

# L'ÉLECTROPHORÈSE DES PROTÉINES SÉRIQUES EN PATHOLOGIE DU FURET (*MUSTELA PUTORIUS FURO*)

## SERUM PROTEIN ELECTROPHORESIS IN FERRET DISEASES (*MUSTELA PUTORIUS FURO*)

Par Didier BOUSSARIE<sup>(1)</sup>  
(communication présentée le 22 février 2007)

### RÉSUMÉ

Après un rappel des principes de base de l'électrophorèse, nous présentons les valeurs physiologiques des concentrations des protéines sériques chez le furet, les variations observées lors de certaines affections et leur interprétation. Le principal intérêt de cet examen réside dans le diagnostic de la maladie aléoutienne.

**Mots-clés :** furet, biologie, prélèvement sanguin, électrophorèse, maladie aléoutienne.

### SUMMARY

Following a basic reminder on electrophoresis, we present the physiological values of serum protein concentrations in ferrets, as well as the variations observed in reported clinical diseases and their interpretation. This test is mostly used for the diagnosis of Aleutian disease.

**Key words:** ferret, biology, blood sample, electrophoresis, Aleutian disease.

### INTRODUCTION

Le furet est aujourd'hui un animal de compagnie à part entière, de plus en plus souvent présenté à la consultation du praticien. Sa pathologie reste cependant assez mal connue dans des domaines tels que la cardiologie, l'hépatologie, la gastro-entérologie, la nutrition ou celui des maladies infectieuses. On ne dispose pas de marqueurs biologiques spécifiques fiables pour des affections pourtant couramment rencontrées ou suspectées, telles que la maladie aléoutienne (ADV), l'entérite catarrhale épidémiologique, le lymphome. L'électrophorèse des protéines sériques a été peu utilisée chez le furet et on manque d'informations précises. Il nous a semblé intéressant d'utiliser cette technique comme examen complémentaire, pour orienter ou confirmer le diagnostic dans diverses situations pathologiques. Notre étude porte sur une centaine de cas personnels.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

#### Techniques de prélèvements de sang chez le furet

La qualité du prélèvement est déterminante pour la fiabilité du résultat, dans la mesure où le sang de furet a rapidement tendance à l'hémolyse et à l'agrégation plaquettaire.

Un bon entraînement du praticien et une bonne contention de l'animal sont nécessaires. Le prélèvement de sang peut être réalisé chez le furet vigile, du moins chez les sujets choqués ou affaiblis, mais il est préférable de recourir à une anesthésie "flash" gazeuse au masque.

Les principaux sites de prélèvement sont :

- *la veine jugulaire.* Le furet doit être couché latéralement (ou sur le dos), la tête maintenue en extension et la région cervicale rasée et désinfectée (le propriétaire doit être prévenu que les poils peuvent mettre des mois à repousser). La ponction se fait avec une aiguille de 20 ou 25 G, montée sur une seringue de un ou 2,5 ml, en exerçant une compression à la base du cou. La veine jugulaire est parfois difficile à localiser chez les sujets obèses ou chez les mâles en période hivernale (la peau est très épaisse et la couche adipeuse sous-cutanée est importante).
- *la veine céphalique.* La veine est ponctionnée avec une aiguille de 25 ou 27 G, montée sur une seringue de un ml, après pose d'un garrot.
- *la veine cave antérieure.* Une aiguille 25 G montée sur une seringue de 2,5 ou 5 ml est introduite dans la dépression située

(1) Docteur vétérinaire, Centre Hospitalier Vétérinaire Frégis, 43 Avenue Aristide Briand, 94110 Arcueil.

de chaque côté entre le manubrium sternal et la première côte. L'aiguille doit être inclinée à 45 ° et dirigée vers l'articulation coxo-fémorale contro-latérale. Après l'avoir enfoncée jusqu'à la garde, on la retire doucement jusqu'à l'apparition du sang dans la seringue, puis on retire le piston. Cette voie est parfois la seule possible en cas de déshydratation ou d'anémie importante car elle permet de recueillir le maximum de sang. En cas d'échec, on peut tenter un prélèvement à la veine cave caudale ou une ponction cardiaque.

Le prélèvement du sang est réalisé dans un tube sec pour éviter toute hémolyse et le sérum est recueilli après centrifugation. L'utilisation du plasma est exclue, du fait de la présence du fibrinogène qui génère un pic systématique dans la zone de migration des protéines  $\beta$ .

