

Ehrlichiose

Un diagnostic après une suspicion de lymphome

L'objectif de cet article est d'exposer la démarche clinique ayant permis d'infirmer l'hypothèse initiale du motif de consultation (lymphome à grains) pour une hypothèse infectieuse (ehrlichiose), de présenter le diagnostic différentiel de la plasmocytose (nœuds lymphatiques, rate, moelle osseuse) et de rappeler que l'ehrlichiose peut engendrer une vasculite.



Une chienne Galgo stérilisée, adoptée en Espagne et âgée de 6 ans, est référée en consultation de cancérologie à la clinique Alliance pour la gestion d'une ascite fluctuante et évoluant depuis deux mois. Un examen cytologique de cet épanchement demandé par le vétérinaire référant, a émis une suspicion de lymphome à grains.

Examen clinique

La chienne est maigre et présente de rares lésions cutanées croûteuses de nature inconnue et une hypertrophie des nœuds lymphatiques préscapulaires.

Le signe du flot est négatif le jour de la consultation. Le reste de l'examen clinique est normal.

Hypothèses cliniques et examens complémentaires

Les deux hypothèses principales retenues sont le lymphome (motif de consultation en référé) mais surtout la leishmaniose en raison de l'origine espagnole, de l'état clinique, de l'hypertrophie ganglionnaire et des lésions cutanées notées lors de l'examen clinique. En conséquence, les examens complémentaires choisis et énumérés ci-dessous, ont pour but d'explorer ces deux hypothèses :

- Un dosage des protéines totales et de l'albumine
- Un hémogramme avec un frottis sanguin
- Un RPCU (Ratio Protéines / Créatinine urinaires)
- Une cytoponction des nœuds lymphatiques préscapulaires hypertrophiés en vue d'une analyse cytologique
- Une échographie abdominale avec cytoponction du foie et de la rate étant donné le contexte de cas référé pour lymphome probablement d'origine abdominale
- Une électrophorèse des protéines sériques

Résultats des examens complémentaires

Biochimie sanguine

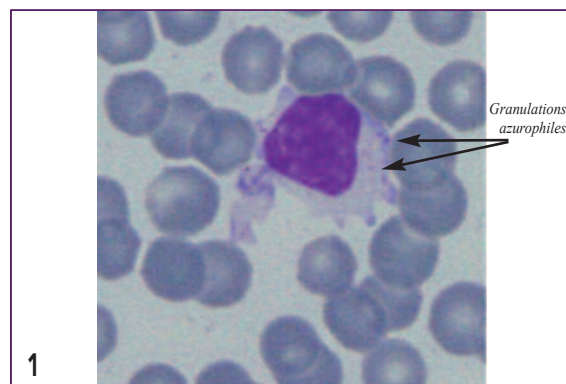
Les protéines totales sont augmentées (98 g/l) et le rapport Albumine /Globulines diminué (0,5).

L'hémogramme

Les valeurs chiffrées de la numération formule montrent uniquement une thrombopénie avec 91000 / μ l (VU : 148-484). Un frottis sanguin est nécessaire afin de confirmer celle-ci. La formule sanguine se répartit selon les proportions suivantes (avec 6380 GB / μ l selon l'automate) :

42 % de granulocytes neutrophiles (GNN), 6 % de granulocytes éosinophiles (GNE), 47 % de lymphocytes et 5 % de monocytes.

L'examen du frottis montre à faible grossissement de nombreux rouleaux d'hématies sur l'ensemble de la lame, compatible avec l'hyperprotidémie. La formule sanguine montre une proportion anormalement augmentée des lymphocytes (47 % vs 20 % en moyenne), avec une majorité de lymphocytes à grains (photo 1). Le nombre de plaquettes par champ est faible, ce qui confirme la thrombopénie, et les quelques plaquettes présentes sont de grande taille (synonymes de jeunes plaquettes).



Frottis sanguin (x1000).

Le RPCU

Le rapport est inférieur à 1, il n'objective donc pas de fuite rénale significative de protéines.

L'examen cytologique des nœuds lymphatiques préscapulaires

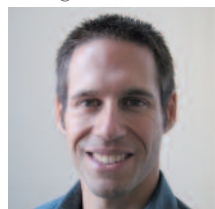
Les prélèvements se caractérisent par la présence d'une population lymphoïde hétérogène à dominante de petites et moyennes cellules lymphoïdes. Une augmentation marquée du contingent des cellules à différenciation plasmocytaire est visible. L'analyse cytologique ne met pas en évidence de lymphome, mais est compatible avec un nœud lymphatique réactionnel secondaire à une hyperplasie plasmocytaire.

