LES MALADIES PIRO-LIKE CHEZ LES EQUIDES

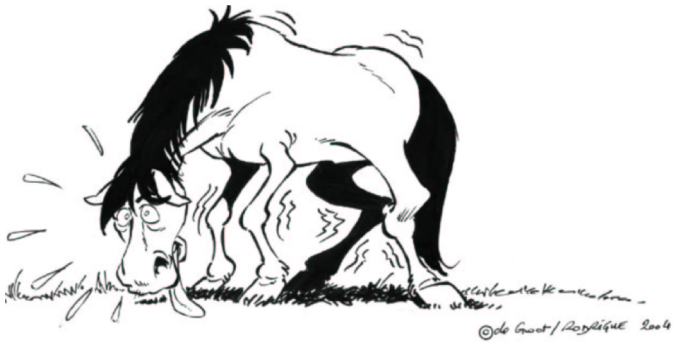
16 mai 2019, Journées Nationales des GTV Nantes

MC Dupuis Tricaud, DMV, PhD

sngtv
SOCIÉTÉ NATIONALE DES GROUPEMENTS TECHNIQUES VÉTÉRINAIRES

Les maladies piro-like : définition

Définition



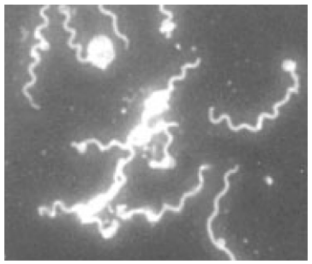
- Maladies piro-like
  - Syndrome de **fièvre isolée**
  - Affections **fréquentes**
  - Diagnostic différentiel de **piroplasmose**
  - Mêmes **panels diagnostiques** sérologie/PCR

Importance

- Malgré qlq points communs, variabilité cliniques et méthodes diagnostiques
- **Séropositivités** importantes dans certaines régions endémiques

Les maladies piro-like : définition

Agents impliqués



- Maladies transmises par les **tiques :**
  - Piroplasmose : **Babesia *caballi*** et **Theileria *equi***
  - Ehrlichiose ou anaplasmose granulocytaire : **Anaplasma *phagocytophilum***
  - Borréliose ou maladie de Lyme : **Borrelia *burgdorferi*** *(spirochète)*

➔ **<u>Co-infections fréquentes</u>**

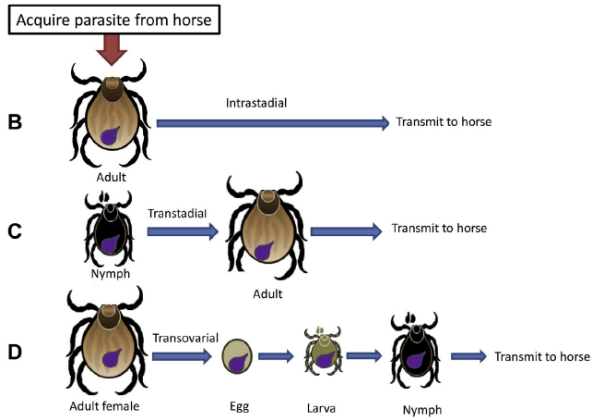
- Leptospirose : **Leptospira *sp*** *(spirochète)*
- Anémie infectieuse : *non traitée ici (rare en France)*

Les maladies piro-like : PCR/séro ?

	PCR	Sérologie
Diagnostic	Direct ➢ Séquence d'ADN	Indirect ➢ Anticorps
Indication	Phase aigüe	Phase chronique
+	Précoce Sensible et Spécifique	Facile : sérum ELISA sensible et automatisée
-	Choix du prélèvement Choix du moment (↑T°C)	Tardif - idéalement cinétique Traduit une exposition
Et si traitement ?	A éviter : risque faux nég	Production Acs parfois retardée voire stoppée

La piroplasmose

Epidémiologie



- Protozoaires : ***Theileria equi, Babesia caballi*** (+ autres espèces de piroplasmes)
- Transmission par **tiques** (*Dermacentor*)
- Transmission transplacentaire possible (avortement/mortinatalité)
- Portage chronique possible après infection : **symptomatique** (*Theileria*) **ou non** (*Theileria / Babesia*)
- **Endémiques** dans nbx pays
- ➔ pb exportation vers pays indemnes

La piroplasmose

Pathophysiologie

- **Incubation** :
  - Theileria : 10 à 19 j, infection cellules mononucléées puis GR
  - Babesia : 7 à 30 j, infection GR

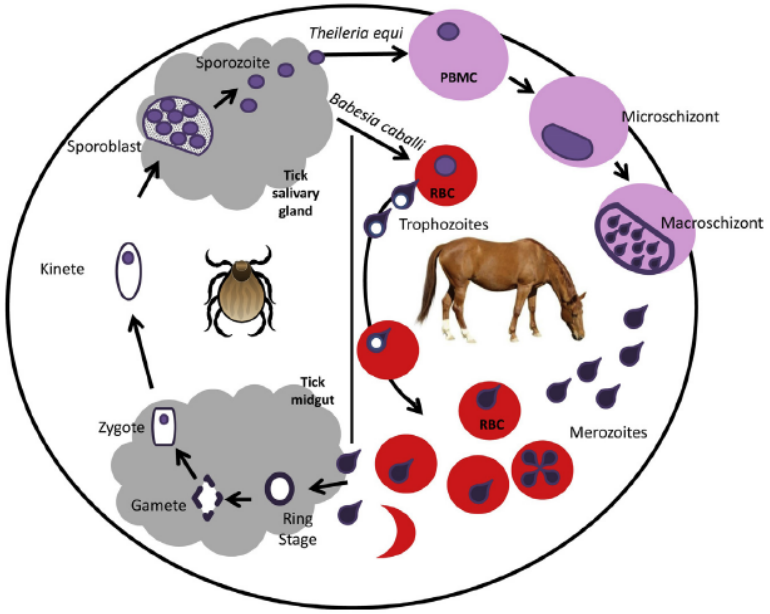


Fig. 3. Life cycle of *Babesia caballi* and *Theileria equi* during tick transmission. RBC, red blood cells.

