

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE BATNA1 -BATNA-
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES



THESE

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière

Sciences vétérinaires

Option

Pathologie des ruminants

Présentée Par:

METREF AHMED KHIREDINE

THEME

**Utilisation des marqueurs protéiques de l'inflammation pour
l'amélioration du diagnostic en pathologie des ruminants**

JURY Grade et Université

Président :	M ^r .MAMACHE BAKIR	Prof.	Univ.Batna (1)
Examineur :	M ^r . MEKROUD ABDESSELEM	Prof.	Univ.Constantine (1)
Examineur :	M ^r . KHELLAF DJAMAL	Prof.	ENSV-Alger
Examineur :	M ^r .AYACHI AMMAR	Prof.	Univ. Batna (1)
Rapporteur :	M ^r .MELIZI MOHAMED	Prof.	Univ. Batna (1)
Co-rapporteur :	M ^r .TLIDJANE MADJID	Prof.	Univ.Batna (1)

ANNEE UNIVERSITAIRE :
2018-2019

**Utilisation des marqueurs protéiques de l'inflammation
pour l'amélioration du diagnostic en pathologie des
ruminants**

DEDICACES

Je dédie cette thèse à la mémoire de mon père

Cette thèse ne doit son achèvement qu'à la précieuse contribution :

De ma mère par ses conseils et son soutien moral.

De ma femme par ses conseils et orientations.

De ma sœur pour son aide en infographie.

A mon fils pour le bonheur qu'il me procure.

Remerciements

Je tiens à adresser mes sincères sentiments de gratitude à :

Mon promoteur, Pr. Melizi Mohamed, qui m'a permis de renouer avec la recherche et l'enseignement universitaire.

Mon Co-rapporteur, Pr. Tlidjane Madjid, qui a accepté de codiriger cette thèse

Aux membres de l'honorable jury : Pr. Khelaf, Pr. Ayachi, Pr. Mekroud, Pr. Mamache. Qui ont bien voulu prendre la peine d'évaluer cette thèse.

Au Dr. Kebour, de l'université de Blida, pour sa précieuse contribution quant à la valorisation de ce travail.

Au Dr. Zemouri, de l'université de USTHB- Bab Zouar, pour son aide et ses précieux conseils.

Au Dr. Cherif Redouane de la faculté de médecine- Batna pour son aide.

Aux responsables du laboratoire BIOGROUPE OueledSlamma, pour m'avoir permis de réaliser mes analyses.

Aux élèves de la Métidja (communes de : Baraki, Sidi moussa, Oueled chebel, Oueled Slama et Hamam Elouane) pour leur pleine coopération et disponibilité.

Liste des abréviations

Hp : Haptoglobine

Fb : Fibrinogène

CRP : protéine C réactive

SAA : sérum amyloïde A

Alpha 1 AGP : Alpha 1 acide glyco-protéine

EPP /EPS : Electrophorèse

ALAT : Alanine amino transférase

ASAT : Aspartate aminotransférase

SDH : Sorbitol deshydrogénase

GLDH : Glutamate déshydrogénase

LDH : Lactate déshydrogénase

OCT : Ornithine carbamyl transférase

PAL : Phosphatase alcaline

GGT : Gamma-glutamyl transférase

Bil.T : Bilirubine Totale

APPs /PPA: acute phase proteins/protéines de la phase aiguë

Alb : Albumine

α 1 G et α 2 G: alpha1 globulines et alpha2 globulines

β G: beta globulines

γ G: gamma globulines

Liste des Figures

Figure (1) : Tracé électrophorétique d'une vache laitière en bonne santé.....	48
Figure (2) : Pic monoclonal chez un veau âgé de moins de 2mois.....	56
Figure (3) : Pic monoclonal chez un veau âgé de moins de 4 mois.....	56
Figure (4) : Pic monoclonal chez un veau âgé de moins de 3mois.....	56
Figure (5) : Pic monoclonal chez un jeune taurillon âgé de 6 mois.....	56
Figure (6) : Pic monoclonal chez une génisse.....	56
Figure (7) : Pic monoclonal chez un veau de moins de 3 mois.....	56
Figure (8) : Pic monoclonal chez une génisse âgée de 6 mois.....	56
Figure (9) : Pic monoclonal chez un taurillon de moins de 6 mois.....	57
Figure (10) : Tracé d'électrophorèse d'un veau âgé de 5ans, carence en alpha1 globuline.....	52
Figure (11) : Tracé d'électrophorèse d'une vache âgée de 3ans, carence en alpha1globuline....	52
Figure (12) : Tracé d'électrophorèse d'une vache âgée de 3ans, atteinte de boiterie.....	52
Figure (13) : Electrophorèse d'une vache âgée de 8ans, atteinte d'acidose du rumen.....	49
Figure (14) : Tracé d'électrophorèse d'une génisse âgée de 6mois.....	58
Figure (15) : Tracé d'électrophorèse d'une vache âgée de 6ans, avec une hypoprotéinémie....	50
Figure (16) : Electrophorèse d'une vache, atteinte de bronchopneumonie et de mammite.....	58
Figure (17) : Electrophorèse d'une vache, atteinte d'acidose du rumen.....	58
Figure (18) : Protéinogramme d'une vache, atteinte de mammite chronique.....	57
Figure (19) : Electrophorèse d'une vache âgée de 6ans, atteinte d'insuffisance hépatique.....	50
Figure (20) : Tracé d'électrophorèse d'une vache, atteinte de bronchopneumonie.....	53
Figure (21) : Electrophorèse d'une vache, atteinte de mammite.....	54
Figure (22) : Electrophorèse d'une vache, atteinte de bronchopneumonie.....	54
Figure (23) : Présentation graphique des valeurs usuelles du protéinogramme.....	60
Figure (24) : Diagramme de composantes dans l'espace après rotation.....	62

Figure (25) : Electrophorèse des protéines sériques chez un bovin.....	27
Figure (26 a et b) : Pose des échantillons au niveau de l'applicateur.....	44
Figure (27 a et b) : Pose du gel sur le module de migration.....	45
Figure (28) : Positionnement du gel pour la séquence de coloration.....	46
Figure (29) : L'aire où se situent les élevages concernés par l'étude.....	39
Figure (30) : Protéinogramme d'un bovin souffrant d'une bronchopneumonie.....	64
Figure (31) : Protéinogramme d'une bovine souffrant de boiterie.....	65
Figure (32) : Protéinogramme d'une vache atteinte de mammite clinique.....	66
Figure (33) : Protéinogramme d'une vache atteinte de métrite.....	66

Liste des tableaux

Tableau (01) : Exemples de valeurs de références.....	37
Tableau (02) : Répartition des animaux et élevages.....	40
Tableau (03) : Statistique descriptive des paramètres étudiés (annexe).....	(I)
Tableau (04) : matrice de corrélation des paramètres étudiés (annexe).....	(II)

1. Introduction	1
2. Synthèse Bibliographique	2
2.1. La réaction inflammatoire, genèse des protéines de la phase aiguë	2
2.2. L'Haptoglobine	6
2.2.1. Nature Biologique	6
2.2.2. Synthèse	6
2.2.3. Rôles	6
2.3. Sérum Amyloïde (A)	8
2.3.1. Nature Biologique	8
2.3.2. Principaux rôles	8
2.4. Protéine © réactives	8
2.4.1. Nature biologique	8
2.4.2. Principaux rôles	9
2.5. L'Alpha(1)-AGP	9
2.5.1. Nature biologique	9
2.5.2. Principaux rôles	9
2.6. Le Fibrinogène	9
2.6.1. Nature biologique	9
2.6.2. Rôles	9
2.7. Les protéines de la phase aiguë de l'inflammation d'intérêt clinique, pour l'espèce bovine	10
2.7.1. Dépistage des mammites	11
2.7.2. Stress d'élevage	13
2.7.3. Suivi sanitaire du troupeau	14
2.7.4. Inspection des viandes	14
2.7.5. Contrôle de la période péri-partum	14
2.7.6. Détection de pathologies infectieuses diverses	15
2.7.7. Détection de l'infection utérine	16
2.7.8. Détection de pathologies respiratoires	16
2.7.9. Contrôle de l'efficacité du traitement et suivi post-opératoire	17
2.7.10. Les maladies métaboliques	18
2.8. Techniques de dosages appliquées à l'Haptoglobine et le Fibrinogène	18
2.8.1. Dosage de l'Haptoglobine	18
• Spectrophotométrie différentielle	18
• Mesure de l'activité peroxydasique de l'hémoglobine	19

• HPLC (High performance Liquid chromatography).....	19
• Electrophorèse capillaire.....	19
• Immunodiffusion radiale simple de Mancini (SPRID) en gel d'Agarose.....	20
• ELISA direct (enzyme like immunosorbent assays).....	20
• ELISA indirect.....	21
2.8.2. Dosage du Fibrinogène.....	21
• Analyse quantitative du caillot de fibrine.....	21
• Précipitation du fibrinogène par traitement thermique (méthode de SCHALM).....	21
• Analyse chronométrique.....	21
• Evaluation par des méthodes immunochimiques.....	22
2.9. Relation entre la fonction hépatique et la réaction inflammatoire.....	22
2.10. Les marqueurs et les tests biochimiques de l'insuffisance hépatique.....	24
2.10.1. L'Albuminémie.....	24
2.10.2. Diminution du rapport Albumine/globuline	25
2.10.3. Electrophorèse des protéines sériques (EPS).....	25
2.10.4. La bilirubine.....	28
2.10.5. Les enzymes hépatiques.....	29
- Alanine amino transférase (ALAT).....	30
- Aspartate aminotransférase (ASAT).....	30
- Sorbitol deshydrogénase (SDH).....	30
- Glutamate déshydrogénase (GLDH).....	31
- Lactate déshydrogénase (LDH).....	31
- Ornithine carbamyl transférase (OCT).....	31
- Phosphatase alcaline (PAL).....	31
- Gamma-glutamyl transférase (GGT).....	32
2.10.6. Le glucose.....	33
2.10.7. L'Urée.....	33
2.10.8. Le cholestérol.....	34
2.10.9. Les facteurs de coagulation.....	34
2.10.10. Les acides biliaires.....	35
2.10.11. L'Ammoniac.....	35
2.11. Caractéristiques de l'usage de la biochimie clinique pour le diagnostic des affections chez le bovin.....	36

3. Matériel et Méthodes	38
3.1 objectif	38
3.2 Les animaux et le lieu de l'étude.....	38
3.3 Etape pré-analytique.....	40
3.4 Etape analytique.....	41
3.4.1 Cobas 6000 (Roche)	41
3.4.2 Dosage de l'Haptoglobine.....	41
3.4.3 Dosage du Fibrinogène.....	41
3.4.4 Dosage de l'Albumine.....	41
3.4.5 Dosage de la gammagluuyamyl transférase.....	42
3.4.6 Dosage de la phosphatase Alcaline.....	42
3.4.7 Dosages des protéines totales.....	42
3.5 Electrophorèse sur gel d'Agarose (Automate Sebia ; gel Hydrasis)	42
3.5.1 Préparation.....	43
3.5.2 Equipement.....	43
3.5.3 Technique.....	43
3.6 Etape post-analytique.....	46
3.7 Analyse statistique des données.....	47
4. Résultats et discussions.....	48
4.1 Tracé d'électrophorèse d'un bovin sain.....	48
4.2 Rapport Albumine et globuline.....	49
4.3 L'hypo-Albuminémie essentielle.....	50
4.4 Les Alpha 1 globulines.....	51
4.5 Les Alpha 2 globulines.....	52
4.6 Les Beta-globulines.....	53
4.7 Les Gamma-globulines.....	54
4.8 Variations des tests biochimiques réalisés par rapport à l'inflammation.....	58
4.9 Valeurs du protéinogramme.....	60
4.10 Variations des marqueurs protéiques de l'inflammation par rapport à l'âge, le SCC et le stade physiologique.....	60
4.11 Avantage et limite de la biochimie clinique pour le diagnostic des affections chez le bovin.....	63
4.11.1 L'acidose du rumen.....	63
• Examen clinique.....	63
• Dosages biochimiques.....	63
• Tracé d'électrophorèse des protéines sériques.....	63

• Diagnostic et discussion.....	63
4.11.2 Les bronchopneumonies.....	64
• Examen clinique.....	64
• Dosages biochimiques.....	64
• Tracé d'électrophorèse des protéines sériques.....	64
• Diagnostic et discussion.....	65
4.11.3 Les boiteries.....	65
• Examen clinique.....	65
• Dosages biochimiques.....	65
• Tracé d'électrophorèse des protéines sériques.....	65
• Diagnostic et discussion.....	66
4.11.4 Les mammites et métrites.....	66
• Examen clinique.....	66
• Dosages biochimiques.....	66
• Exemple d'un tracé d'électrophorèse pour un cas de mammite.....	66
• Diagnostic et discussion.....	67
4.11.5 Les insuffisances hépatiques	67
• Examen clinique.....	67
• Dosages biochimiques.....	67
• Diagnostic et discussion.....	68
5. Conclusion.....	69
6. Recommandations.....	70
7. Références bibliographiques	
8. Annexes	

INTRODUCTION

Le praticien vétérinaire en élevage bovin recherche pour le diagnostic des maladies, des outils pratiques et surtout disponibles (Kaneko, 2000 ; Rico, 2000). Tel est le défi réel de la pratique vétérinaire qui doit sans cesse s'adapter aux besoins du développement des élevages. La pratique de la médecine vétérinaire en milieu rural en Algérie tend à changer son approche clinique par rapport aux usages acquis. Cela est dû d'une part, aux exigences de la clientèle en quête d'efficacité des thérapies administrées. D'autre part, aux cliniciens qui sont investis sur le terrain et qui trouvent des difficultés à cerner la complexité des pathologies émergentes. Cette problématique est partagée par de nombreux auteurs, spécialisés en épidémiologie. Barnouin et Vourc'h (2004) affirment que l'optimisation de la détection et de l'analyse de la pathologie émergente est un défi à relever, en référence aux crises sanitaires qui ont menacé la durabilité des filières animales, ou pourraient la menacer.

Malheureusement le développement ou le changement des pratiques d'élevage, se fait au détriment des règles élémentaires de sécurité sanitaire (usage d'antibiotiques sans antibiogramme et de facteurs de croissance). Ceci engendra par défaut, l'usage systématique et abusif de produits anti-infectieux sans discernement. Ceux-ci peuvent conduire à de sérieuses répercussions sur la santé humaine (apparition d'antibio-résistances, danger des résidus médicamenteux dans les aliments d'origine animale).

Nous avons étudié pour ce faire, le dosage de quelques paramètres biochimiques pour évaluer leur intérêt au diagnostic clinique chez le bovin, afin d'éviter des interprétations subjectives voire erronées : Il s'agit, de l'électrophorèse des protéines sériques, une technique connue et enseignée en graduation de la médecine vétérinaire, néanmoins peu explorée en pratique de la médecine bovine. Pour les besoins de l'étude nous avons ajouté le dosage de trois enzymes dédiés à l'exploration fonctionnelle hépatique : Bilirubine totale, Phosphatase Alcaline, Gamaglutamyl transférase, ainsi que deux protéines témoins de la phase aiguë de l'inflammation : l'haptoglobine et le fibrinogène.

Cette étude ambitionne d'approfondir et d'explorer l'apport de l'analyse des protéines sériques par l'usage de l'électrophorèse pour l'aide au diagnostic destiné aux praticiens vétérinaires, aux futurs chercheurs et étudiants vétérinaire en médecine bovine en Algérie.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Des outils de diagnostic et de dépistage des maladies, rapides, peu coûteux, et surtout disponibles aux vétérinaires praticiens du monde rural constituent le défi réel de la pratique vétérinaire qui doit sans cesse s'adapter aux besoins du développement des élevages.