L'échographie abdominale et examen cytologique de la rate

L'examen échographique met en évidence la présence d'un très faible volume d'épanchement abdominal. Le foie et la



Delphine Rivière
Docteur vétérinaire,
Laboratoire CVet,
Cytologie-Hématologie
31170 Tournefeuille
contact@e-vet.fr



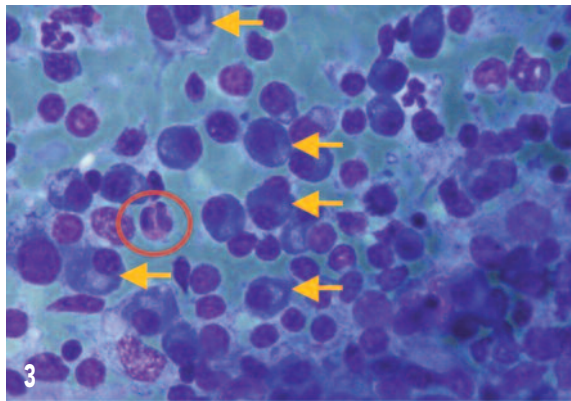
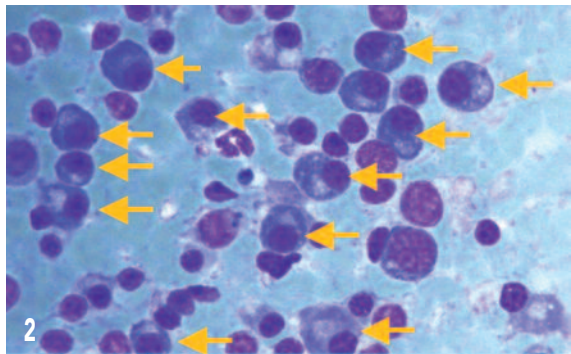
Yannick Bongrand
Docteur vétérinaire,
Diplômé du Collège Américain
en Médecine Interne
Clinique Alliance
33300 Bordeaux



Didier Lanore
Docteur vétérinaire
Exercice exclusif
de la cancérologie
Membre ESVONC, GEO
Clinique vétérinaire
de la Rivière
1, rue Pierre Loti
31830 PLAISANCE
DU TOUCH
Clinique vétérinaire Alliance
8, Bd Godard
33300 BORDEAUX

rate présentent une hypertrophie modérée, l'aspect des parenchymes n'est pas modifié. Les nœuds lymphatiques iliaques profonds et lombo-aortiques ne sont pas visibles.

À l'examen cytologique, le parenchyme splénique est très cellulaire, avec une pulpe blanche composée d'une population lymphoïde hétérogène et une forte proportion de lymphocytes à grains. Une augmentation des contingents plasmocytaire et éosinophilique est présente et très marquée (photos 2 et 3). Par ailleurs, une population importante de cellules érythroïdes matures, érythroblastes acidophiles et polychromatophiles, est également présente, compatible avec une érythropoïèse extramédullaire. L'ensemble des examens n'apporte pas de confirmation de lymphome.



Rate (x1000). GNE : ○ Plasmocytes : ←

	Valeur	Variation	VU Chien
Protéines sériques (g/l)	96	▲	60-75
Albumine	26,6	▶	22-35
Albumine/globulines	0,38	▼	0,5-1,2
α1	2,9	▼	5-8
α 2	5,3	▶	5-10
β 1	3,6	▼	5-11
β 2	8,0	▲	3-7
γ	49,5	▲	5-18

Les résultats chiffrés révèlent une augmentation des protéines sériques, une diminution du rapport Albumine/Globulines secondaire à une augmentation des γ globulines. L'anomalie morphologique principale se traduit par un bloc polyclonal en γ, évoquant un syndrome inflammatoire chronique. Le diagnostic différentiel que l'on peut établir sur un tel tracé comprend essentiellement les hypothèses de maladies infectieuses (leishmaniose, ehrlichiose), de maladies à médiation immune ou d'un processus tumoral (lymphome, myélome multiple).