➔ Hémolyse intra-vasculaire

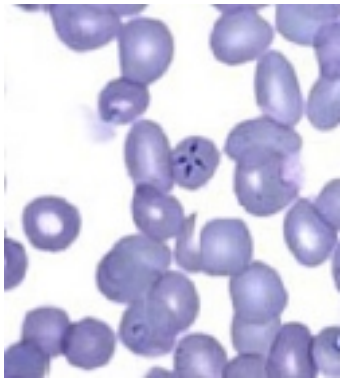
La piroplasmose

Signes cliniques

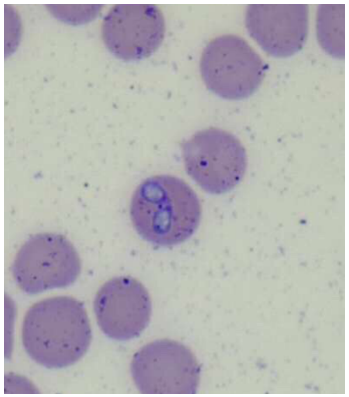
- **Forme aigue (*Theileria / Babesia*)**
  - **Fièvre > 40°c**, léthargie, muqueuses pâles/ictériques, pétéchies, pigmenturie
  - **Oedèmes** des membres
  - Uvéite bilatérale (hyphema)
- **Forme chronique (*Theileria*)**
  - Amaigrissement, abattement, contre performance
  - Splénomégalie
  - Myopathie à médiation immune (atrophie, dégénérescence musculaire)
- Forme suraigue avec mortalité possible (poulain)

