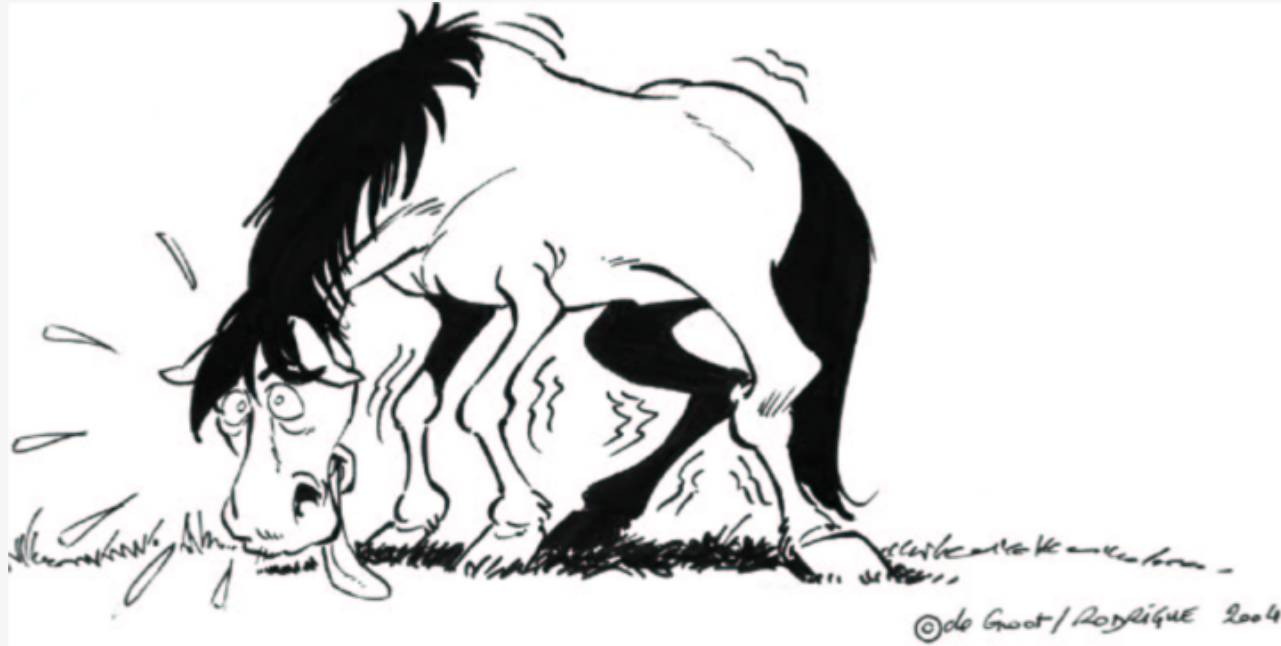


SYNDROME PIRO-LIKE EQUIN

Le point de vue du laboratoire

AGENTS IMPLIQUÉS

- *Anaplasmose*
- *Babésioses*
(*Theileria* et *Babesia*)
- *Borrélioze*
- *Leptospirose*
- *AIE*



Cas Clinique

U., SF Hongre de 6 ans

- 27/06 : Hyperthermie, œdème des membres, abattement
- NF

ABC	GB	6,65	10 ³ /μl	(5.2/13.9)
27/06/14 11:16	Lymp:	1,2	10 ³ /μl	(1.2/3.2)
	%Lymp:	18,8	%	(16.0/32.0)
	Mono:	.20	10 ³ /μl	(.3/.8)
	%Mono:	3,1	%	(.0/5.0)
	Gran:	5,3	10 ³ /μl	(1.2/6.8)
	%Gran:	78,1	%	(40.0/79.0)
	Eos:	5,6	%	
	GR	5.44	10 ⁶ /μl	(6.40/10.00)
	Hb	8.21	g/dl	(11.0/17.0)
	HCT	23.68	%	(32.0/47.0)
	VGM	43	μm ³	(43/54)
	TGMH	15,09	pg	(15.0/19.0)
	CCMH	34,69	g/dl	(34.0/37.0)
	RDW	17.24	%	(14.0/17.0)
	PLT	132	10 ³ /μl	(100/270)
	MPV	6.09	μm ³	(6.7/6.7)

Cas Clinique

U., SF Hongre de 6 ans

- PCR sang :
 - Piroplasmose : -
 - Borréliose : -
 - **Anaplasmosse : +**
 - Leptospirose : -
 - Artérite Virale Equine : -
- PCR sur ENP
 - Grippe -
 - EHV_{1,4} -
- Traitement : Terramycine 50ml IV SID 8 jours
Carbesia 10ml 2 fois à intervalle 48h
Amélioration clinique

Cas Clinique

U., SF Hongre de 6 ans

- 02/09 : toux – Avemix
- 04/09 : Hyperthermie, œdème des membres, conjonctivite
- NF : anémie modérée, Fib et bilirubine légèrement ↑
- **PCR Anaplasma : +**
- **Séro Anaplasma : + charge forte**
- **Infection chronique ? Ré-infestation ?**
- Amélioration en 3 jours avec traitement Terramycine

ANAPLASMOSE

Anaplasmosse

*= ehrlichiose
granulocytaire*

= Anaplasma phagocytophilum

- Bactérie = rickettsie
- Transmission / tiques : Ixodes
- Incubation : 3-10 j lors d'infection expé, j'à 20 j après morsure tique
- Symptômes peu spécifiques
 - HyperT, abattement, dysorexie, ataxie,
 - Œdème membres, ictère, pétéchies,
 - Amaigrissement chronique
 - Parfois asymptomatique...
- **Guérison en général rapide (15j), svt spontanée**
- Rares décès (CIVD)
- Traitement : OxytetraC 7 j

Anaplasmosse = ehrlichiose

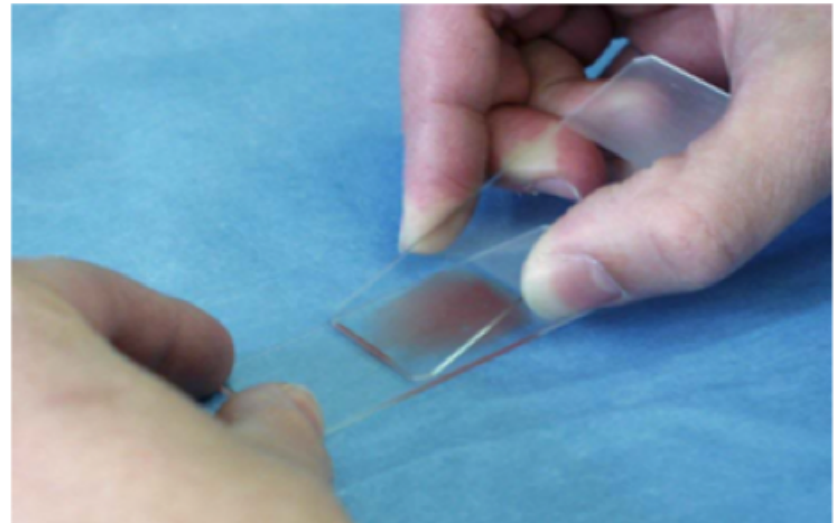
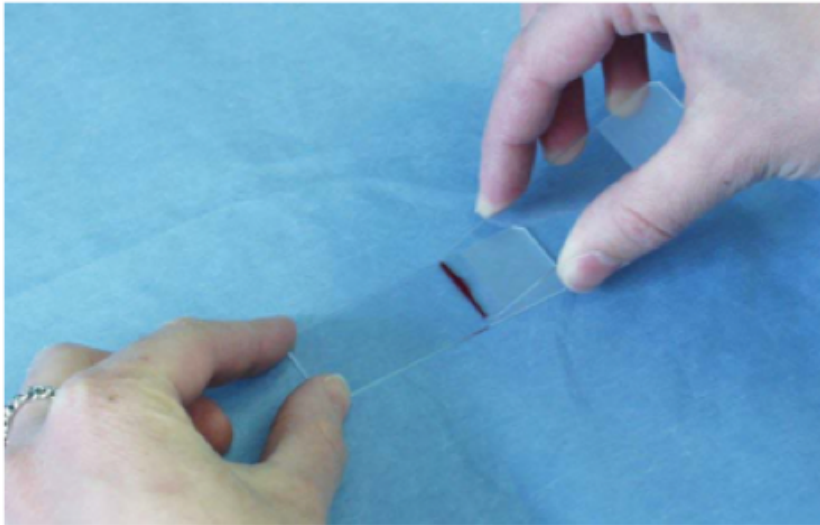
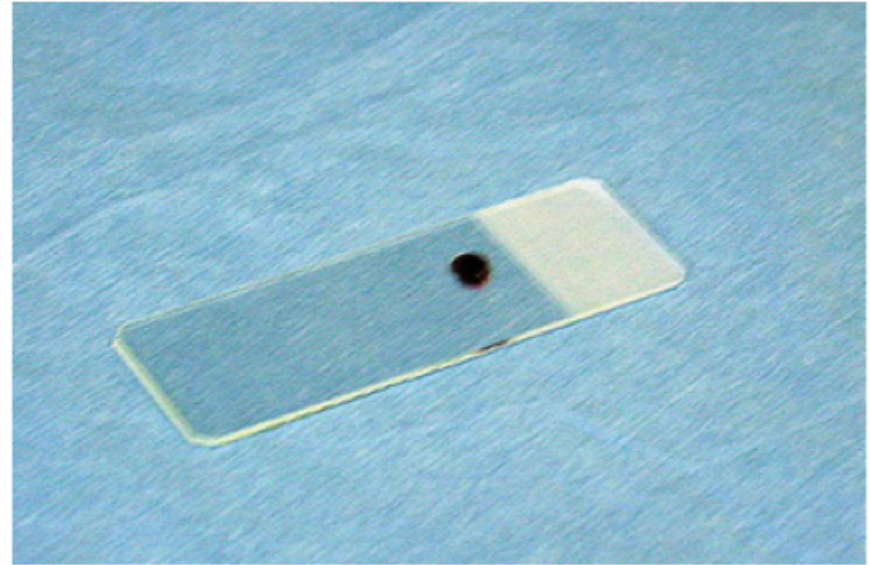
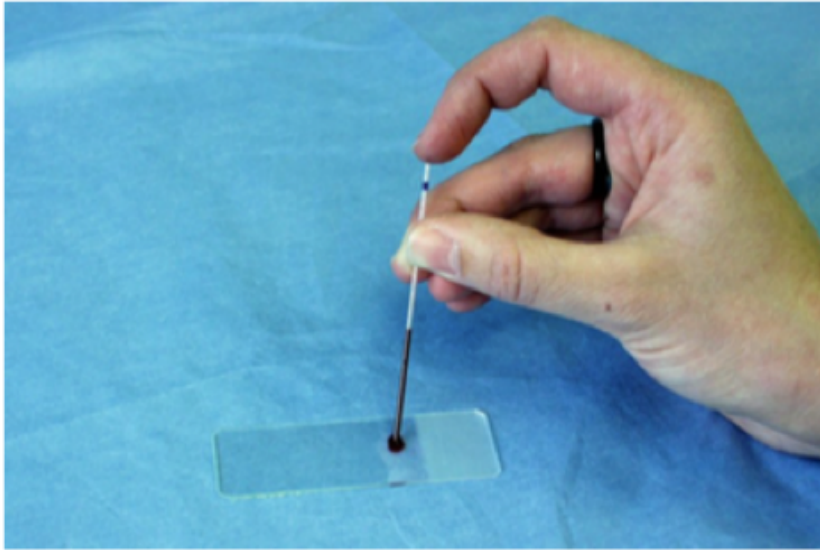
= *Anaplasma phagocytophilum*

