

Animaux de rente

>> Buiatrie

>> L'AUTEUR

Jeanne BRUGERE-PICOUX

Professeur de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour (ENVA)

La pancytopenie néonatale bovine : une maladie émergente

La pancytopenie néonatale bovine (PNB) est une affection rencontrée chez les jeunes veaux depuis 2 ans, dans différents pays d'Europe. Les premières données sur cette maladie commencent à faire l'objet de publications et ont notamment été présentées lors du dernier Forum buiatrique européen, le 2 décembre, à Marseille. Parmi les causes envisagées figure une infection par un circovirus.

Le 2 décembre dernier, au congrès européen de buiatrie à Marseille, le professeur W. Klee a organisé un symposium satellite sur une maladie apparemment émergente, maintenant officiellement dénommée pancytopenie néonatale bovine (PNB) ou *Bovine neonatal pancytopenia* (BNP)¹, rencontrée chez de jeunes veaux depuis deux ans dans certains pays européens et le plus souvent dans des fermes très bien tenues. Ayant communiqué sur ce syndrome dans *La Dépêche Vétérinaire* du 2 février 2009 et sur un cas observé lors d'une clinique ambulante le 30 novembre dernier dans les Ardennes (*ProMed*, 5 octobre 2009)², nous étions invités pour présenter les cas français à ce symposium réunissant une quarantaine de personnes. Pour cela nous avons contacté nos collègues des autres écoles vétérinaires mais seule la présentation des travaux de Corbière et al., de l'école vétérinaire de Toulouse, lors du symposium a permis de compléter les données très sporadiques que nous avions de cette maladie émergente sur notre territoire³.

Les présentations ont été divisées en 4 sessions (épidémiologie, symptômes, lésions et recherche étiologique) suivies d'une discussion générale destinée à définir une nomenclature et à mettre en place un réseau européen permettant une collaboration permettant la diffusion des connaissances et des recherches sur cette nouvelle maladie.

Définition de la pancytopenie néonatale bovine (PNB)

En l'absence d'une connaissance précise de l'étiologie de cette maladie émergente, les critères cliniques permettant de suspecter cette affection sont les suivants.

Anamnèse

- Maladie observée jusqu'à l'âge de 4 semaines.
- Seul le colostrum semble être un facteur de risque dans l'apparition de cette maladie comme le démontreront les travaux de A. Friedrich et al. à Munich en reproduisant la maladie avec du colostrum (lire plus bas).
- Le rang de vêlage n'a aucune influence, la maladie est rencontrée aussi bien chez les multipares que chez les primipares.
- Il est aussi certain que cette affection a été observée il y a quelques années notamment en Allemagne, en Belgique ou en France mais sous une forme très sporadique. Mais tous les participants reconnaissent que l'on observe actuellement une augmentation du nombre des cas observée en Europe et que celle-ci ne peut être uniquement liée à une sous-estimation. D'autres continents peuvent être touchés puisque trois veaux nord-américains ont été suspectés très récemment de PNB à

la faculté de médecine vétérinaire québécoise de Saint-Hyacinthe⁴.

Symptômes

- Hyperthermie.
- Pétéchies, sueurs de sang.
- Pas de signes de septicémie.
- Fèces hémorragiques.
- Anémie avec pâleur des muqueuses et polypnée.
- Il n'y a généralement pas d'épistaxis ou d'hématurie (un cas d'hématurie et d'hémoglobinurie est signalé en Belgique par L. Théron).
- Durée de la maladie : 2 à 3 jours.
- Cas de morts subites.
- Il est possible qu'il y ait des cas subcliniques provoquant une immunodépression sans évolution vers un syndrome hémorragique mais diminuant les performances des veaux atteints.

Lésions

- Syndrome hémorragique généralisé (pétéchies, suffusions hémorragiques...) associé à une aplasie médullaire.
- Ces lésions concernent la peau, les muqueuses, les muscles, le tube digestif (œsophage, réticulorumen, abomasum, intestin, poumons, trachée, cœur, rate, thymus, encéphale...).