Ce dernier se fait malheureusement au détriment des règles élémentaires de sécurité sanitaire. Cette problématique est partagée par de nombreux auteurs, spécialisés en épidémiologie :

Barnouin et Vourc'h (2004) affirment que l'optimisation de la détection et de l'analyse des maladies émergentes est un défi à relever, en référence aux crises sanitaires qui ont menacé la durabilité des filières animales, ou pourraient la menacer.

Pour cela, notre étude s'efforcera de lever l'ombre sur l'une des plus récentes méthodes d'analyse biochimique appliquée à la clinique des bovins afin de permettre le diagnostic **précoce et rapide** des affections qui menacent les élevages ; à terme ces méthodes serviront à notre pays au niveau des services concernés par la protection animale.

Rico, (2000) pense que la biochimie clinique animale au sens large du terme est un excellent outil pour affiner le diagnostic clinique des maladies. Elle peut cependant être utilisée en toxicologie et pour le contrôle de l'environnement. Les informations qu'elle procure conduisent à soutenir l'existence d'un système de chimio-défense. Il est rejoint par Kaneko, (2000) qui fait remonter l'origine de l'usage de la biochimie clinique aux médecins d'autrefois qui "miraient les urines". De ces débuts humbles et plutôt héroïques, la biochimie a évolué pour devenir un outil diagnostique essentiel en médecine humaine et vétérinaire, élevage, nutrition, santé publique, sécurité alimentaire, développement de médicaments et médecine préventive depuis le fœtus jusqu'à la mort.

2.1 La réaction inflammatoire, genèse des protéines de la phase aiguë :

Contre toute lésion tissulaire pouvant être infectieuse, traumatique, immunologique, néoplasique, trouble de l'homéostasie, l'organisme réagit par une réaction inflammatoire aiguë, (Gruys et al, 1994). Elle est aspécifique. La réaction locale au niveau du site de la lésion est caractérisée par une accumulation des granulocytes et cellules mononucléaires qui libèrent des médiateurs de l'inflammation : **les cytokines** (Heinrich et al.,1990).

La réaction inflammatoire locale chez le bovin au niveau du site de la lésion est caractérisée par une accumulation des granulocytes et cellules mononucléaires qui libèrent des médiateurs de l'inflammation : les cytokines, (Brodzki et al, 2015 ; Ballou et Kushner, 1992). Ces derniers agissent sur des récepteurs spécifiques situés au niveau des cellules cibles pour déclencher une réaction systémique dont les symptômes principaux sont **la fièvre**, l'anorexie, une leucocytose (avec neutrophilie), une augmentation de la vitesse de sédimentation des globules rouges, une augmentation de la sécrétion d'adrenocorticotropine (ACTH) et de glucocorticoïdes. Egalement, ils stimulent l'activation du complément et de la cascade de coagulation, une diminution du taux sérique de Fer, de Zinc, du calcium et des vitamines A et E, une balance azotée négative se traduisant par une diminution du poids vif. Mais ce qui est le plus saisissant c'est une augmentation des concentrations sériques de certaines protéines appelées les protéines de la phase aiguë (acute phase protéine ou APPs) ; Ce sont pour la plupart des glycoprotéines synthétisées par le foie (cellules cible des cytokines) (Heinrich *et al.*, 1990 ; Gruys et al, 1994 ; Kushner, 1993 ; Horadagoda et al., 1999).

Concernant **les protéines négatives** de la phase aiguë de l'inflammation Toussaint et al., (2005) affirment qu'elles sont présentes dans les conditions physiologiques chez les animaux sains et diminueront de façon conséquente lors d'une réaction inflammatoire. Néanmoins, ils notent que cette réaction diffère d'une espèce à une autre. Parmi ces protéines négatives (**marqueurs négatifs**) on citera : **l'albumine**, la rétinol-binding protein, la transthyrétine et la transferrine (Heinrich et al., 1990 ; Gruys et al., 1994 ; Gabay et Kushner, 1999).

Toutes ces protéines ont comme point commun le redressement de l'homéostasie de l'organisme. Gabay et Kushner, 1999 classent les marqueurs protéiques de l'inflammation aiguë en trois groupes : ceux à **réponse modérée** telles que la **Ceruloplasmine ou la protéine C₃ du complément** (leur concentration augmente d'au moins 50% lors de phénomènes inflammatoires aigus), ceux à **réponse marquée** comme l'alpha-1-glycoprotéine acide ; l'alpha-1-antitripsine ; l'alpha-1-antichymotripsine, l'haptoglobine (**Hp**) ou encore le **fibrinogène** (leur concentration augmente de 200 à 300%) et enfin les marqueurs présentant une réponse très marquée comme **la protéine C réactive (CRP)** et **l'amyloïde A sérique (SAA)**.

Baumann et Gauldie, (1994) proposent une classification selon le type de cytokines responsables de leur induction au niveau des récepteurs hépatiques. On distingue deux groupes agissant au cours de la phase aiguë de l'inflammation :

1. Ceux activés par les cytokines de type IL 1 (interleukine de type 1) et TNF- alpha (facteur de la nécrose tumoral alpha) : d'apparition rapide (4 heures) juste après un stimulus et augmentent de façon significative ce sont ; CRP et SAA
2. cytokines de type IL 6 (interleukine de type 6) : d'apparition tardive (après plusieurs jours, jusqu'à deux semaines) tel que l'haptoglobine.

La concentration maximale des protéines de l'inflammation est atteinte au maximum dans les 24 à 48 heures (Balou et Kushner, 1992). Ces taux déclinent après que le rétablissement de l'infection est observé. Généralement il existe un « feed- back » régulateur qui limite la durée de cette réponse à l'inflammation après quatre à sept jours suivant le stimulus initial au cas où aucun autre stimulus n'interviendrait. Notons que lors d'une inflammation chronique consécutive à de nombreux stimulus, une augmentation de la concentration des protéines de la phase aiguë est observée. Néanmoins, cette augmentation est plus faible lors d'une infection qu'à ses débuts. Il est aussi indiqué que la réponse des protéines envers une inflammation chronique ou aiguë varie d'une protéine à une autre (Horadagoda et al., 1999).

Cette caractéristique concerne les protéines qui présentent des valeurs basales très faibles (fourchette de référence très étroite), qui ne sont pas influencées par l'âge, le sexe, la génétique, mais qui augmentent vite, à des taux très élevés (plus de 100 fois) en réponse à l'inflammation.

Ce sont également des protéines dont le niveau de réponse est fonction de la quantité de tissu lésé, et dont les valeurs diminuent vite en réponse à un traitement, mais ne diminuent pas s'il n'y a pas de guérison. Une infection secondaire ou la rechute d'un phénomène inflammatoire sont des stimuli suffisants pour engendrer une nouvelle augmentation des taux plasmatiques. Enfin, les conditions non inflammatoires, le statut non nutritionnel, l'exercice, la manipulation ou les conditions de stress minimales ne devraient pas affecter ces valeurs (Zhou et al, 2016 ; Kent, 1992).

Chez les bovins, les principales protéines de l'inflammation aiguë ont été identifiées (Eckersall, 2004 ; Skinner, 2001; Humblet et Godeau, 2005). On peut distinguer deux catégories :

les marqueurs négatifs, le fer, le zinc, le calcium, les vitamines A et E, mais également l'albumine (Jacobsen *et al.*, 2004). MacNair *et al.*, 1998 ont pu démontrer que la **transferrine** s'est également comportée comme une APP négative chez des bovins infectés expérimentalement par *Haemophilus somnus*.

Parmi les marqueurs positifs, il faudra retenir le fibrinogène, l'alpha-1-antitrypsine, l'alpha-1-antichymotrypsine, la céruloplasmine, l'alpha-1-glycoprotéine acide et l'alpha-2-macroglobuline (Godson *et al.*, 1995). Le SAA est considéré comme un des deux principaux marqueurs de l'inflammation aiguë chez le bovin (Gruys *et al.*, 1993 ; Alsemgeest *et al.*, 1994). La **fétuine** est la première protéine foetale à avoir été décrite et identifiée comme APP dans l'espèce bovine, sa concentration est importante pendant le développement foetal des artiodactyles, mais également lors de traumatismes chez le bovin. Elle est également considérée comme une protéine de l'inflammation aiguë chez les bovins (Dziegielewska *et al.*, 1992). La protéine-C réactive n'est pas considérée comme une APP chez les bovins (Nakajima *et al.*, 1993). L'haptoglobine est considérée comme l'autre APP majeure chez les ruminants, et plus particulièrement dans l'espèce bovine (Skinner *et al.*, 1991 ; Gruys *et al.*, 1994). Elle est très intéressante à considérer chez cette espèce car elle présente les caractéristiques idéales d'une protéine de l'inflammation aiguë décrites auparavant (Humblet et Godeau, 2005 ; Petersen *et al.*, 2004). Il est important de savoir que les « APP » sont des marqueurs non spécifiques de la santé animale avec une possible influence de facteurs environnementaux, conditions d'élevage et de stress en l'absence de maladies.

Pour Eckersall, (2004) l'analyse des protéines de la phase aiguë devient une procédure usuelle en clinique et en recherche dans les maladies des animaux de compagnie et de ferme.

L'évaluation des protéines de la réaction inflammatoire aiguë permet d'estimer l'effet combiné de stimulation des fonctions de l'organisme par les cytokines pro-inflammatoires. Dans le futur, la mesure de ces protéines pourrait avoir des applications dans l'identification des animaux malades à l'abattoir, dans la surveillance de la présence de maladies subcliniques entraînant des retards de croissance. Ces applications seront facilitées par les développements des biotechnologies diagnostiques.

Quand à Skinner, (2001) l'importance de l'application du dosage des protéines de l'inflammation réside dans la gestion du statut sanitaire des animaux ainsi que leur bien-être ; pour cela les recherches futures doivent être axées vers l'élargissement de l'usage des APPs à l'application clinique de routine pour le contrôle de l'antibiothérapie, la détection de maladies insidieuses telles que les mammites et l'optimisation des productions. Humblet et Godeau, 2005, pensent que de nouvelles approches de surveillance sanitaire doivent être envisagées, en passant d'une médecine individuelle à une médecine de troupeau, afin de répartir les exploitations et non les individus. Pour cela, l'Hp représente un outil approprié car elle a un spectre suffisamment large pour déceler les processus inflammatoires provoqués par plusieurs pathologies.

2.2 L'Haptoglobine

2.2.1 Nature biologique : L'haptoglobine (Hp) fait partie de la fraction des alpha₂globulines ayant un poids moléculaire approximatif de 125 kDa (Putnam, 1975 cité par Petersen *et al.*, 2004) d'autres auteurs admettent que l'haptoglobine bovine a un poids moléculaire d'environ 112 kDa ; elle est formée de deux sous-unités β de 35 à 40 kDa et de deux sous-unités α de 16 à 20 kDa (Eckersall et Conner, 1990 ; Morimatsu *et al.*, 1991). Le rapport moléculaire α / β s'élèverait à 1,1 (Morimatsu *et al.*, 1991). L'Hp bovine est hétérogène et forme une série de polymères de hauts poids moléculaires associés à l'albumine par des ponts disulfures. Elle s'organise en complexes multimériques de plus de 1×10^6 à 2×10^6 kDa (Eckersall et Conner 1990 ; Morimatsu *et al.*, 1991). Sur un profil électrophorétique, l'Hp bovine migre en région β -1 contrairement aux autres espèces, chez lesquelles elle a plutôt tendance à migrer en région α -2 (Morimatsu *et al.*, 1991).

2.2.2 Synthèse : L'Hp est synthétisée principalement au niveau des hépatocytes, il existe aussi une synthèse originaire du tissu adipeux, l'expression du gène codant pour l'Hp s'accroît dans les adipocytes lors d'inflammation (Friedrichs *et al.*, 1995)). Hiss *et al.*, (2004) ont confirmé son expression au niveau de la glande mammaire chez la vache laitière.

2.2.3 Rôles : L'Hp se lie à l'hémoglobine (Hb) lors d'érythrolyse et ce complexe est très stable tant *in vivo* qu'*in vitro*. Son rôle n'est cependant pas celui d'une protéine de transport pour l'Hb car l'Hp ne se dissocie jamais du complexe *in vivo*. C'est en réalité une protéine suicide qui élimine l'Hb libre circulante en vue de protéger l'hôte contre son activité oxydative, et le rein contre la néphro-toxicité de l'Hb libre. Elle permet également de récupérer le fer (Gruys *et al.*, 1993, Miller *et al.*, 1997).

La disparition du complexe Hp-Hb se fait au niveau du système réticulo-endothélial hépatique qui le prélève par endocytose; chez la chèvre et le mouton, la demi-vie du complexe est de 8 à 9 heures (Osada, 1988 cité par Humblet et Godeau.,2005). Les complexes Hp-Hb incorporés dans les phagolysosomes des cellules phagocytaires pourraient générer des radicaux libres ayant une activité microbicide direct (Lewis et Dyer, 1995). S'ajoutent à cela des effets antitumoraux contre certaines lignées de cellules tumorales *in vitro* : il a notamment induit l'apoptose de cellules hépatocarcinomeuses Hep3B. Le complexe pourrait être impliqué dans la régression spontanée de tumeurs (Kim *et al.*, 1995 cité par Humblet et Godeau.,2005).

Les cellules phagocytaires, neutrophiles et monocytes, peuvent capter une fraction de l'Hp circulante et la concentrer dans leurs granules cytoplasmiques, pour la libérer ultérieurement par exocytose sur le site d'inflammation (Wagner *et al.*, 1996).

L'Hp se lie à des récepteurs de surface particuliers, appartenant à la famille des intégrines situés sur les monocytes et les granulocytes (CD11b/CD18) et peut altérer la migration des neutrophiles. Elle agirait comme antagoniste dans l'activation du système immunitaire (El-Ghmati *et al.*, 1996 ; Wagner *et al.*, 1996). Elle inhibe l'activité protéolytique de la cathepsine B, une enzyme de dégradation libérée par les neutrophiles activés *in vitro* (Pagano *et al.*, 1980 cité par Humblet et Godeau.,2005). L'Hp diminuerait la production d'anticorps en interférant directement avec la prolifération des cellules B et T, ce qui a été également démontré chez le veau par suppression de la blastogenèse de lymphocytes en culture (Murata et Miyamoto, 1993). L'Hp régule la synthèse des prostaglandines en inhibant la prostaglandine H synthétase, et démontre ainsi une activité anti-inflammatoire *in vitro* (Jue *et al.*, 1983 cité par Humblet et Godeau.,2005). L'Hp a un rôle bactériostatique en rendant le fer de l'Hb non disponible pour les bactéries, mais également une activité bactéricide directe, elle serait capable d'inhiber la croissance de *Streptococcus pyogenes*, *in vitro* (Delange et al., 1998).

L'Hp serait impliquée dans la régulation du métabolisme des lipides : elle est associée aux lipoprotéines après son induction et sa libération dans le plasma (Nakagawa et al, 1997 ; Katoh et Nakagawa, 1999). Elle modifierait la concentration en lipoprotéines ainsi que la distribution des lipides et apolipoprotéines plasmatiques. L'Hp a été détectée dans les fractions HDL et VHDL de veaux infectés expérimentalement avec *Mannheimia haemolytica* et dans celles de vaches en lipidose hépatique (Katoh et Nakagawa, 1999).

2.3 Sérum amyloïde A

2.3.1 Nature biologique: Le terme SAA regroupe un ensemble d'apolipoprotéines, Le poids moléculaire du SAA est estimé approximativement à 180kDa (Pepys et al., 1983 cité par Petersen et al., 2004) on le retrouve naturellement en complexe avec les lipoprotéines. Deux isoformes différentes ont été décrites chez les bovins, tandis qu'on en a décrit trois chez les équins. Il faut noter entre autres, la présence d'une forme spécifique dans le lait de vache appelée « milk-SAA » ou bien « MAA » cela indique une synthèse locale induite par une atteinte de mammite (McDonald et al., 2001).