- Diagnostic
 - Analyses hémato-biochimiques
 - NF : « **lymphopénie** », **neutropénie** + **thrombocytopénie**, +/- **anémie**
 - FS : **morula** dans cytoplasme PNN ou PNE (2 à 3 j après le début de fièvre et pdt environ 7 j)

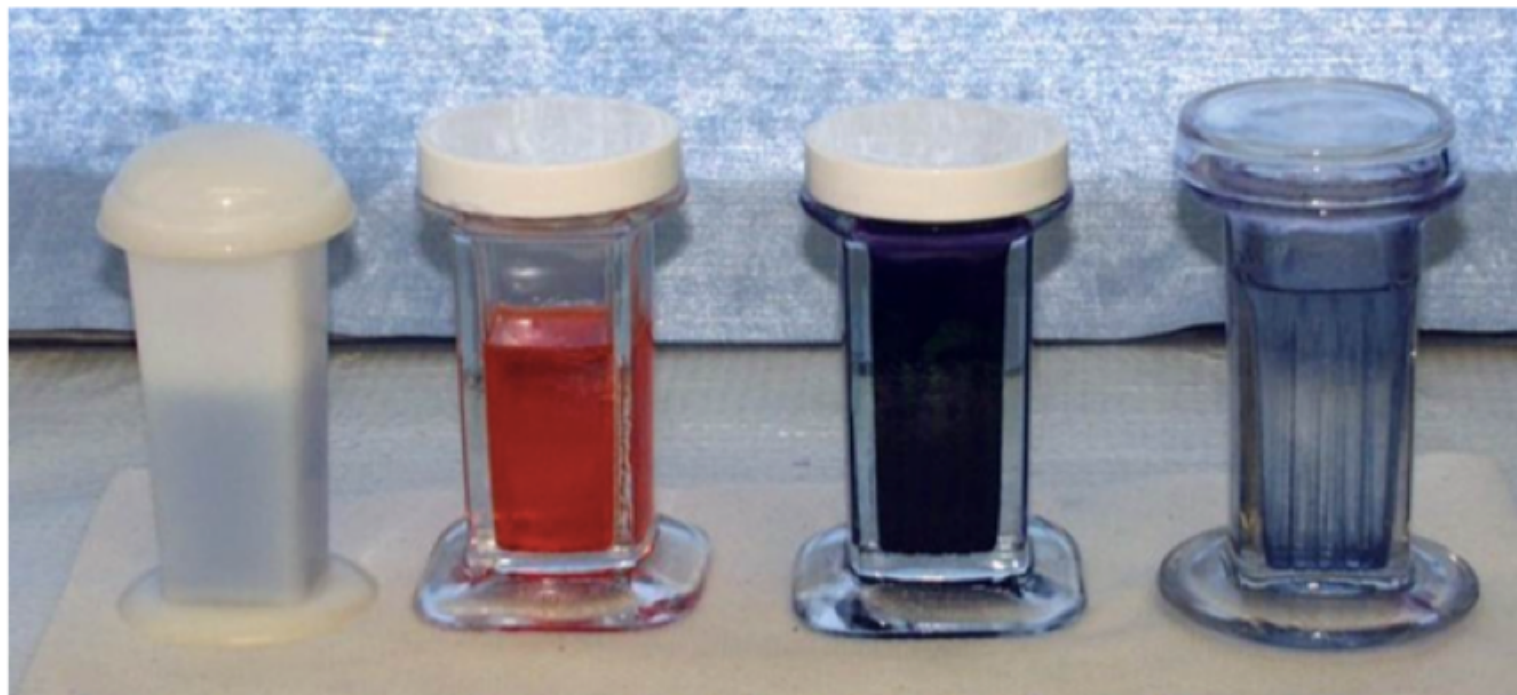
Sensibilité faible

- Bioch : ↑ **Bili nc**





identification date	
-----------------------------------	--



Anaplasmosse = ehrlichiose

= *Anaplasma phagocytophilum*

- Diagnostic
 - Sérologie :
Présence Ac en 15j et persistance j'à 1 an
Production **stoppée ou retardée** par les tétraC
=> Protocole: faire 2 PS à 2-3 semaines = POSITIF si taux x2
 - IFI : opérateur dépendant
 - **ELISA :**
 - Semi-quantitatif (ratio de DO : échantillon/calibrateur), seuil =1
 - Titrage faible / modéré / élevé
 - Se 100% et Sp 90%
 - Séroprévalence en moyenne 10% (entre 0 et 50%)

ELISA

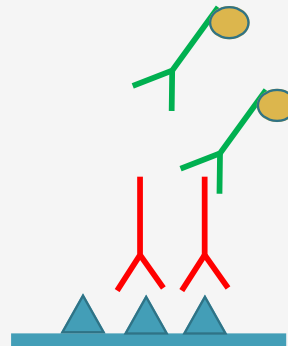
*Enzyme Linked
ImmunoSorbent Assay*

- **Sérologie, technique immuno-enzymatique**
 - Visualisation de la liaison Ag-Ac
 - Réaction colorée
- **Matériel :**
 - Puits contenant des Ag recombinants purifiés
 - Solution d'Ac de détection : anti-IgG équins couplés à une enzyme (peroxydase)
 - Solution de révélation : substrat pour l'E = apparition d'une coloration si présence Ac, intensité proportionnelle à la quantité
 - Contrôles -, +, calibrateur, solution de rinçage, solution stop...
 - Spectrophotomètre

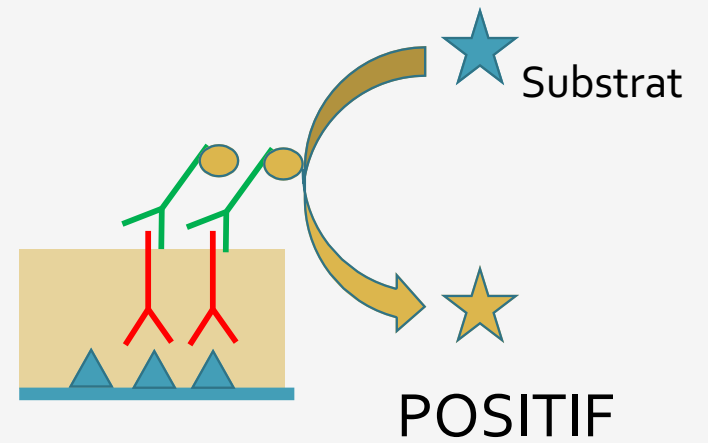
ELISA



Ac du serum à
tester



Ac anti-IgG équin
couplé à E



ELISA

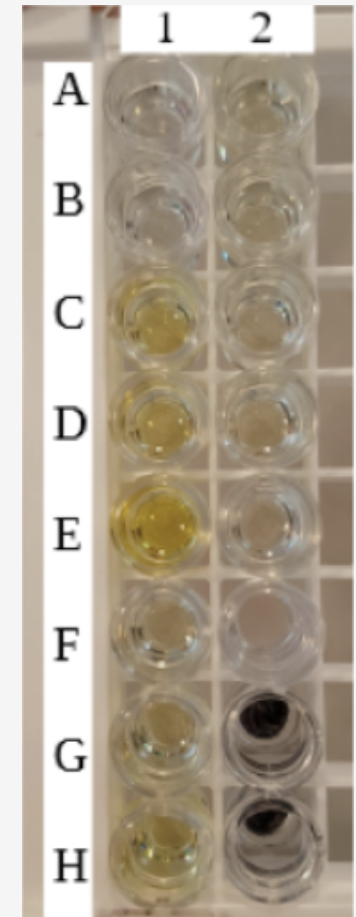
*Enzyme Linked
ImmunoSorbent Assay*

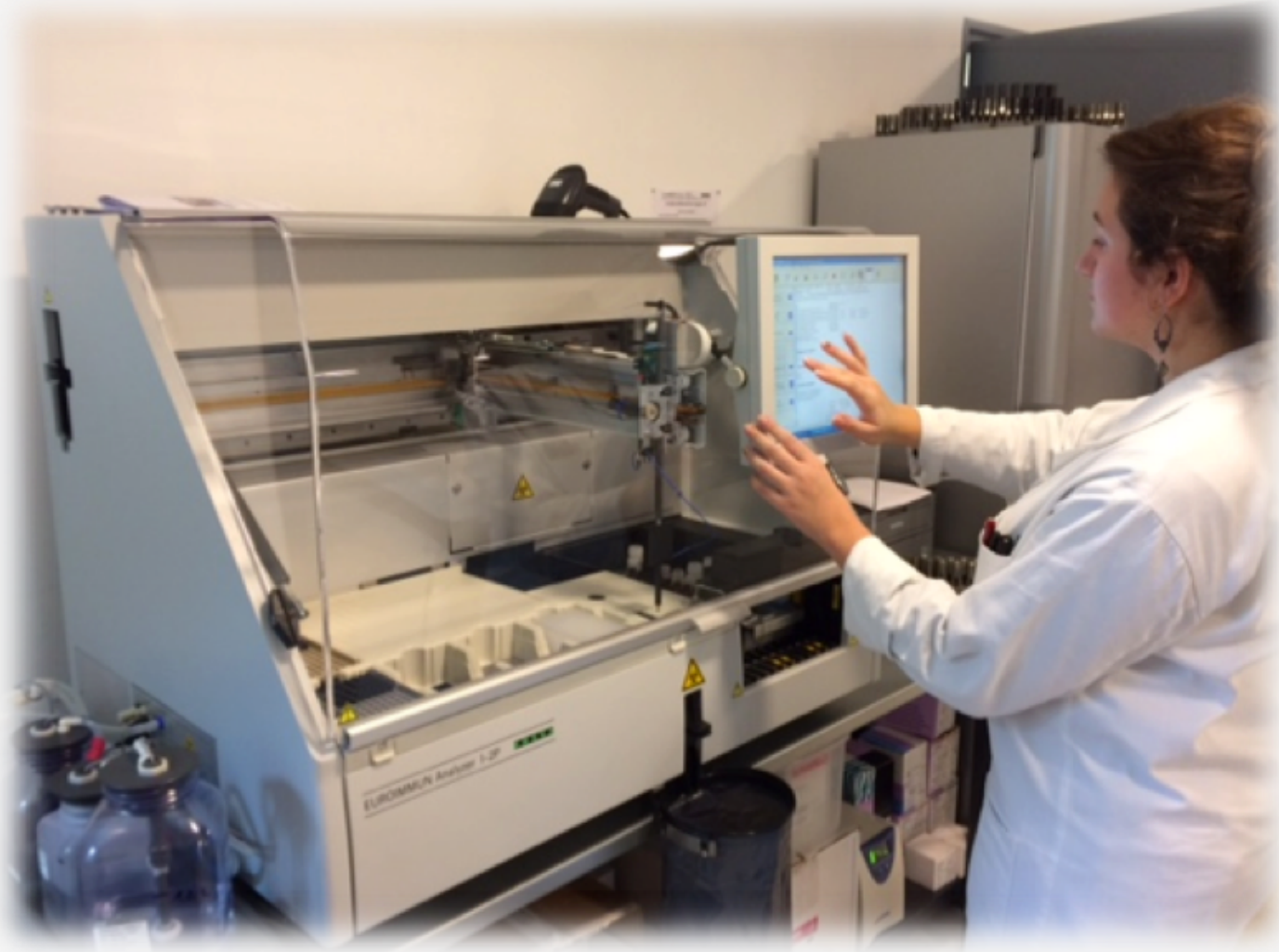
- **Avantages :**

- Sensible
- Semi-quantitatif
- Automatisé
- Rapide

- **Inconvénients :**

- Kits spécifiques pas toujours disponible chez le cheval
- Faux + et Faux – toujours possibles



