



■ THÉRIOGÉNOLOGIE DES ANIMAUX DE PRODUCTION ■

Project IgG identification in BNP dams

Dr. Theron
Pr. Rollin
Pr. Hanzen
Pr. Desmecht

What we know so far?

- BNP is a very specific diagnosis :
 - Day 0-30
 - Hemorrhages (external, but also internal...)
 - Panleucopenia (if alive)
 - Medullar aplasia (dead or alive)
 - BVD Ag negative
 - DIVC excluded

- Theron et al., Pardon et al., Schelcher et al. Etc...

Émergences et zoonoses : endosser notre rôle



La pancytopenie néonatale : un nouveau syndrome

Maladies émergentes du veau
 par Laurent...
 Nathalie...
 Emeline...
 Gaëlle...
 Frédéric...
 et Christian...

Le syndrome de pancytopenie néonatale est baptisé et défini sur le plan épidémiologique, mais l'aplasie médullaire reste à éclaircir.

Depuis le début des années 2000, plusieurs épidémies de cas de syndrome hémorragique ont été décrites chez le veau nouveau-né, sans qu'une cause précise ne soit identifiée [1, 2].

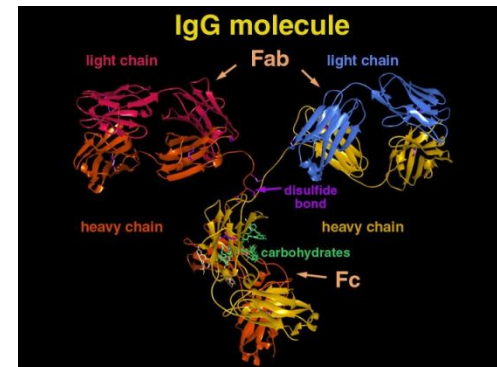
Historique et pathologie comparée

La première observation connue à titre de veau a été leur engagement pour le prélevement de la diarrhée virale bovine (BVDV), agent suspect responsable d'une thrombocytopénie pouvant entraîner des symptômes de purpura thrombocytopénique.

- Syndromes hémorragiques latrogènes et infectieux**
Historiquement, différentes causes de diarrhée hémorragique ont été rapportées chez le jeune veau et les effets thrombocytopéniques de la dengue expérimentale ont été décrits [17]. Au cours des années 1970, un syndrome hémorragique chez le veau avait pour origine la présence de anticorps maternels d'alloantigène, et fut décrit [18]. La hémolyse provoquait une épaisse médullaire visible à l'examen d'une ponction percutanée. La diarrhée suivante a vu l'apparition d'une nouvelle forme de syndrome hémorragique, dont la cause suspectée a été produite de substances animales immatures au développement, et administrées par voie intraveineuse. Cependant, l'absence de causalité de reproduction in vitro d'un effet cytopathogène sur la moelle osseuse a conduit à l'abandon de ce diagnostic [19]. Les années 1980 virent l'émergence d'une viremie nouvelle ou médullaire bovine, la parvovirus de la BVDV (bovine viral diarrhoea) [2]. Chez le veau, les symptômes passèrent le plus souvent imperçus, mais présentèrent parfois une forme hémorragique que l'on désigne en Europe due à la souche de type 1 du
- Immunité et diathèse hémorragique**
Déjà en 1976, une équipe avait démontré l'absence de syndrome hémorragique chez le jeune veau, dû à une incompatibilité fœto-maternelle [3]. En effet, l'induction d'une réponse auto-immune aux hématies du père chez la mère provoquait une pancytopenie post-natale, indiquant une diathèse hémorragique de susceptibilité variable qui peut entraîner la mort par une congestion et non seulement des hémorragies, au niveau et en dehors de l'utérus dans les tissus pulmonaires. La sévérité est dose-dépendante de la quantité d'anticorps dirigés par la mère sur le fœtus du système des hématies immatures. Un phénomène similaire est observé en 1973 en Australie chez de jeunes veaux à la suite de la vaccination de leur mère contre *Babesia orientalis* avant la gestation ou dans le premier mois de gestation [7]. La cytopathologie clinique est alors dominée par des hématies hémorragiques dues à la toxicité des IgM et IgG. Stephens a décrit en 2001 un cas de thrombocytopénie néonatale qui pourrait être liée à la vaccination post-natale antituberculeuse de la mère [10]. Une équipe canadienne a fait la description d'un cas de diarrhée hémorragique chez un veau, caractérisé par [21]. Caractéristiques cliniques sont ce qui est le plus d'anticorps dirigés contre les hématies du père d'origine castrée et transfusées [10]. À l'instar de ces données, une thrombocytopénie auto-immune a été décrite également au Japon chez une vache non japonaise [21].
- Syndrome observé chez d'autres espèces**
Ce phénomène est également observé chez l'âne domestique. En effet, le nouveau-né est également sujet à des syndromes hémorragiques thrombocytopéniques [11, 16, 21, 22, 23]. Pour la plupart, ils sont idiopathiques, bien qu'ils soient parfois la conséquence d'une incompatibilité mère-fœtus. Ils sont