La piroplasmose

Diagnostic

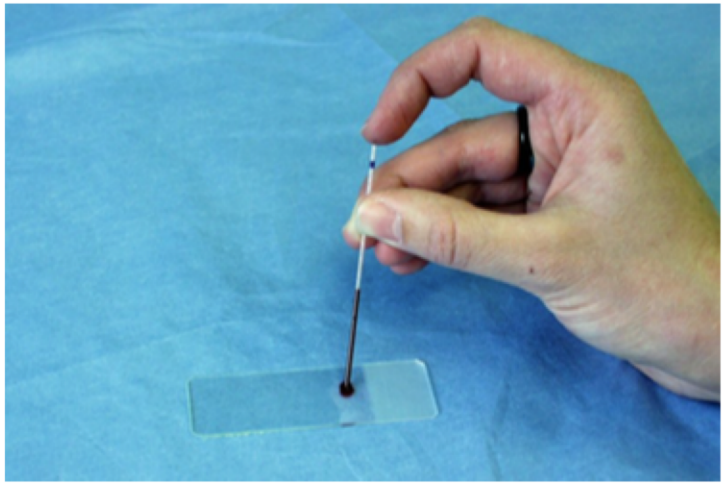


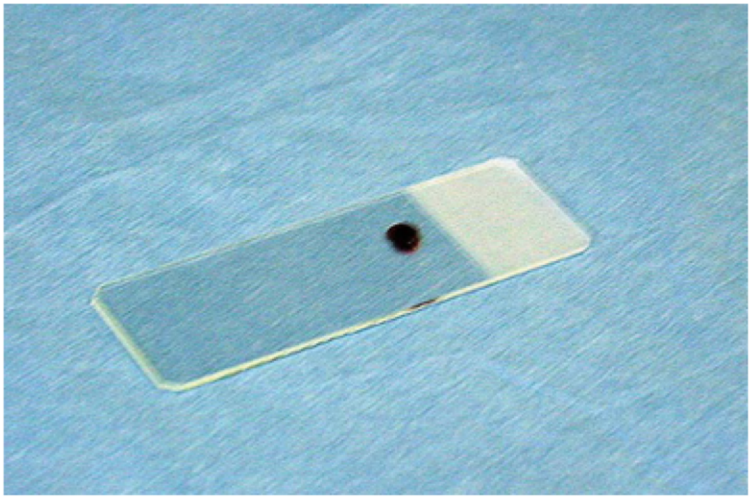
Theileria



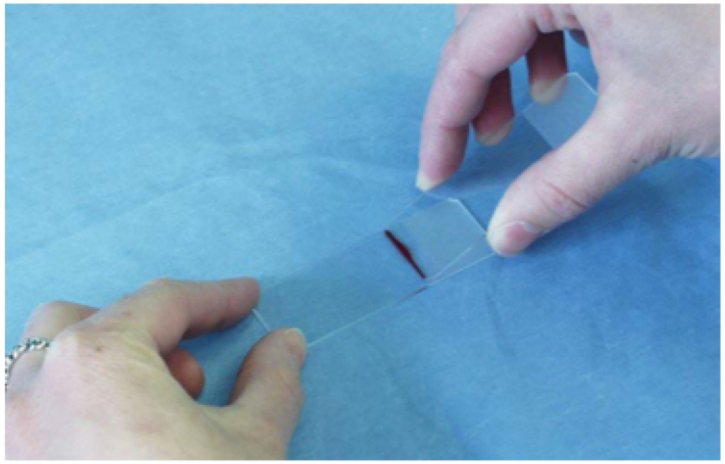
Babesia

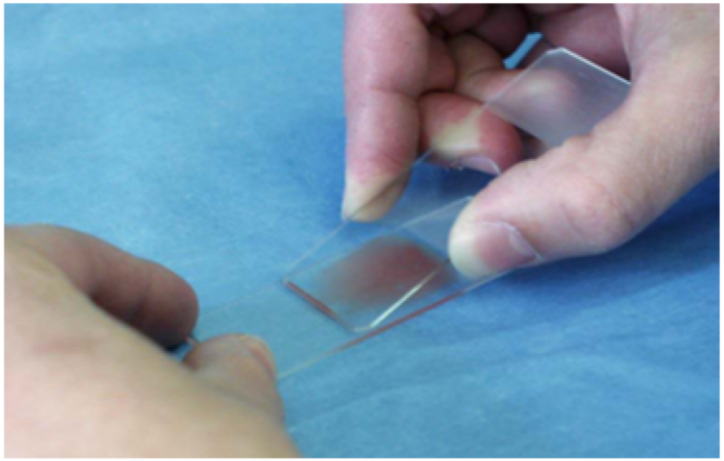
- → Analyses hémato-biochimiques
  - NF : *non spécifique*
    - Forme aigue : **Anémie, thrombocytopénie (CIVD)**
    - Forme chronique : +/- anémie
    - (+/- neutropénie, puis leucocytose)
  - Biochimie : ↑**Bilirubine totale**
  - Frottis sanguin : sur **sang périphérique pendant épisode fébrile**
    - *Sensibilité faible*



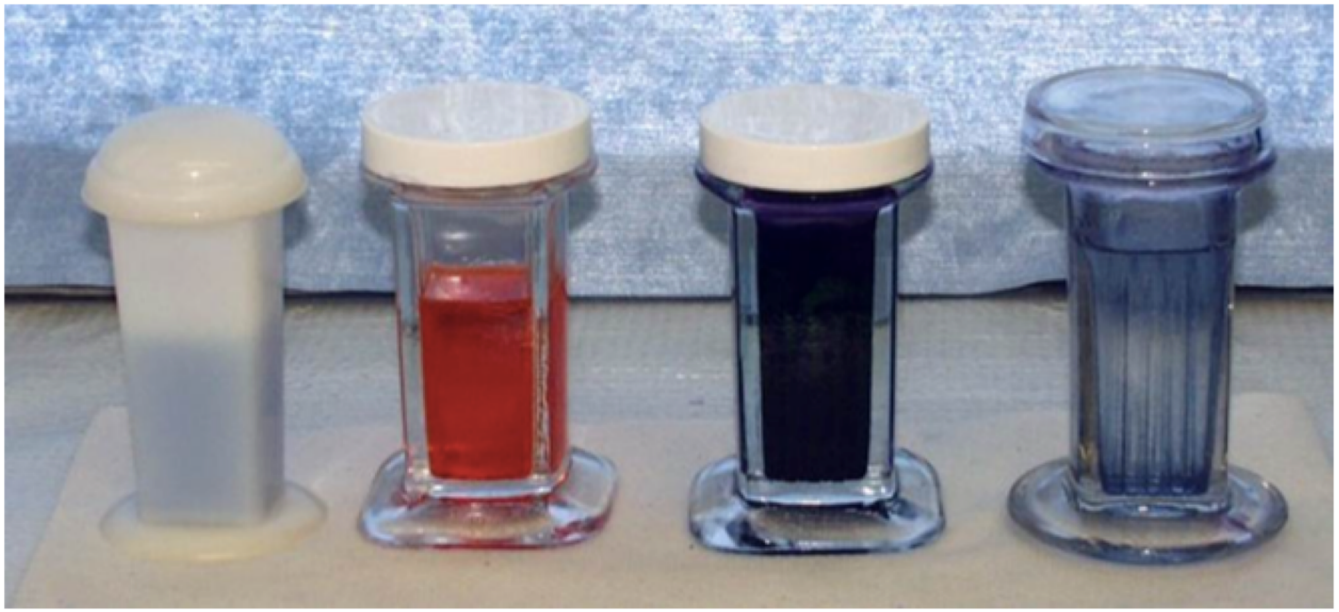


Réalisation du frottis sanguin



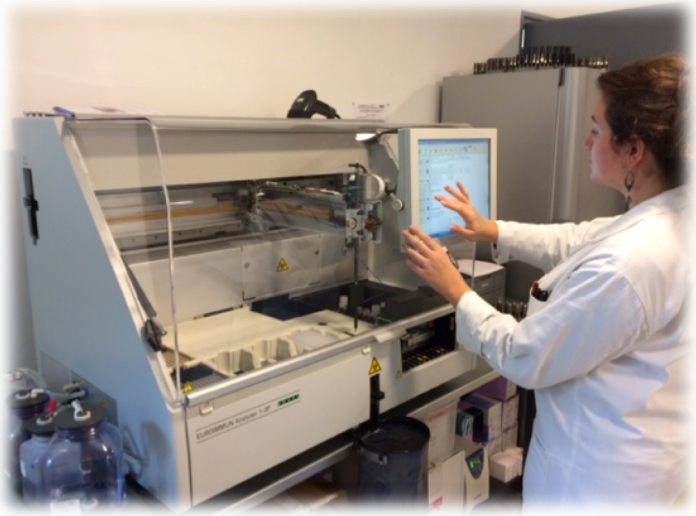


identification date	



La piroplasmose

Diagnostic



→ Sérologie :