Synthèse des signes cliniques et résultats des examens complémentaires

Clinique	Biologie	Hématologie / Cytologie
1- Amaigrissement	1- Pas de protéinurie	1- Thrombopénie
2- Adénomégalie préscapulaire	2- Dysprotidémie (hyperglobulinémie)	2- Lymphocytose à lymphocytes à grains
3- Splénomégalie sans modification échographique du parenchyme		3- Hyperplasie plasmocytaire ganglionnaire et splénique. Non confirmation de l'hypothèse initiale de lymphome.
4- Ascite fluctuante		

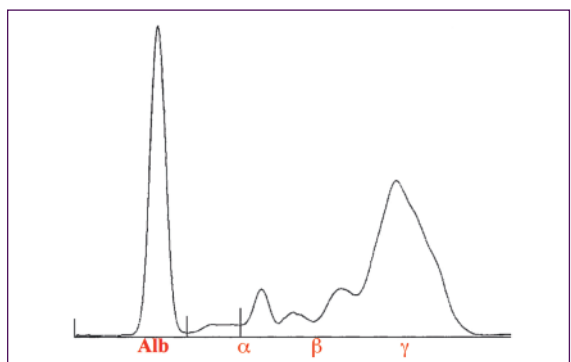
Examens diagnostiques

L'hypothèse initiale de lymphome n'a pas été confirmée. En revanche, une hypothèse infectieuse, en particulier une leishmaniose, est fortement suspectée, en raison du contexte épidémio-clinique et des résultats des examens complémentaires. De plus, compte-tenu de la plasmocytose systémique mise en évidence, un myélome multiple doit également être considéré.

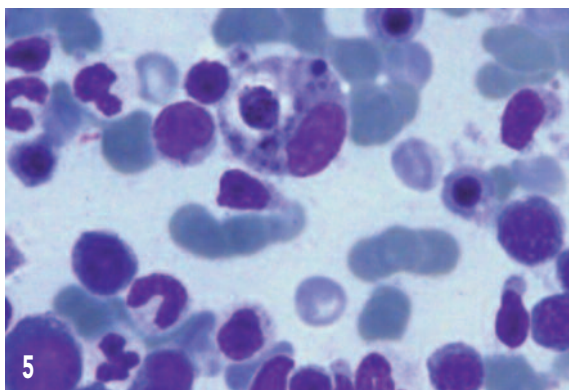
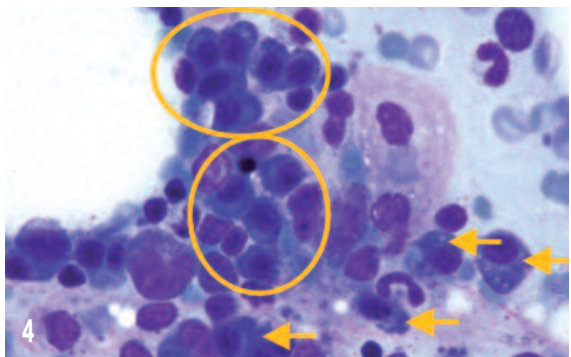
En conséquence, un myélogramme est réalisé et des analyses PCR Leishmaniose, Ehrlichiose et Babesiose sont demandées au laboratoire Scanelis sur un mélange de sang, ponction de rate et moelle osseuse.

En parallèle, l'examen cytologique de la moelle osseuse est réalisé. Le tissu présente une cellularité élevée. La numération réalisée sur 600 cellules montre une tendance à l'hypoplasie myéloïde, en particulier des stades matures (GNN et Band cell). La production reste cependant ordonnée et sans anomalies morphologiques notables. De nombreuses figures mitotiques sont présentes, ainsi que de nombreux nids de plasmocytes (photo 4), mais leur proportion (< 4 %) exclut l'hypothèse de myélome multiple.

Le protidogramme



Le profil montre une gammopathie polyclonale.



Moelle (x1000). ← ○ : plasmocytes

De très rares éléments pouvant évoquer des morula sont remarqués dans le cytoplasme de macrophages (Photo 5).

La PCR est positive pour la recherche *Ehrlichia/Anaplasma* et le typage met en évidence *Ehrlichia canis*. La charge est faible. Les autres résultats PCR sont négatifs.

Évolution

Une semaine plus tard, la chienne ne montre pas d'amélioration clinique évidente malgré la mise en place d'un traitement spécifique à la doxycycline.

Deux semaines plus tard, elle est présentée en mauvais état général avec une tachypnée. Une radiographie thoracique est réalisée et met en évidence un épanchement pleural. Celui-ci est confirmé par échographie, et une échocardiographie montre également la présence concomitante d'un épanchement péricardique.

