Ça respire mal : infection ou non ?

16 mai 2019, Journées Nationales des GTV Nantes
MC Dupuis Tricaud, DMV, PhD

sngtv
SOCIÉTÉ NATIONALE DES
GROUPEMENTS TECHNIQUES
VÉTÉRINAIRES

INTRODUCTION

- Prélèvements = complément de l’anamnèse et de l’examen clinique

- Nombreuses possibilités :
  - Ecouvillonnage
  - Lavage trachéal / aspiration transtrachéale
  - Lavage broncho-alvéolaire
  - Thoracocentèse
  - Biopsie pulmonaire (percutanée/transbronchique à l’endoscope)…

→ Comment choisir le meilleur examen complémentaire ?

→ Comment interpréter les résultats obtenus ?

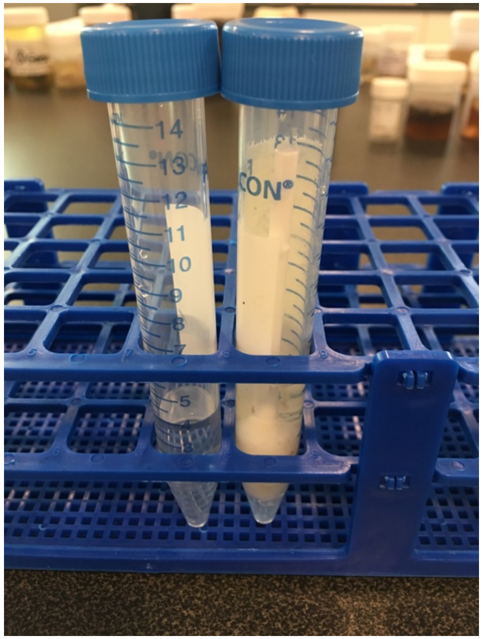
Cas clinique 1 : Hongre SF 5 ans

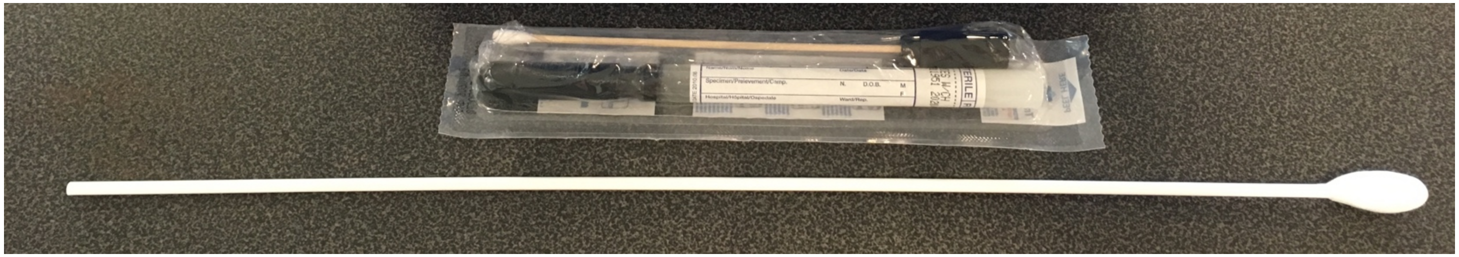
- Appel du propriétaire : abattement
- Anamnèse : écurie jeunes CVX, toux dans l’écurie
- Examen clinique : 39.5°C, jetage séreux, auscultation cardiaque et pulmonaire OK
- Prélèvement de choix :

Ecouvillon Naso-Pharyngé
= ENP

ECOUVILLON NASOPHARYNGÉ

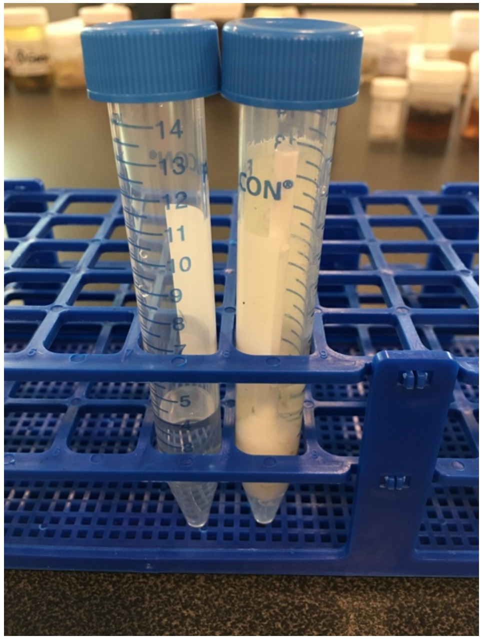
- ENP ≠ écouvillon nasal
- Dans méat ventral -> pharynx -> retrait en frottant et tournant (cellules !)
- Idéalement 2 naseaux, 10 sec
- Envoi rapide, dans sérum physiologique stérile
- Idéalement sous couvert du froid





ECOUVILLON NASOPHARYNGÉ

- → Indications : processus infectieux
  - – Virologie +++ : PCR en phase fébrile (ou dépistage)
    - **EHV 1,4** : rhinopneumonie équine
    - **Influenza** : grippe
  - – Bactériologie +
    - **Gourme** : *Streptococcus equi equi* -> PCR
    - Autres germes : interprétation délicate (flore commensale)



Cas clinique 1 : Hongre SF 5 ans

→ Analyses demandées :

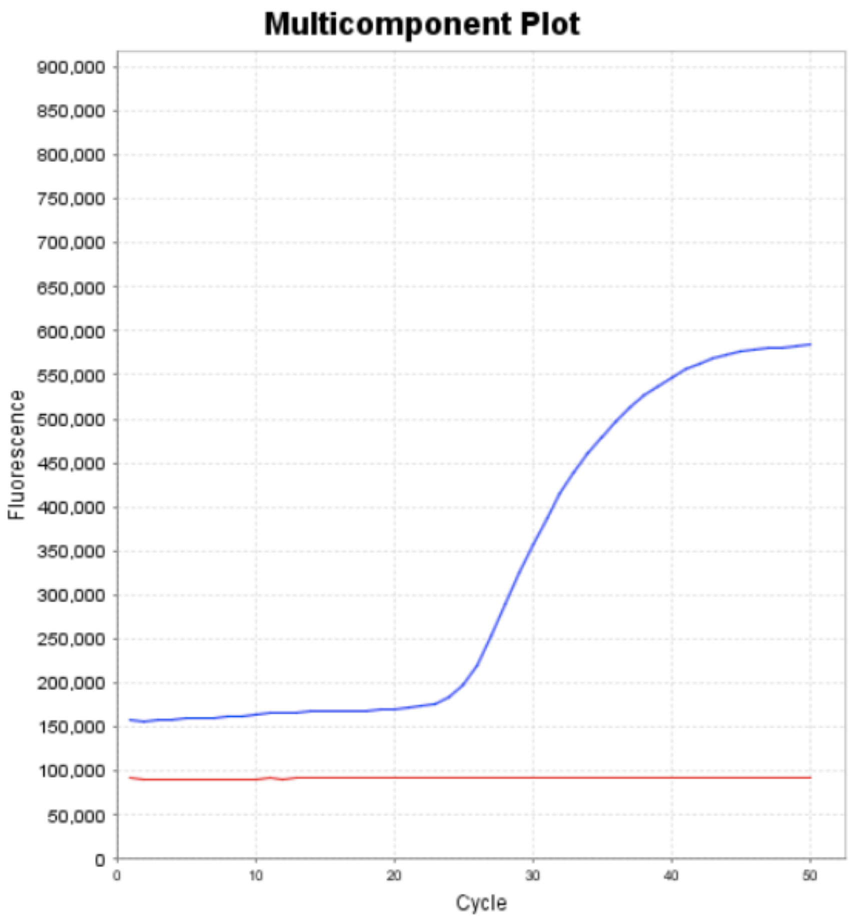
PCR EHV1, 4, Influenza, Gourme

→ Résultats :