### L'électrophorèse : quelques rappels

L'électrophorèse d'un mélange de protéines permet de les séparer en le soumettant à l'action d'un champ électrique. Lorsqu'on applique une tension continue entre les extrémités d'un gel où a été déposé le sérum, les protéines qu'il contient, migrent au travers des mailles de ce gel. Celles-ci retiendront moins les petites molécules qui auront la migration la plus grande. Les molécules les plus encombrantes seront plus retenues entre les mailles du gel et auront une migration relative plus faible. Différents procédés sont utilisés pour révéler la migration des protéines. La plus courante consiste en leur coloration spécifique. Le gel est coloré et fait apparaître un profil de bandes dont l'intensité reflète partiellement l'abondance de chaque constituant dans le mélange et la position/migration, sa masse moléculaire relative.

Les globulines sériques ont été nommées d'après leur vitesse de migration par rapport à l'albumine qui migre le plus rapidement et présente la concentration la plus élevée. On distingue ainsi les  $\alpha 1$  et  $\alpha 2$  globulines, les  $\beta 1$ - et  $\beta 2$  globulines et les  $\gamma$  globulines dans l'ordre des vitesses de migration décroissantes (**figure 1**).

Les anticorps présents dans le sérum migrent à des vitesses différentes selon leur nature. Les IgA migrent avec les fractions  $\alpha 2$  ou  $\beta 1$ , les IgM avec la fraction  $\beta 2$  et la fraction  $\gamma$  rapide et les IgG avec la fraction  $\gamma$  lente.

Les électrophorèses ont été effectuées par le laboratoire Vebiotel. La quantification des protéines ayant migré sur gel d'agarose est réalisée par densitométrie à 570 nm.

### Valeurs physiologiques

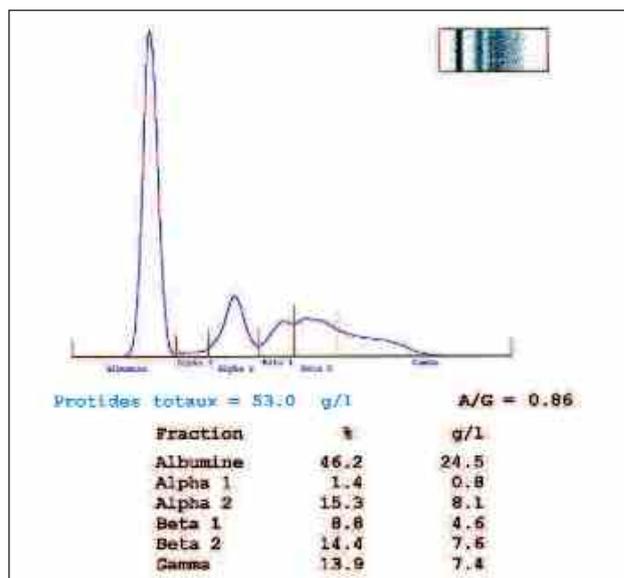
L'électrophorèse des protéines sériques a été peu étudiée chez le furet. Elle n'a pas fait l'objet de publications, mises à part celles se rapportant à la maladie aléoutienne dans cette espèce (Wright & Wilkie, 1982; Aasted *et al.* 1986, Wolfensohn & Lloyd, 1994, Une *et al.* 2000). Sinon, les publications concernent essentiellement des études comparées, par exemple de liquide lacrymal ou spermatique (Lanneau & Loir, 1982).

Les données de la littérature et nos observations personnelles

se rapportent à des sujets mâles et femelles des variétés putoisé et albinos, les plus fréquemment rencontrées. La concentration de protéines totales est de 53 à 72 g/l chez le furet putoisé (*Fitch ferret*) et de 51 à 74 g/l chez le furet albinos. Celle de l'albumine varie de 33 à 41 g/l chez le furet putoisé et de 26 à 38 g/l chez le furet albinos (**tableau 1**). La **figure 1** illustre un électrophorogramme recueilli chez un furet mâle sain âgé de trois ans.