- **Cinétique sur tube sec**
  - **Présence Ac en 15 j (7-21)**

    variable f(technique)
  - **Pic à 1-3 mois**

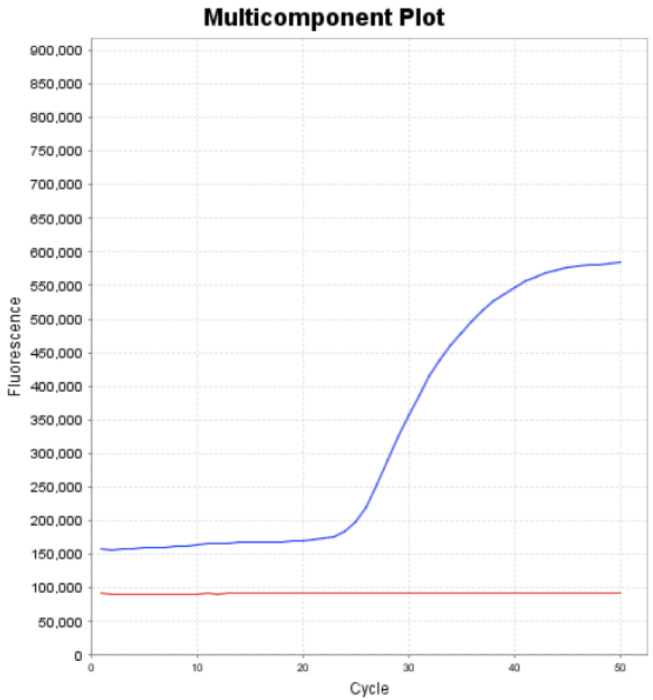
    diminution en 3-6 mois

    persistance si animal porteur (Theileria)

- **Techniques :**
  - **ELISA de compétition**
  - **Fixation du Complément (FC)** : ancien test officiel mais manque de Se
  - **Immunofluorescence Indirecte (IFI)** : grande sensibilité mais opérateur dépendant

La piroplasmose

Diagnostic



→ PCR

- Sang EDTA lors des **pics d'hyperthermie**
- Très Se et Spe
- Détection cas chroniques ?

PCR - après traitement mais séro+ > 24 mois

La piroplasmose

Traitement

- **Imidocarbe dipropionate** (Carbesia ®)
  - Activité anti-cholestérase : coliques, sudation, diarrhée
  - Non recommandé chez ânes, mules
- Traitement symptomatique:
  - Babesia: 2 mg/kg ; Theileria: 2-4 mg/kg 2-3x à 24-72h intervalle
- Clairance (zone non endémique):
  - Babesia : 2mg/kg 2x à 24h intervalle ; Theileria : 4mg/kg 4 x à 72h intervalle

- **Oxytetracycline** 5-6 mg/kg IV q24h pendant 7 jours actif contre Theileria (pas Babesia)

- **Résistances** connues à l'imidocarbe *in vivo*
- **Baisse de sensibilité** après tt répétés *in vitro*

La piroplasmose

Diagnostic différentiel

- Fièvre, anémie, dysorexie, abattement : **signes non spécifiques!**
  - Infection **bactérienne** : gourme (début d'évolution), pleuropneumonies
  - Infection **parasitaire** : cyathostomose
  - Infection **virale** : EHV1/4, grippe
  - **Ehrlichiose**

- Clinique et réponse au traitement compatibles avec une piro, mais PCR négative…
  - Parasitémie inconstante - idéalement coupler PCR et sérologies
  - Autres parasites?!

L'anaplasmose/ehrlichiose

Epidémiologie

- **Anaplasma *phagocytophillum*** = rickettsie
- Transmission par **tiques** (Ixodes)
- Infection des neutrophiles et éosinophiles: **Ehrlichiose/ anaplasmose granulocytaire**
  - ➔ Différent de l'ehrlichiose monocytaire (Potomac Horse Fever)
- Incubation : 3-10 j lors d'infection expé, j'à 20 j après morsure tique

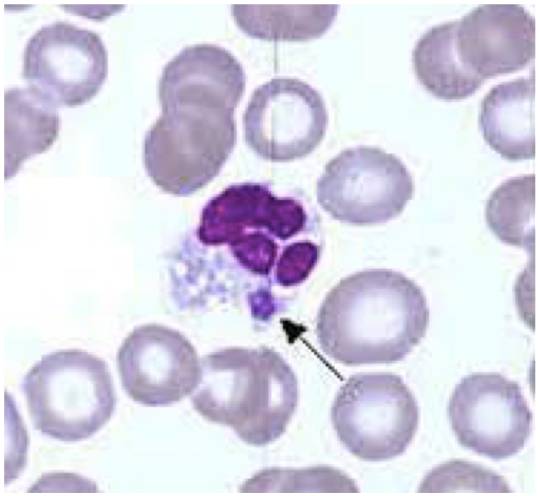
L’anaplasmose

Clinique

- Symptômes peu spécifiques:
  - **Fièvre**, abattement, dysorexie
  - **Œdème** des membres
  - Difficultés à se déplacer, faiblesse, ataxie
  - **Ictère, pétéchies**
  - **Uvéite**
  - Parfois **asymptomatique**…
- **Guérison en général rapide (15j), souvent spontanée** (self-limiting disease)
- Rares décès (CIVD)
- Traitement : Oxytetracycline 7 j