2.3.2 Principaux rôles: Le SAA (sérum amyloïde A) est responsable du transport du cholestérol issu des cellules détruites pour les hépatocytes (Liang et Sipe, 1991). Il jouerait un rôle inhibiteur pour la fièvre (Shainkin-Kestenbaum et al., 1991). In vitro, il a un effet inhibiteur de l'immunité (Aldo-Benson et Benson, 1982 cité par Petersen et al, 2004). Il est responsable de la mobilisation du calcium par les monocytes (Badolato et al., 1995). Zimlichman et al., (1990) cité par Petersen et al, (2004) ajoutent que le SAA est impliqué dans l'inhibition de l'activité plaquettaire.

2.4 Protéine C réactive

D'après Pepys, (2005) l'étude de la réponse de la phase aiguë de l'inflammation a commencé après la découverte de la protéine C-réactive (CRP) il y a 75 ans. Tout de suite, elle a pris une importance dans la pratique clinique humaine en tant que marqueur de la phase aiguë de l'inflammation. On lui prête entre autres des propriétés cardio-protectrices et neuro-protectrices.

2.4.1 Nature biologique: L'origine de son appellation est due à sa propriété de s'attacher à la C-polysaccharide pneumococcale. Cette protéine a été découverte dans le sang chez un patient souffrant d'une pneumonie à pneumocoques (Tillet et Francis, (1930) cité par Petersen et al, 2004).

La CRP a une taille moléculaire approximative de 115 kDa et elle est constituée par cinq non-covalentes sous unités de polypeptides associées (Pepys et al., (1983) cités par Petersen et al., 2004).

2.4.2 Principaux rôles: Elle est impliquée dans l'activation et l'opsonisation du complément (Volanakis,1982 cité par Petersen et al., 2004), et est responsable de la modulation de la production des cytokines par les macrophages et les monocytes (Ballou et Kushner, 1992 ; Cermak et al., 1993 ; Pue et al.,1996).

La protéine C réactive (CRP) est une APP chez le chien (Conner et al., 1988 *citée par Humblet et Godeau., 2005*), le porc (Eckersall et al., 1996) mais elle n'est pas considérée comme telle chez le bovin, bien qu'elle soit présente dans le sérum de cette espèce dans les conditions physiologiques (Kent, 1992).

2.5 L' Alpha (1) - AGP (acide glyco-protéine):

2.5.1 Nature biologique: Elle est de nature, glycoprotéique. Son poids moléculaire varie de 31 à 40 000KDa (45% de son poids est représenté par les radicaux glycosylés). Elle est constituée de chaînes polypeptidiques de 183 acides aminés, associées en 2 à 4 branches de radicaux glycosylés (Iwata et al., 1987 ; Tamura et al., 1989).

2.5.2 Principaux rôles: Elle est impliquée dans la restauration du tissu conjonctif, en se déposant sur la surface des fibres élastiques néoformées, elle les protège des sérines protéases présentes sur le site inflammatoire. Elle agirait comme un co- facteur de l'héparine, réduirait l'agrégation plaquettaire. On lui attribuerait des fonctions immuno- modulatrices (Fournier et al., 2000). L'alpha-1-glycoprotéine acide (AGP) est un excellent marqueur de l'inflammation chez le chien, mais également chez le chat, lors de péritonite infectieuse féline notamment (Solter *et al.*, 1991 ; Duthie *et al.*, 1997).

2.6 Le Fibrinogène :

2.6.1 Nature biologique : Le fibrinogène occupe un rôle important dans l'homéostasie en cas de lésion de l'endothélium vasculaire (Davalos et Akassoglou, 2012). Il est composé de trois chaînes polypeptidiques reliées par des ponts disulfure et une glycoprotéine (Gentry, 1999). Il joue un rôle important dans les processus d'homéostasie, en fournissant un substrat pour la formation de la fibrine. Il est également impliqué dans la réparation des tissus (Thomas, 2000).

2.6.2 Rôle : Il est considéré comme un marqueur de l'inflammation dans les espèces bovine, ovine et équine (Allen et Kold, 1988 ; Conner *et al.*, 1988 ; Pfeffer et Rogers, 1989 *cités par Humblet et Godeau., 2005*). Les concentrations plasmatiques en fibrinogène sont significativement plus faibles chez le veau par rapport à l'adulte (Vestweber *et al.*, 1990). Le fibrinogène est éliminé du plasma par conversion en un caillot de fibrine avec d'autres facteurs de coagulation (Lundblad, 2003). Le fibrinogène, migre vers la zone β Globuline par électrophorèse, il peut influencer sur la séparation correcte et l'identification des autres fractions (Rossi et al, 2008).

Le fibrinogène (Fbg), est un précurseur de la fibrine, il est également une protéine de phase aiguë de l'inflammation, au cours du processus de cascade de la coagulation il constitue le substrat final dans la formation d'un caillot qui est converti en sa forme de fibrine insoluble (Davalos et Akassoglou, 2012). Chez les bovins, le fibrinogène est utilisé pour déterminer les maladies inflammatoires et traumatiques et se caractérise par une synthèse accrue lors d'une réponse d'origine infectieuse (Hirvonen et Pyörälä, 1998).

2.7 Les protéines de la phase aiguë de l'inflammation d'intérêt clinique, pour l'espèce bovine:

Chez les bovins, les principales protéines de l'inflammation aiguë ont été identifiées.

1. Les marqueurs négatifs sont : le fer, le zinc, le calcium, les vitamines A et E, mais également l'albumine (Jacobsen *et al.*, 2004). MacNair *et al.*, 1998 ont pu démontrer que la **transferrine** s'est également comportée comme une APP négative chez des bovins infectés expérimentalement par *Haemophilus somnus*. La synthèse de l'albumine est diminuée et les acides aminés sont utilisés principalement pour la synthèse des protéines de phase aiguë positive (Aldred et Schreiber, 1993).

2. Parmi les marqueurs positifs, il faudra retenir le fibrinogène, l'alpha-1-antitrypsine, l'alpha-1-antichymotrypsine, la céruloplasmine, l'alpha-1-glycoprotéine acide et l'alpha-2-macroglobuline (Godson *et al.*, 1995). Le SAA est considéré comme un des deux principaux marqueurs de l'inflammation aiguë chez le bovin (Gruys *et al.*, 1993 ; Alsemgeest *et al.*, 1994). L'haptoglobine est considérée comme l'autre APP majeure chez les ruminants, et plus particulièrement dans l'espèce bovine (Skinner *et al.*, 1991 ; Gruys *et al.*, 1994). Elle est très intéressante à considérer chez cette espèce car elle présente les caractéristiques idéales d'une protéine de l'inflammation aiguë qui ont été décrites auparavant (Humblet et Godeau, 2005).

La **fétuine** est la première protéine foetale à avoir été décrite et identifiée comme APP dans l'espèce bovine, sa concentration est importante pendant le développement foetal des artiodactyles, mais également lors de traumatismes chez le bovin. Elle est également considérée comme une protéine de l'inflammation aiguë chez les bovins (Dziegielewska *et al.*, 1992).

Par ailleurs, La protéine-C réactive n'est pas considérée comme une APP chez les bovins, mais elle joue un rôle prépondérant pour le même usage chez les autres espèces animales (Nakajima *et al.*, 1993).

Dans ce qui suit, nous présentons une synthèse des principales pathologies détectées grâce aux protéines de la phase aiguë de l'inflammation :

2.7.1 Dépistage des mammites : L'intérêt économique et sanitaire de cette maladie n'est plus à démontrer de nos jours, et notre pays n'en est pas moins concerné que d'autres. S'en prémunir ou l'éradiquer ou tout au plus, limiter son incidence reste l'une des préoccupations majeures de la médecine vétérinaire. Témoigne en cela, l'abondance d'ouvrages traitant ce problème. Au cours de ces dernières années, nous connaissons de nombreuses méthodes de dépistage à savoir : C.M.T (californian mastitis test), tests bactériologiques, biochimiques, immunologiques, chacune ayant ses avantages et ses inconvénients. Dans ce qui va suivre, nous présenterons un certain nombre d'études concernant une méthode récente et alternative qui est l'usage du dosage des protéines de la phase aiguë pour le diagnostic des mammites insidieuses (subclinique ou latente) :

- **L'haptoglobine :** l'expérience réalisée par Riollet et al., (2000) sur des vaches saines auxquelles on aurait provoqué une infection mammaire par des anatoxines *Staphylococcus aureus* a révélé la présence d'une augmentation de la concentration de l'haptoglobine 4 jours après l'inoculation. Celle-ci coïncide avec une très forte concentration de population de lymphocytes et de neutrophiles témoins de l'immunisation. Ils signalent d'autre part que lors d'une affection mammaire chronique une nette baisse des cytokines (Riollet et al., 2000). Les travaux de Fitzpatrick et al., (1998) montrent que l'augmentation de la concentration de l'haptoglobine en cas de mammité concerne aussi bien les vaches atteintes de mammites légères que les vaches atteintes de mammites modérées (dans ces travaux ils considèrent les mammites légères moins graves que les mammites modérées du point de vue lésionnel. Les deux cas ayant un niveau plus élevé que les vaches saines. Ils signalent aussi que le taux d'haptoglobine dans les cas de mammites légères revient à la normale après traitement (concentration sérique analogue à celle des vaches saines). Malheureusement, les méthodes colorimétriques utilisées pour doser l'Hp sérique ne conviennent pas pour doser l'Hp dans le lait car l'activité peroxydasique du lait interfère avec la technique (Eckersall *et al.*, 2001b). Par ailleurs, Eckersall *et al.*, (2001b) ont réussi à doser l'Hp dans le lait de vaches avec mammites par immuno-diffusion ; ils ont également pu établir une très haute corrélation entre le taux d'Hp dans le lait et dans le sang. Néanmoins, cette méthode ne s'est pas avérée suffisamment sensible pour déterminer l'Hp dans le lait des vaches saines. Au cours de cette même étude, ce sont les vaches souffrant de mammité sévère qui ont le mieux répondu en Hp.

Cette corrélation entre Hp du lait et Hp sérique a été confirmée par (Nielsen et al., 2004). L'hypothèse d'un passage dans le lait depuis la circulation sanguine a été envisagée. Young et al., (2005), ont expérimenté avec succès des méthodes de dosage (real-time RT-PCR) associant la détection des protéines de l'inflammation de la phase aiguë et les cytokines pour le diagnostic de mammites à *Staphylococcus aureus*. Åkerstedt et al., (2005) ainsi que Grönlund et al., (2003) pencheraient plutôt pour l'utilisation d'un test ELISA pour le dosage de l'haptoglobine.

- **Le sérum amyloïde A** : d'autres auteurs constatent avec succès l'usage du dosage du sérum amyloïde A dans le lait pour le diagnostic des mammites (O'Mahony et al., (2005) ; Berry et al., (2005) ; McDonalds, (2001)). Plus encore Pyörälä, (2000) et (2003), propose comme nouvelles techniques pour la détection des mammites au niveau des fermes à l'échelle du troupeau l'usage des protéines de l'inflammation moins contraignantes que les tests bactériologiques. Elle cite entre autre, le test de conductivité électrique et des examens biochimiques concernant les molécules telles que N-acetyl-D-glucosaminidase. Mais elle affirme plus tard, que le dosage du SAA dans le lait est le test le plus significatif Pyörälä, (2005). Bien d'autres travaux révéleront l'importance et l'intérêt de l'usage du sérum amyloïde A en tant que test de routine pour le dépistage des mammites (Grönlund et Anderson, (2004) ; Petersen et al., (2005) ; Eckersall et al., (2005) ; **Eckersall et al., (2001 b)** ; Eckersall et al., (2005) ; Nielsen et al., (2004) ; Molenaar et al., (2005) ; Winter et al., (2005)). Grönlund et al., (2005) considèrent que les deux molécules, haptoglobine et sérum amyloïde A, sont à prendre ensemble comme marqueurs de l'inflammation mammaire.

- Ceciliani et al., (2005) révèlent l'existence d'une autre molécule qui pourrait jouer un rôle important en tant qu'immunomodulateur lors de l'inflammation de la glande mammaire, il s'agit de la AGP ou BoAGP (**bovine α 1-acid glycoprotein**) qu'on trouve dans le colostrum et aussi tout au long de la production laitière.

2.7.2 Stress d'élevage : Slocombe et Colditz, (2005), constatent une augmentation de la concentration sérique de l'haptoglobine dans les élevages bovins qui subissent une intense et stressante activité de production associée à une défaillance de l'activité lymphocytaire. Aussi, Bach et al., (2005) pensent que le stress social est aussi révélé par le dosage de l'haptoglobine.

Quant au stress de transport il a été étudié par Arthington et al., (2003), ils montrent qu'il est responsable de l'augmentation surtout du sérum amyloïde A par rapport à l'haptoglobine et ceci chez les veaux nouvellement sevrés. Un transport de plus de 1400 km réalisé en 2 jours s'est accompagné d'une augmentation de la synthèse d'Hp chez des veaux de 6 mois (Murata et Miyamoto, 1993). Swanson et Morrow-Tesch, (2001) confirment que l'état de stress provoqué par le transport du bétail est caractérisé par une augmentation de la concentration de l'haptoglobine, celle-ci correspond à la suppression de l'activité lymphocytaire et donc à une immunodépression fragilisant les défenses de l'organisme animal. Dans ce cas de figure l'haptoglobine constitue un élément sentinelle de l'agression subie par ces animaux au cours de leur transport. Ces résultats seront aussi étayés par les observations d'Eicher, (2001). Selon Merlot, (2004) des situations de stress aigu (un transport, un regroupement) ou chronique (conditions de logement contraignantes) affectent la fonction immunitaire chez les animaux d'élevage. La réponse au stress est caractérisée par l'activation de l'axe corticotrope, dont les hormones inhibent l'activité des leucocytes, et la libération de nombreuses autres hormones et neuromédiateurs immuno- actifs et immunosuppresseurs (hormone de croissance, prolactine, enképhalines...). Ainsi, l'augmentation transitoire du ratio neutrophiles / lymphocytes dans le sang et l'inhibition de la capacité des lymphocytes sanguins à proliférer (susceptibles de croître), sont des indicateurs d'une réponse de stress. L'Hp pourrait servir d'indicateur de bien-être (Alsemgeest et al., 1995 ; Fisher et al., 1997). Lee et al, (2003) affirment que la CRP est un bon marqueur pour évaluer l'état de santé d'un troupeau, il est également utilisé pour évaluer les niveaux de stress et la surveillance des conditions d'élevage dans un troupeau laitier.