Possible etiology

- Presence of a specific IgG in the colostrum
- Epidemiology :
 - No Significant difference :
 - Sex ratio
 - Specific breed
 - Parity
 - Significant factors:
 - Calf age cluster
 - Previous case on the dam
 - Presence of **BVD vaccination**



Possible etiology

- Presence of a specific IgG in the colostrum
- Immunological findings
 - PBMC are IgG recognized by dam sera
 - **Pardon et al, Bridger et al., Bastian et al.**
 - Cell lines used for Pregsure preparation are reactive to alloantigens
 - A role of the Pregsure adjuvant is sought



Bovine Neonatal Pancytopenia: Is this alloimmune syndrome caused by vaccine-induced alloreactive antibodies?

Max Bastian^{a,*}, Mark Holsteg^{b,1}, Heidrun Hanke-Robinson^a, Karin Duchow^a, Klaus Cussler^a

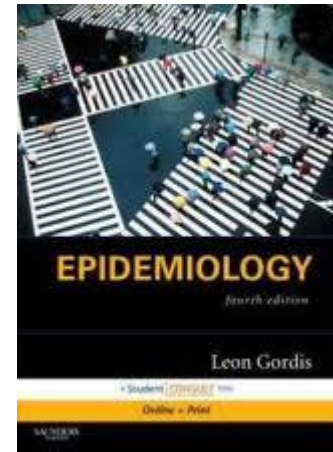
^a Paul-Ehrlich-Institut, Paul-Ehrlich-Strasse 51-59, D-63225 Langen, Germany

^b Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Referat 34 Tiergesundheit, Siebengebirgs Strasse 200, D-53229 Bonn, Germany

- **... What about non Pregsure cases...**

Epidemiological findings about BVD vaccination

- Most studies report 90-100% Prevalence vaccinated dams
- Our case log :
 - 22-24% of non Pregnant, non BVD calves
 - Last case : Muccobovin true BNP, no cells countable in Cell-dyn...



Project

1. Cases recruiting

a) Dams sampling

b) Positive dams serum isolation for inoculation

c) Epidemiological database

2. Biological test

SEARCHING FOR A SPECIFIC PROTEIN RELATED TO BOVINE NEONATAL PANUCYTOPENIA

Bovine neonatal pancytopenia (BNP) has been the emerging subject in cattle pathology lately. Many study groups in Western Europe have been involved in research on that issue. Since some groups have undertaken the presence of BVD vaccination with Progensa in dams of affected calves, there's a need for an explanation of the link between these 2 events.

In our case less 20% of the dams aren't vaccinated, so we focused on finding some Progensa negative cases. We built a national questionnaire in 3 languages for Belgium, and we took that as a change to help the practitioners to comply with BVD on the questionnaires, going from the visit in the farm and ICM (P.A.T. Euzé) for the questionnaire.