Laboratoire

- Tests négatifs pour le virus de la maladie des muqueuses (PCR négative sur le sang ou la rate).
- Thrombocytopenie < 100 x 10⁹ /l avec un prélèvement traité dans l'heure qui suit (au lieu de 100-800 x 10⁹ /l).
- Leucocytopenie sévère : < 3.0 x 10⁶ WBC/l à 3.5 x 10⁹ /l selon les auteurs (au lieu de 6-9 x 10⁶ /l).



Veau atteint de PNB (clinique ambulante du 30 septembre 2009).

Présentation des cas observés en Europe

Royaume-Uni

En Ecosse, C. Bell (université d'Edimbourg) a analysé 10 cas observés dans un élevage (210 veaux sous la mère). Les veaux atteints étaient nés surtout pendant la première quinzaine de vêlage. Elle a remarqué qu'il pouvait exister une thrombocytopénie avant la prise colostrale chez 6 veaux (entre 2 et 118 x 10⁹/l) sur les 8 animaux prélevés (191 x 10⁹/l et 198 x 10⁹/l pour les deux autres veaux), suggérant ainsi une atteinte *in utero*.

SFE Scholes (DEFRA, Ecosse), étudiant après biopsie la moelle osseuse de 38 veaux atteints de PNB, a observé une déplétion marquée des mégacaryocytes, des cellules myéloïdes et érythroïdes chez 92 % de ces veaux mais aussi la réversibilité de ces lésions avec une régénération de ces cellules chez deux veaux (5 %).

Pays-Bas

A. Smolenaars (services vétérinaires des Pays-Bas) a présenté des cas hollandais observés essentiellement entre juin 2009 et novembre 2009 : 144 veaux touchés à un âge moyen de 2 semaines sur 66 fermes indemnes de maladie des muqueuses dont 34 % certifiées indemnes. Ce syndrome est à différencier du syndrome hémorragique rencontré dans la maladie des muqueuses ayant touché 9 veaux dans 9 fermes (à l'âge moyen de 9 semaines). De nombreuses mères avaient été vaccinées BVD et FCO de février à mai 2009. Bien qu'il n'y ait pas toujours une corrélation entre l'emploi de vaccins et l'apparition ou non du PNB, Anja Smolenaars émet l'hypothèse d'une transmission d'anticorps colostraux dirigés contre les cellules souches et provoquant une aplasie médullaire chez les veaux ingérant ce colostrum.

France

Nous avons présenté un cas de PNB rencontré en septembre dernier lors d'une clinique ambulante chez un veau de race limousine tout en signalant les cas sporadiques signalés dans Vétofocus⁵ ou par des vétérinaires suite à l'article publié dans *La Dépêche Vétérinaire* de début février 2009 signalant ce nouveau syndrome⁶.

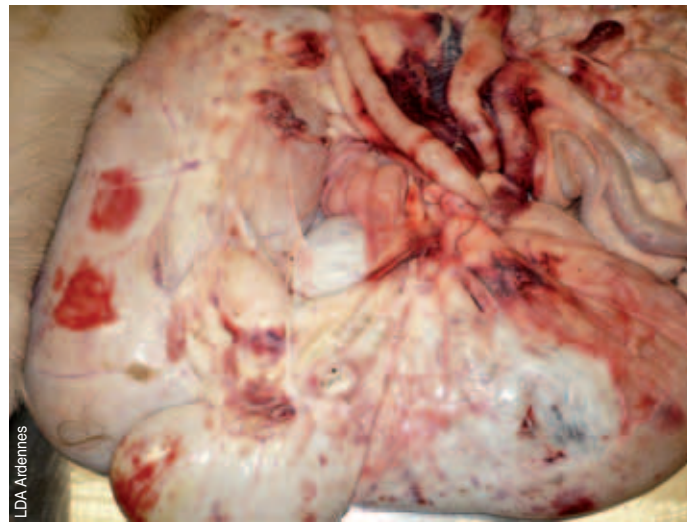
Pour l'observation des Ardennes, c'était alors le 3^e cas observé dans le troupeau. Nous avons demandé des prélèvements pour confirmer l'absence du virus de la maladie des muqueuses et rechercher un éventuel virus (circovirus ?) avec l'aide du laboratoire vétérinaire départemental de Limoges. Les cultures cellulaires sont restées négatives.