L'anaplasmose

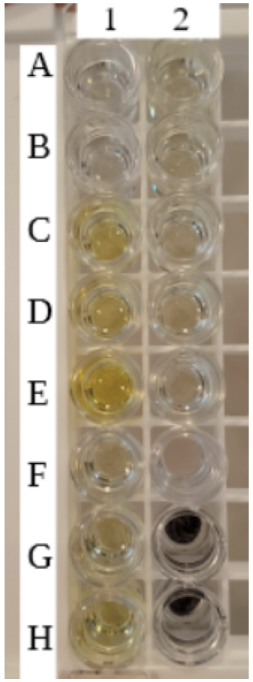
Diagnostic



- **Analyses hémato-biochimiques**
  - NF : **Lymphopénie, neutropénie, thrombocytopénie,** +/- anémie
  - Frottis sanguin : **morula** dans cytoplasme PNN ou PNE (2 à 3 j après le début de fièvre et pdt environ 7 j)
    - *Sensibilité faible*
  - Bioch : ↑ Bilirubine non conjuguée si anémie hémolytique

L’anaplasmose

Diagnostic



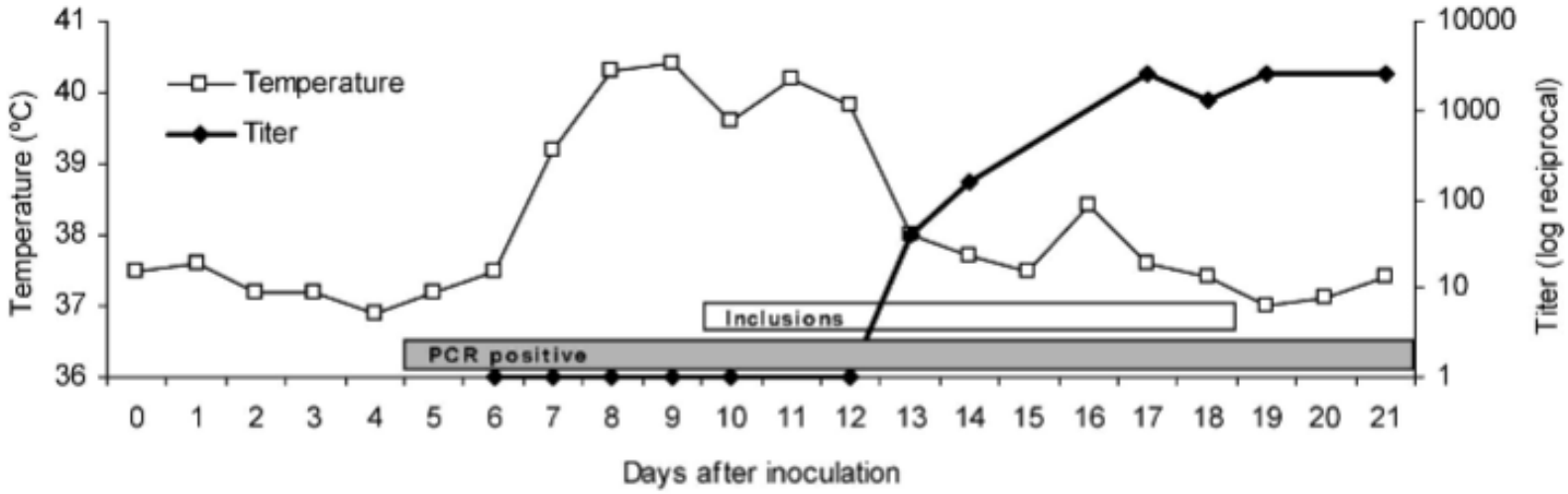
→ **Sérologie**

- Cinétique
  - **Présence Ac en 15j et persistance jusqu’à 1 an**
  - Production **stoppée ou retardée** par les tétracyclines
  - Protocole conseillé : **cinétique** = faire 2 PS à 2-3 semaines
- **ELISA :** semi-quantitaif
- Séroprévalence moyenne: 10% (entre 0 et 50%)

L’anaplasmose

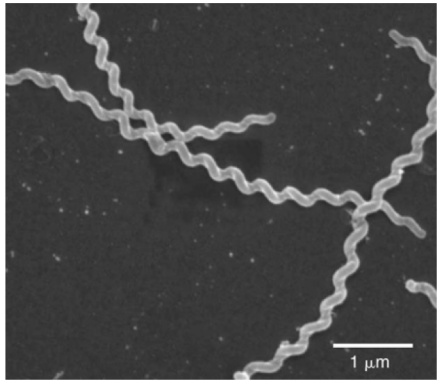
Diagnostic → **PCR**

- **Idéalement en phase fébrile**
- Précoce : POSITIF dès 2-3 j **avant** début signes cliniques
- Et jusqu’à 4-9 j après la fin de la fièvre
- Très Se et Sp



La leptospirose

Epidémiologie



- Bactérie **spirochète** (idem Borreliose)
- Survie dans milieu extérieur +++

- Transmission : **muqueuses et peau lésée**
- Réservoirs : animaux domestiques/sauvages (urines)

- 22 espèces, **plus de 300 sérovars**
  - Depuis 2007: serovar **Australis** le plus représenté chez le cheval
  - Grande variabilité selon régions/continents