	Furet putoisé	Furet albinos
Protéines sériques (g/l) :	59 (53-72)	60 (51-74)
Albumine (g/l) :	40-50 %	37 (33-41)
$\alpha 1$ -globulines :	2-5 %	1-3,3 g/l
$\alpha 2$ -globulines :	10-15 %	5-10 g/l
$\beta 1$ -globulines :	8-12 %	5-10 g/l
$\beta 2$ -globulines :	10-18 %	8-12 g/l
$\gamma$ globulines :	12-20 %	6-12 g/l
Rapport albumine/globulines :	1,8 (1,3-2,1)	

**Tableau 1 :** Valeurs moyennes des taux relatifs et des concentrations des protéines sériques chez le furet.



**Figure 1 :** Électrophorèse des protéines sériques chez un furet sain. Évaluation de leur concentration relative en % de la valeur totale des protéines et en valeurs absolues. A/G = rapport Albumine/Globulines.

## L'ÉLECTROPHORÈSE EN PATHOLOGIE : QUELQUES EXEMPLES

À partir de la centaine de cas qui nous ont permis d'enregistrer des modifications de la concentration des protéines sériques, nous avons regroupé au travers d'une étude nosologique ceux qui nous paraissent significatifs.

## La maladie aléoutienne

L'agent causal de la maladie aléoutienne est un *Parvovirus* appelé ADV (*Aleutians Mink Disease Virus*) qui touche les Mustélidés dont les visons et les furets. La transmission s'effectue par les fèces, les sécrétions respiratoires, les urines, la salive, le sang, mais aussi de façon indirecte par des surfaces contaminées (Palley *et al.* 1992 ; Wolfensohn & Lloyd, 1994).

### Épidémiologie

La maladie est connue dans les élevages de visons depuis 1940. Elle a été décrite pour la première fois chez le furet en 1960 en Nouvelle Zélande. Sa présence est aujourd'hui confirmée aux Pays-Bas, en France, en Belgique, en Allemagne. Les Pays-Bas semblent une plaque tournante de la contamination européenne, à partir des fermes d'élevages hollandaises et des sujets importés de Nouvelle Zélande (Quinton 2003).

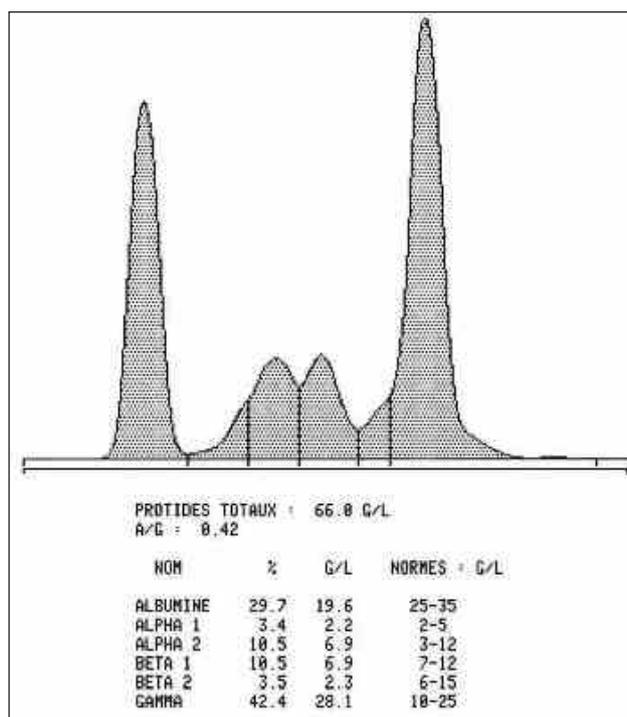
### Symptômes

La maladie aléoutienne est une maladie débilitante qui évolue de façon chronique sur plusieurs mois, voire plusieurs années. Elle se développe surtout chez des sujets âgés de deux à quatre ans, elle est systématiquement fatale.

On observe une dégradation progressive de l'état général : amaigrissement, poil de mauvaise qualité, anorexie, léthargie, pâleur des muqueuses. Les symptômes sont variés : diarrhées rebelles aux traitements, infections respiratoires, insuffisance rénale. Les signes nerveux sont fréquents et présentent un caractère de gravité : paralysie postérieure, convulsions, douleurs cervicales (**figure 2**). La maladie aléoutienne peut coexister avec un lymphome. Les furets meurent généralement d'insuffisance rénale ou d'anémie non régénérative. Certains furets séropositifs restent porteurs sains et ne développent pas la maladie.



**Figure 2 :** Cliché montrant un furet atteint de maladie aléoutienne, dans sa forme de méningite avec cervicalgies et parésie postérieure.