Members of the collaborative research network

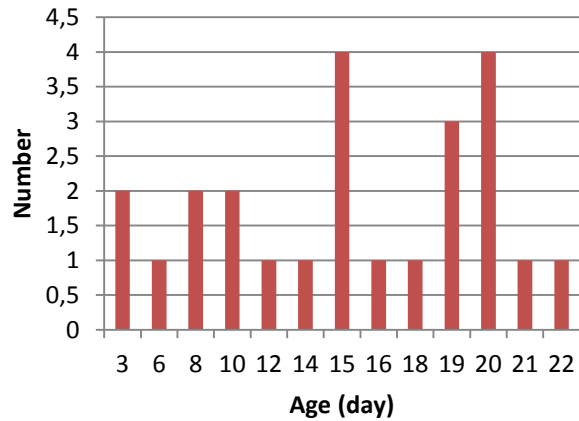
- Clinical department for production animals, University veterinary clinic, Veterinary faculty Ulg
 - Dr. S. Tardieu
 - Pr. F. Estlin
 - Pr. Ch. Maesens
- Regional association for food animal health and identification (ARISA)
 - Dr. M. Adams
- Department of Microbiology and Pathology, Veterinary Faculty Ulg
 - Dr. D. Casart
 - Pr. B. Demonts
- Interdisciplinary group for applied protozoists, GISA group and Science faculty Ulg
 - Dr. M. A. Moreels
 - Dr. C. Maizels
 - Pr. B. De Pauw

Case recruiting

- 50 cases, 28 in Wallonia
 - Currently, unifying 3 databases (ARSIA, Pathology)
 - Complete examination revealed other BNP-like syndromes like DIVC
- 10 mothers were able to be recruited
(alive, colostrum given, calf confirmed)
 - focused on non Pregsure dams, which colostrum had been given to the calf

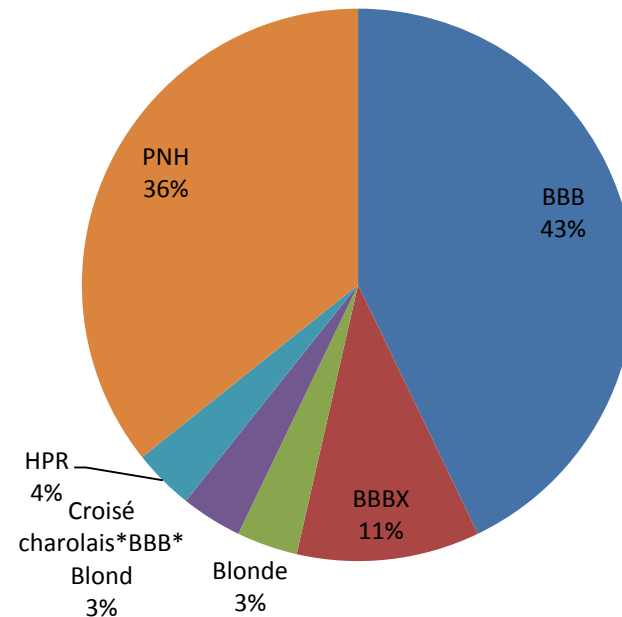
Age, Sex and Breed

Age (N=28; Mean = 14,5)



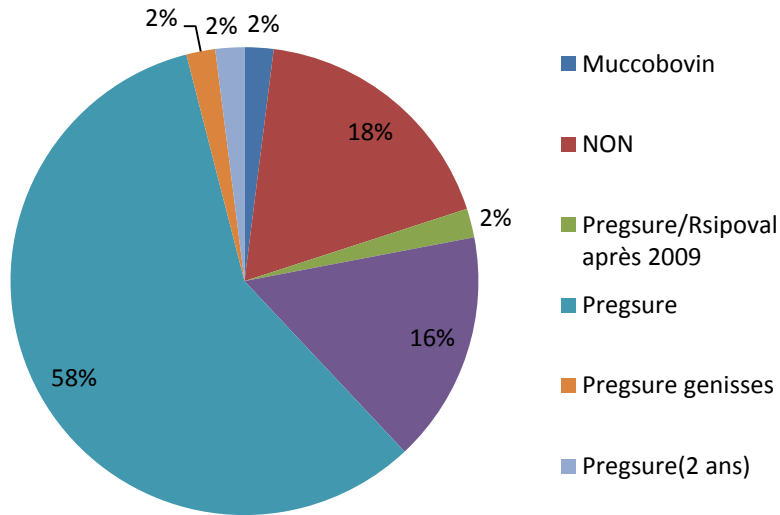
All	F	M	Total général	
Total		29	21	50
Wallonia	F	M	Total général	
Total		16	12	28