Nous sommes revenus en décembre dans cet élevage du fait de l'apparition de nouveaux cas. Un veau mort dans cet élevage à l'âge de 11 jours a présenté les mêmes lésions hémorragiques que celui du 30 septembre. La recherche d'un circovirus porcine PCV2 par PCR quantitative à partir du sang prélevé dans le cœur à l'autopsie s'est révélée négative au laboratoire de développement et d'analyses de Ploufragan (LDA 22).

Nous avons surtout remarqué une différence dans cet élevage entre le troupeau des vaches laitières de race Holstein (au cas de PNB) et celui de vaches limousines où les cas étaient observés (et qui ont reçu les mêmes vaccins). Nous avons conseillé de donner le colostrum des Holstein pour les prochaines naissances de veaux limousins par précaution. Nous avons aussi suggéré de suivre la formule sanguine des veaux limousins nouveau-nés ayant ingéré ou non le colostrum de leur mère toutes les semaines à partir du jour de cette visite.

Le suivi de 5 veaux nés entre le 12 et le 14 décembre 2009 avec 3 prises de sang réalisées à 7 jours d'intervalle dans cet élevage a permis de noter une leucopénie, sans anémie et un taux relativement faible de thrombocytes uniquement le jour de la naissance chez le veau n° 2 et une leucopénie uniquement à l'âge de 3 jours chez le veau n° 1, permettant de suspecter la possibilité d'affections subcliniques dans les troupeaux atteints par la PNB (voir tableaux n° 1, n° 2 et n° 3). A la date du 18 janvier 2010, il n'y a pas eu d'autres cas dans cet élevage mais ceci pourrait être lié au fait que l'éleveur a donné le colostrum des vaches laitières aux veaux limousins.

G. Foucras a présenté les résultats d'une enquête réalisée par l'école vétérinaire de Toulouse sur 57 cas de PNB observés entre



▲ Lésions hémorragiques de l'appareil digestif.

2007 et 2009 dans 32 troupeaux dont un troupeau avec 7 cas. Les études toulousaines pratiquées sur 24 veaux ont permis de noter les résultats suivants :

- leucocytopénie sévère : moyenne (WBC) 1,35 10⁶/l (min : 0,23 ; max = 3,41) (au lieu de 6-9 x10⁶/l) ;
- anémie sévère : avec un taux moyen d'érythrocytes de 3,22 10⁹/l (au lieu de 5 à 10 x 10⁹/l) ;
- thrombocytopénie sévère égale en moyenne à 13,10⁶/l (variant de 2 à 96 x10⁹/l au lieu de 100-800 x 10⁹/l) ;
- quelques cas de survie (10 % dans l'enquête de l'ENVT).

Belgique

Pardon et al. de Ghent ont rapporté 83 veaux atteints de PNB observés entre juin 2008 et septembre 2009 chez des veaux âgés en moyenne de 13 jours. 63 % des fermes ont eu plus d'un cas, le taux de mortalité étant de 91 %. Comme à Berlin, ces auteurs ont noté qu'il existait des affections subcliniques dans les mêmes classes d'âge sans syndrome hémorragique et qui ont guéri spontanément (Les vaches n'ont pas présenté d'altération hématologique). Le plus souvent les veaux avaient reçu le colostrum de leur mère (dans 10 % des cas le colostrum provenait d'un autre troupeau et un seul veau a été atteint après l'administration d'un colostrum de remplacement).