**Figure 3 :** Électrophorèse des protéines sériques chez un furet mâle de 2 ans, atteint de maladie aléoutienne. À noter l'hyperprotéïnémie et l'augmentation des  $\gamma$  globulines (pic polyclonal).

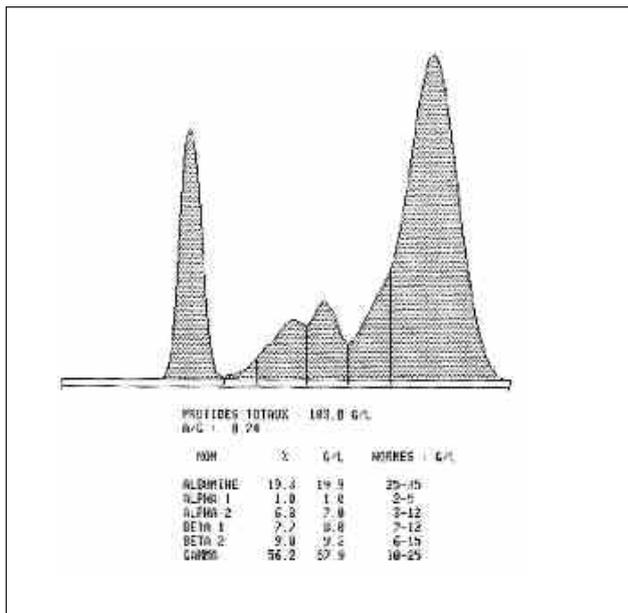
### Pathogénie

Le virus ADV provoque la formation et le dépôt de complexes immuns dans les vaisseaux artériels de l'organisme et partant, dans de nombreux tissus (foie, rate, thymus, système nerveux, méninges) qui présentent, à l'examen histologique des lésions de vascularite, accompagnées d'infiltrations lymphoplasmocytaires étendues, d'où la variété des symptômes précédemment signalés.

### Diagnostic

La maladie aléoutienne est à suspecter devant une dégradation progressive avec des signes digestifs, respiratoires, neurologiques et rénaux.

Les résultats de l'électrophorèse sont caractéristiques : l'hyperprotéïnémie est parfois considérable, la concentration des protéines totales atteignant 100 à 120 g/l, voire plus ; elle est associée à une hypoalbuminémie, d'où un rapport albumine/globulines effondré. Nos tracés mettent effectivement en évidence un pic polyclonal des  $\gamma$  globulines, qui peut représenter de 20 à 60 % des protéines sériques totales. (**figures 3 et 4**). La recherche d'ADV par le CIEP test (recherche des anticorps sériques par immunoelectrophorèse, United Vaccines, Madison, WI, USA ; CFE Laboratorium, Pays-Bas) se révèle, dans ces cas, positive et confirme le diagnostic. Aussi, les résultats des électrophorèses décrits ci-dessus sont-ils très fortement évocateurs de suspicion de la maladie aléoutienne.



**Figure 4 :** Électrophorèse des protéines sériques chez un furet femelle de trois ans, atteinte de maladie aléoutienne. L'hyperprotéinémie (de 103 g/L dans ce cas) et l'augmentation importante des  $\gamma$  globulines (pic polyclonal de 57 %) sont caractéristiques de la maladie.

### L'entérite catarrhale épizootique à Coronavirus (ECE)

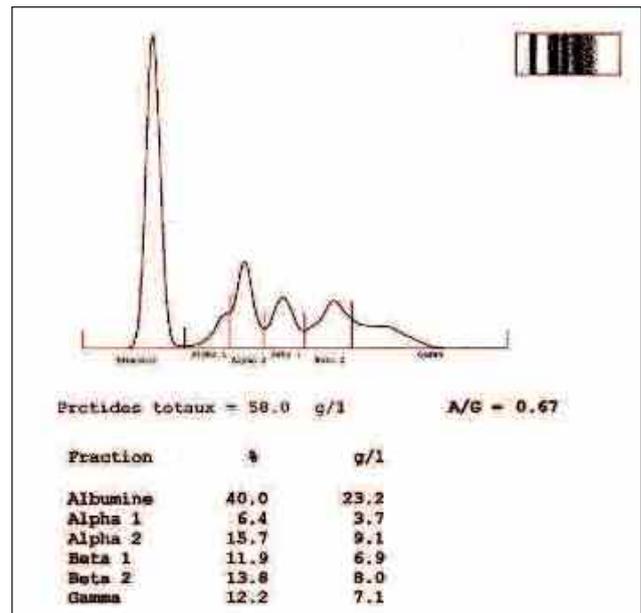
Cette maladie appelée aussi diarrhée verte, entérite à Coronavirus, Green Slime Disease par les anglo-saxons, est de description assez récente (Williams *et al.* 1993). Il s'agit d'une entérite virale contagieuse dont l'agent causal est un Coronavirus. Elle apparaît après l'introduction d'un furet jeune et porteur sain, issu d'une animalerie ou d'un refuge, dans un élevage de furets vivant en milieu clos (Quinton, 2003).