- 2.7.3 Suivi sanitaire du troupeau :** Au niveau d'un cheptel les APPs (acute phase protéins) peuvent déterminer la répartition épidémiologique des sujets atteints (classe d'âge, la part du système de production) ceci permettra d'améliorer les actions préventives envers les affections cliniques et subcliniques (maladies insidieuses). Ils peuvent servir en tant qu'outil de pronostic en utilisant comme référence, le taux et la constance de leur taux sérique, car ces derniers reflètent l'intensité de l'affection (Petersen et al., 2004). L'Hp pourrait également avoir une influence sur la décision d'instaurer un traitement chez un animal en inflammation aiguë, car c'est un outil objectif d'évaluation de la sévérité d'une pathologie inflammatoire (Berry *et al.*, 2004).
- 2.7.4 Inspection des viandes :** Tourlomossis et al, (2004) ont prélevé des échantillons sanguins en *anté-mortem* sur des bovins destinés à l'abattage, puis ils ont réalisé l'examen des viandes en *post-mortem*. La moyenne du niveau de Hp sanguin était : $0,11 \pm 0,08$ mg/ml pour les bœufs et 0,02-0,03 mg/ml pour les vaches, qui ne présentaient aucune pathologie. Tandis que pour les sujets atteints, la moyenne était de l'ordre de $0,27 \pm 0,40$ mg/mL. En effet, l'Hp est intéressante pour vérifier la présence de lésions tissulaires à l'abattoir (Saini et Webert, 1991 ; Gruys *et al.*, 1993). C'est également le marqueur idéal pour établir des corrélations entre les taux mesurés avant l'abattage et l'étendue des lésions observées en post-mortem. Il serait intéressant, dans cette optique, d'envisager la détermination d'une valeur seuil au-delà de laquelle une carcasse serait automatiquement écartée de la chaîne.
- 2.7.5 Contrôle de la période péri-partum :** Crawford et al., (2005) ont entrepris une étude qui avait pour objectif d'évaluer l'impact de l'administration d'une capsule de « monensin » à libération contrôlée (CRC) durant la période **pré-vêlage** sur les niveaux d'haptoglobine en période post-vêlage. Le rôle de la maladie sur les niveaux d'haptoglobine a également été examiné. L'haptoglobine s'est avérée un bon indicateur de maladie inflammatoire. Un traitement au « monensin » CRC était associé avec une augmentation des concentrations d'haptoglobine chez des animaux cliniquement malades, démontrant peut-être une meilleure capacité à répondre à un processus pathologique. Piccinini et al., (2004) ont exploré la période post-partum, ils ont notamment trouvé que l'haptoglobine était témoin de la baisse de la fonction immunitaire au cours de la phase qui suit le vêlage et qui s'étend à 4 semaines.

Il faut signaler qu'il serait délicat d'utiliser l'Hp comme marqueur d'inflammation aiguë dans les jours qui suivent le vêlage puisqu'il a été décrit antérieurement que l'Hp pouvait présenter une augmentation physiologique de sa concentration sérique lors de la parturition (Uchida *et al.*, 1993).

Par ailleurs Humblet *et al.*, (2005) déconseillent l'utilisation du dosage de l'haptoglobine et du sérum amyloïde A au cours de la semaine qui suit la mise bas chez les vaches laitières, car ceux-ci augmentent de manière physiologique. Leur capacité en cette période pour identifier des processus pathologiques décroît. Néanmoins, ils considèrent que leur usage est d'un apport certain au diagnostic et à la gestion du statut sanitaire au sein des troupeaux. Cette constatation est de l'avis de nombreux autres auteurs (Gruys *et al.*, 2005 ; Fűrill, 2005)

2.7.6 Détection de pathologies infectieuses diverses : Certaines études n'ont mis en évidence aucune réponse en Hp au cours de maladies virales telles que la peste ou la leucose bovine (Spooner et Miller, 1971 ; Panndorf *et al.*, 1976 cité par Humblet et Godeau, 2005). Par ailleurs, chez des bovins souffrant de fièvre aphteuse après la phase de virémie, ont eu une augmentation d'Hp (le jour même de l'apparition des signes cliniques, maximum 1 ou 2 jours après), (Hofner *et al.*, 1994). Concernant les infections parasitaires, des veaux infectés expérimentalement avec des larves de *Dictyocaulus viviparus* ont présenté une réponse en Hp, mais elle était probablement liée aux lésions pulmonaires engendrées par la migration du parasite, plutôt qu'à sa présence même (Ganheim *et al.*, 2004). Les parasites sanguins peuvent néanmoins être responsables d'une stimulation de la synthèse d'Hp comme lors d'infections à *Trypanosoma brucei* chez la souris (Eckersall *et al.*, 2001a). Lorsque l'hémolyse s'accompagne d'un phénomène inflammatoire concomitant, la diminution de l'Hp est généralement plus rapide que son augmentation, comme cela a été observé dans des cas de Theileriose bovine (Glass *et al.*, 2003). Farranet *al.*, 2002 ont trouvé lors d'une intoxication des vaches, aux endotoxines dans des rations à base de suif, une augmentation significative en haptoglobine. Par ailleurs, Villarreal-Ramos *et al.*, (2000) ont vérifié avec succès l'augmentation du taux d'haptoglobine lors d'une infection à *Salmonella typhimurium* dans le bétail. Müller-Doblies *et al.*, (2004) expérimentant la réponse antivirale des bovins au virus de la diarrhée bovine (BVD) ont révélé une augmentation significative de l'haptoglobine à partir du 8^{ème} jour et celle du SAA à partir du 4^{ème} jour.

Cheryk et al, (1998) ont étudié l'activité des plaquettes chez des veaux après inoculation intra- bronchique de *Pasteurella haemolytica* (biotype A, serotype 1). Les examens biochimiques ont révélé entre autres que les protéines de la phase aiguë, l'haptoglobine et le fibrinogène, approchaient leurs valeurs maximales.

2.7.7 Détection de l'infection utérine : Plusieurs études ont mis en évidence une valeur moyenne en Hp chez les animaux en métrite aiguë supérieure à 1000 mg/L. Tandis que lors d'endométrite chronique, la valeur moyenne était inférieure à 50 mg/L (Smith et al., 1998b). **Néanmoins, dans d'autres cas, l'Hp est restée basse ou légèrement augmentée (de manière non significative) chez la plupart des animaux en métrite aiguë (Hirvonen et al., 1999b).** La concentration en Hp après le vêlage serait corrélée au degré de contamination bactérienne de l'utérus (Sheldon et al., 2001).

2.7.8 Détection des pathologies respiratoires : Berry et al., (2005) pensent que l'usage du dosage de l'haptoglobine comme outil de diagnostic à l'échelle du troupeau revêt un intérêt certain pour les pathologies respiratoires. Ceci rejoint les résultats trouvés par Wittum et al, (2005) concernant l'haptoglobine dont ils observent une grande variation entre animaux atteints de pathologie respiratoire, seulement son taux baisse lors d'une réponse positive au traitement. Hodgson, (2005) confirme plus précisément ces résultats lors d'une infection par *Pasteurella multocida* chez les bovins, responsables de graves pneumonies. D'autres auteurs pensent que parmi les pathologies virales, ce sont sans aucun doute les atteintes respiratoires qui sont les plus susceptibles de s'accompagner d'une réponse en Hp significative, notamment chez des veaux à l'engraissement (Heegaard et al., 2000 ; Grell et al., 2005). Néanmoins, lors d'une étude antérieure réalisée chez des veaux « Hereford » infectés expérimentalement avec le virus du BHV-1, peu d'animaux ont en réalité présenté une réponse en Hp (Godson et al., 1996). En effet, dans le cas des maladies respiratoires bactériennes, il existe une grande variabilité de la réponse de l'haptoglobine. Certaines études ont montré que l'intensité de la réponse n'était pas systématiquement corrélée avec la sévérité de la pathologie (Godson et al., 1996 ; Wittum et al., 1996 ; Young et al., 1996 ; Godeau et al., 2000 ; Humblet et al., 2004).

2.7.9 Contrôle de l'efficacité du traitement et suivi post- opératoire : L'Hp pourrait s'avérer utile dans la détection d'éventuelles complications infectieuses en période post-opératoire à condition de comparer les taux pré- et post-opératoires (Hirvonen et Pyörälä, 1998). Un rôle de l'Hp en tant qu'indicateur de pronostic a également été proposé : un taux d'Hp supérieur à 1000 mg/L laisserait présager un pronostic mauvais (Eckersall et Conner, 1988). Afin de déterminer l'efficacité d'un traitement à base d'antibiotique pour la rémission d'une métrite puerpérale Smith et al.,(1998) ont utilisé le dosage de l'haptoglobine.

Au début, toutes les vaches atteintes de métrite ont présenté un taux supérieur à 10mg/dL, plus tard, celles qui ont développé une réponse favorable au traitement n'avaient aucune augmentation de leur taux sérique.

En effet, le suivi des concentrations en Hp permet également d'apprécier l'efficacité d'un traitement (Hirvonen et Pyörälä, 1998). Smith et al., (1998a) ont soumis des vaches souffrant de métrite toxique puerpérale à trois antibiothérapies différentes et ont observé l'évolution des concentrations en Hp : elles ont présenté une diminution régulière entre le premier et le cinquième jour après instauration du traitement.

Une concentration inférieure à 100 mg/L était observée au cinquième jour chez tous les animaux. Plusieurs auteurs ont démontré que la diminution rapide d'Hp en cours de traitement pouvait être une preuve de son efficacité, que ce soit lors d'infections respiratoires ou génitales (Wittum et al., 1996 ; Young et al., 1996 ; Smith et al., 1998a). La castration représente l'un des actes opératoires les plus répandus en pratique rurale, néanmoins elle comporte des inconvénients affectant la vie même de l'animal par l'apparition de complications de surinfections secondaires survenant après l'acte chirurgical. Nous proposons dans ce paragraphe quelques travaux de chercheurs appliquant le dosage des protéines de la phase aiguë pour le suivi post-opératoire : Fisher et al., (2001) ont comparé deux méthodes de castration grâce au dosage de l'haptoglobine pour déterminer la persistance des processus inflammatoires, l'une chirurgicale tandis que l'autre utilise des bandes de latex. La même méthode pour l'étude des effets d'un anti-inflammatoire (Ketoprofen) a été réalisée avec le dosage de l'haptoglobine par Ting et al., (2003).

2.7.10 Les maladies métaboliques : Les maladies métaboliques ne représentent pas un stimulus efficace pour la synthèse d'Hp, étant donné le caractère non inflammatoire de ce type de pathologies. Au cours d'une étude réalisée chez la vache laitière, les cas de cétose et de fièvre de lait ne s'étaient pas accompagnés d'une réponse en APPs (Skinner *et al.*, 1991). La lipidose hépatique fait exception à la règle, et peut s'accompagner d'une induction de la sécrétion d'Hp chez la vache laitière (Yoshino *et al.*, 1993 ; Nakagawa *et al.*, 1997 ; Katoh et Nakagawa, 1999).

2.8 Techniques de dosage appliquées à l'haptoglobine et le fibrinogène :

2.8.1 Dosage de l'haptoglobine

- **Spectrophotométrie différentielle:** Il s'agit d'une méthode colorimétrique basée sur l'HbBC ou *Haemoglobin binding capacity*, qui s'appuie sur la particularité qu'a l'Hp d'améliorer l'activité peroxydasique de l'Hb, dans des conditions de pH acide, lorsqu'elle lui est associée. De l'eau oxygénée est rajoutée et son clivage est mis en évidence par le changement de couleur du réactif, le guaïacol (incolore au départ) qui forme un composé coloré quand il est oxydé (Skinner *et al.*, 1991). Cette coloration est alors mesurée et comparée à un standard connu. L'hémolyse peut néanmoins interférer avec cette technique (Salonen *et al.*, 1996).

Néanmoins Eckersall *et al.*, (1999) affirment que les méthodes de dosage de l'haptoglobine qui se basent sur sa capacité à se lier à l'hémoglobine (hemoglobine binding) peuvent avoir des interférences lors du dosage de l'haptoglobine par l'albumine lorsque sa concentration atteint 0,28 mg/ml et cela tout en faussant les interprétations des résultats pour des concentrations considérées comme normales pour l'Hp. Actuellement, un mélange du réactif (SB-7) a été élaboré pour inhiber les effets inopportuns de l'albumine. Des automates ont été élaborés utilisant « Hp SB-7 » ; avec des coefficients de corrélation de 0,96-0,90 comparativement avec les méthodes d'immunodiffusion. Il a été considéré comme précis et l'intervention de l'albumine est négligeable (Eckersall *et al.*, 1999).

- **Mesure de l'activité péroxidasique de l'hémoglobine :** Méthode de Makimura et Suzuki (1982) : dans un premier tube, 0,1ml d'une solution à 30mg/100ml d'hémoglobine (obtenue par la lyse de globules rouges dans de l'eau distillée et du toluène) est mélangée à 0,02ml de sérum à analyser. Un volume de 0,02 ml de cette solution est transféré dans un deuxième tube contenant 5 ml d'une préparation d'o-dianisidine (0,6 pour mille, pH=4,1). Après incubation à 37°C pendant 45minutes, temps nécessaire à l'activation complète de l'hémoglobine libre. L'addition de 0,05ml de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 200 mm sert de révélateur colorimétrique.

La mesure de l'intensité de cette couleur est réalisée au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 440nm. Une mesure est aussi faite sur un témoin négatif (mélange des réactifs sans le sérum). L'automatisation de cette technique en vue de l'améliorer pour pallier à ces nombreux inconvénients (nécessité de beaucoup de temps) est actuellement disponible (Smith et al., 1998).

- **HPLC (High performance Liquid Chromatography):** Cette technique, consiste à ajouter à l'échantillon de sérum à analyser de la « **cyanméthémoglobine en excès** » puis à séparer le complexe Hp-HbCN de l'hémoglobine libre par chromatographie. Cette technique nécessite la dépolymérisation de l'haptoglobine du sérum par une solution à 100 mM de **2-mercaptoéthanol**.

La lecture du degré d'absorption au spectrophotomètre à 398nm (longueur d'onde) permet d'observer la migration du complexe Hp-HbCN et de l'hémoglobine libre. La concentration en hémoglobine est déduite de la mesure de l'aire sous la courbe de migration et d'une courbe de concentration standard établie à partir de différentes dilutions d'un sérum standard. L'hémolyse des échantillons n'affecterait pas les résultats (Salonen et al.,1996).

- **Electrophorèse capillaire:** Dans cette méthode, l'Hp bovine est polymérisée par un excès d'Hb, puis le complexe Hp-Hb est séparé de l'Hb libre par électrophorèse. La vitesse de migration de l'Hb libre et celle des complexes étant différente, il devient possible de déterminer la concentration en Hp bovine par la quantification de l'Hb liée via la mesure de la surface sous la courbe (Pirlot et al., 1999).

Cette méthode serait néanmoins difficilement utilisable en routine vu son coût relativement élevé. Les principaux avantages de cette technique sont sa rapidité (10 minutes par échantillon).

- **Immunodiffusion radiale simple de Mancini (SRID) en gel d'agarose :** Cette méthode utilise des sérums polyclonaux anti-Hp bovine développés chez le lapin (Morimatsu et al., 1992), chez le mouton (Eckersall, 2000), incorporés aux plaques d'agarose. La mesure du diamètre des anneaux de précipitation formés par le complexe Hp-AcAntiHp est réalisée après 48 heures d'incubation à température ambiante ou à 37°C en boîte humide, selon les auteurs.

La concentration en haptoglobine est obtenue par référence à une gamme étalon (haptoglobine purifiée ou sérum standard). La sensibilité et la précision de la lecture sont augmentées de manière significative après dépolymérisation de l'haptoglobine de l'échantillon par une quantité équivalente d'une solution contenant 20mM de cystéine ou de glutathione (Morimatsu et al., 1992).

- **ELISA direct (*enzyme linked immunosorbent assays*):** Les plaques sont sensibilisées avec les protéines sériques. La détection s'effectue à l'aide d'anticorps monoclonaux. Des IgG de chèvre anti-souris, couplées à une enzyme à activité peroxydasique (HRP) qui permettent la révélation colorimétrique (Sheffield et al., 1994).
- **EIA et Modified EIA (*enzyme immunoassays*)**

L'EIA: les plaques sont sensibilisées à l'hémoglobine qui sert de molécule de capture pour l'haptoglobine. Les anticorps monoclonaux anti-Hp d'origine murine permettent la détection. Des IgG de chèvre anti-souris, conjuguées à une enzyme à activité peroxydase (HRP) servent à la révélation colorimétrique.

MTS-EIA : les anticorps mono- et polyclonaux sont directement couplés à la phosphatase alcaline, ce qui élimine la phase d'incubation des plaques avec les anticorps anti-souris et raccourcit ainsi la procédure. Cette technique est sensible à l'hémolyse (Saini et al., 1998).