A Liège, L. Théron, dans une présentation la veille au congrès de buiatrie, rapporte une trentaine de cas de PNB concernant 25 fermes en Wallonie.

Italie

A. Gentile et al. (Bologne) ont rapporté des observations personnelles concernant 16 fermes dont l'une ayant eu 15 cas sur 130 vêlages. On y retrouve 3 veaux malades ayant reçu le colostrum de la même vache. Un traitement est proposé : gammaglobulines bovines (3 x 300 mg) par la voie intramusculaire sur 4 veaux dont trois ont survécu (guérison en une semaine à 2 mois). Pour notre collègue italien il est possible que la maladie soit sous-estimée.

Allemagne

A. Friedrich, de la faculté vétérinaire de Munich, a rapporté 342 cas de PNB confirmés dans 215 fermes bavaroises dont 41 veaux hospitalisés à Munich en soulignant que le syndrome est observé plus souvent dans certaines fermes. Une autre présentation du même auteur a démontré combien la clinique de la PNB pouvait rappeler celle de la forme hémorragique de la maladie des muqueuses (avec thrombocytopénie, leucocytopénie mais sans aplasie médullaire).

A l'université de Berlin, K. Mueller a souligné qu'il s'agissait d'un problème émergent en augmentation. Contrairement au cas que nous avons signalé dans les Ardennes, il n'est pas noté de PNB chez les veaux sous la mère. Notre collègue berlinoise a cité l'exemple d'une ferme de 600 vaches ayant eu des cas de PNB depuis 2007 (3 pendant l'été 2007 puis 15 cas de juillet à décembre 2008

avec de nouveaux cas en juillet 2009). Des prélèvements sanguins ont été réalisés sur des veaux nouveau-nés et leur mère de juillet à septembre 2009. Sur les 62 veaux étudiés, 3 ont développé une PNB mais plusieurs ont présenté une affection subclinique réversible pendant leur première semaine de vie (seules deux mères ont présenté également des altérations hématologiques en même temps que leurs veaux).

A Hanovre, M. Kaske a aussi observé des PNB au Nord-Est de l'Allemagne en soulignant que certaines fermes atteintes n'avaient pas été vaccinées contre la maladie des muqueuses.

A Leipzig, H. Müller et al. ont recensé 65 veaux atteints de PNB (à l'âge de 7 à 32 jours mais surtout à 2 et 3 semaines d'âge) dont 25 firent l'objet d'une recherche virologique avec 5 résultats positifs pour un circovirus (lire plus bas).

Autres pays européens

Il ne semble pas que la maladie existe au Danemark ni en Suisse ou au Portugal alors que la PNB a été observée en Autriche. L'Irlande et l'Espagne ont signalé respectivement 2 et 3 cas. Nous avons vu aussi précédemment que cette affection a été aussi suspectée récemment chez 3 veaux québécois.

Origine de la maladie

Les causes reconnues pour des troubles hémorragiques chez les bovins ont été recherchées et exclues pour la majorité d'entre elles.

- Cause génétique ?

Aucune cause génétique n'a pu être retenue et cette maladie est rencontrée chez les mâles comme chez les femelles

- Origine toxique ?

Il n'a pas été possible de reconnaître une origine toxique dans la PNB, qu'il s'agisse de mycotoxines (tricothécènes notamment), de rodenticides, de glands, de la fougère grand aigle, des anticoagulants ou d'autres produits (trichloroéthylène, furazolidone, chloramphénicol, arsenic...).

- Problème d'origine immunitaire ?

La coïncidence avec l'apparition de la fièvre catarrhale ovine dans les pays touchés est troublante mais il peut s'agir d'une coïncidence. En effet l'augmentation du nombre des cas apparaît avec la mise en place des vaccinations contre cette maladie.