Breed

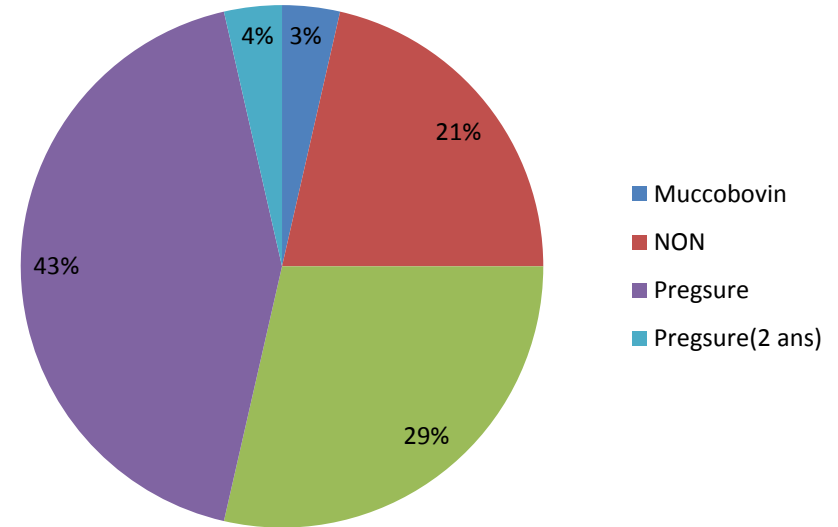


Vaccination and Colostrum status

BVD Vaccination of Liege caselog (n=50)



BVD Vaccination of Walloon Cases (n=28)

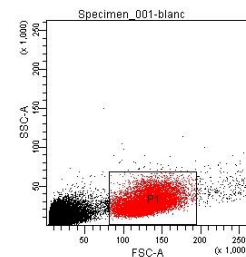
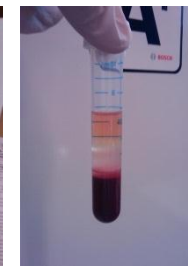
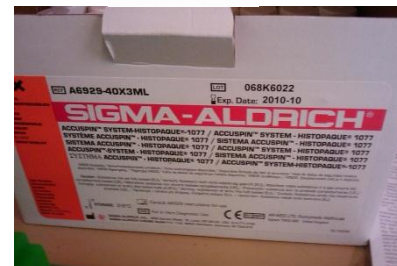


Wallonia	Mother colostrum					
	Other	Marloie (Bank)	NO	YES	To be checked	Total
BVD vaccine						
Muccobovin				1		1
NON				6		6
Pregsure	1	1	2	6	2	12
Pregsure(2 ans)				1		1
To be checked					8	8