La leptospirose

Signes cliniques

- **Organes cibles** : rein, foie, œil, SNC, appareil reproducteur femelle, poumons…
- Bactériémie hyperthermisante 2 à 20 jours pour souches pathogènes
- Incubation 3j à 3 semaines

- **Signes cliniques** :
  - **Uvéite** (médiation immune) : apparition tardive
  - Formes **périnatales** : mortalité, faiblesse/ictère
  - Formes **abortives** (fin gestation)
  - Autres : affection rénale aigue, affection hépatique aigüe ou subaigüe, hémorragies pulmonaires,
  - Le plus souvent : **asymptomatique**…

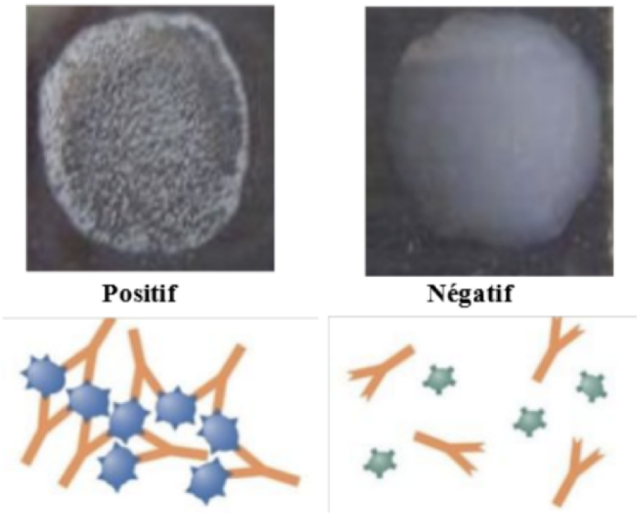
La leptospirose

Diagnostic

→ Sérologie : techniques

Ac en 7 à 10j, persistance longue (6 mois, parfois > 2 ans !)

- **ELISA** :
  - + : rapide, simple, automatisée
  - - : pas serovars, mesure IgG seulement



- **MAT** (Micro Agglutination Test) : agglutination de souches vivantes
  - + : **technique de référence**, distinction des sérovars,
  - - : Technique complexe, longue, opérateur dépendant

La leptospirose

Diagnostic

→ Sérologie :

- **Cinétique** = 2 sérologies à 15 jours
- Avortement : taux Ac généralement très élevés
- Uvéite : parfois MAT négatif

→ PCR

- **8 premiers jours : Sang, Lait, LCR** (présence transitoire)
- **Après 10 premiers jours : urine mais excrétion intermittente** (pooler 3 prélèvements, furosémide), **jusqu'à 14 semaines après avortement**
- **Organes** : œil, LCR, avorton…