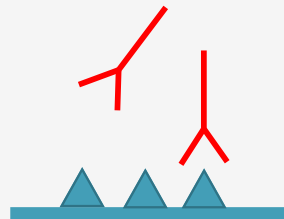


IFI

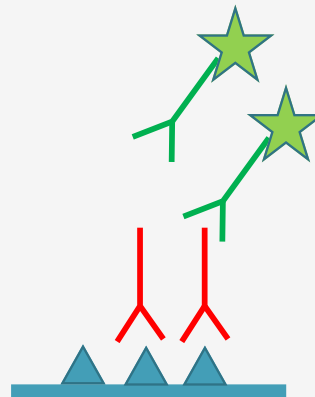
Immuno Fluorescence Indirecte

- **Sérologie, technique par immuno-fluorescence**
 - Visualisation de la liaison Ag-Ac
 - Réaction lumineuse
- **Matériel :**
 - Puits contenant des Ag recombinants purifiés
 - Solution d'Ac de détection : anti-IgG équins couplés à un fluorophore
 - Contrôles -, +
 - Microscope

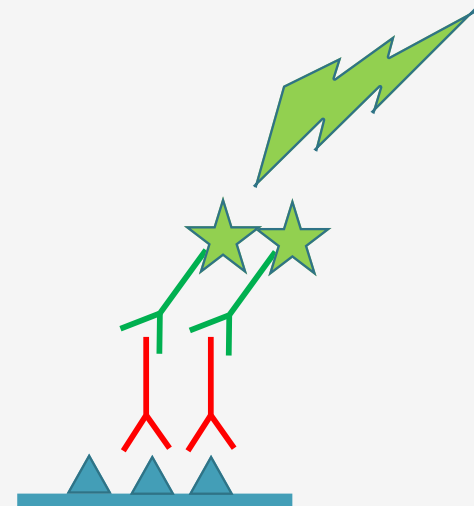
IFI



Ac du serum à
tester



Ac anti-IgG
équien couplé à
un fluorophore

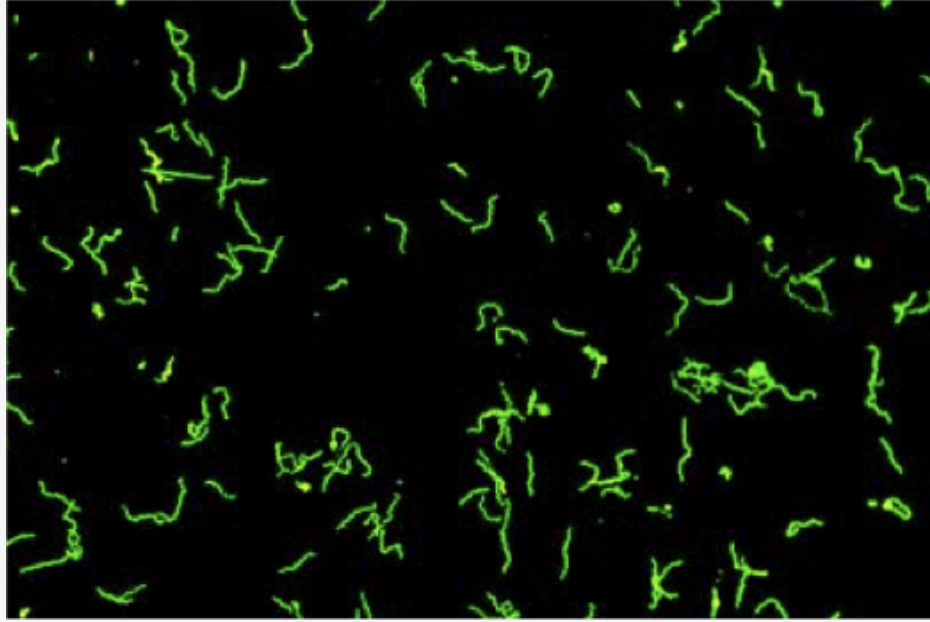


Lumière
= POSITIF

IFI

*Immuno Fluorescence
Indirecte*

- **Avantages :**
 - Sensible
 - Semi-quantitatif
- **Inconvénients :**
 - Manque de spécificité
 - Opérateur dépendant



Anaplasmosse = ehrlichiose

= Anaplasma phagocytophilum

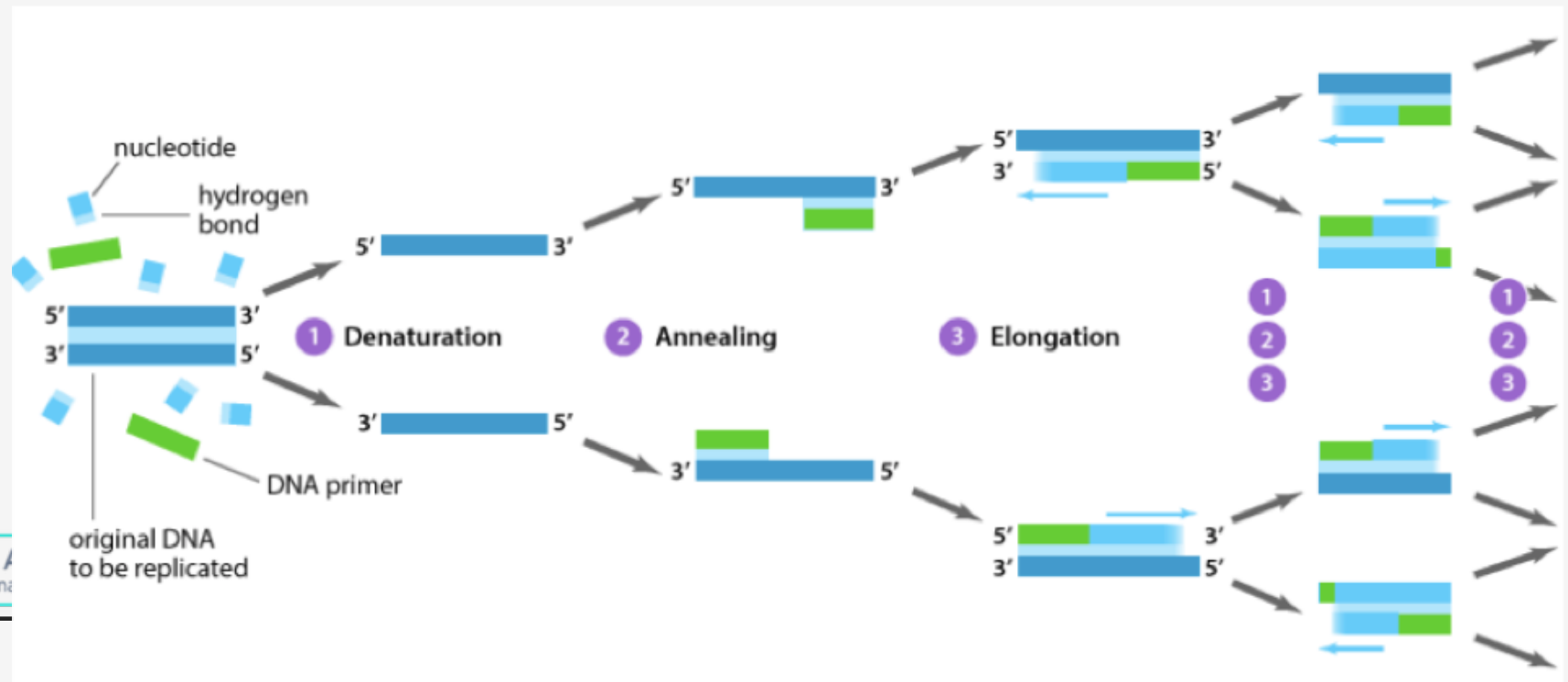
- Diagnostic
 - PCR :
 - Idéalement lors des pics de fièvre
 - Précoce : POSITIF dès 2-3 j **avant** début signes cliniques
 - Et j'à 4-9j après la fin de la fièvre
 - Très Se et Sp

PCR

Polymerase Chain Reaction

- **Technique d'amplification génique**

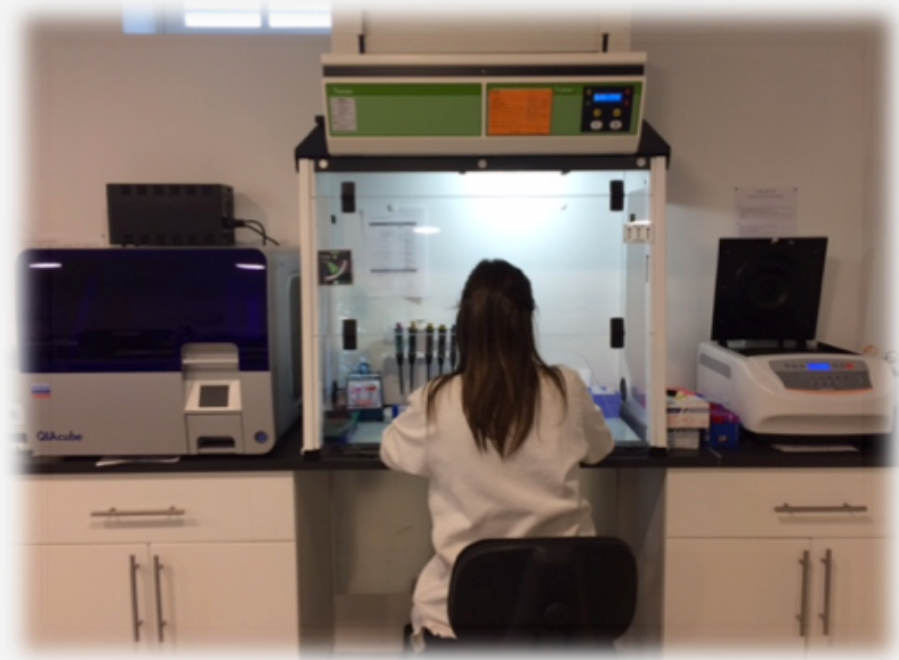
- Diagnostic direct
- Mise en évidence de séquences spécifiques d'acides nucléiques



PCR

Polymerase Chain Reaction

- Etape préliminaire = extraction des acides nucléiques
 - Protocoles variables en fonction des agents
 - Automatisation
 - Contrôles qualité