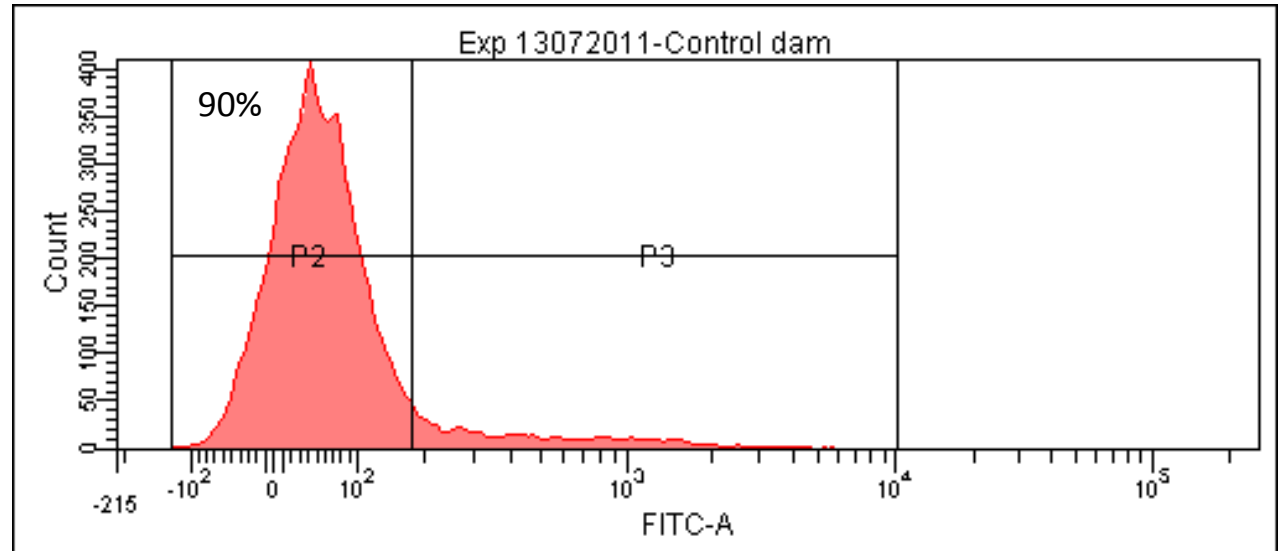
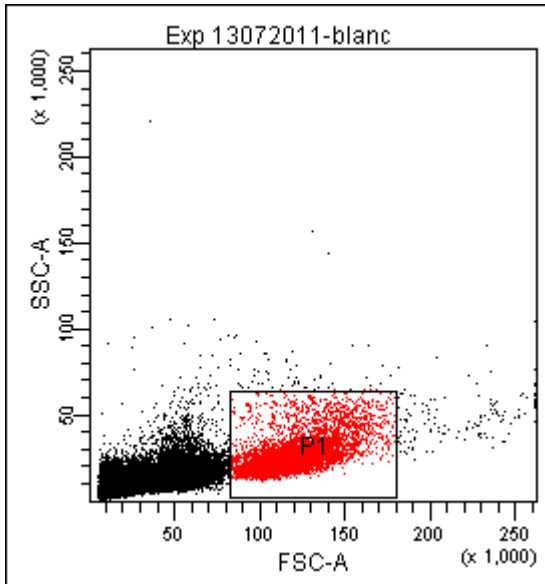


Dam serum analysis

- Recruit of 10 dams
 - 3 control negative BVD Ac
 - 7 BNP-dams
 - 3 Pregsure +
 - 4 Non-Pregsure
- Inoculation on Calf Lymphocytes isolated
 - Use of Sheep anti IgG-FITC
 - Comparison with Rabitt FITC
 - FACS