EIA en compétition: Les plaques ELISA sont sensibilisées à l'haptoglobine (concentration connue). L'addition de l'échantillon puis d'une solution d'anticorps monoclonaux anti-Hp de titre connu est ensuite réalisée.

L'haptoglobine contenue dans l'échantillon rentre en compétition avec celle déjà présente sur les plaques vis-à-vis des anticorps monoclonaux. (McNair et al., 1995 ; McNair et al., 1997, Young et al., 1996)

- **ELISA indirect:** Des anticorps monoclonaux dirigés contre la sous-unité α de l'haptoglobine bovine servent à la sensibilisation des plaques et à la capture de l'haptoglobine de l'échantillon. La détection se fait à l'aide d'un second anticorps monoclonal dirigé contre un autre épitope et conjugué à la biotine.

La révélation colorimétrique se fait par une solution de streptavidine-HPR puis de streptavidine- phosphatase alcaline. L'hémolyse n'interfère pas avec les résultats (Godson et al., 1995).

Remarque : pour toutes les techniques ELISA, la lecture se fait par mesure de la densité optique de la réaction enzymatique à l'aide d'un spectrophotomètre.

2.8.2 Dosage du Fibrinogène

- **Analyse quantitative du caillot de fibrine :** le caillot de fibrine formé à partir du fibrinogène plasmatique sous l'action de la thrombine est évalué quantitativement par spectrophotométrie à 650nm (Campbell et al, 1981)
- **Précipitation du Fibrinogène par traitement thermique (méthode de SCHALM) :** Du sang est d'abord prélevé sur EDTA et deux tubes à micro-hématocrite sont ensuite remplis et centrifugés environ 5 minutes. L'un des deux tubes est chauffé dans un bain marie à 56-58 °C pendant 3 minutes puis à nouveau centrifugé. Ensuite la concentration en protéines totales du plasma contenue dans les 2 tubes est mesurée par un spectrophotomètre (Steven et al, 2002)
- **Analyse chronométrique :** en calculant le temps de coagulation plasmatique en présence d'un excès de thrombine : celle-ci est ajoutée dans du plasma préchauffé à 37 °C. Elle clive alors le fibrinogène « fonctionnel » en monomères qui vont se polymériser en fibrine d'abord soluble puis insoluble. Ce caillot de fibrine est détecté par des mesures optiques ou bien mécanique, comme par exemple avec une bille aimantée qui est attirée d'un côté puis de l'autre du puits où la réaction a lieu : une fois le caillot formé, il bloque l'aimant qui arrête de bouger.

Le temps de thrombine correspond au temps de formation de ce caillot et est donné en secondes (Steven et al, 2002).

- **Evaluation par des méthodes immunochimiques** : Cette méthode fait partie des méthodes **Turbidimétriques**, c'est-à-dire que l'on utilise des variations de « turbidité » du plasma, dues à la précipitation du fibrinogène par une substance, pour déterminer sa concentration. La variation de turbidité se traduit par une variation d'absorbance, qui est suivie par spectrophotométrie. La concentration en fibrinogène est ensuite calculée à l'aide d'une courbe de calibration (Ludwig et al, 2012)

2.9 Relation entre la fonction hépatique et la réaction inflammatoire :

L'origine de la synthèse des protéines de la phase aiguë se fait au niveau hépatique. Il est aussi établi que les marqueurs de l'insuffisance fonctionnelle hépatique sont les enzymes **cytolytiques ou cholestatique** (Gamma Gt, ALAT, ASAT, PAL,..). Horadagoda et *al.*, (1999) ainsi que, Nielsen et *al.*, (2005) mettent en relation l'infection dont le siège serait la glande mammaire révélée par une augmentation du taux de SAA dans le lait ; alors que ce dernier aurait comme source le foie. L'expérience menée par Calamari et *al.*, (2003) admet que le succès du tarissement, période cruciale pour la réussite de la production laitière, dépend de la gestion du niveau énergétique, essentiellement par le contrôle de l'apport lipidique et de son statut immunitaire. Il se trouve que le métabolisme de ces derniers (les lipides) serait compromis par l'influence des cytokines au niveau hépatique.

Leur étude réalisée sur des vaches au cours de la période péri-partum (avant et après le vêlage) a révélé que celles qui présentaient une activité lipidique insatisfaisante due à l'incapacité hépatique avaient un taux d'haptoglobine et de céruloplasmine élevé.

Ces taux correspondent aussi à une augmentation de l'enzyme G.O.T (ASAT : aspartate-aminotransférase) et à une baisse de l'albumine (dont la source principale est le foie). Ces deux derniers paramètres sont considérés comme les témoins de la souffrance hépatique. Les signes cliniques précurseurs d'une insuffisance hépatique sont peu pathognomoniques, ils ne se manifestent que lorsqu'une ou plusieurs fonctions du foie sont touchées car le foie a d'importantes capacités de compensation (Radostits, 2000). En revanche, les atteintes diffuses du foie (hépatite ou hépatose) sont plus susceptibles d'engendrer des signes cliniques.

En général, on parle de tableau clinique « protéiforme » lors d'affections hépatiques. Parmi l'ensemble des maladies métaboliques existantes chez la vache laitière il en est deux qui sont plus spécifiquement associées à un dysfonctionnement hépatique : la cétose et la lipidose.

Ce déséquilibre énergétique du début de lactation est par nature physiologique (un pourcentage élevé de vaches présente, au moment de la mise bas, une surcharge graisseuse du foie considérée comme normale (Smith, 2009) et des mécanismes hormonaux compensateurs se mettent en place, essentiellement par la néo-glycogénèse (cortisol) et la balance insuline/glucagon. Cependant, si le déséquilibre est trop fort (vache laitière haute productrice (VLHP), mauvais ajustement énergétique de la ration,...) ou si l'intégrité fonctionnelle du foie n'est pas totale (fasciolose, intoxications,...), ces mécanismes ne sont plus suffisants (Herdt, 2000). La cétogénèse prend le pas sur la néoglucogénèse. La surcharge graisseuse du foie, est une maladie métabolique, en général sporadique et peut être fatale. Cependant même si les vaches n'en meurent pas, leur carrière productrice est sérieusement compromise (Wolter, 1997). Comme il a été déjà précédemment évoqué les cytokines, sécrétées par les macrophages et monocytes, ainsi que les lymphocytes (T) suite à l'action stimulatrice des lipopolysaccharides, les endotoxines, l'ADN ou les peptidoglycanes d'origine bactérienne sont responsables de la sécrétion des APPs par les cellules hépatiques (Gabay et Kushner, 1999). Ces cytokines sont les médiateurs de la régulation de l'inflammation (Van Miert, 2002), et ceci en stimulant les cellules hépatiques, avec pour conséquence une augmentation de la transcription des ARN messagers codant pour les APPs (Gabay et Kushner, 1999).

Parmi ces cytokines, les principales sont : l'interleukine-1 (IL-1), l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale (TNF α).

Ainsi, elles joueraient le rôle de régulateur de la sécrétion des APPs (protéines de la phase aiguë de l'inflammation) (Gruys et al., 1994 ; Godson et al., 1995 ; Gabay et Kushner, 1999).

Castell et *al.*, (1988) cités par Humblet et Godeau.,(2005) affirment que les « IL-6 » restent néanmoins le régulateur majeur de la synthèse des protéines de l'inflammation aiguë. Les hépatocytes sont les cellules cibles visées par leur action. Elles interagissent avec un récepteur hépatique et il y a transduction du signal après son amplification.

Contrairement, Godson et al., (1995) parlent des « IL-1 » qui seraient un facteur important dans la réponse inflammatoire aiguë chez le bovin car leur injection provoquerait une élévation de température, une augmentation des leucocytes, de l'haptoglobine sérique, du fibrinogène et une diminution du zinc plasmatique.

2.10 Les marqueurs et les tests biochimiques des troubles hépatiques

Le foie devient incapable de conduire ses tâches métaboliques, de synthèse et de détoxification quand plus de 70% de sa masse fonctionnelle est lésée, que ce soit à cause d'une maladie hépatique congénitale ou acquise. Des indices importants de dysfonctionnement hépatique peuvent être mis en évidence lors d'analyses biochimiques (Jackson, 2007)

2.10.1 L'albuminémie : L'albumine est une protéine de petite taille avec un poids moléculaire de 69 kDa. Les principales fonctions de l'albumine sont le maintien de l'homéostasie par la régulation de la pression oncotique, tampon pH du sang et le transport des substances (acides gras, hormones liposolubles, bilirubine non conjuguées). Elle agit également comme un capteur de radicaux libres (Hankins, 2006). Le foie est le lieu unique de la synthèse d'albumine. Sa dégradation se fait dans le foie mais d'autres tissus peuvent intervenir : les muscles, les reins et la peau. La concentration plasmatique en albumine est déterminée par l'intensité de synthèse hépatique qui est en général en équilibre avec son élimination. Elle est responsable d'environ 75% de la pression osmotique du plasma et est une source majeure d'acides aminés qui peuvent être utilisés par le corps de l'animal lorsque cela est nécessaire (Mackiewicz, 1997).

L'hypoalbuminémie peut donc être entraînée par un manque de synthèse ce qui peut être un indice d'une hépatolyse sévère. Cependant, l'hypo- albuminémie peut résulter d'une fuite rénale causée par une glomérulopathie. Elle peut également être la conséquence d'une inflammation sévère de l'intestin entraînant une perte de protéines. L'hypo- albuminémie n'est donc pas spécifique d'une affection hépatique. Elle n'est pas non plus très sensible puisqu'elle n'apparaît qu'en fin d'évolution d'une maladie hépatique (Brugere-Picoux Et Brugere, 1981).

2.10.2 Diminution du rapport albumine/globuline (A/G) : Le rapport A / G normal se situe entre 0,6 et 0,9 chez les vaches, mais les concentrations relatives d'albumine et de globulines peuvent être altérées dans de nombreuses conditions ou maladies, ce qui entraîne des changements dans leur proportion (Kaneko, 1997). Également, Smith, (2009) considère que lors d'affections chroniques et sévères du foie, il y a généralement une augmentation des immunoglobulines (gammaglobulines : IgM, IgG, IgA) conjointement à une diminution de la concentration en albumine sérique.

Il peut également y avoir une augmentation des protéines inflammatoires telles que les globulines ALPHA 2 et BETA. Dans le cas d'abcès en cours d'évolution, on peut noter une augmentation du fibrinogène accompagnant la baisse du rapport A/G. Malheureusement, la diminution du rapport A/G n'est pas spécifique d'une atteinte du foie : il peut chuter lors de nombreuses maladies infectieuses ou auto-immunes (Brugère-picoux et Brugère, 1981), il peut également baisser à cause d'une hypoalbuminémie dont nous avons abordé le diagnostic différentiel. Seule une électrophorèse des protéines sériques (EPS) est réellement intéressante pour interpréter une baisse du rapport A/G.

2.10.3 Electrophorèse des protéines sériques (EPS) : L'électrophorèse est la technique la plus utilisée pour le fractionnement standard des protéines sériques en biochimie clinique et en biologie moléculaire (O'Connell et al, 2005). Par cette technique, la séparation des fractions protéiques se produit dans un milieu liquide libre créé par le tampon de faible viscosité, dans lequel l'application de haute tension génère un flux électro-osmotique provoquant un mouvement rapide des protéines vers la cathode (Giordano et Paltrinieri, 2010). Cela permet une meilleure séparation des protéines avec des caractéristiques physico-chimiques similaires, générant ainsi de multiples sous-pics ou des pics plus étroits (Petersen et al, 2003). L'électrophorèse des protéines sériques a fait l'objet d'études en médecine animale et équine, en particulier pour diagnostiquer cliniquement des maladies caractérisées par une dysprotéinémie (leishmaniose, ehrlichiose, péritonite infectieuse féline) ou pour identifier la présence d'une inflammation (Vavricka et al, 2009).

L'électrophorèse est basée sur le mouvement des particules chargées à travers un milieu tamponné soumis à un champ électrique (Azim et al, 2004). Les protéines sériques ont une charge négative, donc dans un champ électrique elles migrent vers le pôle positif et elles sont séparées les unes des autres par différentes bandes selon leur taille (Esmailnejad et al, 2014). La vitesse de leur mouvement dépend des caractéristiques de la protéine en cours de séparation, y compris sa charge électrique, sa taille et sa forme, ainsi que la force du champ électrique, le type de milieu utilisé pour la séparation et la température (Thrall et al, 2012).

Après séparation, les fractions protéiques sont fixées dans une solution acide pour dénaturer les protéines et les immobiliser sur le support (Tymchak et al, 2010). Les protéines sont ensuite colorées et quantifiées par mesure de densité, fournissant également des données graphiques pour pouvoir les analyser par ordinateur selon le système électrophorétique utilisé (Vavricka et al 2009). Chez les Ruminants le profil classique d'une EPS comprend : l'albumine et les globulines α, β, γ (voir la figure 25). La fraction α est la protéine migrant le plus rapidement par rapport à toutes les globulines, et dans la plupart des espèces, elle migre sous forme de fraction α_1 (rapide) et α_2 (lente). De nombreuses protéines de la phase aiguë de l'inflammation, considérées du point de vue diagnostique comme importantes, migrent dans cette fraction. La α_1 -antitrypsine, la glycoprotéine α_1 -acide, la α_1 -antichymotrypsine, la α_1 -fétoprotéine, la sérum amyloïde A et la α_1 -lipoprotéine ont été identifiées dans la zone α_1 -globuline, alors que l'haptoglobine, α_2 -microglobuline, α_2 -macroglobuline, céruloplasmine, α_2 -antiplasmine et α_2 -lipoprotéine dans α_2 fraction de -globuline (Bossuyt, 2006 ; Tóthová, 2014). Certaines variations pouvant se remarquer sur l'EPS peuvent confirmer une suspicion d'atteinte hépatique (Tóthová et al, 2018). Cependant elle ne s'interprète qu'en tenant compte des protéines totales.

On peut observer un pic d'albumine fin traduisant une hypoalbuminémie, bien que cela soit difficile à reconnaître (forme haute et pointue conservée). Un pic en α_2 (protéines de transport, de l'inflammation, de la coagulation fabriquées par le foie) peut être noté mais ce pic n'est pas spécifique puisqu'il peut tout aussi bien signer une insuffisance hépatique qu'un problème digestif ou toute autre inflammation (Tóthová et al, 2013).

Quand on ne peut pas distinguer les pics bêta et gamma, on parle de bloc bêta-gamma, pathognomonique d'une hépatite chronique (Kaneko, 1997), évoluant en cirrhose (rare chez les bovins).

On peut enfin noter une augmentation en γ globulines se présentant sous la forme d'un dôme à large base. Il s'agit d'une réaction polyclonale. Toujours présente lors d'une hépatite, cette réaction n'est pas spécifique car elle se retrouve également lors d'infections chroniques et de maladies à médiation immunitaire (Nagy et al, 2015).

Au cours des dernières années, l'électrophorèse capillaire est également utilisée dans les laboratoires vétérinaires (Crivellente et al, 2008).

L'électrophorèse des protéines constitue la meilleure méthode pour fournir une quantification plus précise de l'albumine (Cray et al, 2009). Cette méthode est également recommandée pour déterminer avec précision la distribution des globulines et de quantifier plusieurs fractions : (α -, β - et γ - globulines) (Cray et al, 2007 ; Cray et Tatum, 1999).