EHV4 POSITIF : charge forte

→ Mesures à prendre :

Cf Fiches pratiques du RESPE



Mesures sanitaires de prévention cheval malade – Herpèsviroses

Afin d'éviter toute extension de la maladie dans et en dehors de la structure, le RESPE recommande vivement la mise en place des mesures de précaution suivantes et de contacter votre vétérinaire afin qu'il examine les chevaux, procède à des prélèvements, si nécessaire, et vous aide à mettre en place les mesures sanitaires :

En cas de doute :

Prendre quotidiennement la température des chevaux
(voire 2 fois matin et soir si malade confirmé)

Limiter les mouvements (entrées / sorties)

Isoler les chevaux présentant des signes de maladie

Désinfecter les locaux et matériels contaminés

Mettre en place un circuit de soins si herpèsvirose confirmée

En cas de confirmation de la maladie ou de risque élevé

Isoler les chevaux malades et suspects (signes de maladie)
et identifier des zones d'isolement

Interdire les mouvements
(entrées / sorties) ou les limiter au maximum

Mettre en place un circuit de soins strict
- Débuter par les lots d'animaux sains pour terminer par les chevaux suspects, puis ceux atteints
- Faire réaliser les soins entre les lots de chevaux sains, suspects, malades par des personnels différents ou à défaut en suivant strictement le circuit de soins, avec matériels dédiés pour chaque lot et changement de tenue entre les différents lots si personnel unique

Désinfecter le matériel
après chaque série de soins ou utiliser du matériel à usage unique ; mettre en place des pédiluves devant les zones infectés

Désinfecter les locaux contaminés

Isoler pour quarantaine les chevaux en provenance des sites infectés ou suspects

Par ailleurs, nous vous rappelons que les infections à HVE1, HVE4, grippe, gourme... étant des maladies non réglementées, leur gestion revient aux professionnels.
A ce titre, selon l'article L228-3 du Code Rural, « *le fait de faire naître ou de contribuer volontairement à répandre une épizootie chez les vertébrés domestiques [...] est puni d'un emprisonnement de cinq ans et d'une amende de 75 000 €. La tentative est punie comme le délit consommé.*
Le fait, par inobservation des règlements, de faire naître ou de contribuer à répandre involontairement une épizootie [...] est puni d'une amende de 15 000 € et d'un emprisonnement de deux ans. »

Cas clinique 2 : Jument TF 3ans

- Appel : abattement, nez sale
- Anamnèse : écurie de course, plusieurs CVX atteints, notamment jeunes
- Examen clinique : 40°C, jetage muco-purulent, hypertrophie NL , auscultation ok
- Suspicion :

Gourme

Gourme : Rappels

- Maladie très contagieuse, pas de vaccin en France
- Formes cliniques :
  - *Classique* : ↑T°C, jetage séreux puis muco-purulent, ↑NL rétropharyngiens -> abcès en 7-10 j
  - *Chronique* : chondroides dans PG (porteurs asymptomatiques), rupture possible du NL dans pharynx -> pneumonie secondaire
  - *Batarde* (métastatique) : multiples abcès, septicémie possible
  - *Troubles à médiation immune* (rare : 1 à 5% CVX) : purpura hémorragique (œdème, pétéchies, ecchymoses)
- Evolution favorable en 2 à 4 semaines mais morbidité ↑
- Antibiothérapie précoce déconseillée

sngtv

Gourme : Prélèvements

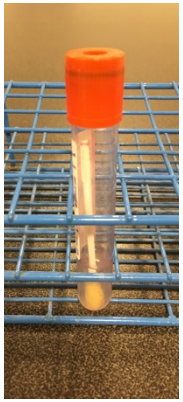
1. Si nœuds lymphatiques hypertrophiés/abcédés

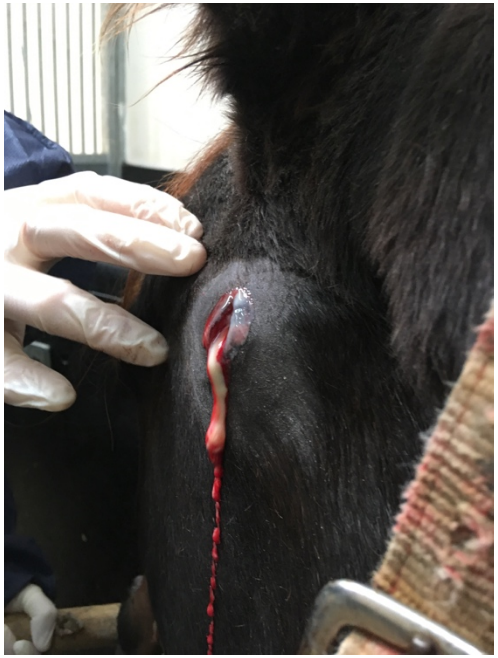
- Prélèvement :

  Aspiration NL / écouvillon

- Analyses :
  - **PCR**

    ➔ Idéal : écouvillon dans un tube sec humidifié par NaCl 0.9% stérile
  - +/- bactériologie : écouvillon avec milieu de culture





Gourme : PCR ou Bactériologie ?