Pour d'autres un vaccin inactivé contre la maladie des muqueuses a été suspecté du fait qu'il a été souvent administré chez les mères des veaux à PNB mais ceci peut représenter un biais du fait de l'emploi très fréquent de ce vaccin. Mais il faut remarquer que la PNB est aussi rencontrée en l'absence de cette vaccination. L'hypothèse d'une réaction immunitaire liée à l'administration du colostrum, suggérée par plusieurs auteurs, est contredite par l'équipe écossaise qui a observé une thrombocytopénie avant la prise colostrale, suggérant ainsi une atteinte *in utero*.

- Origine infectieuse ? S'agit-il d'une circovirose ?

Aucune bactérie n'a été isolée de façon spécifique dans la PNB et la recherche de nombreux virus s'est avérée négative pour de nombreuses affections : maladie des muqueuses (BVD), fièvre catarrhale ovine, leucémie bovine....

Cependant la recherche d'un circovirus s'est révélée positive à la faculté vétérinaire de Leipzig et vient d'être publiée⁷. Cette recherche virale ne s'est révélée positive que pour 5/25 veaux malades, ceci par l'examen en PCR de la moelle osseuse, du foie, du sang et des reins. Le virus retrouvé a été dénommé PCV2-Ha08 et présente 98 % d'homologie avec le circovirus porcin PCV2b.

Pour l'un des veaux il a été aussi possible de mettre en évidence l'antigène viral du PCV2 par immunohistochimie sur la moelle osseuse. Selon les auteurs, la difficulté de retrouver l'antigène viral peut s'expliquer par l'importante aplasie médullaire (un veau témoin s'est révélé aussi positif pour ce diagnostic en immunohistochimie avec l'antigène du circovirus mais ceci peut être aussi observé dans la circovirose porcine).

Il s'agit du premier isolement d'un circovirus en Allemagne et il faut noter que les méthodes de diagnostic de routine du circovirus porcin ne permettent pas de confirmer la présence de ce cir-

Lésions hémorragiques sur le cœur et les poumons.



Lésions hémorragiques des reins.



Pétéchies sur le foie.

covirus dans la PNB : les résultats ont été négatifs pour les cinq sérums bovins testés positifs envoyés dans un autre laboratoire travaillant en routine sur le PCV-2 avec une PCR spécifique.

Ces résultats ne permettent que de suspecter la présence d'un circovirus bovin mais il reste à démontrer le rôle éventuel de ce virus dans l'étiologie de la PNB qui pourrait nécessiter plusieurs co-facteurs pour que le syndrome hémorragique soit observé.

Bien que restant à démontrer, le circovirus est une hypothèse plausible si l'on considère en pathologie comparée les circoviroses aviaires ou porcine. En effet l'anémie infectieuse du poulet ressemble fort à la PNB. Dans le syndrome dermatite néphrite associé au circovirus PCV-2, identifié pour la première fois chez des porcs au

RU en 1993, on peut observer des lésions cutanées de type hémorragiques avec une hyperthermie et que l'on rattache à une sévère vascularite nécrosante (les ganglions lymphatiques et les reins sont également affectés). Il pourrait s'agir d'une réaction d'hypersensibilité de type III. D'autres agents pathogènes (*Pasteurella multocida*) pourraient agir en synergie lors de ce syndrome.

Pourtant les circovirus n'avaient pas été impliqués dans les maladies bovines en dehors d'une publication canadienne signalant celle d'un virus proche du circovirus porcin PCV2⁸. Mais des études ultérieures n'ont pas permis de confirmer un rôle éventuel des circovirus en pathologie bovine⁹. Mais il ne faut pas oublier la complexité des circoviroses porcines malgré les progrès importants notés ces 12 dernières années dans les connaissances sur ce sujet et sur les nouvelles souches¹⁰. Des recherches complémentaires sont nécessaires pour comprendre la pathogénie de la PNB et le rôle potentiel du PCV2 dans cette affection.