Les sujets atteints présentent une forte fièvre, une anorexie, un état d'abattement marqué, une diarrhée verte, des vomissements conduisant à une déshydratation intense, une adénite mésentérique. En phase aiguë, l'examen radiologique révèle la présence fréquente d'un iléus intestinal important. La morbidité est élevée, mais la mortalité semble faible.

Il nous a été donné d'observer le cas d'un jeune furet qui a développé en quelques semaines une péritonite granulomateuse exsudative, due au Coronavirus, agent de l'ECE. Le tableau clinique, très inhabituel dans cette affection chez le furet, ressemblait beaucoup à celui de la forme exsudative de la péritonite infectieuse féline.

Le diagnostic est clinique et épidémiologique. Nous n'avons pas actuellement les moyens en France de détecter le virus, mais sa mise en évidence peut être réalisée indirectement à l'aide d'un test ELISA ou directement par PCR.

Les résultats de l'électrophorèse peuvent compléter le diagnostic clinique : l'hypoalbuminémie est marquée chez des sujets pré-



**Figure 5 :** Électrophorèse des protéines sériques chez un furet femelle âgée de neuf mois, en phase aiguë d'entérite catarrhale épizootique (température de 40 °C). On note une discrète hypoalbuminémie (40 %) et une augmentation du taux relatif des  $\alpha 2$  globulines et surtout de celui des  $\beta 1$  globulines (12 %).

sentant les symptômes depuis une à trois semaines ; elle est discrète lors d'une ECE en phase aiguë. On note un pic des  $\alpha 2$  globulines ou un pic des  $\beta 1$  globulines traduisant la migration des IgA au cours du phénomène inflammatoire aigu (**figure 5**) et un pic polyclonal de  $\gamma$  globulines, lorsqu'il existe, nettement moins important que dans la maladie aléoutienne. Il est fréquent qu'au-delà de deux à trois semaines, une hypogammaglobulinémie traduise la faillite des défenses immunitaires acquises.

### Affections hépatiques

Une atteinte hépatique doit systématiquement être suspectée devant un amaigrissement, de l'anorexie, un état de déshydratation, des vomissements, des épisodes de diarrhée, un ictère, une augmentation du volume abdominal.

Dans le cas de tumeurs, la radiographie et surtout l'échographie mettent en évidence une ou des masses hépatiques et l'échographie précise l'hétérogénéité des tumeurs polykystiques. Le diagnostic est confirmé et précisé grâce aux biopsies échoguidées. Nos observations réalisées chez des furets âgés de 5 à 6 ans montrent des tracés électrophorétiques peu modifiés, si ce n'est une discrète augmentation des  $\alpha 2$ -globulines (**figure 6**).

Dans le cas d'affections non tumorales, on note une augmentation des globulines. La forte augmentation des  $\alpha 2$  globulines observée dans la lipidose hépatique et la cholangiohépatite aiguë, traduit un phénomène inflammatoire intense. D'une façon plus générale, on trouve chez le furet une élévation des  $\beta$  globulines dans les hépatites chroniques (hypertransferrinémie, augmentation de C3, augmentation des IgM), les hépatites aiguës, les cholestases intra ou extra-hépatiques.