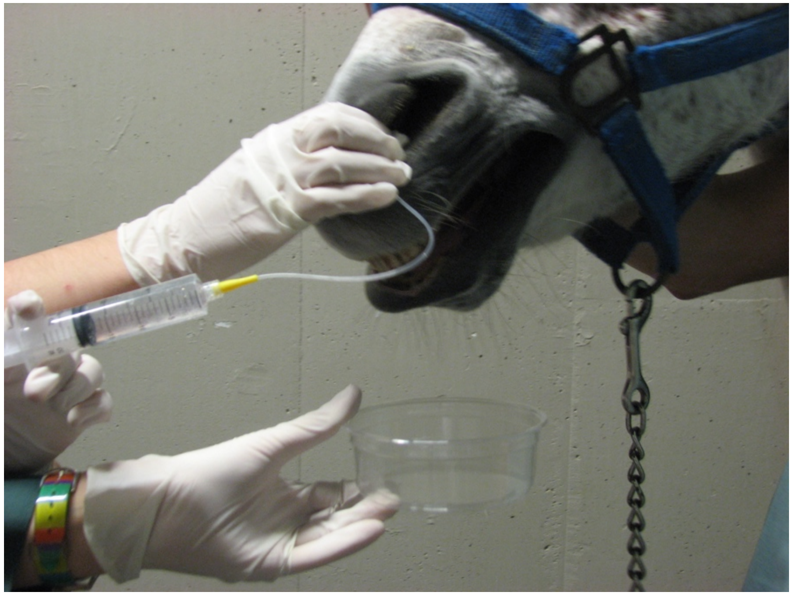
	PCR	Culture bactériologique
+	Délai (24h) Plus sensible Coût <	Bactéries vivantes seulement Autres germes
-	Bactéries vivantes + mortes Seulement S. equi equi Faux nég. si inhibiteurs ou charge forte	Délai (48h) Moins sensible Faux nég. si charge faible, phase incubation ou colonisation par S. zooepidemicus

➔Idéalement = les deux

Si limite économique et recherche Gourme spécifique => PCR

Gourme : Prélèvements

2. Si suspicion clinique forte sans NL hypertrophié



- Prélèvement

ENP ou écouvillon nasal ou lavage naso-pharyngé

- Analyses

PCR +/- Bactériologie

⚡ Risques de faux négatifs :

- Pdt les 2 premiers jours de fièvre : pas de germe
- Excrétion intermittente

Gourme : Prélèvements

3. Diagnostic de portage asymptomatique

- Prélèvement :
  Lavage de Poches Gutturales

- Analyses :
  - **PCR**
  - **Cytologie**
  - +/- bactériologie

Gourme : Et la sérologie ?

- SeM
  - Diagnostic de purpura hémorragique ou forme batarde (titre > 12800)
  - Diagnostic d'exposition récente : faire 2 prises de sang à intervalle 10 jours

- DUAL ELISA A et C
  - Plus spécifique
  - Dépistage des porteurs chroniques (faire des lavages de PG sur les CVX +)
  - Délai > (Angleterre)

Cas clinique 2 : Hongre TF 3ans

- Analyses demandées J0 :
  - PCR Gourme sur jetage / écouvillon nasal : NEGATIF
  - Autre cheval de l'écurie (aspiration d'un NL abcédé) : POSITIF

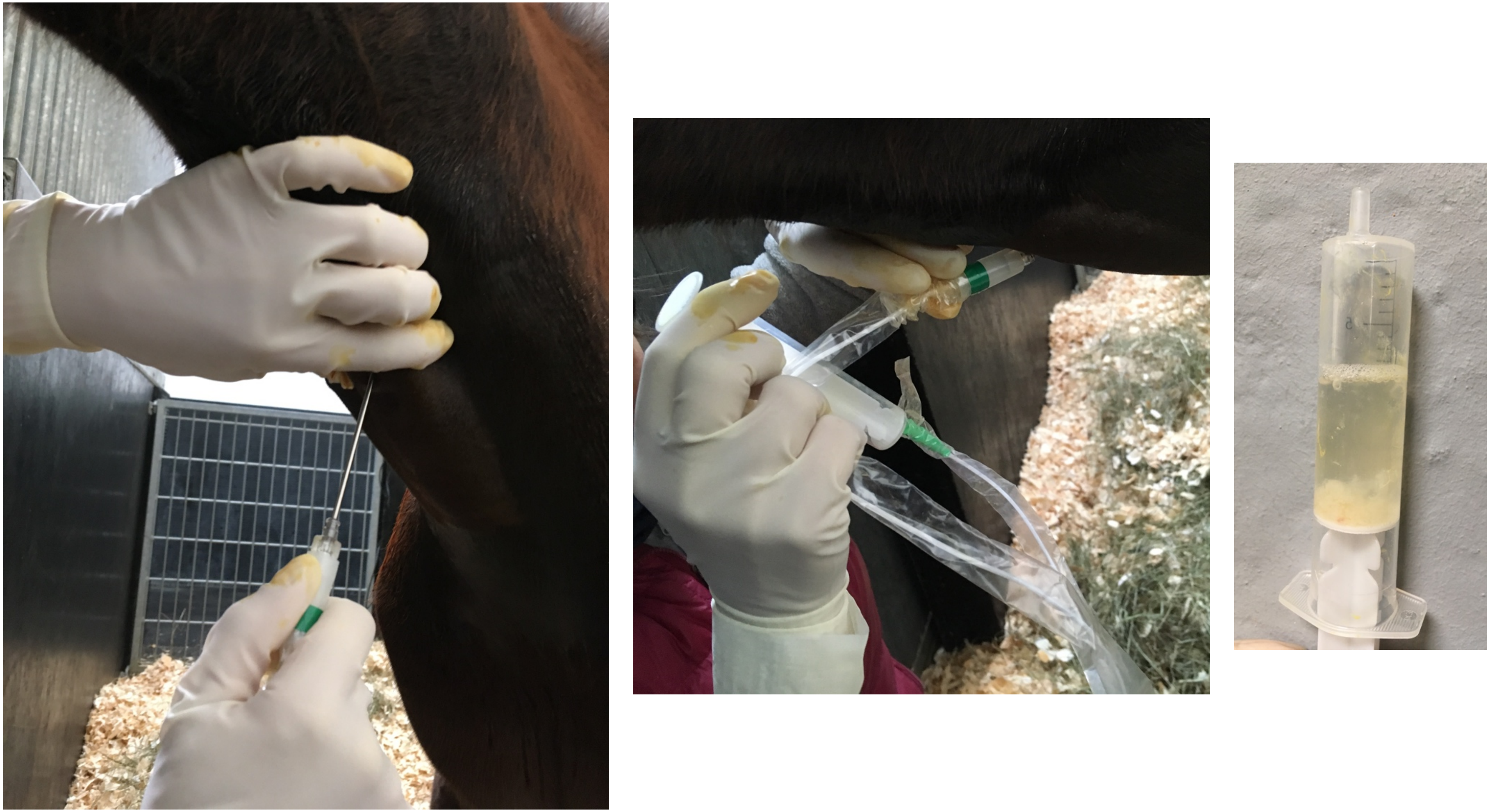
- J3 :
  - 2^{ième} analyse PCR Gourme sur jetage : POSITIF

➔ Attention aux faux négatifs les premières 48h !