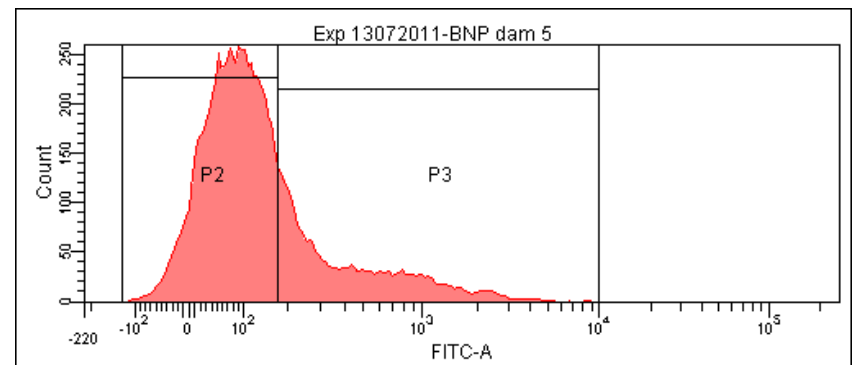
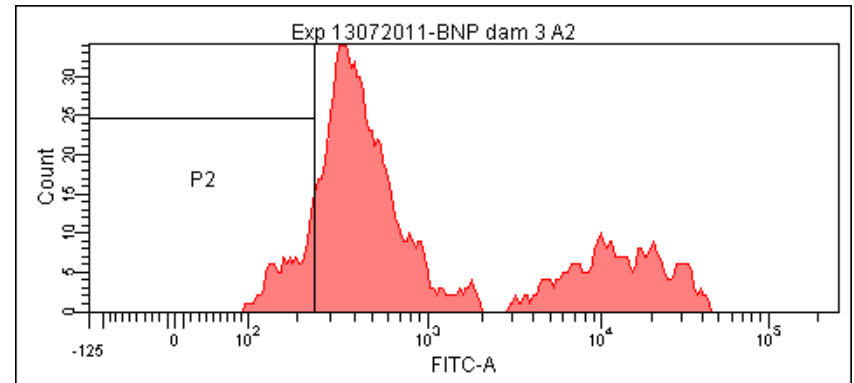
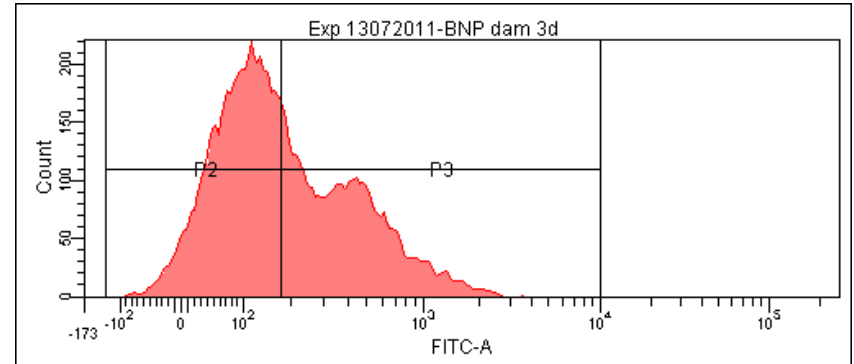
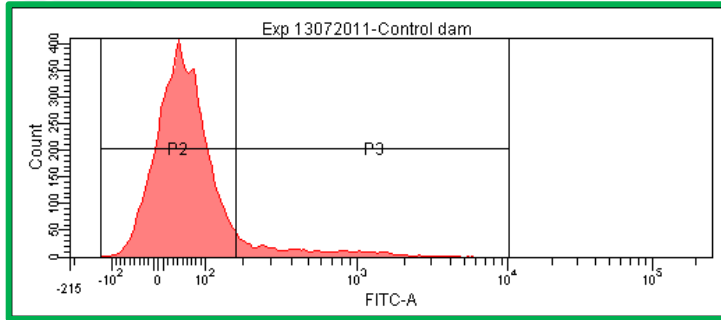
Preliminary results



