacements.
- Les prélèvements sont envoyés, au plus vite, par la poste, au LDA 22, sous le régime du froid, **le jour de leur réalisation**.

Ces envois peuvent être réalisés quelque soit le jour de la collecte : nous n'avons plus, en effet, la contrainte liée aux exigences de prévention de la lyse cellulaire, pour la cyto-hématologie et les NFS.

Callac, le 30 Mars 2005

Guy JONCOUR

Coordinateur de l'étude SNGTV sur l'Ehrlichiose Granulocytaire Bovine (EGB) à *A. phagocytophilum*

<http://www.zoopole.com/ispaia/urgtvbretagne2003.htm>.

Callac.Veto@wanadoo.fr