Cas clinique 3 : Poulain de 4 mois

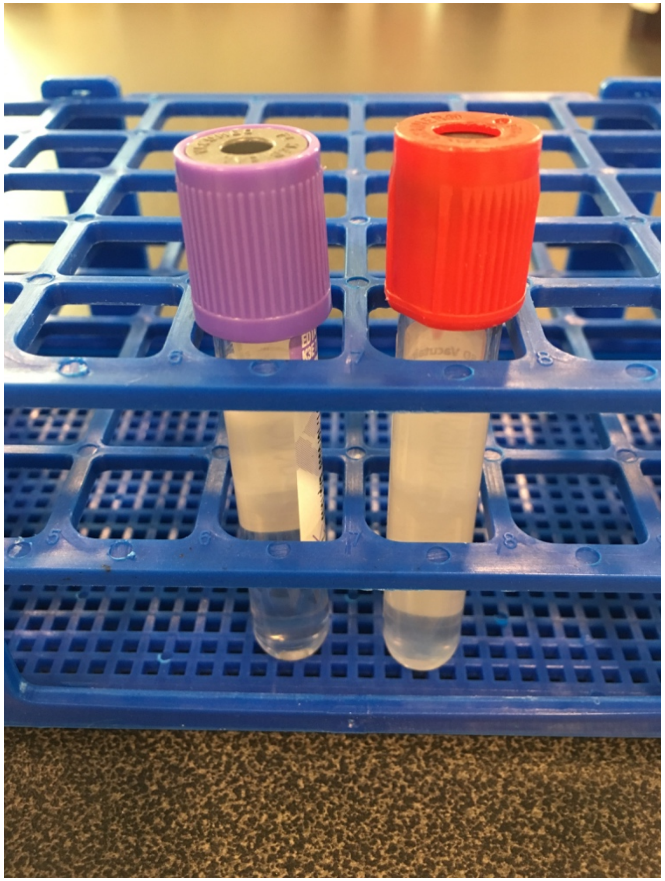
- Appel : abattement, toux
- Anamnèse : poulain retard de croissance, couché, tousse, antécédents sur d'autres poulains l'an dernier
- Examen clinique : 40°C, auscultation pulmonaire anormale
- Prélèvement :

Aspiration trans-trachéale



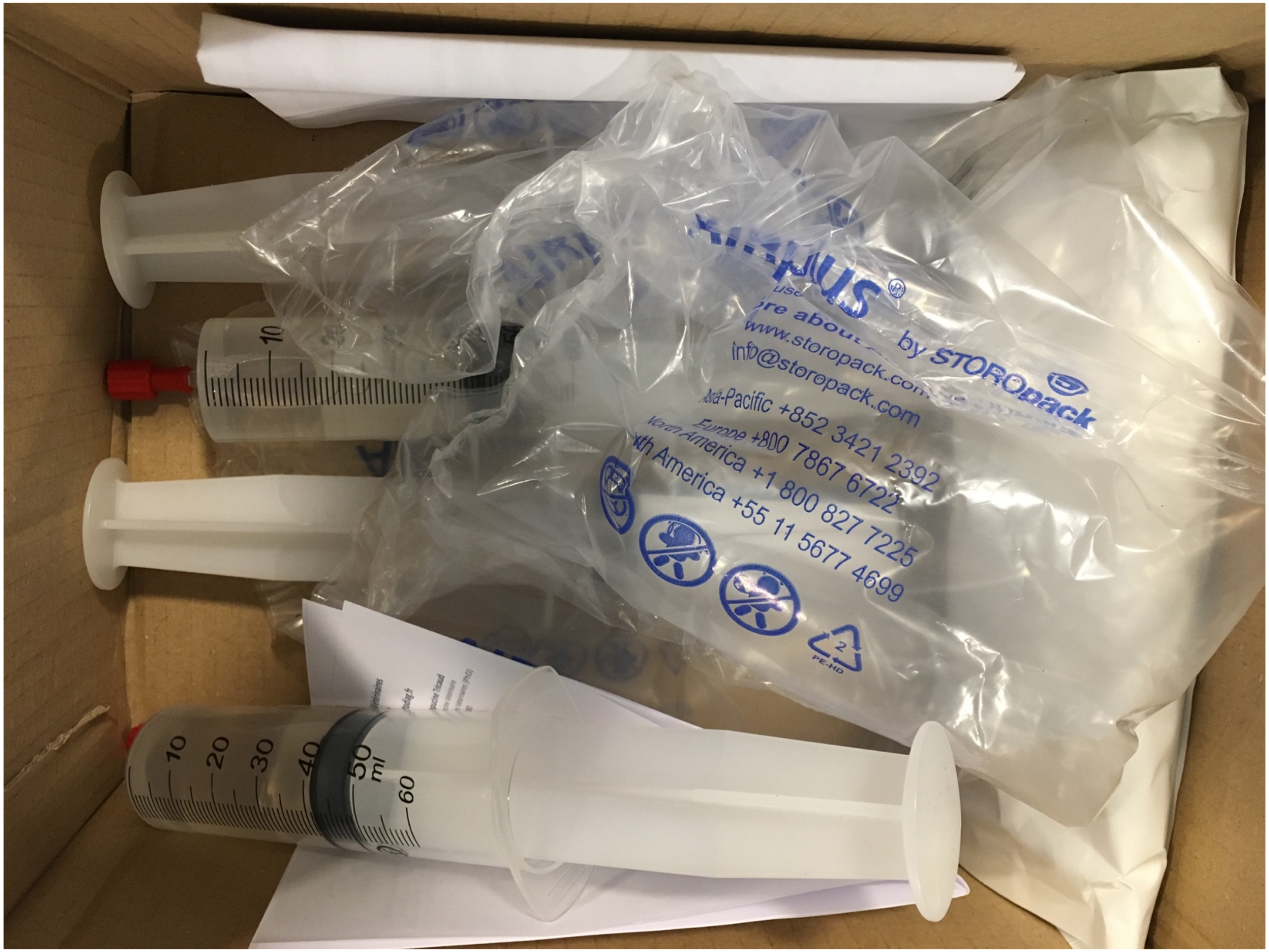
LT : TRAITEMENT ET ENVOI

- Homogénéiser le prélèvement et le répartir dans :
  - 1 tube sec pour l'infectiologie (pas d'EDTA : bactériostatique !)
  - 1 tube EDTA pour la cytologie / PCR



- +/- étalement direct sur lame
- Commémoratifs !
- Acheminement rapide (<48h), idéalement sous couvert du froid

A ne pas faire…


by STOROpack
www.storopack.com
info@storopack.com
Asia-Pacific +852 3421 2392
Europe +800 7867 6722
North America +1 800 827 7225
South America +55 11 5677 4699
PE-HD

Cas particulier de la rhodococcose

- *Rhodococcus equi* : agent majeur de pneumonie du poulain
- Présent dans environnement, crottins, écouvillon nasal…