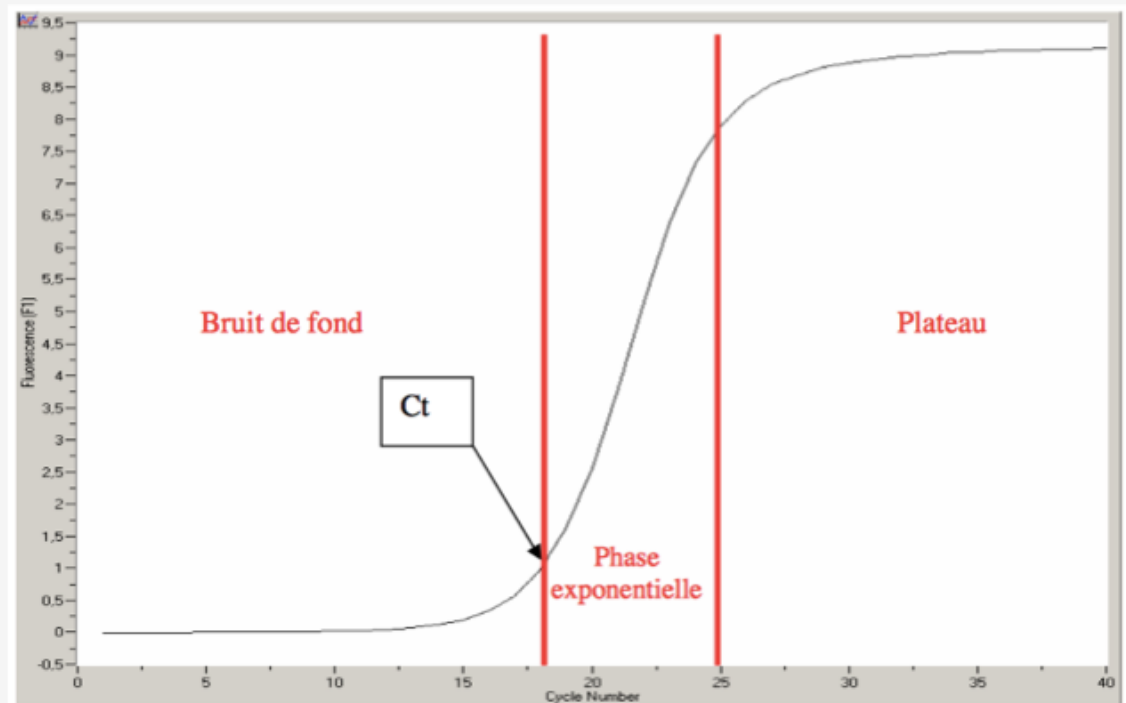


PCR

Polymerase Chain Reaction

- PCR en temps réel

- Suivi de l'amplification grâce à la fluorescence
- Notion de Ct (début de phase exponentielle)
- Relation linéaire entre la Qté de cibles et le Ct



PCR

Polymerase Chain Reaction

- **Avantages**

- Très sensible (détection d'une Qté faible)
- Spécifique
- Quantitatif
- Reproductible
- Automatisée

- **Inconvénients**

- Absence de standardisation inter-labo
- Faux négatifs possibles (inhibiteurs) mais limités par des contrôles internes
- Faux positifs : normalement non (toujours un contrôle négatif)



Cas Clinique

V., Comtois Hongre
de 7 ans

Amaigrissement
chronique

Numération formule sanguine

ADVIA 2120 module vétérinaire (cytométrie en flux)

ERYTHROCYTES	4.21	10 ¹² /L	N : 7.20 - 12.00
Hgb totale (Hgb libre + Hgb érythrocytaire)	8.8	g/dL	N : 11.6 - 18.9
Hgb érythrocytaire	8.2	g/dL	
Hématocrite	24.5	%	N : 31.1 - 50.5
MCV (volume érythrocytaire moyen)	58.1	fL	N : 35.7 - 53.9
MCH (contenu moyen en Hgb érythrocytaire)	20.8	pg	N : 11.9 - 20.3
MCHC ([Hgb érythrocytaire moyenne] calculée)	35.9	g/dL	N : 35.0 - 38.2
CHCM ([Hgb érythrocytaire moyenne] mesurée)	33.6	g/dL	N : 33.3 - 38.3
RDW (variation du volume érythrocytaire)	17.5	%	N : 15.6 - 20.6
Erythrocytes nucléés	0.0	NRBC /100	
soit	0.0	10 ⁹ /L	
LEUCOCYTES	8.63	10 ⁹ /L	N : 4.30 - 14.80
Neutrophiles	61.7	%	N : 28.0 - 82.8
soit	5.32	10 ⁹ /L	N : 2.20 - 8.10
Lymphocytes	24.6	%	N : 19.8 - 58.9
soit	2.12	10 ⁹ /L	N : 1.70 - 5.80
Lymphocytes + LUC (larges cellules non classées)	25.0	%	
soit	2.15	10 ⁹ /L	
Monocytes	5.1	%	N : 1.4 - 10.5
soit	0.44	10 ⁹ /L	N : 0.00 - 1.00
Eosinophiles	7.5	%	N : 0.0 - 8.7
soit	0.65	10 ⁹ /L	N : 0.00 - 0.80
Basophiles	0.7	%	N : 0.0 - 2.0
soit	0.06	10 ⁹ /L	N : 0.00 - 0.30
PLAQUETTES	167.0	10 ⁹ /L	N : 69.9 - 250.8
MPV (volume plaquettaire moyen)	11.0	fL	N : 5.5 - 10.1

Cas Clinique

V., Comtois Hongre
de 7 ans

Amaigrissement
chronique

PCR

Extraction et purification des acides nucléiques sur QIAcube
PCR quantitative en temps réel (principe TaqMan) sur ABI 7500

Anaplasma phagocytophilum (ehrlichiose)

(major surface protein 4 gene)

Nature Sang
Résultat Négatif (inférieur au seuil de détection)
En cours

Babesia caballi (piroplasmose)

(18S ribosomal RNA gene)

Nature Sang
Résultat Négatif (inférieur au seuil de détection)

Theileria equi (piroplasmose)

(equi merozoite antigen 1 gene)

Nature Sang
Résultat POSITIF : charge modérée

Borrelia burgdorferi (maladie de Lyme)

(outer surface protein A gene)

Nature Sang
Résultat Négatif (inférieur au seuil de détection)

Leptospira interrogans

(outer membrane protein lipL32)

Nature Sang
Résultat Négatif (inférieur au seuil de détection)
En cours

BABESIOSES

Babésioses

= *Theileria equi*
et *Babesia cabelli*

- Protozoaires, transmission / tiques (surtout *Dermacentor*)
- Incubation :
 - *Theileria* : 10 à 19 j, infection lympho puis GR
 - *Babesia* : 7 à 30 j, infection GR
- Symptômes peu spécifiques :
 - Forme aiguë : forte HyperT, anémie, ictère, hématurie...
 - Forme chronique : amaigrissement, abattement, œdèmes déclives, splénoM, syndromes nerveux...
 - Mort possible si pas TT
 - Mais aussi porteurs asymptomatiques !
- Traitement : Imidocarbe (Carbesia[®])
 - *Babesia* : 2mg/kg IM 2x à intervalle 24h
 - *Theileria* : 4mg/kg IM jusqu'à 3à5x à intervalle 72h

Babésioses

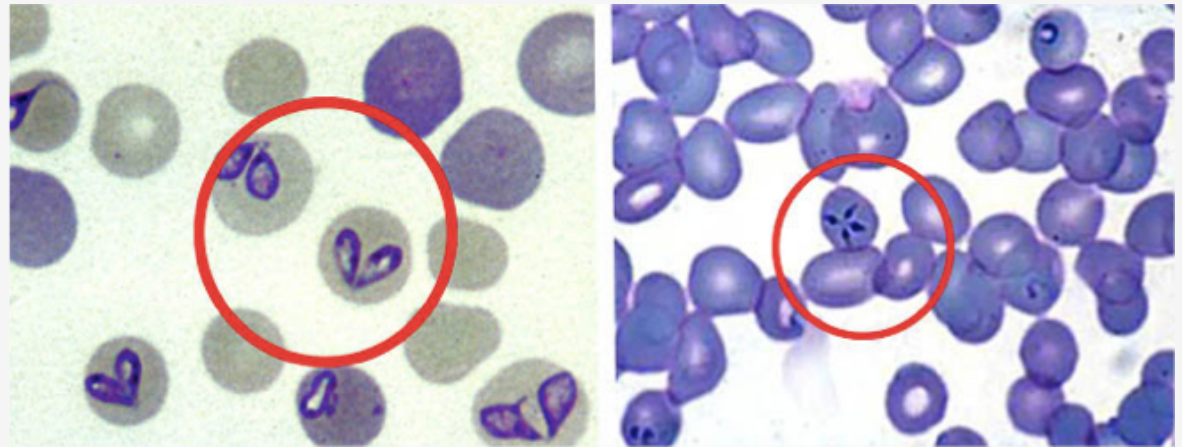
= *Theileria equi*
et *Babesia cabelli*

- Diagnostic
 - Analyses hémato-biochimiques
 - NF : +/- anémie, thrombocytopénie, neutropénie, puis leucocytose
 - Bioch : parfois ↑Fibri, ↑Bili, ↓Alb, ↓P, ↓Fe, ↑PAL-ASAT-GGT, ↑CK

Babésioses

= *Theileria equi*
et *Babesia cabelli*

- Diagnostic
 - Analyses héмато-biochimiques
 - FS : à réaliser sur sang périphérique **pendant HyperT**
 - *Babesia* : piriforme, svt bigéminée
 - *Theileria* : petit, svt en tétrade « croix de malte »
- => Sensibilité faible



Babésioses

= *Theileria equi*
et *Babesia cabelli*

- Diagnostic

- Sérologie :

Présence Ac en 7-21j (variable en fonction de la technique), **pic à 1-3 mois, diminution en 3-6 mois mais persistance à niveau faible si animal porteur**

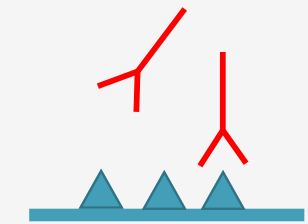
- FC : ancien test officiel vers certains pays mais manque de Se
 - IFI : grande sensibilité mais opérateur dépendant
 - **cELISA : la +Se (mieux que FC) et Sp, exprimé en % d'inhibition : >40% : positif ; <40% négatif**
 - $100 \times (1 - \text{Ratio de DO échantillon/CN})$
 - Titrage faible-moderé-fort
 - Idéalement : 2 prélèvements à 2-3 semaines intervalle

cELISA

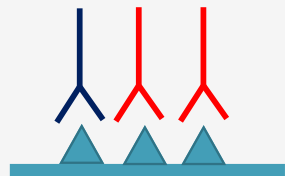
Competitive-ELISA

- Compétition entre les Acs du CV et des Acs monoclonaux spécifiques
- **Avantage** : meilleure spécificité (évite les réactions croisées) = fonction de la liaison Ac monoclonaal-Ag
- Coloration forte
= pas d'inhibition = peu ou pas d'Acs
- Pas de coloration
= inhibition des Acs = beaucoup d'Acs