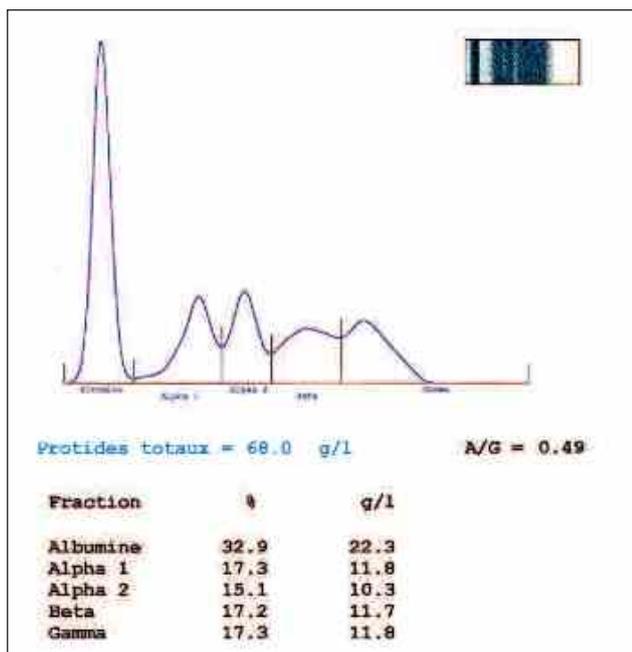


Figure 6: Électrophorèse des protéines sériques chez un furet mâle de 6 ans présentant une tumeur hépatique. Le tracé est peu différent de celui observé chez un individu sain. On notera la discrète augmentation des  $\alpha 2$  globulines.

## DISCUSSION

### Hyperprotéinémie et pic polyclonal des $\gamma$ globulines

L'hyperprotéinémie est généralement la conséquence de la déshydratation, fréquemment observée chez le furet dans de nombreuses affections (occlusion intestinale, entérite aiguë, gastrite aiguë, insuffisance rénale chronique,...) L'hyperalbuminémie est dans ces cas relative.

Elle est aussi observée lors de phénomènes inflammatoires, (qu'ils soient aigus, subaigus ou chroniques), les maladies hépatiques, les maladies néoplasiques, les pyodermites, les maladies rénales avec une atteinte glomérulaire, les viroses (maladie de Carré, grippe à Influenza, maladie aléoutienne), les mycoses systémiques (*Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioïdes* sp. *Absidia corymbifera*).

Mais elle est surtout conséquente et significative, dans la maladie aléoutienne, car elle résulte d'une augmentation des  $\gamma$  globulines, traduisant une augmentation des IgG et des IgM (Aasted *et al.* 1986). La fraction des  $\gamma$  globulines peut ainsi dépasser 50 % des protéines totales: ce résultat est d'autant plus à prendre en considération que la recherche spécifique directe ou indirecte de l'ADV n'est pas toujours fiable et comporte un pourcentage de faux négatifs. Notons cependant que quelques furets n'ont pas présenté de variations de la fraction  $\gamma$ : on peut suggérer que leur réponse immunitaire à l'agression virale est moindre, les souches virales n'ayant pas toutes la même immunogénicité, ou qu'ils sont en fin d'évolution et que l'organisme n'a plus la capacité de fabriquer des immunoglobulines.

Un pic  $\gamma$  polyclonal est généralement observé dans d'autres affections, d'évolution chronique comme l'entérite catarrhale épizootique à Coronavirus, mais il est toujours de proportion moindre que dans la maladie aléoutienne; un autre critère de diagnostic différentiel est l'hypoalbuminémie observée en phase chronique dans cette maladie.

### $\alpha$ et $\beta$ globulines

La diminution des globulines est observée dans les cas d'insuffisance hépatique et de lymphomes. Une hypoprotéinémie globale résultant de la baisse des globulines traduit un déficit de synthèse des immunoglobulines et a une valeur pronostique négative.

Plus fréquente est leur augmentation qui traduit, par l'élévation de la fraction  $\alpha 2$ , un phénomène inflammatoire aigu: phase aiguë des maladies hépatiques (lipidose hépatique, cholangio-hépatite), ou des viroses comme l'ECE; ce pic de la fraction  $\alpha 2$  est souvent accompagné d'une augmentation des  $\beta 1$ , signe d'une synthèse accrue des IgA (figure 7).

Lors de l'évolution des processus aigus vers la chronicité, on observe une augmentation de la fraction  $\beta 2$  des globulines, voire la présence d'un pic monoclonal traduisant la synthèse accrue des IgM, accompagnant l'augmentation des IgG au sein des  $\gamma$  globulines.