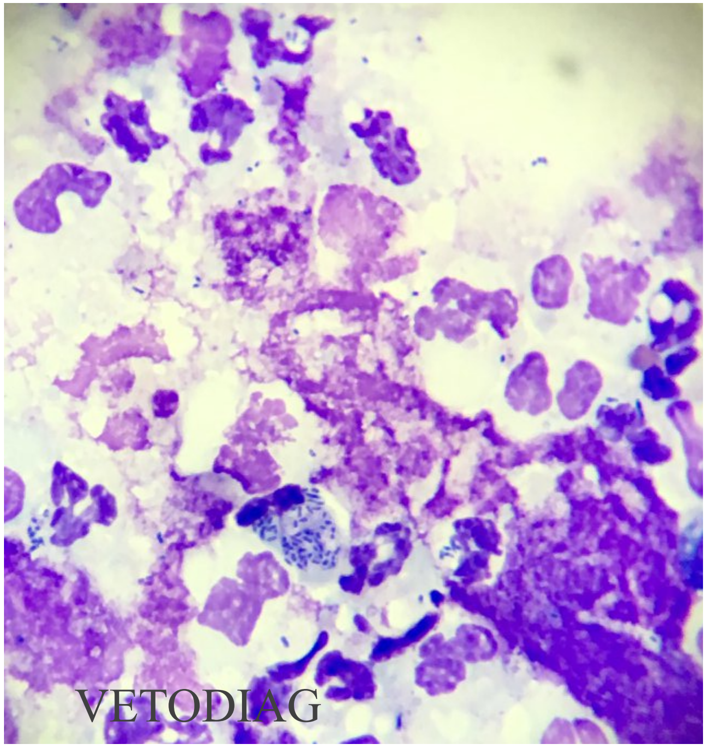
- Gold standard pour le diagnostic :

  -> Culture ou PCR sur ATT

  + cytologie (inflammation)

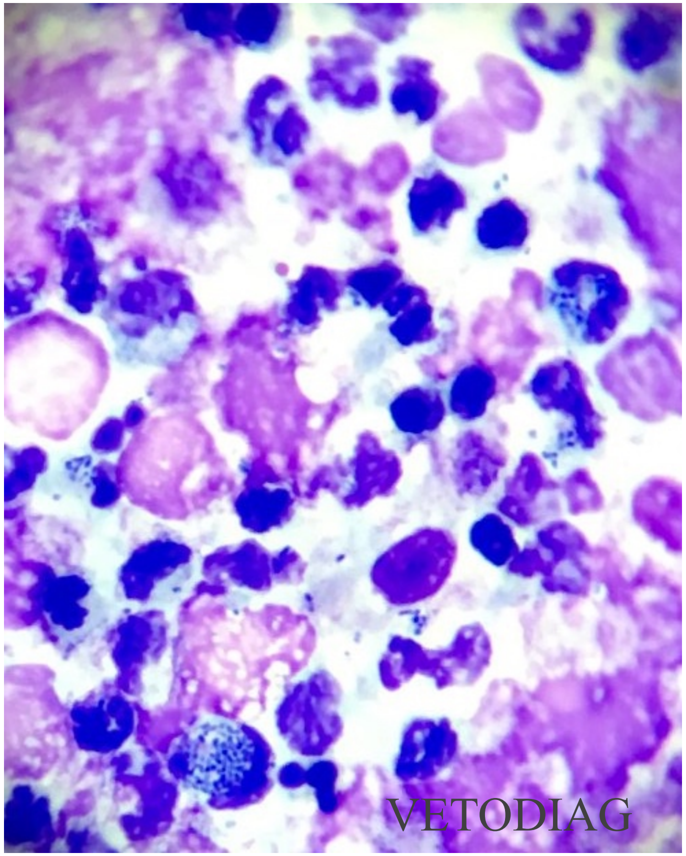
  + signes cliniques

  + signes RX /écho de bronchopneumonie


VETODIAG

Cas particulier de la rhodococcose

- PCR/culture bactérienne ?
  - PCR : rapide, sensible
  - Culture bactérienne : indispensable pour identifier d'autres pathogènes + choix de l'antibiotiques (antibiogramme)



Cas clinique 4 : Etalon SF 9 ans

- Appel : toux chronique, contre-performance
- Anamnèse : toux en début de travail, pas d'autres chevaux atteints
- Examen clinique : pas d'hyperthermie, sifflements à l'auscultation pulmonaire, auscultation cardiaque ok

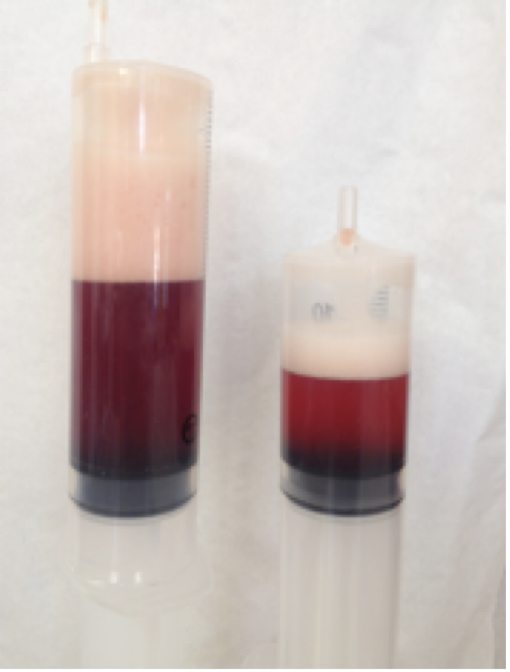
Asthme équin
+/- surinfection

LBA

LT

LAVAGE BRONCHO-ALVÉOLAIRE (LBA)

- Injection de 250/500 mL de saline stérile via endoscope (min 2m) ou sonde à ballonnet (L 3m, ⌀10mm), aspiration entre 50-70%



- Difficultés techniques :
  - Peu ! (légère inflammation 48h)
  - Parfois toux paroxystique : instillation anesthésique local (lidocaïne), sédation (ajout butorphanol)

- Indications : affections VRP diffuses

LAVAGE BRONCHO-ALVÉOLAIRE (LBA)