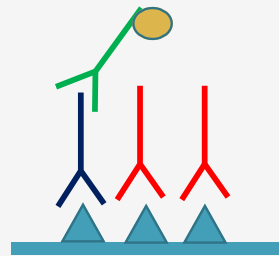
cELISA



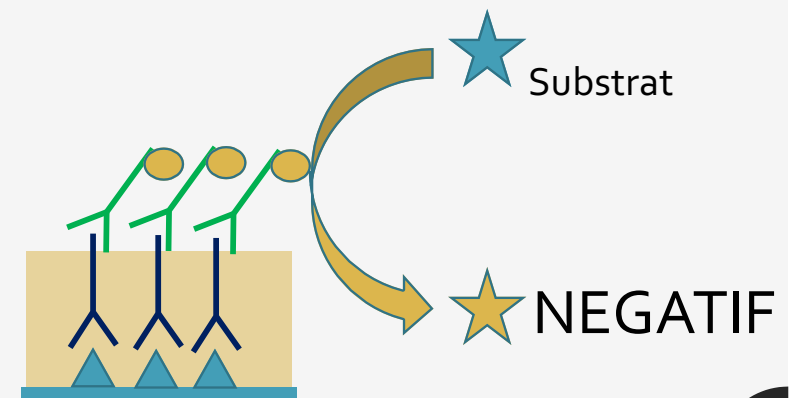
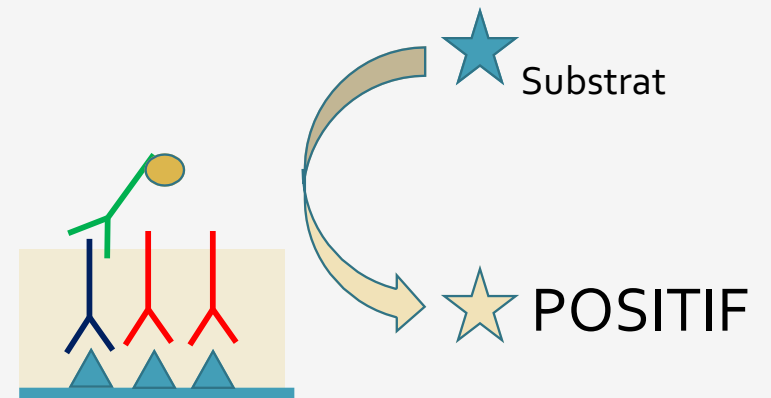
Ac du serum à
tester



Ac monoclonal
Anti-babesia



Ac anti-IgG équin
couplé à E



Babésioses

= *Theileria equi*
et *Babesia cabelli*

- Diagnostic
 - PCR :
 - Très Se et Sp
 - Problème de standardisation entre labos
 - Détection cas chroniques ?
 - Question des PCR- après traitement et séro cELISA + jusqu'à 24 mois ?
- Contrôle après traitement
 - *Babesia* : ↓taux Ac et élimination possible
 - *Theileria* : guérison clinique possible mais animal peut rester porteur, risque de rechutes

Cas Clinique

*F., PSA Hongre de 9 ans
très maigre*

Numération formule sanguine

ADVIA 2120 module vétérinaire (cytométrie en flux)

ERYTHROCYTES	6.16	10 ¹² /L	N : 7.20 - 12.00
Hgb totale (Hgb libre + Hgb érythrocytaire)	10.5	g/dL	N : 11.6 - 18.9
Hgb érythrocytaire	10.4	g/dL	
Hématocrite	32.3	%	N : 31.1 - 50.5
MCV (volume érythrocytaire moyen)	52.4	fL	N : 35.7 - 53.9
MCH (contenu moyen en Hgb érythrocytaire)	17.0	pg	N : 11.9 - 20.3
MCHC ([Hgb érythrocytaire moyenne] calculée)	32.5	g/dL	N : 35.0 - 38.2
CHCM ([Hgb érythrocytaire moyenne] mesurée)	32.3	g/dL	N : 33.3 - 38.3
RDW (variation du volume érythrocytaire)	15.3	%	N : 15.6 - 20.6
Erythrocytes nucléés	0.0	NRBC /100	
soit	0.0	10 ⁹ /L	
LEUCOCYTES	19.79	10 ⁹ /L	N : 4.30 - 14.80
Neutrophiles	81.9	%	N : 28.0 - 82.8
soit	16.21	10 ⁹ /L	N : 2.20 - 8.10
Lymphocytes	7.9	%	N : 19.8 - 58.9
soit	1.55	10 ⁹ /L	N : 1.70 - 5.80
Lymphocytes + LUC (larges cellules non classées)	7.9	%	
soit	1.56	10 ⁹ /L	
Monocytes	6.0	%	N : 1.4 - 10.5
soit	1.18	10 ⁹ /L	N : 0.00 - 1.00
Eosinophiles	3.5	%	N : 0.0 - 8.7
soit	0.70	10 ⁹ /L	N : 0.00 - 0.80
Basophiles	0.7	%	N : 0.0 - 2.0
soit	0.14	10 ⁹ /L	N : 0.00 - 0.30
PLAQUETTES	137.0	10 ⁹ /L	N : 69.9 - 250.8
MPV (volume plaquettaire moyen)	8.6	fL	N : 5.5 - 10.1

Cas Clinique

F., PSA Hongre de 9 ans

BIOCHIMIE CLINIQUE

ASAT (GOT)	268.3 U/L	N: < 250.0
PAL	543.2 U/L	N: 20.0 - 250.0
Gamma GT	37.5 U/L	N: 12.0 - 35.0
Proteines totales	60.2 g/L	N: 60.0 - 80.0
Albumine	30.8 g/L	N: 30.0 - 38.0
Bilirubine totale	15.6 µmol/L	N: 13.0 - 35.0
Bilirubine conjuguée	5.4 µmol/L	N: 4.0 - 12.0
Urée	6.7 mmol/L	N: 3.0 - 10.0
Créatinine	82.5 µmol/L	N: 40.0 - 150.0
CK	480.6 U/L	N: 69.0 - 350.0

Cas Clinique

F., PSA Hongre de 9 ans

SEROLOGIE

Borréliose ou Maladie de Lyme (ELISA)

Ratio de densité optique (positif si > 1.50; max = 10.00) 1.83
Résultat **POSITIF**
Commentaires Titrage faible

Borreliose ou Maladie de Lyme (Immunoblot) - Analyse bihebdomadaire

Résultat **POSITIF**

Babesia caballi ou Piroplasmose (cELISA)

Pourcentage d'inhibition (positif si > 40.00 %) 0.00 %
Résultat **NEGATIF**

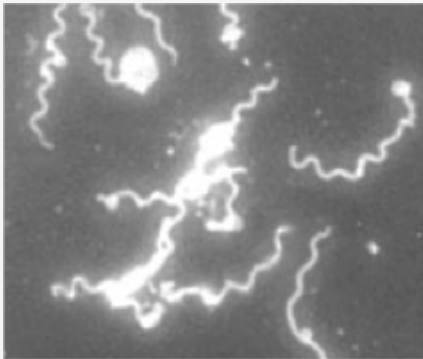
Theileria equi ou Piroplasmose (cELISA)

Pourcentage d'inhibition (positif si > 40.00 %) 2.91 %
Résultat **NEGATIF**

BORRELIOSÉ

Borréliose

= *Borrelia burgdorferi*



- Spirochète
 - *Bb sensus stricto* (US)
 - *Sensus lato* : *Bb* + *B garinii* + *B afzelli*
 - Transmission / tiques en 24-48h (surtout *Ixodes*)
 - Génétique cpx (> 36 espèces)
- Réservoirs : rongeurs, oiseaux
- Inoculation : **2 à 3j après morsure, parfois dès 18-24h**
- Incubation ?
- Infection expérimentale : 9 poneys, 9 mois, aucun symptôme (Chang et al., 2000)

Borréliose

= *Borrelia burgdorferi*

- Symptômes peu spécifiques :
 - Fièvre, abattement, anorexie...
 - Myosite, raideur, distension art, boiterie, avortement, changement de comportement, hyperesthésie...
 - Seuls cas rares reconnus et bien documentés : **uvéïte, neuroborréliose, pseudolymphome cutané,**
 - Mais aussi porteurs asymptomatiques !
- Traitement :
 - Pas de consensus sur molécule ou durée
 - + utilisés : OxytetraC, DoxyC, Ceftriaxone
- Vaccin : CN (US, OspA), efficacité de 5 mois, intérêt ?

Borréliose

= *Borrelia burgdorferi*

- Diagnostic
 - **Sérologie**
 - ⇒ **séroconversion longue** : en 3-6 sem, maxi à 3 mois, parfois taux Ac bas (évasion immunitR),
 - ⇒ **persistance des Acs** : >12-18m, pas d'intérêt de suivi après TT (déclin faible ≠ infection expé)
 - IFI : opérateur dépendant, peu Sp
 - **ELISA : Se mais manque Sp = dépistage**
 - **Immuno Blot : plus Sp = confirmation**
 - SNAP Test (CN – manque de Se – 63% et Sp),
 - multiplex OspA/OspC/OspF : timing, détection de cas précoces, sensible (même si taux Ac faible), diff vaccin, suivi traitement...

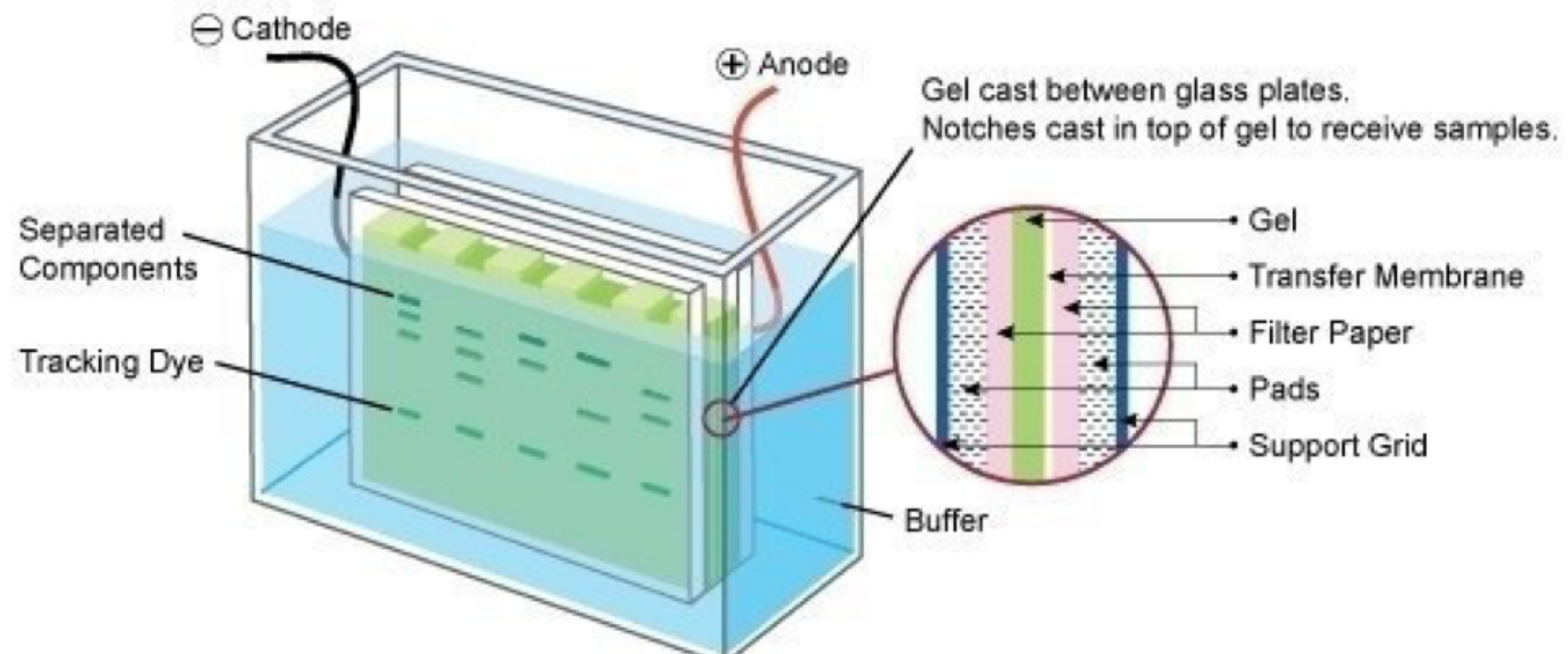
Western Blot

- **Principes :**
 - Mélange protéique soumis à électrophorèse sur gel,
 - Résultat : bandes de protéines séparées et transférées sur une membrane,

Rq : Nom dérivé du « Southern Blot » (décrit par Ed Southern), même principe mais avec des ADN, même jeu de mot avec « Northern » pour des ARN.