La leptospirose

SEROLOGIE

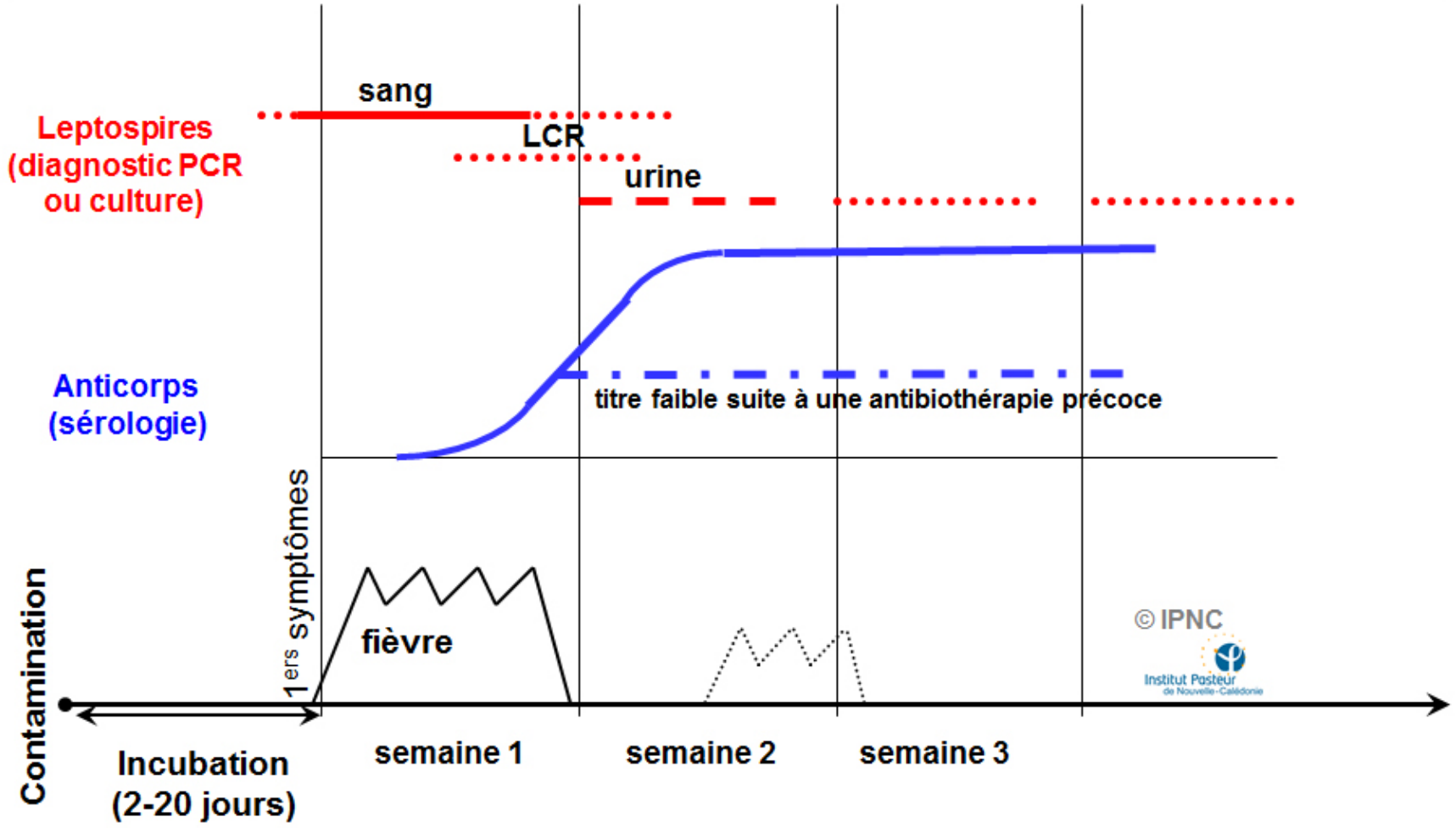
Sérologie (MAT) Leptospirose

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

sngtv

La leptospirose

Le diagnostic biologique de la leptospirose



La leptospirose

Traitement

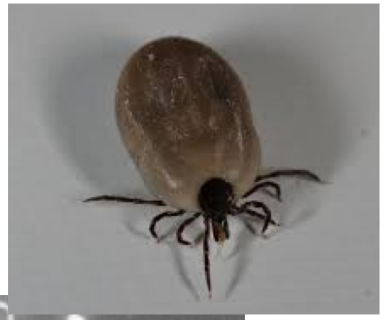
- **Pénicilline** : traitement de choix
- **Tetracyclines** (oxytetracycline, doxycycline) 7-15j

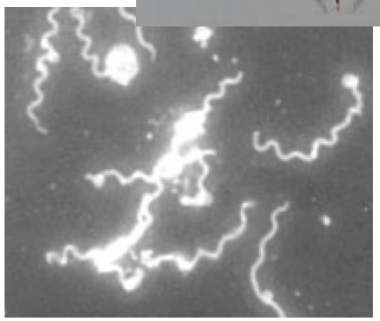
- Traitement antibiotique **non indiqué sur uvéites** (formes à médiation immune, retardées)
- Traitement justifié chez jument en fin de gestation avec séroconversion

- **Prévention** :
  - Pas de vaccin spécifique en France ; vaccins spé aux USA
  - Pas d'aspect règlementé sauf pour exportations

La maladie de Lyme

Epidémiologie





- ***Borrelia burgdorferi*** : Bactéries spirochètes gram -
  - *Bb sensus stricto (US)*
  - *Bb Sensus lato (Europe, Asie): Bb + B garinii + B afzelli…*
- Transmission par **tiques** du genre *Ixodes ricinus*
- Inoculation : **minimum 24h** après morsure
- **Séroprévalence élevée chez chevaux** dans certaines régions du monde :
  - USA : 33 à 50%
  - Europe: France : 12 à 48%, Italie : 24%, Danemark: 29%, Pologne: 26%

La maladie de Lyme

Signes cliniques

- **Le plus souvent : infection asymptomatique**
- Symptômes **peu spécifiques** lors d'affection clinique :
  - Fièvre légère, abattement, raideur généralisée
  - Boiteries intermittentes, distensions synoviales
  - Troubles du comportement, fonte musculaire, hyperesthésie
- Absence de corrélation entre signes cliniques et séropositivité : **Symptomatologie exacte reste méconnue**

La maladie de Lyme

Infection expérimentale

- **Infection expérimentale** (Chang, 2000) :
  - **Aucun signe d'atteinte générale**
  - Réaction cutanée au site de morsure
  - Atteinte des nerfs périphériques et péri-synoviaux (Histo)
  - **Infection persistante** (PCR positive jusqu'à 9 mois) dans **peau**, **fascia**, **membranes synoviales**
    - Peut expliquer signes cliniques incriminés (raideurs, boiteries, hyperesthésie)
    - Besoin d'investigations

La maladie de Lyme

Signes cliniques

- Syndromes correctement documentés d'infections naturelles :
  - **Neuroborréliose**
  - **Pseudolymphome cutané**
  - **Uvéite (isolée ou associée aux troubles neurologiques)**
- Probablement sous-diagnostiqués
- Erythème *migrans* non décrit chez chevaux: diagnostic précoce difficile
- Diagnostic différentiel: très large

La maladie de Lyme

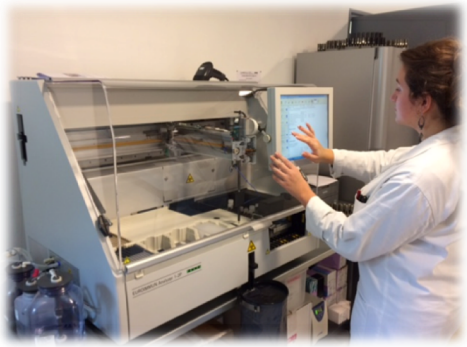
Diagnostic → PCR

- **Très rarement positive dans le sang**
  - → analyse non recommandée
- **Intérêt sur les tissus** : liquide/membrane synoviale, peau, NL loco-régionaux, muscles, liquide oculaire (vitré), LCR, tissus nerveux…