- Analyses :
  - CYTOLOGIE

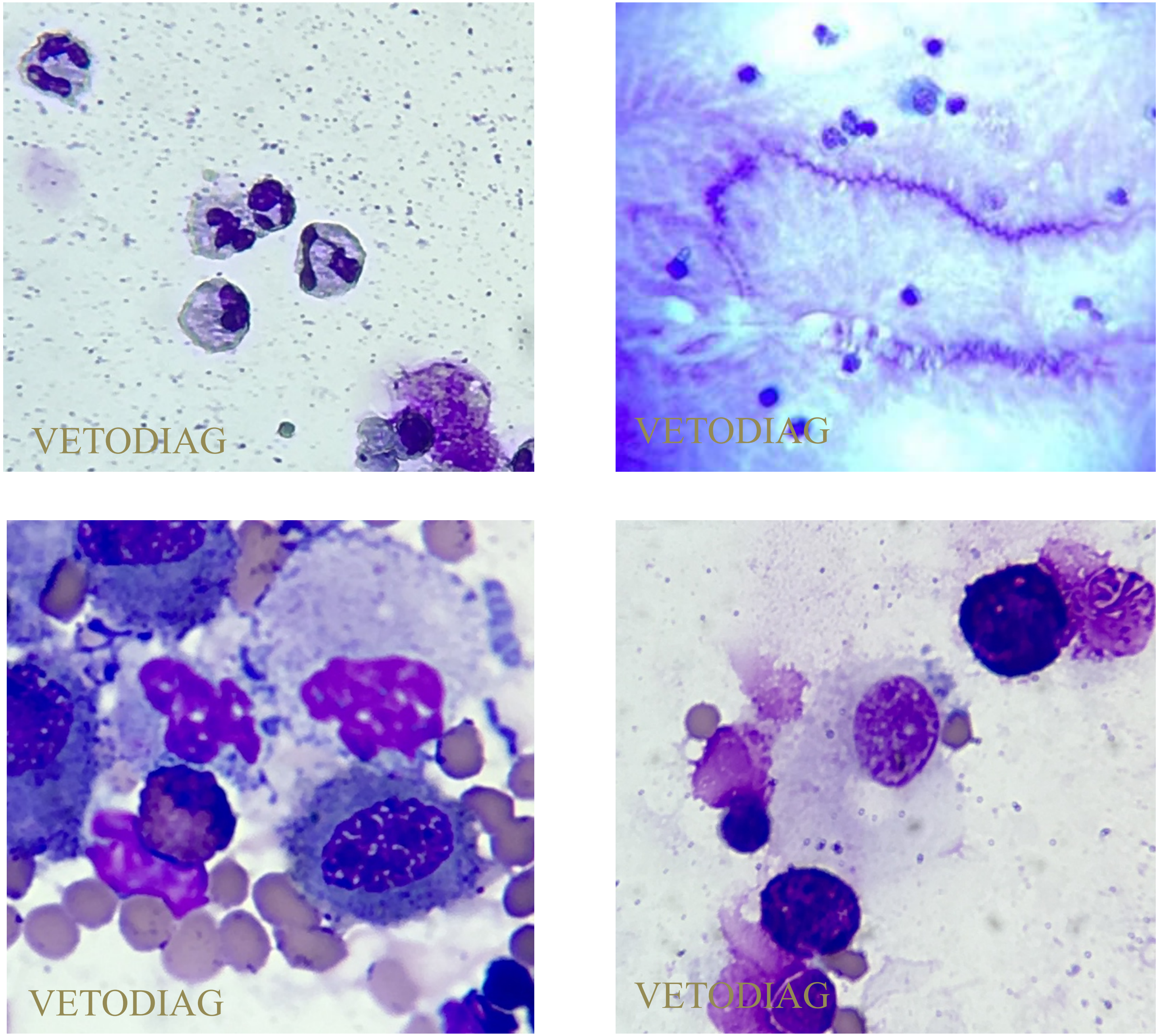
    Influence du volume, du site (poumon D/G), de l'échantillon analysé, du mode de préparation, de l'effort...

    Plus reproductible que cyto LT

    Bonne corrélation cyto LBA - histo

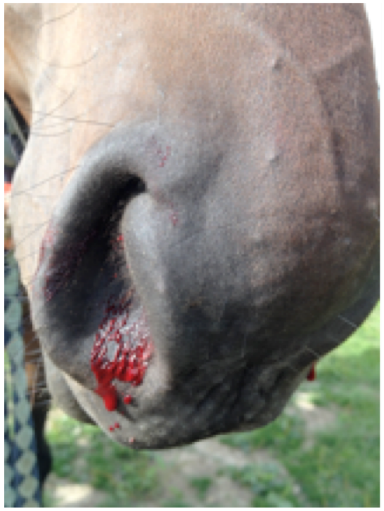
  - Bactériologie ?
  - Virologie ?