Western Blot Setup



Immuno Blot

(= *immunotransfert*)

- Variante : bandes = antigènes recombinants purifiés + un contrôle
- EX : Anti-Borrelia Euroline Test IgG
 - **Lecture du nombre et de l'intensité des bandes par scanner**
= Plus spécifique
 - Interprétation plus fine ?
 - OspC = marqueur infection récente (+ dès 3 semaines et disparition en 4-5 mois)
 - P100 = pic plus tardif (détection > 5-8 sem) et persistance longue (plusieurs mois voire année)
 - VlsE = contient région C6 : plus tardif

Control

p18

OspC

p39

p58

p100

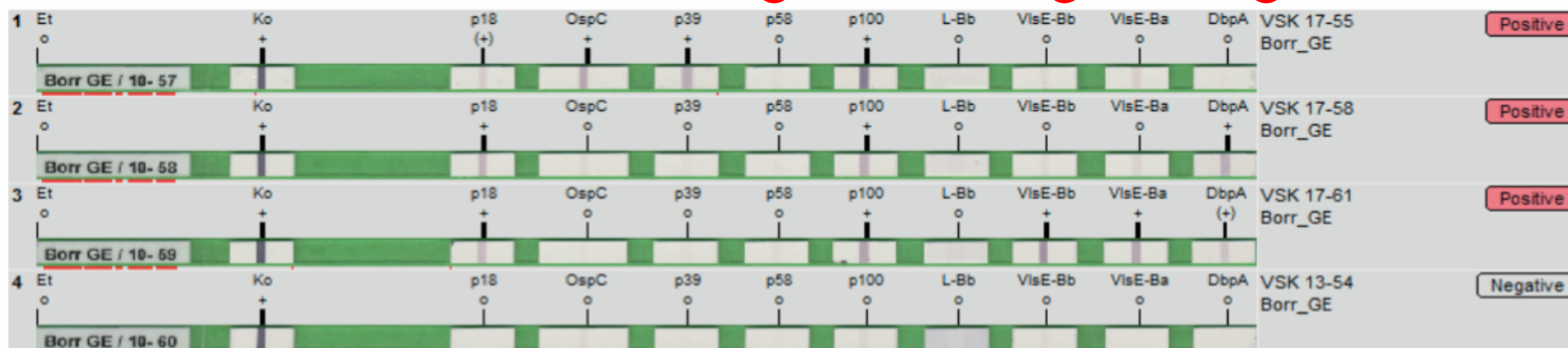
L-Bb

VlsE-Bb

VlsE-Ba

DbpA

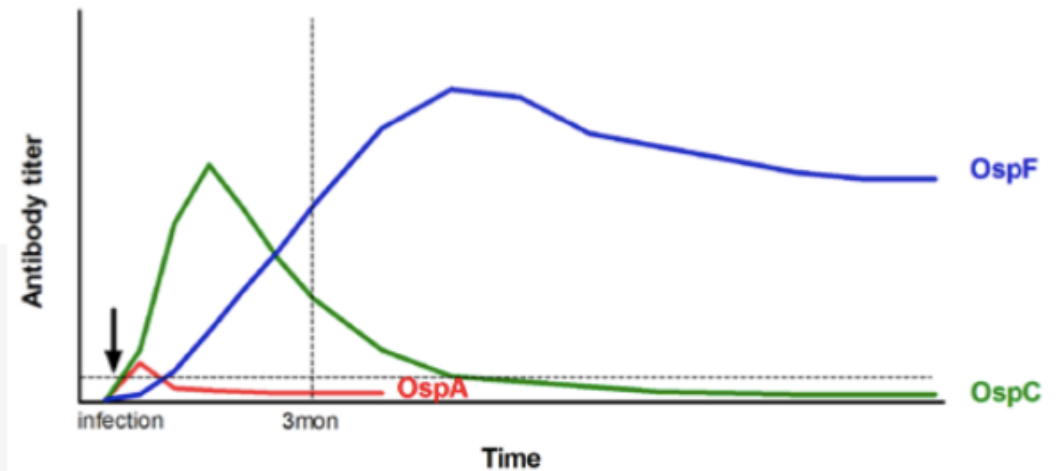
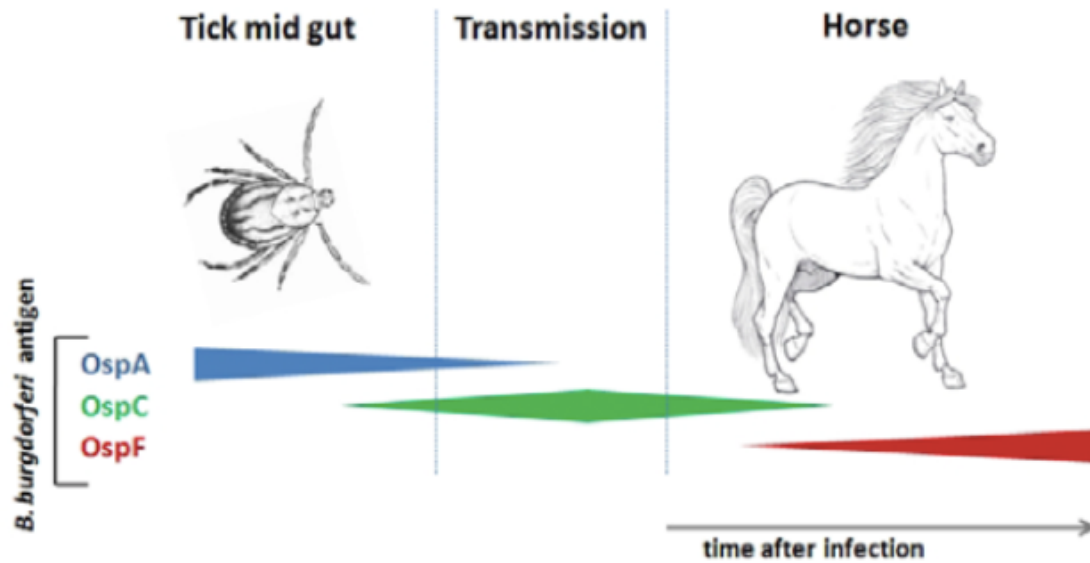
Borr GE



Strip no.	Band intensities measured for individual analysis using EUROLinescan										Result
	Control	p18	OspC	p39	p58	p100	L-Bb	VlsE-Bb	VlsE-Ba	DbpA	
10-57	93	<u>12</u>	34	26	2	69	0	6	10	2	positive
10-58	91	28	6	3	3	29	3	6	7	27	positive
10-59	96	22	2	3	4	36	2	50	34	<u>14</u>	positive
10-60	90	1	6	1	2	6	0	5	1	1	negative

Evaluation of band intensities: bold numbers=positive, underlined numbers=borderline, unformatted numbers=negative





Régulation de l'expression des protéines de surface de *B. burgdorferi* en fonction de son environnement et réponse immunitaire correspondante (d'après Wagner
https://ahdc.vet.cornell.edu/docs/Lyme_Disease_Multiplex_Testing_for_Horses.pdf

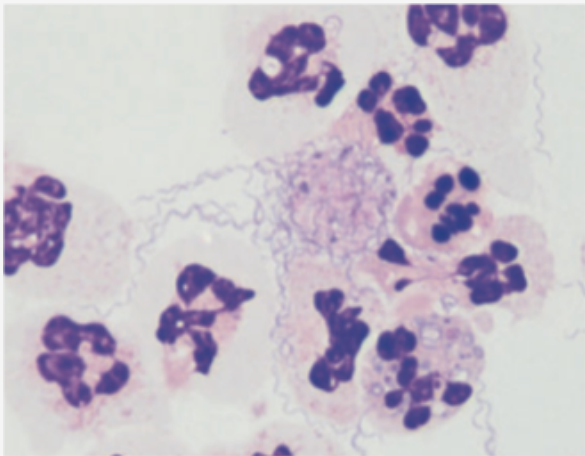
Borréliose

= *Borrelia burgdorferi*

- Bases du diagnostic (Cf Divers):
 - Exposition possible à Ixodes
 - Signes cliniques compatibles
 - **Exclusion d'autres causes**
 - Labo : cyto, histo, détection d'antigène, séroconversion
 - ? Réponse au traitement : non recommandé
- **Une sérologie négative ne permet pas d'exclure une infection !**
 - Cas récent (<3-5 semaines)
 - Infection localisée (œil, SN)
 - Réponse immunitaire insuffisante

Borréliose

= *Borrelia burgdorferi*



D'après Priest et al., 2012

- Diagnostic
 - PCR :
 - Sang ? Présence transitoire donc cas + extrêmement rare...
 - **Prélèvements de choix = tissus** : liquide / membrane synoviale, NL régional, LCR/tissu nerveux, peau, muscles, liquides oculaires (vitrée>humeur aq)...
 - Svt co-infection Anaplasma/Borrelia
 - **Cyto/Histo** : œil (vitrée), peau et NL loco-régional, LCR/tissu nerveux...

Borréliose

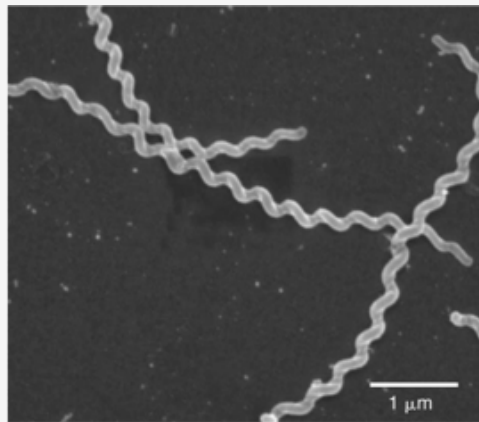
= *Borrelia burgdorferi*

- Intérêt du dépistage sérologique ?
 - Résultat positif = exposition à la bactérie **mais pas forcément maladie de Lyme**
 - **Non recommandé en région endémique**
- Cas chroniques ?
 - Infection chronique ?
 - Re-infection / exposition ?
 - Réponse immunitaire persistante en absence d'infection ?