La maladie de Lyme

Diagnostic

Sérologie



➔ **Plusieurs tests sérologiques**

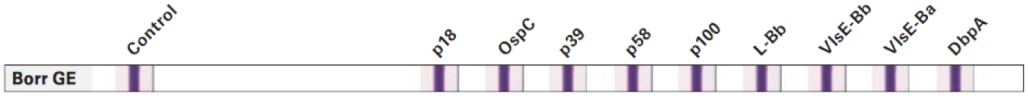
– Recommandé = dépistage ELISA puis confirmation par immunoblot

➔ **Séroconversion longue** :

mini **3 voire 5 - 6 sem**, ↑ jusqu'à 3 mois (infection expé)

➔ **Persistance des Ac** : >12-18 mois, **pas d'intérêt de suivi après traitement**

(déclin faible ≠ infection expé)



sngtv

La maladie de Lyme

Diagnostic

Sérologie

→ Interprétation délicate :

- Résultat positif **= exposition et pas forcément maladie de Lyme**
- **Dépistage sérologique non recommandé** en région endémique
- **Absence de corrélation** entre titre et risque de maladie

- **Faux négatif possible** sur animal malade :
  - infection récente,
  - réponse immunitaire insuffisante,
  - réaction locale (formes nerveuse, oculaire).

La maladie de Lyme

Traitement

- Chevaux **asymptomatiques** avec sérologie positive: traitement **non recommandé**
- Traitement recommandé si
  - Exposition aux tiques infestée
  - Séropositivité
  - Signes cliniques compatibles : **exclusion des autres affections**
  - Cytologie, histopathologie et/ou PCR
- **La réponse au traitement n'est pas un moyen permettant de confirmer un diagnostic de maladie de Lyme**

La maladie de Lyme

Molécule	Posologie	MIC (µg/ml) pour B.b	Commentaires
Oxytetracycline	6,6 mg/kg IV q24h	0.25 (Ates 2010) 0.01-20 (Hunfeld 2006)	Traitement long terme non recommandé
Doxycycline	10 mg/kg PO q12h	0.125-0.25 (Ates 2010) 0.06-2 (Hunfeld 2006)	Bonne pénétration synoviale; faible pénétration LCR/oeil ≈ 5€/j
Minocycline	4 mg/kg PO q12h	0.03-1 (Hunfeld 2006) 0.4-0.8 (Caol 2017)	Meilleure pénétration LCR/œil que doxy ≈14€/j
Ceftiofur sodique	2,2 mg/kg IV/IM q12h	< 0.04-0.08 (Caol 2017)	Uniquement sur cas confirmés
Pénicilline G sodique	22000-44000 UI/kg IV q6h	0.03-8 (Hunfeld 2006)	Dose élevée pour LCR Couteux

La maladie de Lyme

Traitement

- Durée du traitement :
  - Pas de données chez les chevaux
  - Diagnostic souvent tardif
  - Différences de biodisponibilité tétracyclines/β-lactamines p/r homme, risque traitement long terme
- Initiation et durée du traitement ne peut être basée sur ↘ titre anticorps
- En pratique : **1 semaine oxytétracycline IV puis relai doxycycline PO 3-4 semaines**

Cas clinique : Hongre 28 ans

- 11/07 : amaigrissement, abattement

- Examen clinique OK (auscultation, crottins, PTR)
- Dents OK
- Coprologie/vermifuge OK
- Alimentation OK

- Bilan NF + fibrinogène + Bioch + ACTH OK

Cas clinique : Hongre 28 ans

12/07

SEROLOGIE

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

Borréliose 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

Borréliose 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

Cas clinique : Hongre 28 ans

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

Cas clinique : Hongre 28 ans

15/09

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 ..... **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

Bilan : quels signes cliniques (formes aigues) ?

Maladie	Fièvre >40	Anémie hémo-lytique	Oedèmes membres	Uvéite	Troubles neuros	Autres
Piroplasmose	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Thrombopénie (Avortements, mortinatalité)
Ehrlichiose	Oui	Non	Oui	Oui	Oui	Lymphopénie, neutropénie, thrombopénie
Leptospirose	Oui	Oui	Non	Oui	Oui	Hémorragie pulmonaire, atteinte rénale, hépatique Avortements, mortinatalité
Borreliose	Non	Non	Non	Oui	Oui	Forme cutanée (chronique)

Bilan : quels tests choisir ?

Maladie	PCR	Sérologie
Piroplasmose	**Sang :** idéalement lors d'hyperthermie Cas chroniques ?	**cELISA :** - Idéalement cinétique (15 j) - Intérêt en suivi de traitement
Anaplasmose (ehrlichiose)	**Sang :** idéalement lors d'hyperthermie (+ jusqu'à 9 jours après fin de la fièvre)	**ELISA** : idéalement cinétique (15j) Persistance Acs> 1 an Production Acs retardée/stoppée par traitement
Maladie de Lyme (Borreliose)	**Liquides/tissus (articulaire, oculaire, peau, NL, muscles, SN/LCR) –** sensibilité ? **Sang** : à éviter	**ELISA :** indique 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
Leptospirose	**Sang (<8j) :** présence transitoire **Urine (>10j) :** excrétion intermittente **Liquide oculaire**	**ELISA –** idéalement cinétique 15j Confirmation **MAT** pour identifier le(s) sérovar(s)

Merci de votre attention

Remerciements : Marianne Depecker
Clinique équine de Conques

mctricaud@vetodiag.fr