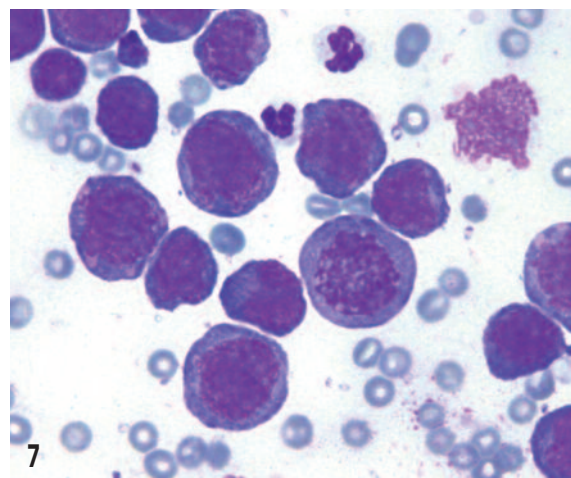
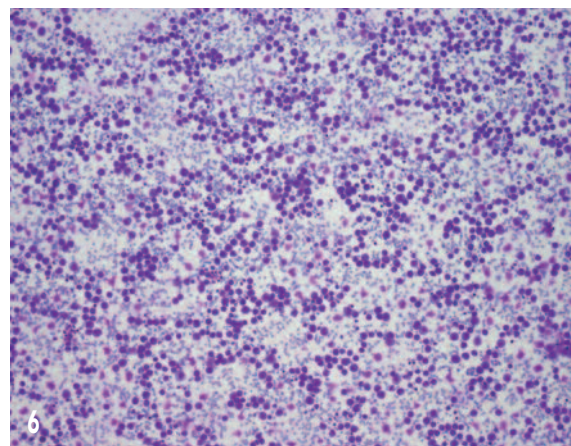
Les deux épanchements sont ponctionnés en vue d'un examen cytologique.

L'épanchement péricardique présente un aspect macroscopique hémorragique, tandis que l'épanchement pleural est séro-hémorragique. Un étalement direct et un étalement du culot de centrifugation sont réalisés. L'aspect cytologique est semblable pour les deux épanchements, avec une hémomodilution plus importante sur l'épanchement péricardique.

L'examen montre une cellularité très élevée caractérisée par une population homogène de cellules rondes, à fort RNP présentant un index mitotique élevé et évoquant des cellules lymphoïdes blastiques (photos 6 et 7).

De manière très inattendue, l'examen cytologique est en faveur d'un lymphome de haut grade, mais n'ayant rien à voir avec l'hypothèse initiale de lymphomes à grains. Le lymphome se caractérise par de grandes cellules (4 à 8 hématies), à noyau très irrégulier et cytoplasmes hyperbasophiles et un index mitotique très élevé. Les caractères morphologiques sont en faveur d'un immunophénotype B, mais cela n'a pas été confirmé par une autre méthode.

Un cas de lymphome B a été décrit chez un chien séropositif en *Ehrlichia canis* et également *Histoplasma* positif sur le myélogramme. Une des hypothèses évoquées pour expliquer le mécanisme, est que l'inflammation chronique induite par l'ehrlichiose, engendrerait une production accrue de plasmocytes susceptible de favoriser la prolifération d'un clone de cellules, à l'origine d'un lymphome B (Bunker et al. 2007).



Ep. pleural (x 100 : photo 6 - x 1 000 : photo 7). Population homogène de cellules rondes, de grande taille à RNP élevé, à noyau très irrégulier et chromatine grossièrement réticulée, contenant des nucléoles multiples et proéminents.

Les propriétaires n'ont pas souhaité entreprendre de chimiothérapie et la chienne n'a ensuite plus été revue en consultation.

Discussion

Examens d'orientation

1. L'hémogramme : lymphocytose et lymphocytes à grains
L'ehrlichiose canine est une maladie infectieuse vectorielle causée par des rickettsies intracellulaires des genres *Ehrlichia/Anaplasma* dont la cible est les différents groupes des cellules sanguines. *Ehrlichia canis*, vise particulièrement les monocytes. Les troubles hématologiques sont très fréquents avec thrombopénie, anémie, et/ou neutropénie. Une lymphocytose est fréquemment observée. Par ailleurs, la population de lymphocytes circulants semble présenter un immunophénotype particulier. Deux publications montrent une diminution significative du rapport CD4/CD8 chez les chiens confirmés *Ehrlichia* positifs par rapport à une population de chiens sains (Lorente et al., 2008 et Villaescusa et al., 2012). Cette modification du rapport serait secondaire à une augmentation des lymphocytes T cytotoxiques (CD8+) et une diminution des lymphocytes T helper (CD4+).