LEPTOSPIROSE

Leptospirose

= *Leptospira interrogans*



- Bactérie = spirochète, survie ext +++
- Transmission : muqueuses et peau **lésée**, réservoirs : animaux domestiques/sauvages (**urines**)
- Incubation : 5 à 14j
- Symptômes :
 - Forme aiguë (rare) : HyperT, pétéchies, anémie, ictère, Hburie, atteinte pulmonaire, rénale ou hépatique,
 - **Forme chronique (plus fqt)** : uvéite (médiation immunitaire), amaigrissement, ictère, colique...
 - **Avortement** (fin gestation), mortalité périnatale, faiblesse/ictère poulain,
 - Souvent **asymptomatique**...
- Traitement : Pénic ou StreptoM ou Oxytetr 7-15j

Leptospirose

= *Leptospira interrogans*

- Diagnostic
 - Sérologie : **Ac en général en 7-10j, persistance longue (6 mois, parfois > 2 ans !)**
 - ELISA :
 - + : rapide, simple, automatisé,
 - - : pas serovars, mesure IgG seulement
 - MAT : agglutination de souches vivantes
 - + : technique de référence, distinction des sérovars,
 - *IgM en 5 à 10 j : agglutination de plusieurs sérovars,*
 - *IgG pic à 3 mois : identification de celui en cause*
 - - : complexe, longue, opérateur dépendant

Leptospirose

= *Leptospira interrogans*

- Diagnostic
 - Sérologie : interprétation
 - Protocole idéal = **cinétique** = **2 prises de sang à intervalle 2-3 semaines**
 - => **Positif si taux x 4**
 - Avortement : taux Ac généralement très élevés
 - Uvéite : parfois MAT négatif sur des étiologies lepto

Sérovars testés en ELISA et sérogroupes associés

SEROGROUPES	SEROVARS (ABREVIATIONS)	SEROGROUPES	SEROVARS (ABREVIATIONS)
<i>Australis</i>	<i>australis</i> (AUS) <i>bratislava</i> (BRAT)	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i> (IH) <i>copenhageni</i> (COP)
<i>Javanica</i>	<i>javanica</i> (JAV)	<i>Pomona</i>	<i>pomona</i> (POM)
<i>Autumnalis</i>	<i>autumnalis</i> (AKI)	<i>Pyrogenes</i>	<i>pyrogenes</i> (PYR)
<i>Ballum</i>	<i>castellonis</i> (BAL)	<i>Sejroe</i>	<i>sejroe</i> (SJ) <i>saxkoebing</i> (SAX) <i>hardjo</i> (HJ)
<i>Bataviae</i>	<i>bataviae</i> (BAT)	<i>Tarassovi</i>	<i>tarassovi</i> (TAR)
<i>Canicola</i>	<i>canicola</i> (CAN)	→ <i>Hebdomadis</i>	<i>hebdomadis</i> (HEB)
<i>Grippotyphosa</i>	<i>grippotyphosa</i> (GRIP)		

Sérovars testés en MAT et sérogroupes associés

SEROGROUPES	SEROVARS (ABREVIATIONS)	SEROGROUPES	SEROVARS (ABREVIATIONS)
<i>Australis</i>	<i>australis</i> (AUS) <i>bratislava</i> (BRAT) → <i>munchen</i> (MUN)	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>icterohaemorrhagiae</i> (IH) <i>copenhageni</i> (COP)
<i>Javanica</i>	<i>javanica</i> (JAV)	→ <i>Panama</i>	<i>panama</i> (PAN) <i>mangus</i> (MAN)
<i>Autumnalis</i>	<i>autumnalis</i> (AKI) → <i>bim</i> (BIM)	<i>Pomona</i>	→ <i>pomona</i> (POM) <i>mozdok</i> (MOZ)
<i>Ballum</i>	<i>castellonis</i> (BAL)	<i>Pyrogenes</i>	<i>pyrogenes</i> (PYR)
<i>Bataviae</i>	<i>bataviae</i> (BAT)	<i>Sejroe</i>	<i>sejroe</i> (SJ) <i>saxkoebing</i> (SAX) <i>hardjo</i> (HJ) → <i>wolffi</i> (WOLF)
<i>Canicola</i>	<i>canicola</i> (CAN)	<i>Tarassovi</i>	<i>tarassovi</i> (TAR)
<i>Grippotyphosa</i>	→ <i>grippotyphosa</i> (GRIP) <i>vanderhoedoni</i> (VAN)		

MAT

Micro Agglutination Test

- **Test sérologique par agglutination**
 - Différents sérovars de leptospires vivantes
 - Détection des Ac spécifiques
 - Observation d'agglutination au microscope à fond noir
- **Résultats :**
 - Sous forme de titre = inverse de la plus haute dilution pour laquelle 50% des leptos ont agglutiné (comparaison avec contrôle)
 - Titre élevé : Ac en grande quantité

MAT

Micro Agglutination Test

- **Avantages :**
 - Technique de référence
 - Plus sensible et spécifique
 - Intérêt diagnostic et épidémiologique
- **Inconvénients :**
 - Mise en place lourde
 - Opérateur dépendant
 - Interprétation parfois délicate

SEROLOGIE

Sérologie (MAT) Leptospirose

IH	0
COP	0
MUN	= 1/200
AUS	= 1/400
BRAT	= 1/1600
AKI	0
BIM	0
BAL	0
BAT	0
CAN	0
GRIP	0
VAN	0
PAN	0
MAN	0
POM	0
PYR	0
MOZ	0
SJ	0
HJ	0
SAX	0
WOLF	0
TAR	0
JAV	0

Commentaires :

Dilution seuil employée : 1/200

SEROLOGIE

Sérologie (MAT) Leptospirose

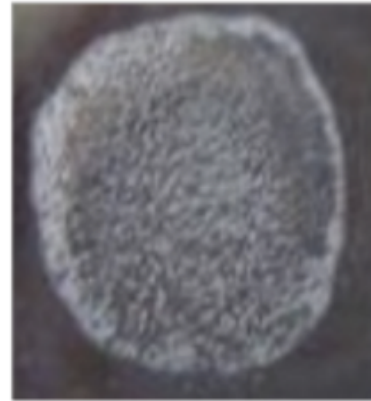
IH	= 1/100
COP	= 1/100
MUN	= 1/100
AUS	= 1/100
BRAT	= 1/400
AKI	Négatif
BIM	= 1/100
BAL	Négatif
BAT	Négatif
CAN	Négatif
GRIP	Négatif
VAN	Négatif
PAN	Négatif
MAN	= 1/100
POM	Négatif
PYR	Négatif
MOZ	Négatif
SJ	Négatif
HJ	Négatif
SAX	Négatif
WOLF	Négatif
TAR	Négatif
JAV	Négatif

Commentaires :

Dilution de seuil de positivité employée : 1/100

MAT

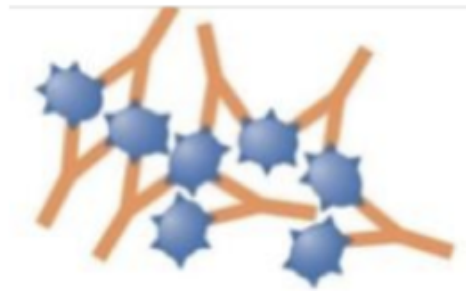
Micro Agglutination Test



Positif



Négatif



Leptospirose

= *Leptospira interrogans*

- Diagnostic
 - PCR :
 - Dans sang : présence transitoire,
 - Dans urine : excrétion intermittente (pooler 3 prélèvements), jusqu'à 14 semaines après avortement
 - Dans organes : oeil, LCR, avorton...
 - Remarque uvéite :
 - Analyses parfois négatives car **signes cliniques retardés après infection** (réaction croisée protéines oculaires et leptospires)

ANEMIE INFECTIEUSE EQUINE

Anémie infectieuse des équidés

- **Virus** = lentivirus, fam retroviridés
- Incubation : **1-3 sem, j'à 3 mois**
- Transmission : pique insecte hématophage, iatrogène, transplacentaire
- Symptômes :
 - **Portage asymptomatique : animal porteur à vie**
 - Aigue : forte HyperT (41°C), anorexie, thrombocytopénie +/- épistaxis
 - Chronique : plusieurs épisodes avec fièvre récurrente, thrombocytopénie +/- anémie, amaigrissement, oedèmes déclives, mort (rare)
- Traitement : **MLRC** en France = abattage et enquête sérologique

Anémie infectieuse des équidés

- Diagnostic :
 - Hémato : **thrombocytopénie, leucocytose neutrophilique, anémie,**
 - Bioch : **↑E hépatique, ↑Bili, ↑globulinémie, ↓Alb**
 - Sérologie : **Coggin's** (immunodiffusion radiale), intérêt en **phase chronique** (j'à 45 à 60 j pour être + !)
 - **PCR** : intéressant sur des cas aigus ou douteux
 - Autopsie : hypertrophie NL, hépato et splénomégalie, hémorragies, thrombi, oedèmes.

RÉSULTATS DE LABORATOIRE

Anaplasmose

*= ehrlichiose
granulocytaire*

= Anaplasma phagocytophilum

- PCR (267 éch.)
 - Nég : 99%
 - Pos : 1% (3 cas +)
- ELISA (1677 éch.)
 - Nég : 82%
 - Pos : 18%

Babésioses

= *Theileria equi*
et *Babesia cabelli*

- PCR
 - *Babesia caballi* (379 éch)
 - Nég : 93%
 - Pos : 7%
 - *Theileria equi* (376 éch)
 - Nég : 97%
 - Pos : 3%
- ELISA
 - *Babesia caballi* (1773 éch)
 - Nég : 91%
 - Pos : 9%
 - *Theileria equi* (1773 éch)
 - Nég : 88%
 - Pos : 12%

Borréliose

= *Borrelia burgdorferi*

- PCR (301 éch)
 - *Nég* : 100%
 - *Pos* : 0%
- ELISA (1844 éch)
 - *Nég* : 83%
 - *Pos* : 17%
- Blot (354 éch)
 - *Nég* : 66%
 - *Pos* : 34%

Leptospirose

= *Leptospira interrogans*

Données VETODIAG 2017

- PCR (293 éch) – CN/CV
 - Nég : 98%
 - Pos : 2%
- ELISA (1192 éch)
 - Nég : 91%
 - Pos : 9%

12/07

Cas Clinique

P hongre de 28 ans

*Amaigrissement,
abattement*

Numération formule sanguine

ADVIA 2120 module vétérinaire (cytométrie en flux)