Normes (250 mL) :
< 1000 cell/µL
< 5% PNN
< 1% PNE
< 2% Masto

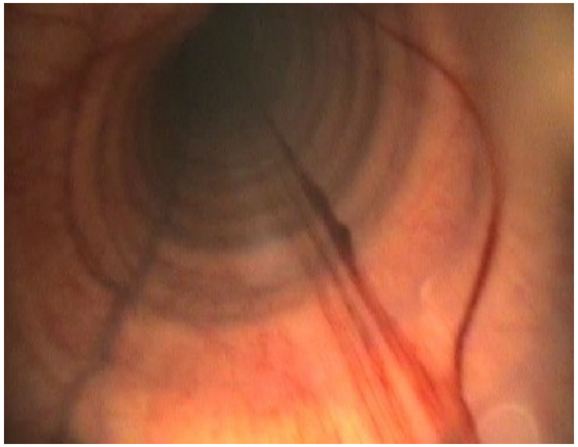


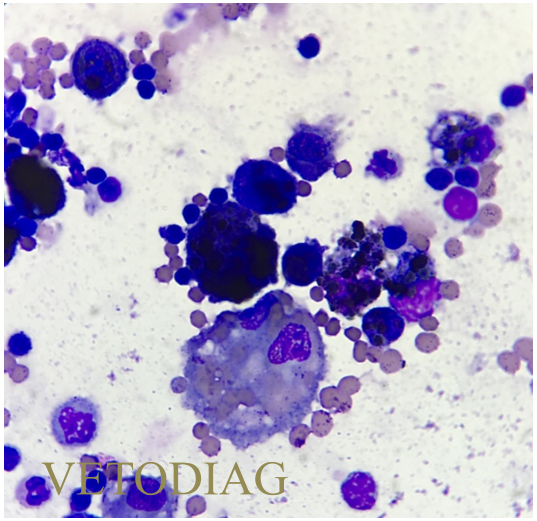
VETODIAG
VETODIAG
VETODIAG
VETODIAG

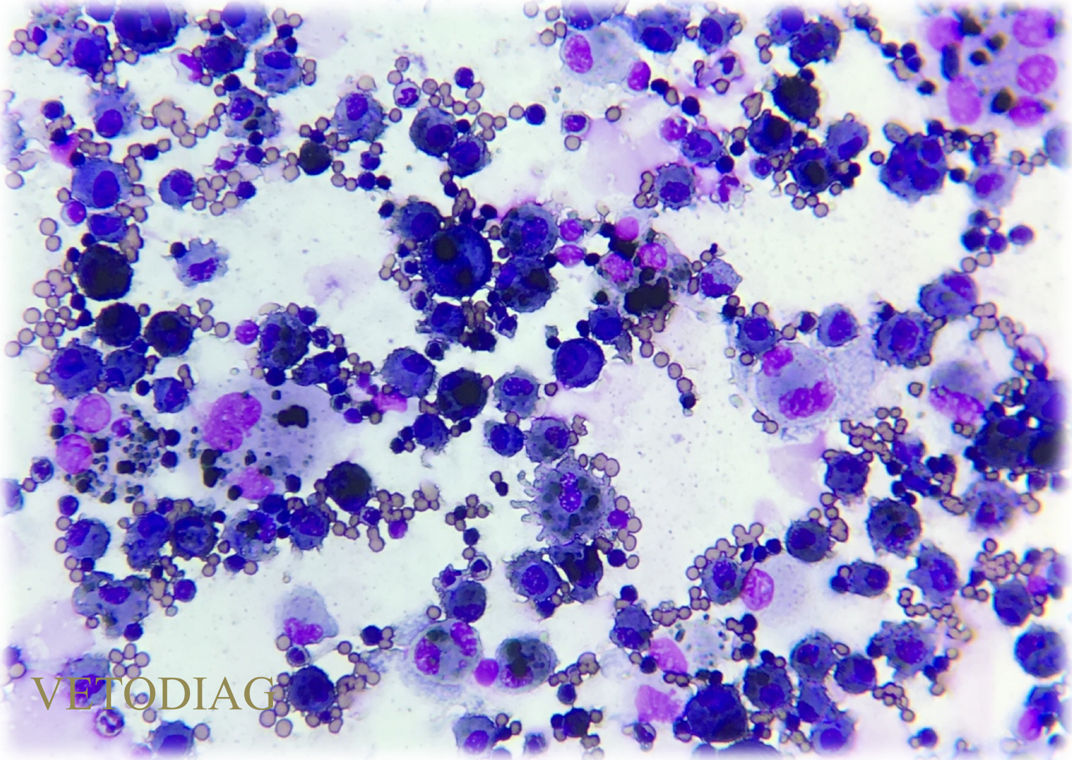
ASTHME ÉQUIN



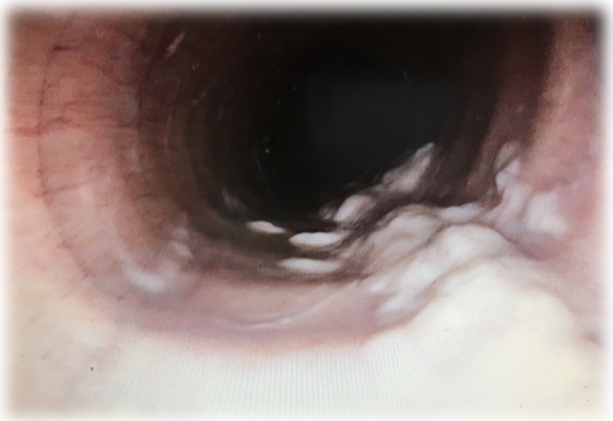
HÉMORRAGIES PULMONAIRES INDUITES PAR L'EXERCICE







LAVAGE TRACHÉAL



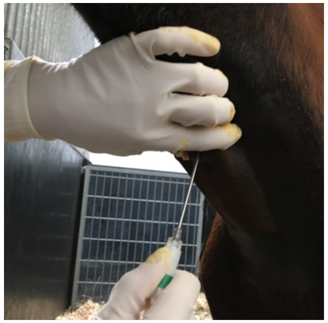
- LT/ATT : instillation 30-100 mL

saline stérile puis aspiration

→ « carrefour » des VRS et VRP

- Indications -> pneumonie, broncho-p., pleuro-p. infectieuses
  - INFECTIOLOGIE : bactériologie, mycologie, PCR
  - Cytologie : à corrélée à l'infectiologie
    - Moins standardisé que LBA
    - Mauvaise corrélation LT-LBA

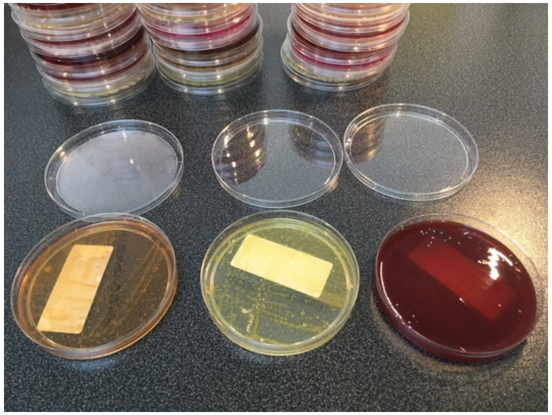
LT : TECHNIQUES



	Aspiration transtrachéale (percutanée)	Lavage trachéal (à l'endoscope)
+	Economique Fiabilité pour la bactériologie Utile pour le poulain	Peu invasif Pas de sédation
-	Invasive Anesthésie locale +/- sédation	Coût (endoscope) Risque de contamination par VRS Difficile chez le poulain

LT : BACTÉRIOLOGIE

- Nombre de colonies
- Dénombrement des bactéries
- Identification



Bactéries réputées pathogènes dans infections pulmonaires	Bactéries probablement contaminantes
Streptococcus equi ss zooepidemicus *Actinobacillus equuli equuli/haemolyticus* *Pasteurella spp* *Escherichia coli* *Klebsiella pneumoniae* *Bordetella bronchiseptica* *Mycoplasma spp*	*Staphycolococcus coag neg* *Streptococcus alpha hémolytique* *Pseudomonas spp (endoscope)* *Bacillus spp* *Proteus spp*

Coloration Wright-Giemsa et cytocentrifugation des liquides réalisées sur Wescor Aerospray

Examen cytologique de lavage trachéal

Apparence du prélèvement :

Trouble et visqueux

Description :

Examen microscopique réalisé sur cytocentrifugation de 100 à 200 µl. Différentiel réalisé sur 200 leucocytes.

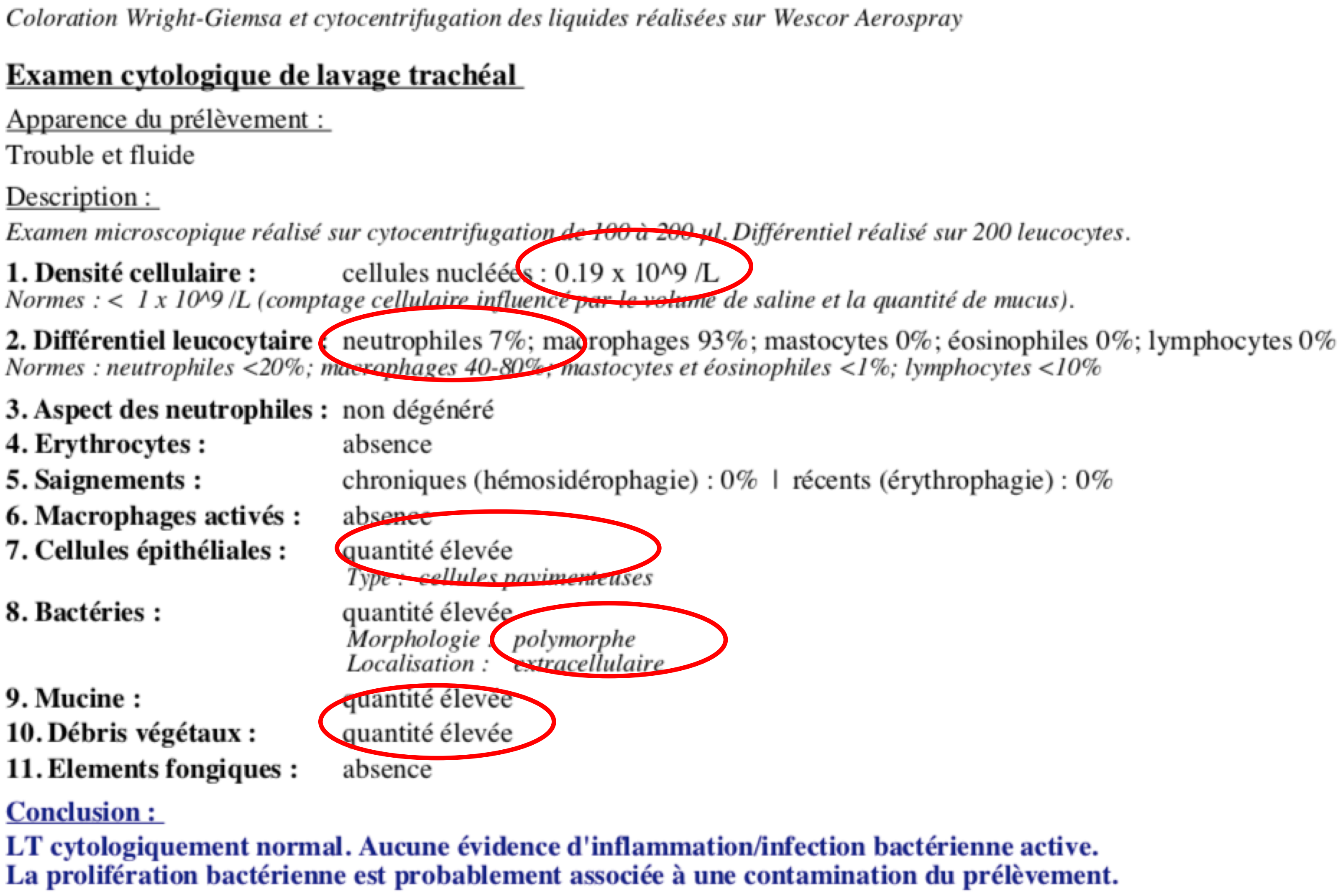
1. Densité cellulaire : cellules nucléées : 11.60 x 10^9 /L
Normes : < 1 x 10^9 /L (comptage cellulaire influencé par le volume de saline et la quantité de mucus).