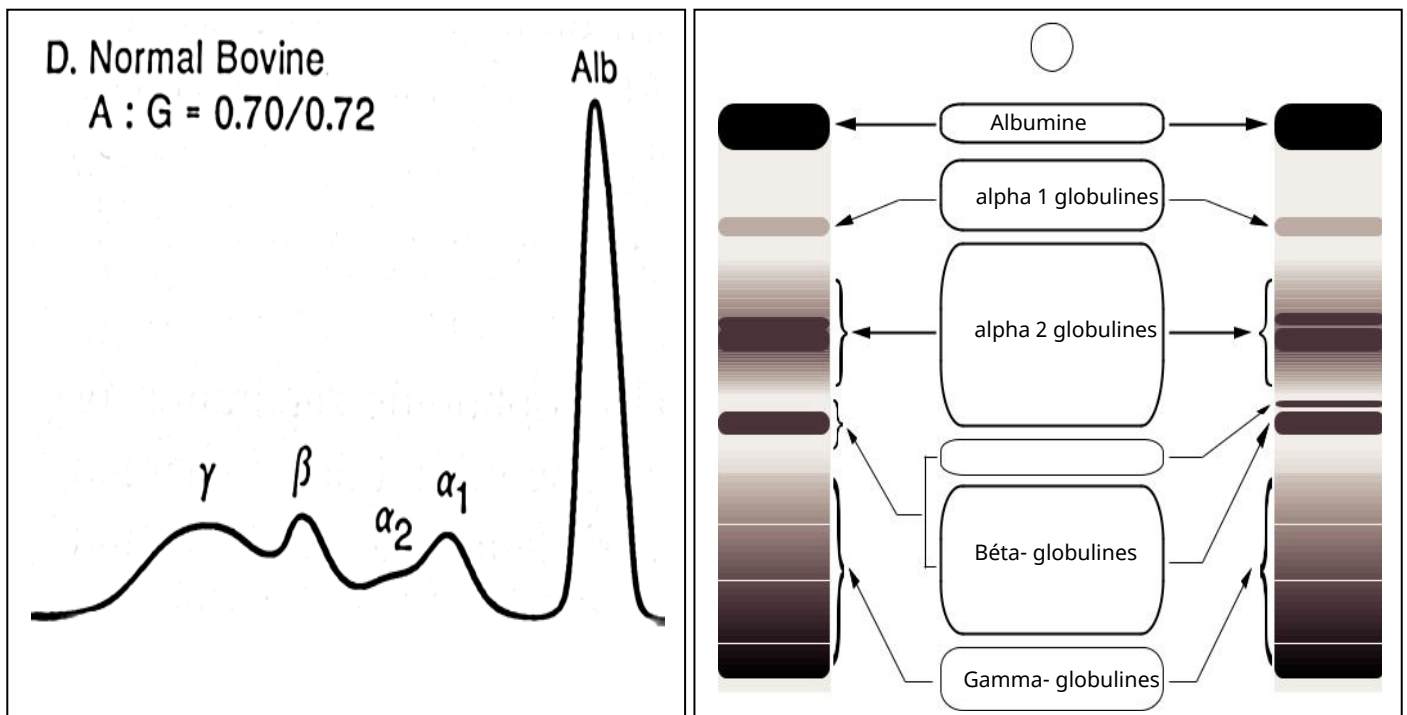


Figure (25) : Electrophorèse des protéines sériques chez un bovin sain (rapport A/G \approx 0,70) d'après Kaneko, (2000).

2.10.4 La Bilirubine : La bilirubine mesurée dans le sang est la bilirubine totale (BNC : non conjuguée et BC : conjuguée). En raison du cycle entéro-hépatique, le rapport BNC/BC qui sert classiquement de base dans nombre d'ouvrages pour déterminer l'origine d'un ictère est souvent ininterprétable. La perturbation biochimique sanguine principale est l'hyper-bilirubinémie qui précèdera toujours l'expression clinique d'un ictère (muqueuses jaunâtres, particulièrement au niveau de la sclère). La concentration à partir de laquelle se manifeste un ictère clinique n'est pas clairement établie. En effet pour Rosenberger (1977) cette concentration est de l'ordre de 34 $\mu\text{mole/L}$ alors que pour Tennant (1997) elle est plutôt de 50 $\mu\text{mole/L}$. Les élévations de bilirubinémie chez la vache laitière présentant une atteinte hépatique ne sont pas d'une grande intensité: il est en effet rare que l'on dépasse 34 $\mu\text{mole/L}$ d'après Pearson et al, 1992. Chez les bovins, cette hyperbilirubinémie peut être révélée par la seule observation de la couleur du sérum/plasma d'un prélèvement. A condition qu'il n'y ait pas d'hémolyse, on peut affirmer qu'il y a hyperbilirubinémie si le sérum apparaît jaunâtre et cela sans dosage (Tennant, 1997). L'augmentation de la concentration en bilirubine dans le sang admet classiquement deux causes majeures : une anémie hémolytique ou une affection hépatobiliaire. En réalité, l'état de jeûne et l'anorexie (sans être causée par une anémie ou une affection du foie) peuvent entraîner une augmentation de la bilirubinémie (REID *et al*, 1977 ; McSherry *et al*, 1984). En effet, on peut trouver des augmentations de Bilirubinémie (essentiellement BNC) jusqu'à 25 $\mu\text{mole/L}$ ce qui n'est pas négligeable. Ceci semble s'expliquer par une compétition de prise en charge hépatique entre les AGL (libérés à la suite du déficit énergétique induit par le jeûne ou l'anorexie) et la BNC (Stockham et Scott, 2002 (b)) En cas d'anémie hémolytique (babésiose, maladie inflammatoire chronique, veaux qui boivent une quantité importante d'eau froide...), l'hyperbilirubinémie est liée à l'augmentation du catabolisme des hèmes libérés par l'hémolyse intravasculaire.

Cette hyperbilirubinémie est modérée et correspond surtout à de la BNC. Les quantités de BC produites par le foie sont également très importantes et s'accompagnent d'une surproduction d'urobilinogènes qui peuvent alors être détectés dans les urines. Les signes cliniques accompagnant ces anémies hémolytiques sont des muqueuses pâles, une asthénie aiguë, une coloration des urines. Il semble que l'hyperbilirubinémie soit plus intense lors d'affections hépatiques aiguës (Radostits, 2000). De plus, elles engendrent moins d'urobilinogènes : les urines sont moins colorées. Ces maladies qui peuvent être à l'origine d'une hyperbilirubinémie sont principalement les hépatites aiguës (intoxications), et les cholestases (distomatose). En effet, la bilirubine est peu sensible pour détecter les insuffisances hépatiques liées aux affections chroniques du foie (Pearson, 1990). Par exemple, l'hyperbilirubinémie associée à la cirrhose est de faible à modérée (Tennant, 1997). En revanche, il est possible de retrouver des concentrations de 15 à 30 $\mu\text{mole/L}$ lors de lipidose. En conclusion, la bilirubinémie n'est pas un paramètre spécifique ni sensible des insuffisances hépatiques. Son intérêt principal réside dans la confirmation d'une suspicion d'affection hépatobiliaire aiguë dans le cadre du diagnostic différentiel de l'hémolyse (pas de signes liés à une anémie hémolytique, pas d'anorexie ou de jeûne prolongé). L'intérêt d'observer la couleur du sérum est essentiellement d'exclure une suspicion d'hyperbilirubinémie.

2.10.5 Les enzymes hépatiques : Les modifications de l'activité sérique des enzymes hépatiques constituent un moyen intéressant pour évaluer les maladies du foie (Bain, 2011). Au niveau du foie, les principaux mécanismes à l'origine d'une augmentation de l'activité sérique des enzymes hépatiques sont la fuite des enzymes à partir des cellules lésées et l'induction enzymatique. On peut donc diviser grossièrement les enzymes hépatiques en deux catégories : les enzymes de fuite (ALAT, ASAT, OCT, GLDH et SDH) et les enzymes induites (PAL et GGT). L'ampleur de l'augmentation de l'activité n'est pas spécifique avec le type de maladie ou le caractère réversible ou non des lésions (Jackson, 2007). L'enzyme idéale qui n'existe que dans un seul tissu n'existe pas. La SDH (sorbitol deshydrogénase) est particulièrement spécifique du tissu hépatique est considérée par beaucoup d'auteurs comme l'enzyme à doser en priorité lors de suspicions de dommages hépatiques aigus (Radostits, 2000).

Néanmoins, elle n'est pas très employée sur le terrain : les difficultés techniques relatives à son dosage empêchent son utilisation systématique. L'ASAT, la γ GT (Gamma Glutamyl-Transférase), la GDH (Glutamate DesHydrogénase) sont actuellement les 3 enzymes hépatiques les plus pratiques pour l'exploration des dommages hépatiques chez les bovins (Tennant, 1997 ; Kaneko, 2000, Smith, 2009). Quand à la PAL (phosphatase alcaline), elle est difficile à interpréter en médecine bovine car sa valeur sérique est très dispersée chez l'animal sain (augmentation notable lors de la croissance osseuse et en période de lactation) La majorité des enzymes hépatiques est utilisée pour donner une indication sur l'intensité et l'évolution d'un processus pathologique touchant le système hépatobiliaire. Les examens complémentaires permettent dans leur ensemble d'améliorer le diagnostic dans les affections du foie.

– **Alanine aminotransférase (ALAT) :** son activité hépatique est très basse chez les chevaux, ruminants, porcs et oiseaux car elle n'est présente qu'en faible quantité dans les hépatocytes de ces espèces (Kelly, 2003). Chez ces animaux, une augmentation de l'activité sérique de l'ALAT est généralement due à une atteinte musculaire (Bain, 2011).

– **Aspartate aminotransférase (ASAT) :** Une augmentation de son activité peut avoir lieu lors de lésions hépatocellulaires ou musculaires. Une élévation de l'activité sérique de l'ASAT est ainsi considérée comme moins spécifique de maladie hépatique qu'une élévation de l'ALAT sérique. Toute interprétation doit donc être faite en conjonction avec les autres indicateurs d'atteinte hépatique et musculaire (SDH et CK respectivement) (Jackson, 2007 ; Stockham Et Scott, 2008b ; Tennant Et Center, 2008 ; Smith et Davis, 2015).

– **Sorbitol déshydrogénase (SDH) :** est majoritairement présente dans le cytoplasme des hépatocytes, et en faible concentration dans d'autres tissus (Jackson, 2007). L'augmentation de l'activité sérique de la SDH est donc généralement considérée comme spécifique du foie chez toutes les espèces étudiées (Bain, 2011 ; Kessell, 2015 ; Smith Et Davis, 2015 ; Stockham ET Scott, 2008b). La mesure de l'activité de la SDH est particulièrement utile chez les chevaux et les ruminants, étant donné le manque d'indicateurs réellement spécifiques de dommages hépatocytaires (Jackson, 2007 ; Bain, 2011).

– **Glutamate déshydrogénase (GLDH) :** L'activité sérique de la GLDH provient majoritairement des hépatocytes, mais la GLDH est également retrouvée dans beaucoup d'autres tissus (reins, intestins et muscles notamment). Cependant, des lésions de ces tissus n'augmentent pas l'activité sérique de la GLDH car l'enzyme n'entre pas dans le plasma (reins et intestins) ou il y en a trop peu dans le tissu (Stockham et Scott, 2008b). La GLDH sérique est donc considérée comme spécifique du foie chez les espèces domestiques les plus communes (Jackson, 2007 ; Radostits et al., 2007). Cette enzyme étant mitochondriale, les lésions hépatocytaires doivent être suffisamment sévères pour endommager les mitochondries. L'augmentation de la GLDH suggère donc la présence de lésions létales des hépatocytes (Smith et Davis, 2015).

– **Lactate déshydrogénase (LDH) :** L'augmentation de son activité sérique est due à sa libération dans le milieu extracellulaire lors de lésions cellulaires. Toute élévation de l'activité sérique de la LDH doit être évaluée en relation avec d'autres enzymes plus spécifiques d'organes. Elle est indicatrice d'un processus actif. Des dommages musculaires extensifs résultent généralement en une augmentation de l'activité enzymatique beaucoup plus marquée que lors d'atteinte hépatique (Smith Et Davis, 2015)

– **Ornithine carbamyltransférase (OCT) :** Cette enzyme est localisée dans les mitochondries et fait partie du cycle de l'urée. Elle est considérée comme étant spécifique du foie pour la détection de nécrose hépatocellulaire chez les espèces domestiques. Presque toute l'activité de l'OCT est confinée au foie chez les bovins. L'activité sérique de l'OCT est corrélée avec la sévérité de la fasciolose hépatique chez les bovins (Tennant et Center, 2008).

– **Phosphatase alcaline (PAL) :** Il s'agit d'une enzyme membranaire qui hydrolyse les esters phosphoriques en libérant des phosphates inorganiques. Elle est présente dans de nombreux tissus de l'organisme (intestins, reins, os, foie) (Jackson, 2007 ; Tennant et Center, 2008). L'augmentation de l'activité sérique de la PAL peut-être due à une augmentation de l'isoenzyme hépatique lors de maladies hépatiques aiguës ou chroniques, ou à une augmentation de l'isoenzyme osseuse chez les jeunes animaux en croissance et lors de lésions osseuses (Jackson, 2007 ; Bain, 2011).

On peut alors déterminer s'il s'agit de l'isoenzyme hépatique en mesurant les autres enzymes sériques spécifiques des maladies des voies biliaires, comme la GGT (Tennant et Center, 2008). Les maladies hépatiques à l'origine d'augmentation marquée de la PAL hépatique sont la cholestase intra-hépatique, la cholangite (Tennant et Center, 2008). Chez les veaux, l'activité sérique de la PAL peut augmenter jusqu'à trois fois au-dessus des valeurs à la naissance 1 à 2 jours après nursing. Une partie de cette augmentation est due à l'ingestion du colostrum (Stockham et Scott, 2008b). La PAL est moins utilisable pour l'évaluation des syndromes cholestatiques des chevaux et des bovins à cause des larges fluctuations de son activité normale. Chez ces espèces, la GGT est un indicateur plus fiable de cholestase (Jackson, 2007 ; Bain, 2011 ; Smith et Davis, 2015)

– **Gamma-glutamyltransferase (GGT) :** Les hépatocytes, les cellules biliaires épithéliales, les cellules acineuses pancréatiques et les cellules rénales tubulaires épithéliales sont considérées pour avoir la plus grande activité pour cette enzyme (Smith et Davis, 2015). L'augmentation de l'activité sérique de la GGT résulte soit d'une induction enzymatique au niveau des hépatocytes ou des cellules biliaires épithéliales, soit d'une prolifération cellulaire. Lors de cholestase, on peut observer une augmentation des concentrations hépatique et plasmatique des acides biliaires. Les acides biliaires ou d'autres constituants de la bile stimulent la synthèse enzymatique aussi bien que la libération membranaire de la GGT, comme pour la PAL (Jackson, 2007 ; Tennant et Center, 2008). L'activité de la GGT augmente en cas de nécrose hépatique aiguë, mais cette augmentation pourrait refléter une cholestase secondaire. Les troubles associés à une augmentation de l'activité sérique de la GGT incluent : l'hépatite chronique active, la cholangiohépatite, l'obstruction des voies biliaires, la cholangite (par fasciolose aussi), la cholécystite, l'intoxication par le cuivre, les mycotoxiques hépatiques.

Dans la plupart des cas, l'élévation de la GGT est généralement accompagnée d'une augmentation de l'activité de la PAL. Une cholestase doit être fortement suspectée lorsque l'augmentation de l'activité de la GGT est associée à une augmentation de la bilirubine ou des acides biliaires plasmatiques (Kelly, 2003).

L'activité de la GGT peut être augmentée en cas de lipidose hépatique, mais cette augmentation est généralement modérée (Stockham et Scott, 2008b).

Dans certaines espèces, les cellules mammaires épithéliales ont également une activité GGT élevée, surtout pendant la lactation (Bain, 2011). Chez les ruminants, une concentration sérique élevée est majoritairement due à une atteinte du foie, car les maladies pancréatiques entraînant de l'inflammation et de la nécrose sont rares chez les grands animaux. Par ailleurs, Les lésions des cellules rénales tubulaires entraînent la libération de la GGT dans l'urine. Comme il s'agit d'une molécule de grande taille, elle n'est pas réabsorbée dans la circulation systémique donc cela ne provoque pas d'augmentation de l'activité sérique de la GGT. L'augmentation de sa sécrétion dans les cellules mammaires épithéliales va se traduire par une augmentation dans le colostrum donc dans le sérum des veaux (Kessell, 2015).