ERYTHROCYTES	8.29	10 ¹² /L	N : 7.20 - 12.00
Hgb totale (Hgb libre + Hgb érythrocytaire)	16.3	g/dL	N : 11.6 - 18.9
Hgb érythrocytaire	15.1	g/dL	
Hématocrite	45.3	%	N : 31.1 - 50.5
MCV (volume érythrocytaire moyen)	54.6	fL	N : 35.7 - 53.9
MCH (contenu moyen en Hgb érythrocytaire)	19.6	pg	N : 11.9 - 20.3
MCHC ([Hgb érythrocytaire moyenne] calculée)	35.9	g/dL	N : 35.0 - 38.2
CHCM ([Hgb érythrocytaire moyenne] mesurée)	33.4	g/dL	N : 33.3 - 38.3
RDW (variation du volume érythrocytaire)	15.5	%	N : 15.6 - 20.6
Erythrocytes nucléés	0.0	NRBC /100	
soit	0.0	10 ⁹ /L	
LEUCOCYTES	9.17	10 ⁹ /L	N : 4.30 - 14.80
Neutrophiles	71.9	%	N : 28.0 - 82.8
soit	6.60	10 ⁹ /L	N : 2.20 - 8.10
Lymphocytes	22.5	%	N : 19.8 - 58.9
soit	2.06	10 ⁹ /L	N : 1.70 - 5.80
Lymphocytes + LUC (larges cellules non classées)	22.9	%	
soit	2.10	10 ⁹ /L	
Monocytes	3.1	%	N : 1.4 - 10.5
soit	0.28	10 ⁹ /L	N : 0.00 - 1.00
Eosinophiles	1.1	%	N : 0.0 - 8.7
soit	0.10	10 ⁹ /L	N : 0.00 - 0.80
Basophiles	1.0	%	N : 0.0 - 2.0
soit	0.09	10 ⁹ /L	N : 0.00 - 0.30
PLAQUETTES	117.0	10 ⁹ /L	N : 69.9 - 250.8
MPV (volume plaquettaire moyen)	8.6	fL	N : 5.5 - 10.1

12/07

SEROLOGIE**Anaplasma phagocytophilum (ELISA)**

Ratio de densité optique (positif si > 1.00; max = 10.00) 2.97
 Résultat **POSITIF**
 Commentaires Titrage modéré

Borreliose ou Maladie de Lyme (ELISA)

Ratio de densité optique (positif si > 1.50; max = 10.00) 3.70
 Résultat **POSITIF**
 Commentaires Titrage modéré

Borreliose ou Maladie de Lyme (Immunoblot) - Analyse bihebdomadaire

Résultat **POSITIF**

Babesia caballi ou Piroplasmose (cELISA)

Pourcentage d'inhibition (positif si > 40.00 %) 5.74 %
 Résultat **NEGATIF**

Theileria equi ou Piroplasmose (cELISA)

Pourcentage d'inhibition (positif si > 40.00 %) 77.83 %
 Résultat **POSITIF**
 Commentaires Titrage fort

Leptospira interrogans (ELISA)

Ratio de densité optique (positif si > 1.10) 2.65
 Résultat **POSITIF**
 Commentaires Titrage modéré

15/08

Anaplasma phagocytophilum (ELISA)

Ratio de densité optique (positif si > 1.00; max = 10.00) 3.42
 Résultat **POSITIF**
 Commentaires Titrage modéré

Borreliose ou Maladie de Lyme (ELISA)

Ratio de densité optique (positif si > 1.50; max = 10.00) 4.06
 Résultat **POSITIF**
 Commentaires Titrage moyen

Borreliose ou Maladie de Lyme (Immunoblot) - Analyse bihebdomadaire

Résultat **POSITIF**

Babesia caballi ou Piroplasmose (cELISA)

Pourcentage d'inhibition (positif si > 40.00 %) 18.92 %
 Résultat **NEGATIF**

Theileria equi ou Piroplasmose (cELISA)

Pourcentage d'inhibition (positif si > 40.00 %) 69.90 %
 Résultat **POSITIF**
 Commentaires Titrage modéré

Leptospira interrogans (ELISA)

Ratio de densité optique (positif si > 1.10) 2.70
 Résultat **POSITIF**
 Commentaires Titrage modéré

12/07

Sérologie (MAT) Leptospirose

IH	= 1/200
COP	= 1/200
MUN	0
AUS	0
BRAT	= 1/800
AKI	0
BIM	0
BAL	0
BAT	0
CAN	0
GRIP	0
VAN	0
PAN	0
MAN	0
POM	0
PYR	= 1/400
MOZ	0
SJ	0
HJ	0
SAX	0
WOLF	0
TAR	0
JAV	0

15/08

Sérologie (MAT) Leptospirose

IH	NEGATIF
COP	1/200
MUN	NEGATIF
AUS	NEGATIF
BRAT	1/400
AKI	NEGATIF
BIM	NEGATIF
BAL	NEGATIF
BAT	NEGATIF
CAN	NEGATIF
GRIP	NEGATIF
VAN	NEGATIF
PAN	NEGATIF
MAN	NEGATIF
POM	NEGATIF
PYR	1/400
MOZ	NEGATIF
SJ	NEGATIF
HJ	NEGATIF
SAX	NEGATIF
WOLF	NEGATIF
TAR	NEGATIF
JAV	NEGATIF

Extraction et purification des acides nucléiques sur QIAcube
PCR quantitative en temps réel (principe TaqMan) sur ABI 7500

Anaplasma phagocytophilum (ehrlichiose)

(major surface protein 4 gene)

Nature Sang
 Résultat Négatif (inférieur au seuil de détection)
En cours

Babesia caballi (piroplasmose)

(18S ribosomal RNA gene)

Nature Sang
 Résultat Négatif (inférieur au seuil de détection)

Theileria equi (piroplasmose)

(equi merozoite antigen 1 gene)

Nature Sang
 Résultat Négatif (inférieur au seuil de détection)

Borrelia burgdorferi (maladie de Lyme)

(outer surface protein A gene)

Nature Sang
 Résultat Négatif (inférieur au seuil de détection)

Leptospira interrogans

(outer membrane protein lipL32)

Nature Sang
 Résultat Négatif (inférieur au seuil de détection)
En cours

QUE CHOISIR ?

PCR : sang, idéalement lors de pics d'hyperthermie
(+ jusqu'à 4 à 9 jours après la fin de la fièvre)

Bilans « piro-like »

Maintenir si possible les prélèvements entre 2 et 8°C jusqu'à l'envoi des analyses (**Tube sec** pour la sérologie – **Sang total EDTA** pour la PCR)

- ☐ **Bilan 5 sérologies : 145 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.), Leptospirose
- ☐ **Bilan 4 sérologies : 115 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.)
- ☐ **Bilan 5 PCR : 130 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.), Leptospirose
- ☐ **Bilan 4 PCR : 110 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.)

- ☐ **Bilan « à la carte » : 140 €**

Combinaison 5 sérologies et PCR

Anaplasmosse (Ehrlichiose)

Borréliose*

Piroplasmose (B. caballi et T. equi.)

Leptospirose

- | | |
|------------------------------------|------------------------------|
| ☐ Sérologie | ☐ PCR |
| ☐ Sérologie | ☐ PCR |
| ☐ Sérologie | ☐ PCR |
| ☐ Sérologie | ☐ PCR |

N.B : La sérologie sera privilégiée lors de symptomatologie chronique (> 15 jours)

La PCR sera privilégiée lors de symptomatologie aiguë (avant traitement)

* Si sérologie Borrelia ELISA positive : confirmation immunoblot : **ajouter 38 €**

Sérologie : idéalement faire cinétique

Persistance des Acs > 1 an

Production des Acs peut être retardée/stoppée par un traitement

PCR : sur les liquides/tissus (articulaire, oculaire, peau, NL, muscles, SN/LCR) – sensibilité ?

Bilans « piro-like »

Maintenir si possible les prélèvements entre 2 et 8°C jusqu'à l'envoi des analyses (**Tube sec** pour la sérologie – **Sang total EDTA** pour la PCR)

- ☐ **Bilan 5 sérologies : 145 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.), Leptospirose
- ☐ **Bilan 4 sérologies : 115 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.)
- ☐ **Bilan 5 PCR : 130 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.), Leptospirose
- ☐ **Bilan 4 PCR : 110 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.)

- ☐ **Bilan « à la carte » : 140 €**
Combinaison 5 sérologies et PCR
Anaplasmosse (Ehrlichiose)
Borréliose*
Piroplasmose (B. caballi et T. equi.)
Leptospirose

- | | |
|------------------------------------|------------------------------|
| ☐ Sérologie | ☐ PCR |
| ☐ Sérologie | ☐ PCR |
| ☐ Sérologie | ☐ PCR |
| ☐ Sérologie | ☐ PCR |

N.B : La sérologie sera privilégiée lors de symptomatologie chronique (> 15 jours)
La PCR sera privilégiée lors de symptomatologie aiguë (avant traitement)

* Si sérologie Borrelia ELISA positive : confirmation immunoblot : **ajouter 38 €**

Sérologie ELISA : indique une exposition

- Si + : confirmation par immunoblot
- Si - : maladie possible si infection récente (séroconversion longue : 3 à 6 semaines), localisée ou réponse immunitaire insuffisante
- Pas d'intérêt en suivi de traitement

PCR : sang, idéalement en aiguë
Question de détection des cas chroniques ?

Bilans « piro-like »

Maintenir si possible les prélèvements entre 2 et 8°C jusqu'à l'envoi des analyses (**Tube sec** pour la sérologie – **Sang total EDTA** pour la PCR)

- ☐ **Bilan 5 sérologies : 145 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.), Leptospirose
- ☐ **Bilan 4 sérologies : 115 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.)
- ☐ **Bilan 5 PCR : 130 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.), Leptospirose
- ☐ **Bilan 4 PCR : 110 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.)

- ☐ **Bilan « à la carte » : 140 €**
Combinaison 5 sérologies et PCR
Anaplasmosse (Ehrlichiose)
Borréliose*
Piroplasmose (B. caballi et T. equi.)
Leptospirose

- | | |
|------------------------------------|------------------------------|
| ☐ Sérologie | ☐ PCR |
| ☐ Sérologie | ☐ PCR |
| ☐ Sérologie | ☐ PCR |
| ☐ Sérologie | ☐ PCR |

N.B : La sérologie sera privilégiée lors de symptomatologie chronique (> 15 jours)
La PCR sera privilégiée lors de symptomatologie aiguë (avant traitement)

* Si sérologie Borrelia ELISA positive : confirmation immunoblot : **ajouter 38 €**

Sérologie cELISA :

- Idéalement faire cinétique (production Ac en 7-21 jours)
- Intérêt en suivi de traitement

PCR : sang / urine / œil

Présence transitoire dans sang et excrétion intermittente dans urine

Bilans « piro-like »

Maintenir si possible les prélèvements entre 2 et 8°C jusqu'à l'envoi des analyses (**Tube sec** pour la sérologie – **Sang total EDTA** pour la PCR)

- ☐ **Bilan 5 sérologies : 145 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.), Leptospirose
- ☐ **Bilan 4 sérologies : 115 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.)
- ☐ **Bilan 5 PCR : 130 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.), Leptospirose
- ☐ **Bilan 4 PCR : 110 €**
Anaplasmosse, Borréliose*, Piroplasmose (B. caballi et T. equi.)

- ☐ **Bilan « à la carte » : 140 €**

Combinaison 5 sérologies et PCR

Anaplasmosse (Ehrlichiose)

☐ Sérologie

☐ PCR

Borréliose*

☐ Sérologie

☐ PCR

Piroplasmose (B. caballi et T. equi.)

☐ Sérologie

☐ PCR

Leptospirose

☐ Sérologie

☐ PCR

N.B : La sérologie sera privilégiée lors de symptomatologie chronique (> 15 jours)

La PCR sera privilégiée lors de symptomatologie aiguë (avant traitement)

* Si sérologie Borrelia ELISA positive : confirmation immunoblot : **ajouter 38 €**

Sérologie ELISA – idéalement cinétique

Confirmation par MAT possible pour identifier le(s) sérovar(s)

*MERCI DE VOTRE
ATTENTION*