Parallèlement, D. Schumann et al, du laboratoire de Compton (RU) ont étudié le sang prélevé chez 3 des 6 veaux inoculés en Bavière ayant présenté le syndrome hémorragique (veaux 2, 3 et 4) :

- toutes les sous-populations de leucocytes sont présentes, sans différence avec les veaux normaux, en dehors d'une sévère granulocytopenie chez les veaux malades juste avant la mort ;
- une recherche de virus sur ces sérums a surtout permis de noter un signal fort pour le circovirus aviaire.

Cependant d'autres recherches virologiques, pratiquées par l'Institut de Moredun (K. Willoughby et al.) en collaboration avec le laboratoire de Weybridge (D. Everest et al.) au Royaume-Uni, n'ont pas permis pour l'instant de mettre en évidence un virus, notamment des circovirus (des résultats sont attendus pour d'autres recherches virales en cours).

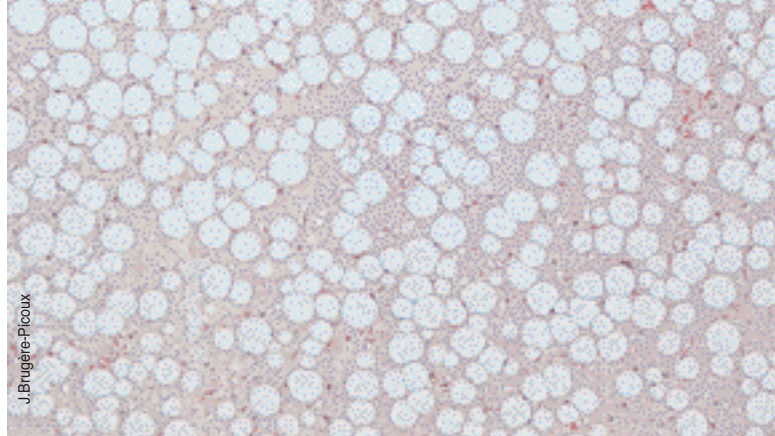
Reproduction expérimentale de la PNB

La présentation d'A. Friedrich a été particulièrement passionnante. En effet l'équipe de Munich a réussi à reproduire expérimentalement la PNB en administrant le colostrum de vaches ayant eu des veaux malades à 6 veaux nouveau-nés (soit 2 à 3 litres de colostrum par veau). Des prélèvements sanguins ont été réalisés chez ces veaux 1, 2, 3, 4, 6, 9, 12 et 24 heures (puis tous les jours) après l'ingestion de ce colostrum.

Alors que les valeurs sanguines ont été observées avant la prise du colostrum chez les 6 veaux, une diminution du taux des thrombocytes et des leucocytes a été notée dans les trois heures suivant l'ingestion du colostrum chez cinq veaux. Chez l'un des veaux le nombre des plaquettes est resté très bas et le cinquième jour les hémorragies sont apparues (l'animal a été euthanasié le 8^e jour). Au total 3 veaux ont présenté les symptômes et lésions classiques de la PNB.

Cette recherche est particulièrement importante pour l'industrie du colostrum puisque nous avons vu aussi précédemment que des veaux avaient pu être malades après l'administration d'un colostrum qui n'était pas celui de leur mère. Il reste maintenant à démontrer si l'origine de cette PNB est infectieuse. Des essais de reproduction expérimentale de la maladie par transfusion sanguine ou par ingestion d'organes susceptibles d'être infectés pourraient représenter une prochaine étape infirmant ou confirmant une telle hypothèse. ■

Coupe histologique de la moelle osseuse : aplasie médullaire.



⁸ GP Nayar et al. Evidence for circovirus in cattle with respiratory disease and from aborted bovine fetuses. *Can Vet J*, 1999, 40: 277-278.

⁹ GM Allan et al. Absence of evidence for porcine circovirus type 2 in cattle and humans, and lack of seroconversion or lesions in experimentally infected sheep. *Arch Virol*, 2000, 145: 853-857.