2.10.6 Le Glucose : L'hypoglycémie est observée en particulier lors d'insuffisance hépatique au stade terminal ou lors de shunt porto-systémique. Elle est due à l'altération de la néoglucogenèse hépatique et/ou de la glycogénolyse. Les animaux anorexiques ou jeûnant sont normalement capables de maintenir leur glycémie dans les normes, donc le manque d'apport alimentaire n'est généralement pas considéré dans le diagnostic différentiel de l'hypoglycémie (Jackson, 2007).

2.10.7 L'Urée: Lors d'insuffisance hépatique ou de shunt porto-systémique, l'ammoniémie augmente et la synthèse de l'urée par le foie diminue. Etant donné la capacité des bactéries ruminales à synthétiser des protéines à partir de l'urée, les ruminants sous-alimentés ont aussi une concentration en SUN (l'azote uréique sérique) basse car l'urée a été utilisée par les bactéries ruminales pour la production de protéines. Ainsi, des concentrations en SUN basses ne sont pas toujours spécifiques de maladies hépatiques. Elles ne le deviennent que si elles sont accompagnées d'une augmentation de l'ammoniémie (Smith et Davis, 2015).

2.10.8 Le Cholestérol : Le cholestérol est présent en grande quantité dans les VLDL (very low densité lipides). Ainsi, la mesure du cholestérol total reflète indirectement la présence de VLDL dans le sang, et en conséquence la capacité du foie à produire des VLDL. Or si la production des VLDL est compromise, cela peut entraîner une lipidose hépatique.

Des valeurs de cholestérol total basses caractérisent les conditions dans lesquelles la production de VLDL est limitée et l'infiltration graisseuse est probable. Le ratio AGNE (acides gras non éthérifié) : cholestérol total serait prédictif de lipidose hépatique en fin de tarissement et en post-partum immédiat (Anderson, 2009). Chez les vaches laitières, le cholestérol varie en fonction du stade de lactation : il est bas pendant le tarissement et en début de lactation, atteint un pic en milieu de lactation puis diminue en fin de lactation. La reprise d'état corporel et la diminution de l'activité de la thyroïde pourraient expliquer l'augmentation du cholestérol sérique en milieu de lactation. En fin de gestation, l'augmentation des besoins nutritionnels du fœtus pourrait être à l'origine de la diminution du cholestérol sérique (Yaylak et al, 2009).

2.10.9 Les Facteurs de coagulation : Les animaux qui expriment une maladie hépatique peuvent développer des troubles hémostatiques complexes incluant à la fois des tendances hémorragiques et thrombotiques. Le foie est le lieu exclusif de synthèse des facteurs de coagulation I (fibrinogène), II (prothrombine), V, VII, IX, X, XI ; de la protéine C, de la protéine S et de l'antithrombine. La synthèse de ces protéines est donc diminuée en cas d'insuffisance hépatique. La réduction des facteurs de coagulation, que ce soit par diminution des hépatocytes fonctionnels, augmentation de leur consommation (hémorragies ou état d'hypercoagulabilité) ou déficit en vitamine K (diminution de l'apport ou de l'absorption, antagonistes de la vitamine K) va entraîner une augmentation des temps de coagulation. Cela peut parfois se manifester par des hémorragies ou des pétéchies localisées. Mais le foie est également responsable de l'élimination des facteurs de coagulation activés. Ainsi, on peut donc également observer des thromboses dans certains cas d'insuffisance hépatique (Jackson, 2007 ; Bain, 2011).

2.10.10 Les Acides biliaires : Les acides biliaires sont synthétisés dans le foie à partir du cholestérol, sécrétés dans les voies biliaires, stockés dans la vésicule biliaire puis déversés dans l'intestin grêle où ils participent à la solubilisation et à la digestion des lipides. La majeure partie des acides biliaires retournent ensuite dans le foie via la circulation entéro-hépatique.

La mesure des acides biliaires est un indicateur de dysfonctionnement hépatique, mais également d'altération du flux sanguin portal et de cholestase la perte de masse fonctionnelle entraîne une augmentation de la concentration sérique des acides biliaires à cause de la diminution de la capacité du foie à recycler les sels biliaires (Bain, 2011 ; Jackson, 2007). Lors de cholestase, le flux biliaire est altéré et donc l'excrétion des acides biliaires également. Les acides biliaires passent dans le flux sanguin, ce qui entraîne une augmentation de leur concentration sérique (Jackson, 2007).

2.10.11 L'Ammoniac : Lors d'insuffisance hépatique (perte de 70% de la masse fonctionnelle), la capacité du foie à absorber l'ammoniac et à le convertir en urée est altérée, et le taux d'ammoniac sanguin augmente (Jackson, 2007). Chez les ruminants, l'hyperammoniémie peut être la conséquence d'une intoxication à l'urée ou à l'herbe jeune riche en azote soluble. En effet, l'urée est convertie en ammoniac par les bactéries ruminales, et l'ammoniac est absorbé dans la circulation systémique (Bain, 2011). Lors de maladie hépatique, un ratio ammoniac/glucose supérieur à 40/1 ou un ratio ammoniac/urée supérieur à 30/1 associé à une augmentation de la concentration des corps cétoniques et une diminution de la concentration en glucose est signe de pronostic réservé (Radostits et al., 2007). Les procédures de prélèvement et les aspects techniques de l'évaluation de l'ammoniémie sont plus exigeants que ceux des tests d'évaluation des acides biliaires, qui sont par conséquent plus couramment utilisés. La mesure de l'ammoniémie est surtout utilisée dans les cas où la cholestase rend difficile l'interprétation des résultats pour les acides biliaires (Jackson, 2007), L'ammoniac étant volatil, des manipulations spécifiques sont nécessaires pour réaliser un bon prélèvement. C'est pourquoi il n'est généralement pas inclus dans les panels biochimiques de base. L'échantillon sanguin doit être prélevé après une diète de 8 à 12 heures, et collecté dans un tube hépariné. L'échantillon doit être immédiatement refroidi sur glace (à 4°C).

Le plasma doit être séparé le plus rapidement possible et analysé sans délai (de préférence dans les 15 à 30 minutes). Si ce n'est pas possible, le plasma doit être congelable à -20°C et analysé dans les deux jours. Toutes les étapes doivent être réalisées avec une exposition à l'air minimale (Stockham et Scott, 2008a).

2.11 Caractéristiques de l'usage de la biochimie clinique pour le diagnostic des affections chez le bovin

En médecine vétérinaire, l'exactitude d'une technique d'analyse est difficile à mettre en évidence car on ne dispose pas toujours de molécules pures en quantité connue (Stockham et Scott, 2002 (a)). Les analyses enzymatiques manquent de précision. Il faut les interpréter avec prudence. On ne se prononcera que si les valeurs sont nettement supérieures aux valeurs usuelles pour déclarer le résultat anormalement élevé (Stockham et Scott, 2002 (b)).

On peut considérer une analyse comme pratique, à sa facilité de réalisation. Elle ne doit pas nécessiter un personnel trop spécialisé, ni de matériel trop sophistiqué et être disponible rapidement afin qu'il n'y ait pas de difficultés à la mettre en place en clinique vétérinaire. Le paramètre utilisé doit être caractéristique de l'organe et sa variation devrait être pathognomonique d'une maladie, de l'effet d'un toxique ou d'un médicament (Kaneko, 2000).

L'interprétation clinique des résultats, doit se faire en fonction de la sensibilité et de la spécificité du test utilisé qui permettront d'établir des seuils de décision. Pour cela, en cas de faible prévalence, on ne peut accorder aucun crédit à la positivité du test, à moins de privilégier un seuil entièrement spécifique. Le cas échéant, tout le travail du clinicien va consister à augmenter la prévalence des animaux malades dans la population sur laquelle le test est effectué ce qui revient en pratique à ne réaliser des tests que sur des animaux fortement suspects. D'où l'importance de l'examen clinique pour le choix des tests (Carlson, 1990 ; Jain et al, 2011).

Le diagnostic précoce d'une affection hépatique est particulièrement important car les traitements ne sont plus efficaces lorsque le degré d'atteinte hépatique est trop important. Comme les signes cliniques sont frustrés et non caractéristiques, l'examen clinique général de la vache laitière ne permet que de soupçonner l'existence d'une maladie hépatique. Des examens complémentaires sont donc nécessaires pour affiner le diagnostic.

Les examens biochimiques sont les plus intéressants car ils sont faciles à réaliser, peu coûteux et plus sensibles que les autres examens, mais il faut choisir soigneusement les paramètres à explorer en fonction de l'hypothèse émise.

Pour pouvoir interpréter les résultats des analyses biochimiques, il faut disposer soit de données qui concernent des bovins atteints d'affections hépatiques précises soit de valeurs usuelles qui reflètent l'ensemble des observations faites chez des vaches cliniquement saines. En médecine vétérinaire rurale, ce sont essentiellement les valeurs usuelles qui servent de guide à l'interprétation d'un résultat biochimique

Tableau 01 : Exemples de valeurs de références

Auteurs	Valeurs de références										
	Enzymes spécifiques de la fonction hépatique			Electrophorèse des protéines plasmatiques						PPAs	
	Bilirubine totale	Phosphatases alcalines	Gama glutamyl transférase	Protéine totale	Albumine	Alpha1 globuline	Alpha2 globuline	Béta globuline	Gamma globuline	Haptoglobine	Fibrinogène
Fontaine (Vademecum) 16 ^{me} edit	1,7-12 μ mol/l	94-170 UI/l	5-35 UI/l	60-85 g/l	25-42 g/l	6-12 g/l	3,5-9,5 g/l	4-11 g/l	7-26 g/l		
Tourlomossis et al, (2004)										0,11 \pm 0,08 mg/ml	
Pyörälä, Satu (2000)										0-0,05 g/l	3-7 g/l
Duffield (2000)	0-5 μ mole/L(Ul)										

MATERIEL ET METHODES

3.1 Objectif :

Pour le clinicien, la mise en évidence et la caractérisation d'un foyer inflammatoire sont d'un grand intérêt en termes de diagnostic. Cependant, le caractère limité des informations fournies par l'examen clinique, la faible spécificité des symptômes, et l'expression parfois sub-clinique de la réaction inflammatoire, rendent souvent nécessaire le recours aux examens complémentaires. Pour cette raison nous avons souhaité contribuer à améliorer le travail de nos confrères en leur apportant une méthode de diagnostic fiable, efficace, capable d'arrêter le choix thérapeutique. Ainsi, nous proposons l'usage du dosage de paramètres biochimiques afin de déceler un éventuel processus inflammatoire précoce qui pourrait éliminer les obstacles qui jalonnent le chemin du praticien.

Au cours de la partie expérimentale nous nous sommes intéressés à l'usage de l'électrophorèse des protéines sériques, En médecine bovine, l'électrophorèse des protéines sériques est un outil de diagnostic rarement utilisé. Sauf dans quelques exceptions, nous citerons en exemple, Yoshida, (1991) qui a diagnostiqué grâce à l'électrophorèse des protéines sériques une péricardite traumatique chez les vaches, s'ajoute à cela le dosage de deux protéines de la phase aiguë de l'inflammation : l' Haptoglobine (Hp) et le Fibrinogène (Fb) (Eckersall et Bell, 2010 ; Eckersall et *al*, 2005 ; Godeau et *al*, 2000; Corbière, 2002) ; ainsi que trois enzymes d'exploration de la fonction hépatique: Gammaglutamyl transpeptidase (GGT); Phosphatase alcaline (PAL), Bilirubine totale (Bil.T) (Brugère-Picoux et Brugère, 1981).

Tous ces paramètres ont en commun le foie comme lieu de synthèse, (Radostits, 2000). Pour mieux cerner leurs variations nous avons ajouté à l'examen clinique de chaque sujet, l'évaluation du score de condition corporelle, l'âge et l'état physiologique.

3.2 Les animaux et lieu de l'étude :

Notre travail a porté sur 200 têtes de bovins (âge, sexe, race confondus) dans des élevages de la région de la « Mitidja » (centre du pays). Ils sont répartis dans 16 sites d'élevage, conduits en hors sol (Figure 29). Sans conditionnement, tous les bovins présents dans les fermes ont été concernés par cette étude.

Ces animaux sont nourris à base de foin, d'aliments concentrés et de dérivés de cultures de maraichage (voir le tableau 01). La ration est souvent tributaire de la saison, la pratique est mixte (élevages allaitant et laitier).

Pour chaque animal furent établis trois dosages pour les enzymes hépatiques :

- Bil.T, PAL, GGT

Deux indicateurs de l'inflammation :

- Hp, Fb

Renseignements spécifique à chaque individu (zootechniques et cliniques) :

- la pathologie cliniquement suspectée,
- le SCC (score condition corporelle), selon la méthode décrite par Edmondson *et al*, (1989) et Froment, (2007).
- L'Age et le sexe ainsi que le stade physiologique (gestation, pré ou post partum) et le type de production (engraissement, tarie ou en lactation). Ces derniers sont mentionnés sur une fiche individuelle (voir l'annexe III).

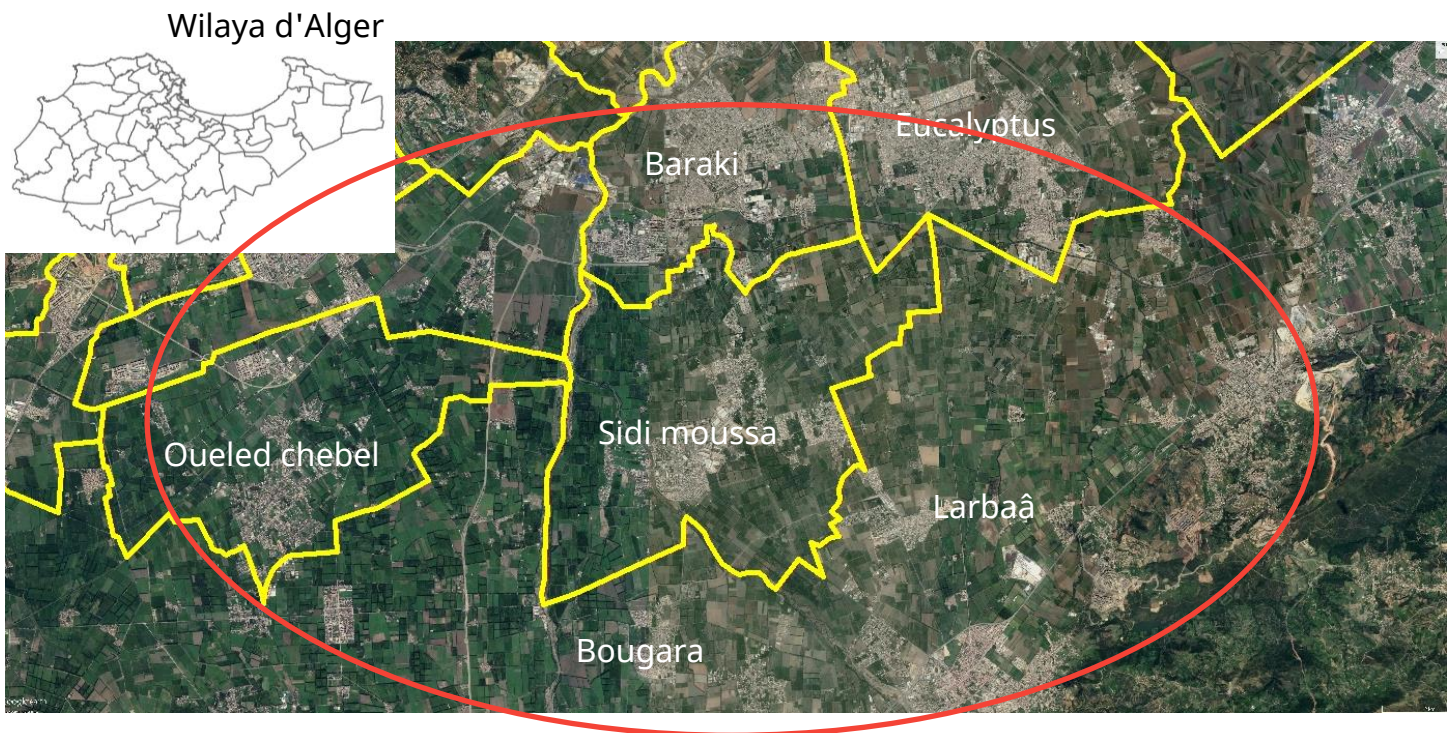


Figure (29): L'aire où se situent les élevages concernés par l'étude (Source : Goole Earth)
En médaillon, la wilaya d'ALger