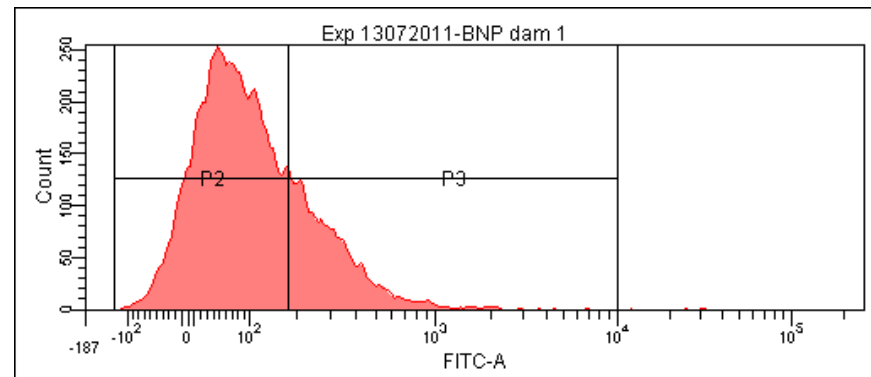
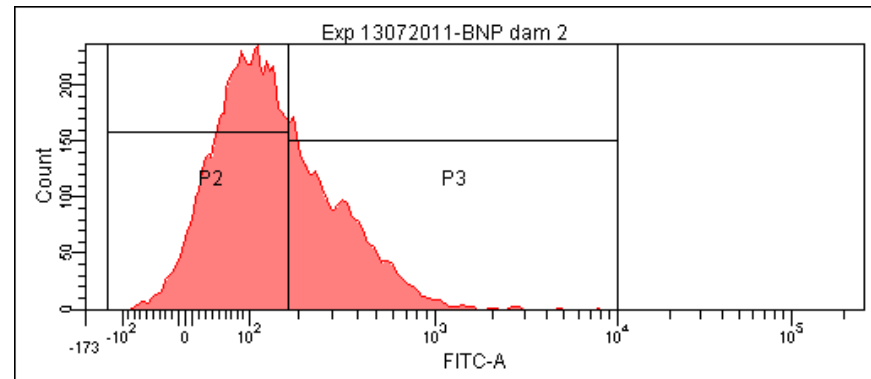
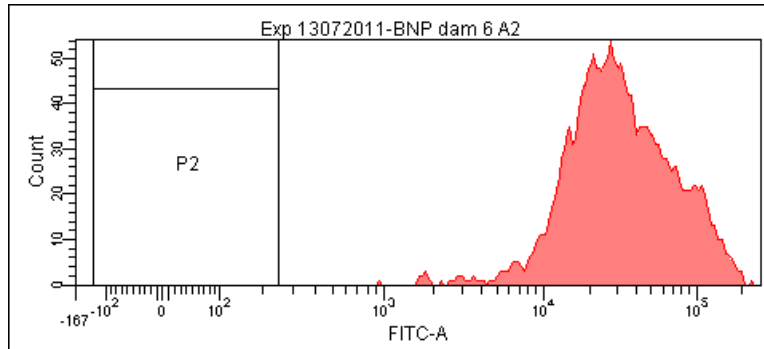
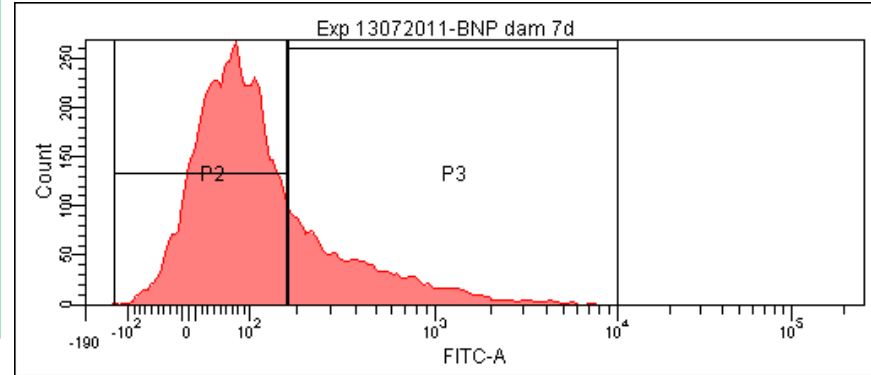
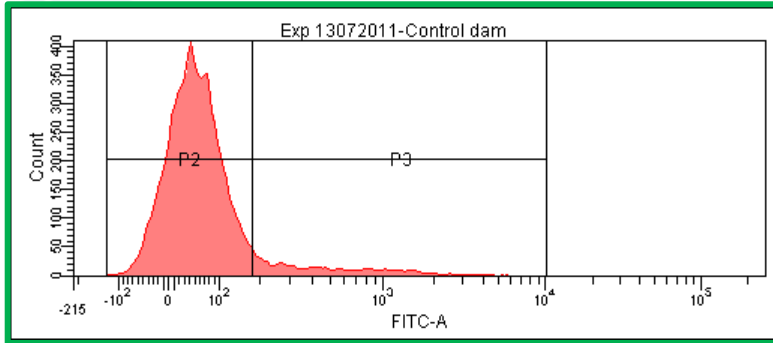
Experiment Name: BNP-dams 1
 Specimen Name: Exp 13072011
 Tube Name: Control dam
 Record Date: Jul 13, 2011 3:15:54 PM
 \$OP: Extérieur
 GUID: a6fe295c-e6b6-4c34-af15-e48c1ff1eba9

			FSC-A	SSC-A	FITC-A	FITC-A	FITC-A	FITC-A	FITC-A
Population	#Even...	%Par...	Mean	Mean	Median	Geom...	Mean	CV	SD
■ All Events	344,2...	####	15,418	6,743	5	####	17 4,756.3		810
■ P1	10,000	2.9	107.7...	20,296	53	####	1591,757.6		2,787
☒ P2	9,020	90.2	106.8...	19,392	46	####	48	105.3	50
☒ P3	973	9.7	116,2...	28,635	427	497	730	119.2	870