JA Ellis et al. Lack of antibodies to porcine circovirus type 2 virus in beef and dairy cattle and horses in western Canada. *Can Vet J*, 2001, 42, 461-464.

¹⁰ S Ramamoorthy, X-J Meng. Porcine circoviruses: a minuscule yet mammoth paradox. *Animal Health Research Reviews* (2009), 10, 1-20.

Remerciements

Nous remercions les personnes nous ayant permis de réaliser cette synthèse et nous ayant aidé pour notre observation dans les Ardennes :

- le professeur W. Klee de Munich pour nous avoir invités au symposium du 2 décembre sur ce sujet à Marseille et tous les participants à ce symposium, en particulier A. Friedrich ;
- le docteur G. Motte de la clinique de la Chesne (Ardennes) qui nous accueille dans le cadre de la clinique ambulante de l'ENV d'Alfort et qui a suivi ce cas ;
- monsieur P. Dehaye, éleveur, qui a accepté de nous recevoir pour l'étude des veaux atteints de PNB ;
- le laboratoire départemental d'Analyses des Ardennes, pour les autopsies, les examens et les photos réalisées sur les veaux à PNB (en particulier le Dr D.Alexandre) ;
- le laboratoire départemental d'analyses de la Haute-Vienne (C.Y. Couquet, A. Fremont, C. Dufaure, A.M. Demars, M.J. Cornuejols) pour les examens de laboratoire, en particulier les recherches virologiques ;
- le laboratoire d'histologie de l'ENVA (et plus particulièrement le Dr Vét. Florence Bémex, maître de conférences) pour la réalisation et la lecture des coupes histologiques ;
- le laboratoire départemental d'analyses des Côtes d'Armor pour la recherche du circovirus porcin ;
- L. Mascaron (Pfizer) pour le financement des analyses au titre de la recherche concernant cette maladie émergente.

Tableau n° 1 : Résultats de la numération des thrombocytes (x109/l) chez les 5 veaux étudiés (valeurs normales : 100-800 x109/l) (prélèvements réalisés les 14/12/09, 22/12/09 et 29/12/09)

| Veau n° 1 (âge : 72 h) | Veau n° 2 (âge : 8 h) | Veau n° 3 (âge : 72 h) | Veau n° 4 (âge : 4 h) | Veau n° 5 (âge : 96 h) |
|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|
| 458 | 219 | 628 | 273 | 512 |
| 784 | 339 | 556 | 787 | 497 |
| 866 | 704 | 594 | 851 | 954 |

Tableau n° 2 : Résultats de la numération des leucocytes (x106/l) chez les 5 veaux étudiés (valeurs normales : 6-9 x106 /l) (prélèvements réalisés les 14/12/09, 22/12/09 et 29/12/09)

| Veau n° 1 (âge : 72 h) | Veau n° 2 (âge : 8 h) | Veau n° 3 (âge : 72 h) | Veau n° 4 (âge : 4 h) | Veau n° 5 (âge : 96 h) |
|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|
| 3,68 | 2,57 | 10,23 | 10,08 | 19,72 |
| 10,19 | 3,18 | 4,57 | 8,09 | 16,19 |
| 6,53 | 4,18 | 10,12 | 9,77 | 7,31 |

Tableau n° 3 : Résultats de la numération des hématies (x109/l) chez les 5 veaux étudiés (valeurs normales : 5 à 10 x109/l) (prélèvements réalisés les 14/12/09, 22/12/09 et 29/12/09)

| Veau n° 1 (âge : 72 h) | Veau n° 2 (âge : 8 h) | Veau n° 3 (âge : 72 h) | Veau n° 4 (âge : 4 h) | Veau n° 5 (âge : 96 h) |
|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|
| 7,24 | 7,06 | 9,23 | 8,74 | 10,09 |
| 8,97 | 7,75 | 7,33 | 8,43 | 9,19 |
| 7,33 | 8,67 | 9,52 | 9,18 | 8,67 |