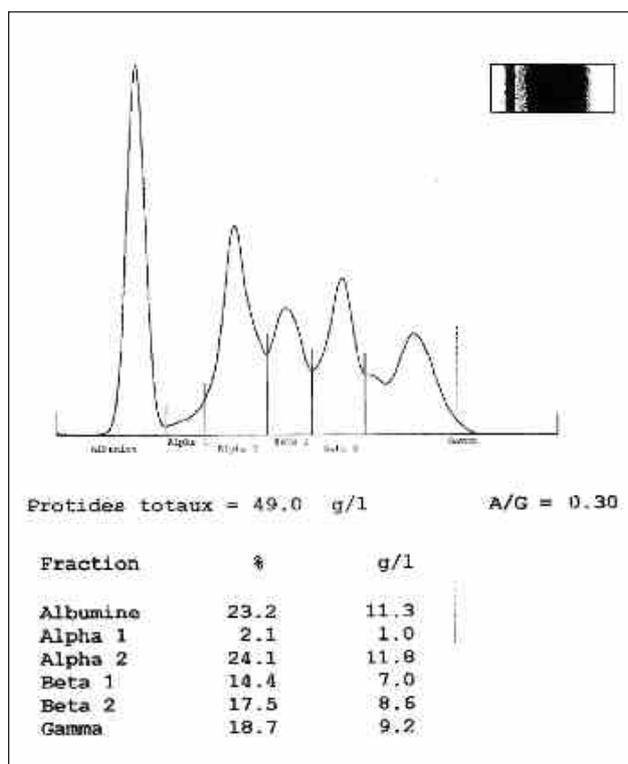


Figure 7: Électrophorèse des protéines sériques chez un furet âgé de 6 mois, atteint d'entérite catarrhale épizootique dont le tableau clinique est dominé par une péritonite exsudative. La nette augmentation de la fraction des  $\alpha$  globulines, accompagnée ici de celle des  $\beta$  globulines signe un phénomène inflammatoire aigu.

## CONCLUSION

L'électrophorèse des protéines sériques permet d'orienter le diagnostic chez le furet dans de nombreux cas. Les élévations parfois considérables des  $\gamma$  globulines en pic polyclonal sont caractéristiques d'une maladie aléoutienne, alors que les tests (Elisa, CIEP) ne semblent pas toujours fiables dans cette maladie. Cet

examen nous semble donc nécessaire pour confirmer le diagnostic de cette maladie et d'en évaluer le pronostic avec d'autres examens complémentaires (hématologie pour rechercher une éventuelle anémie, bilan rénal). L'électrophorèse apporte aussi des renseignements intéressants au plan du pronostic dans les affections hépatiques, l'entérite catarrhale épizootique, les lymphomes.

## REMERCIEMENTS

*L'auteur tient à remercier les Docteurs Christine Médaille et Alexandra Briand-Marchal, ainsi que le personnel technique, du laboratoire Vébiotel, pour la réalisation et l'interprétation des électrophorèses des protéines sériques effectuées chez les furets.*

## BIBLIOGRAPHIE

- Aasted, B., Alexandersen, S., Cohn, A., Hansen, M. 1986. Counter current line absorption immunoelectrophoresis in an alternative diagnostic screening test to counter current immunoelectrophoresis in Aleutian disease (AD) eradication program. 27 (3): 410-420.
- Lanneau, M. & Loir, M. 1982. An electrophoretic investigation of mammalian sperm-tid-specific nuclear proteins. 65 (1): 163-170.
- Palley, I.S., Corning, B.F., Fox, J.G., Murphy, J.C., Gould, D.H. 1992. Parvovirus-associated syndrome (Aleutian disease) in two ferrets. J Am Vet Med Assoc 201: 100-106.
- Quinton, J.F. 2003. *Nouveaux Animaux de compagnie*. (éd. AFVAC), pp. 3-56. Masson, Paris.
- Une, Y., Wakimoto, Y., Konishi, M., Nomuraz, Y. 2000. Spontaneous Aleutian disease in a ferret. J Vet Med Sci. 62 (5): 553-555.
- Williams, B.H., Kiupel, M., West, K.H., Raymons, J.T., Grant, C.K., Glickman, L.T. 2000. Coronavirus-associated epizootic catarrhal enteritis in ferrets. J Am Vet Med Assoc. 217: 526-530.
- Wolfensohn, S.E. & Lloyd, M.H. 1994. Aleutian disease in laboratory ferret. Vet Rec. 134 (4): 100.
- Wright, P.F. & Wilkie, B.N. 1982. Detection of antibody in Aleutian disease of mink: comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and counterimmunoelectrophoresis. Am J Vet Res. 43 (5): 865-868.