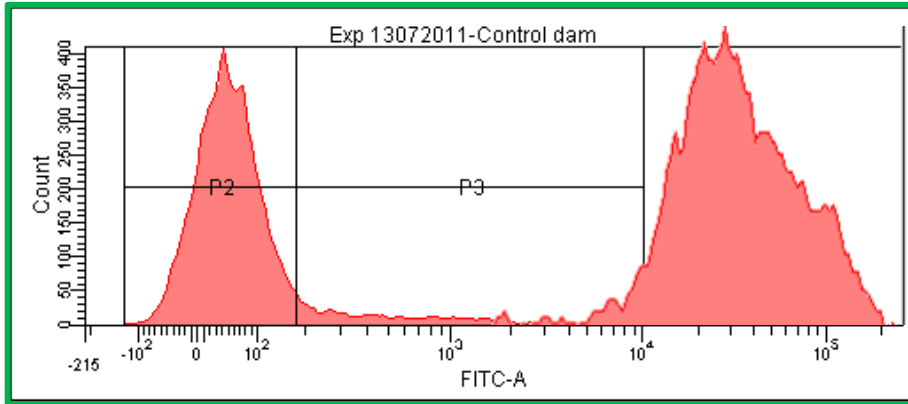
Pregsure dams



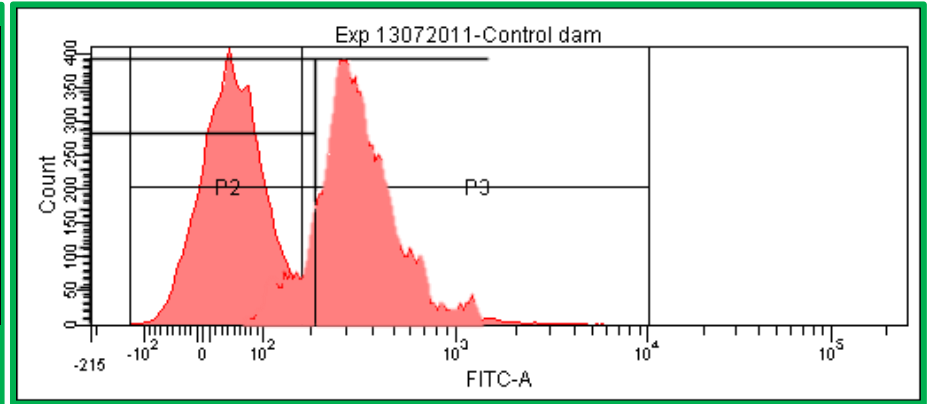
Non pressure Dams



Extremes



Non Pregnant cow, Vaccinated with Muccobovin© (Merial)

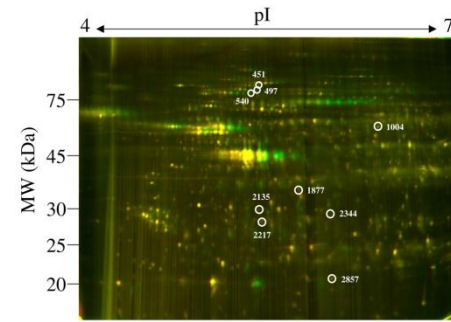


Pregnant cow, had 2 BNP Calves

Discussion

- Is truly Pregsure the problem?
 - There's a tendancy in litterature showing that most Pregsure+ BNP-dams had alloantibodies
 - Other animals have the same tendancy
 - few sera tested
- Other issues :
 - Tested each of the 4 calves bought for the in vivo experiment
 - Answer changing...

Conclusion



- Recruitment bias?
 - 10% of calves die in 0-30 day interval...



- 'I admire above all your enlightened modesty. The more you know, the less you affirm. You do not resemble those physicians who put themselves in God's place and create a world with words. Through your experience, you have opened a new field ; you have rendered society true service : that is the right physik.'

Voltaire