2. Différentiel leucocytaire : neutrophiles 95%; macrophages 5%; mastocytes 0%; éosinophiles 0%; lymphocytes 0%
Normes : neutrophiles <20%; macrophages 40-80%; mastocytes et éosinophiles <1%; lymphocytes <10%

3. Aspect des neutrophiles : dégénéré
4. Erythrocytes : absence
5. Saignements : chroniques (hémosidérophagie) : 0% | récents (érythrophagie) : 0%
6. Macrophages activés : absence
7. Cellules épithéliales : absence
8. Bactéries : quantité élevée
Morphologie : coques
Localisation : intracellulaire et extracellulaire
9. Mucine : quantité élevée
10. Débris végétaux : quantité faible
11. Elements fongiques : absence

Conclusion :

Inflammation suppurative et septique.



Coloration Wright-Giemsa et cytocentrifugation des liquides réalisées sur Wescor Aerospray

Examen cytologique de lavage trachéal

Apparence du prélèvement :

Trouble et fluide

Description :

Examen microscopique réalisé sur cytocentrifugation de 100 à 200 µl. Différentiel réalisé sur 200 leucocytes.

1. Densité cellulaire : cellules nucléées : 0.19 x 10^9 /L

Normes : < 1 x 10^9 /L (comptage cellulaire influencé par le volume de saline et la quantité de mucus).

2. Différentiel leucocytaire : neutrophiles 7%; macrophages 93%; mastocytes 0%; éosinophiles 0%; lymphocytes 0%

Normes : neutrophiles <20%; macrophages 40-80%; mastocytes et éosinophiles <1%; lymphocytes <10%

3. Aspect des neutrophiles : non dégénéré

4. Erythrocytes : absence

5. Saignements : chroniques (hémosidérophagie) : 0% | récents (érythrophagie) : 0%

6. Macrophages activés : absence

7. Cellules épithéliales : quantité élevée

Type : cellules pavimenteuses

8. Bactéries : quantité élevée

Morphologie : polymorphe

Localisation : extracellulaire

9. Mucine : quantité élevée

10. Débris végétaux : quantité élevée

11. Elements fongiques : absence

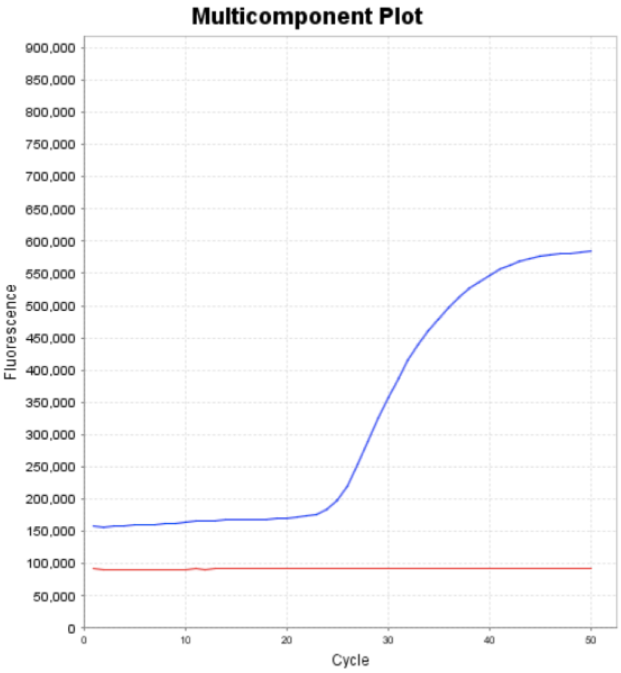
Conclusion :

LT cytologiquement normal. Aucune évidence d'inflammation/infection bactérienne active.
La prolifération bactérienne est probablement associée à une contamination du prélèvement.

LT : PCR

- Pathogènes majeurs
  - **Influenza :** grippe
  - **EHV1, 4 :** rhinopneumonie

  (pbm portage latent asymptomatique)



- Autres :
  - **Mycoplasma**
  - **Rhinovirus (ERAV, ERBV)**
    - Présence même CVX sains
    - Rôle dans exacerbation asthme équin
  - **EHV2, 5**
    - Prévalence élevée, même CVX sains – interprétation délicate
    - Effet immunomodulateur (susceptibilité à autres agents)
    - Lien pneumonie interstitielle – EHV5 ?

SYNTHÈSE SUR LE CHOIX DES PRÉLÈVEMENTS

	ENP	ATT/LT	LBA
Indications	Infection aiguë virale	Affection aiguë / chronique Diffuse / Focale Poulain / Adulte	Affection chronique et subclinique Diffuse Adulte
Technique(s)	Simple	Simple avec endoscope Plus invasive en ATT	Sédation souvent nécessaire Sonde ou via endoscope
Analyses demandées	PCR virus / gourme +/- Bactériologie	Bactériologie Mycologie PCR Cytologie	Cytologie

Merci pour votre attention !
Questions ?

sngtv

SOCIÉTÉ NATIONALE DES
GROUPEMENTS TECHNIQUES
VÉTÉRINAIRES