Pour notre cas, une lymphocytose avait bien été observée sur le frottis sanguin avec une majorité de lymphocytes à grains. Or ceux-ci correspondent généralement à des lymphocytes T cytotoxiques. Un immunophénotypage aurait été intéressant afin de confirmer l'hypothèse d'un ratio diminué.

2. L'ensemble des examens cytologiques : plasmocytose systémique

L'examen cytologique des nœuds lymphatiques a mis en évidence une hyperplasie plasmocytaire majeure. Celle-ci se définit par une population lymphocytaire prédominante (plus de 50 % de petits lymphocytes, moins de 25 % de moyens et grands lymphocytes) et des plasmocytes représentant plus de 5 % de la population nodale. La présence de plasmocytes s'explique par une activation polyclonale et la prolifération de lymphocytes B. Une étude sur l'ehrlichiose de 2011 (Mylonakis et al.) montre qu'une modification du pattern cytologique est présente chez 65% des chiens *Ehrlichia* positifs, avec préférentiellement une hyperplasie plasmocytaire.

Lors d'hyperplasie plasmocytaire importante, le myélome multiple doit faire partie du diagnostic différentiel.

3. L'électrophorèse des protéines : hypergammaglobulinémie

Cette dernière remarque fait directement écho à ce que l'on peut observer sur un profil électrophorétique. En effet, l'ehrlichiose est une des seules maladies infectieuses pouvant engendrer un pic monoclonal, et donc dans ce cas, faire partie du diagnostic différentiel du myélome multiple et d'un lymphome sécrétant. Cet examen de laboratoire est très intéressant afin de mettre en évidence une dysprotidémie parfois non apparente sur les seuls résultats biochimiques.

Diagnostic de certitude

• La PCR quantitative

La PCR est une méthode d'analyse génétique qui permet de détecter la présence du génome d'un agent pathogène, dans différents prélèvements biologiques. De plus, la PCR en temps réel présente l'avantage de pouvoir quantifier la charge en parasites par rapport à la PCR classique, particulièrement intéressant, entre autre, dans le suivi thérapeutique.

Le test *Ehrlichia/Anaplasma* Scanelis permet la détection et la discrimination entre les pathogènes suivants : *Ehrlichia canis* et *Anaplasma phagocytophylum/platys/marginale*.

• Ascite et vasculite

Pour conclure cet article, il est intéressant de s'interroger sur l'origine d'un des premiers signes cliniques apparus chez ce chien, à savoir, l'épanchement abdominal. Les caractéristiques biochimiques et cytologiques ont classé d'emblée ce liquide, comme un exsudat : cellularité élevée de nature inflammatoire et densité > 1,030. L'origine probable de cet exsudat est secondaire à une altération de la barrière vasculaire. Des vasculites sont rapportées dans des maladies infectieuses, comme les rickettsioses, la leishmaniose, les babésioses et l'ehrlichiose. Le mécanisme reste encore mal connu, mais une composante à médiation immune (dépôt d'immuns complexes) est évoquée. ■

Bibliographie

- 1- Pick N, Potasman I, Strenger C et al. Ehrlichiosis associated vasculitis. *Journal of internal medicine* 2000; 247: 674-678.
- 2- Lorente C, Sainz A, Tesouro MA. Immunophenotype of dogs with subclinical ehrlichiosis. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1149: 114-114.
- 3- Villaescusa A, Tesouro MA, Garcia-Sancho M et al. Evaluation of peripheral blood lymphocyte subsets in family-owned dogs naturally infected by Ehrlichia canis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2012; 35: 391-396.
- 4- Mylonakis ME, Borjesson DL, Leontides VI et al. Cytologic patterns of lymphadenopathy in canine monocytic ehrlichiosis. *Vet Clin Path* 2011; 40: 78-83.
- 5- Bunker JD, Hoover JP. B-cell lymphoma in a dog with ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*) and systemic histoplasmosis (*Histoplasma capsulatum*). *Can Vet J* 2007; 48:292-295.