Tableau (02) : Répartition des animaux et des élevages

(VL /VT : vache laitière et vache tarie ; GN : génisses ; Tx : taureaux ; V : veau)

Elevages référence	Effectif					Lieu
	VL/VT	GN	Tx	V	Total	
ZK01	12	05	01	00	18	BARAKI (ALGER)
CH02	13	07	02	00	22	BOUGARA (BLIDA)
DB03	06	04	06	04	20	BARAKI (ALGER)
NS04	13	07	03	00	23	BARAKI (ALGER)
BK05	12	07	03	00	22	Ouled chebel (ALGER)
NR06	09	09	06	01	25	SIDIMOUSSA (ALGER)
HT07	13	02	00	00	15	BARAKI (ALGER)
HM08	01	02	00	00	03	Ouled slama (BLIDA)
AM09	01	00	00	00	01	Oueled slama (BLIDA)
CA10	01	00	00	00	01	Ouled slama (BLIDA)
AH11	01	00	03	01	05	SIDIMOUSSA (ALGER)
BA12	03	04	01	02	10	SIDIMOUSSA (ALGER)
BM13	05	04	00	01	10	SIDIMOUSSA (ALGER)
HB14	09	00	01	00	10	Hamamelouane (BLIDA)
ID15	05	01	02	00	08	LARBAA (BLIDA)
AA16	05	01	01	00	07	Ouled slama (BLIDA)
Total: 16 sites d'élevage	109	53	29	09	200	07 communes (03 Alger ; 04 Blida)

Les prélèvements ont été réalisés selon les recommandations de (Carlson, 1990). Pour l'obtention des résultats nous avons suivi la méthode décrite par les trois étapes suivantes :

3.3 Etape pré-analytique :

C'est l'étape du clinicien, à la faveur de laquelle la maladie ou l'anomalie observée sera rapportée sur sa fiche (Voir annexe). La prise de sang est faite, au niveau de la veine jugulaire. Pour chaque individu, sont effectués trois prélèvements de sang dans des tubes de type Vacutainer[®], Volume : 4ml (le premier sur tube sec, le deuxième citrate et le dernier sur tube héparine). Le tout sera placé dans une glacière à 4°C. Tous les élevages sont distants d'environ 20 Km du laboratoire d'analyse biochimique. Les échantillons ont été acheminés le jour même du prélèvement. La récolte a duré une semaine, avec une moyenne de 20 à 30 échantillons par jour.

3.4 Etape analytique :

Etape technique proprement dite, l'échantillon sanguin est préalablement centrifugé à l'aide d'une centrifugeuse de type : **ROTOFIX 32 A (Hettich)**, 3000 tours par minute (Voir annexe II), pendant 10 minutes ; le sérum prélevé est congelé (- 4°C). Dès que nous avons obtenu les 200 prélèvements, les dosages furent lancés sur un automate spécialisé (Cobas 6000):

3.4.1 Cobas 6000 (ROCHE) (Voir annexe (II) : Photos 1 à 4): Il s'agit d'un système entièrement automatisé, pour des analyses de chimie clinique et immunologique pour le dosage quantitatif et qualitatif in-vitro de composés organiques dans des fluides corporels. Conçu par Hitachi High-technologies corporation. Les réactions chimiques afin d'obtenir le dosage sont adaptées et modifiées selon les exigences du concepteur ; ainsi que toutes les étapes préalables (étalonnage et équilibrage) aux dosages (Tymchak, 2010). Nous décrirons dans ce qui suit le principe chimique du dosage de chaque paramètre réalisé automatiquement par l'automate:

3.4.2 Dosage de l'haptoglobine : son évaluation s'effectue par la formation d'un complexe anticorps anti- haptoglobine avec l'antigène au niveau de l'échantillon (plasma hépariné). Après la réaction de précipitation du complexe formé, le taux d'haptoglobine sera évalué par turbidimétrie, (Van Lente et al, 2007, in Roche Dignostics (Method Sheets), 2016).

3.4.3 Dosage du fibrinogène : son dosage se fait selon la méthode de « CLAUSS » l'addition de la thrombine dans le plasma dilué, provoque la conversion du fibrinogène soluble en fibrinogène insoluble polymérisé. Le temps de coagulation du plasma est inversement proportionnel à la concentration du fibrinogène dans l'échantillon testé. La présence de l'héparine dans l'échantillon peut fausser le résultat. Pour cela, du kaolin est additionné à l'échantillon pour amplifier la sensibilité du test (Lowe et al, 2004, in Roche Dignostics (Method Sheets), 2016).

3.4.4 Dosage de la bilirubine : son dosage s'effectue selon la méthode colorimétrique de « Diazo », elle consiste à apprécier le degré de coloration du dérivé azoïque par photométrie. Cette coloration est la résultante de l'association de la bilirubine totale au sel dichloro-3,5 phenyl diazonium dans un milieu très acide en présence d'un agent solubilisant (Mcsherry and al, 1984, Roche Dignostics (Method Sheets), 2016).

- 3.4.5 Dosage de la gammaglutamyl-transpeptidase** : on évalue sa concentration par la méthode colorimétrique enzymatique, La gamma-glutamyl-transférase transfère le groupement γ -glutamyl du L- γ -glutamyl carboxy-3 nitro-4 anilide sur la glycylglycine. La quantité d'amino-5 nitro-2 benzoate formée est proportionnelle à l'activité de la GGT et est mesurée par photométrie (Schumann and al, 2002 in Roche Dignostics (Method Sheets), 2016).
- 3.4.6 Dosage de la phosphatase alcaline** : son dosage est réalisé par le même principe chimique que le précédent paramètre (test colorimétrique, méthode standardisée). En présence d'ions magnésium et zinc, le p-nitrophénylphosphate est scindé par les phosphatases alcalines en phosphate et p-nitrophénol. La quantité de p-nitrophénol libéré est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline. Son activité enzymatique est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorption de son substrat (p-nitrophénol), (Roche Dignostics (Method Sheets), 2016).
- 3.4.7 Dosage des protéines totales** : on calcule leur taux en évaluant l'augmentation de l'absorption photométrique à une longueur d'onde de 552 nm, de la coloration induite par la méthode de « biuret » : les bandes peptidiques en milieu alcalin additionnées à des ions de cuivre forment des agrégats couleur pourpre, dont la concentration est proportionnelle à la concentration protéique de l'échantillon (Boyer, 2000 in Roche Dignostics (Method Sheets), 2016).
- 4 Electrophorèse sur gel d'agarose (automate SEBIA ; Gel Hydrasys)** : cette analyse est réalisée selon le principe décrit par, Lecarrer, (1994) ainsi que Jania et Andraszek, (2016). il s'agit d'obtenir la séparation des protéines plasmatiques sur un gel d'agarose dans un milieu de tampon alcalin (pH 9,1) par électrophorèse. Le gel d'agarose en tant que milieu de support fournit une meilleure résolution, une meilleure reproductibilité des résultats et une plus grande clarté des bandes électrophorétiques (Riond et al, 2009). Cette opération s'effectue par le système semi-automatique HYDRASYS. Les protéines du sérum normal sont séparées en cinq fractions majeures. Le système HYDRASYS permet de réaliser toutes les séquences jusqu'à obtention du gel prêt pour l'analyse qualitative ou quantitative.

Les protéines séparées sont colorées par une solution d'Amidoschwarz et l'excès de colorant est éliminé en milieu acide. Les profils électrophorétiques sont analysés visuellement pour détecter les anomalies.

Le densitomètre donne une quantification relative précise de chaque zone individualisée (voir annexe (I) : Photos 5 à 10). La lecture du gel par le densitomètre permet de définir les concentrations relatives (pourcentages) de chaque fraction. L'électrophorèse sur gel d'agarose présente plusieurs avantages par rapport à l'acétate de cellulose. Les étapes de réalisation de l'électrophorèse s'ordonnent comme suit :

4.4.1 Préparation (voir annexe (II) : Photos 7):

- Les gels d'Agarose sont prêts à l'emploi. Chacun contient : de l'Agarose, tampon pH : $9,5 \pm 0,5$. Ils servent de support pour la réalisation de l'électrophorèse des protéines.
- Des mèches en éponges tamponnées à pH : $9,5 \pm 0,5$. Elles jouent un rôle de réservoir de tampon pour l'électrophorèse et assurent le contact entre le gel et les électrodes.
- Préparation du diluant avec le colorant d'Amidoschwarz, ils servent à colorer les gels après la phase de séparation. Son pH : 2, est acide, sa consistance est visqueuse ; ils sont mélangés soigneusement après leur avoir ajouté de l'eau distillée. La solution finale contiendra : solution acide pH ≈ 2 ; Amidoschwarz ; éthylène-glycol.
- Feuilles de papier-filtre, à usage unique pour l'absorption de l'excès de liquide à la surface du gel avant l'application des échantillons.
- Une solution de décoloration (pH ≈ 2), pour l'élimination de l'excès de colorant après coloration du gel.
- Une solution de lavage HYDRASIS, pour l'entretien de l'appareil

4.4.2 Equipements:

- Système HYDRASYS SEBIA : HYDRASYS 2 SCAN (**Annexe II: photo 5**)
- Micropipetteur, automatique, HYDRAPLUS SEBIA
- Chambre humide (voir annexe 1 : photos 8)
- Bidons plastiques fournis avec le système HYDRASYS (**Annexe II: photo 6**).
- Pipettes de 10 μ l et 200 μ l.
- Densitomètre / scanner capable de lire un film de 82 x 51 mm ou 82 x 102 mm: HYRYS SEBIA, GELSCAN SEBIA, DVSE SEBIA, équipé du logiciel PHORESIS SEBIA (voir annexe : photo10)
- Porte-film pour le traitement des demi-gels SEBIA (**annexe II: photo 9**)

4.4.3 Technique :

- Les échantillons de sérum sont utilisés directement sans dilution
- On met l'appareil HYDRASYS sous tension.
- On Pose deux applicateurs pour HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30 (30 échantillons), à plat sur la paillasse, la numérotation (puits) vers le haut, on dépose 10 μ l de sérum pur dans chaque puits (Figure 26a).

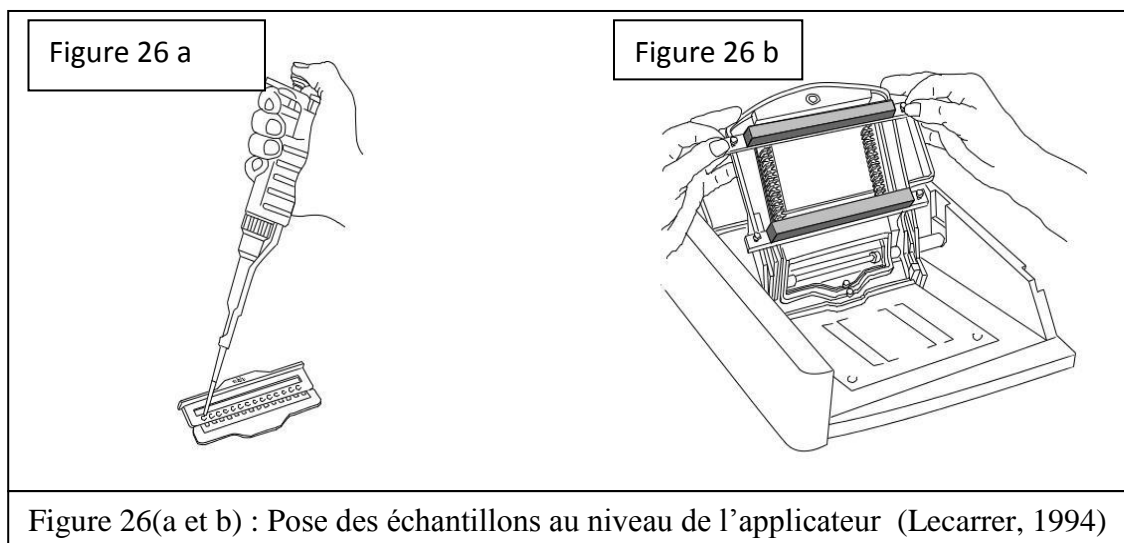
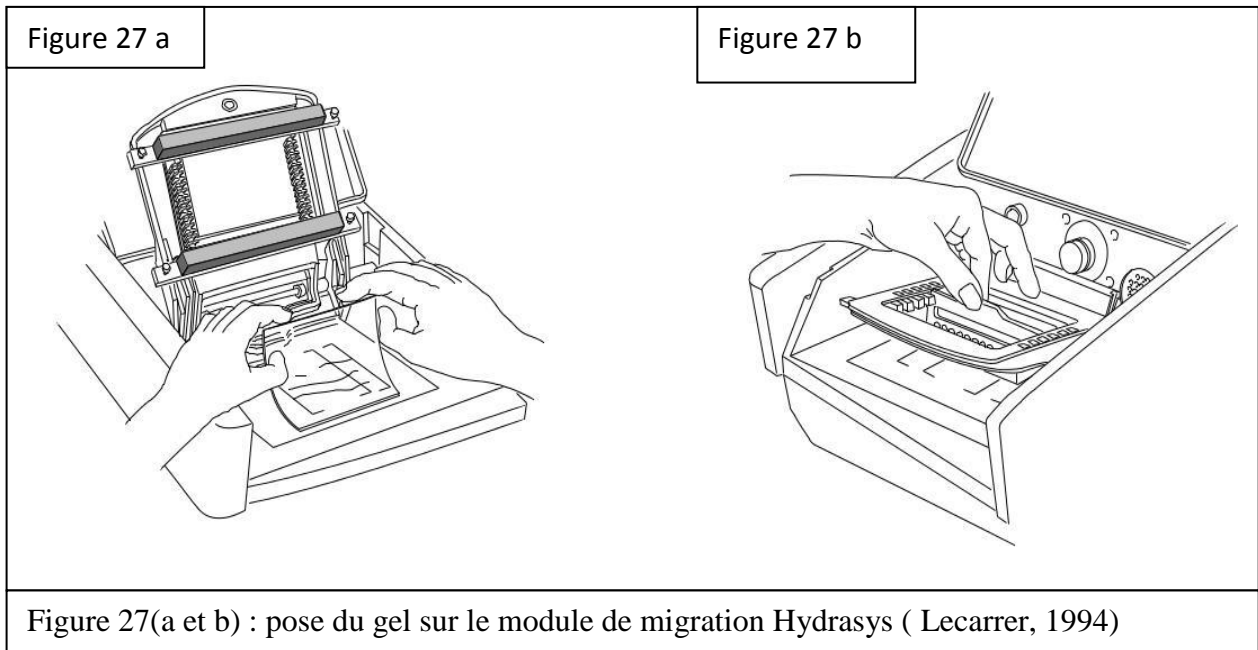


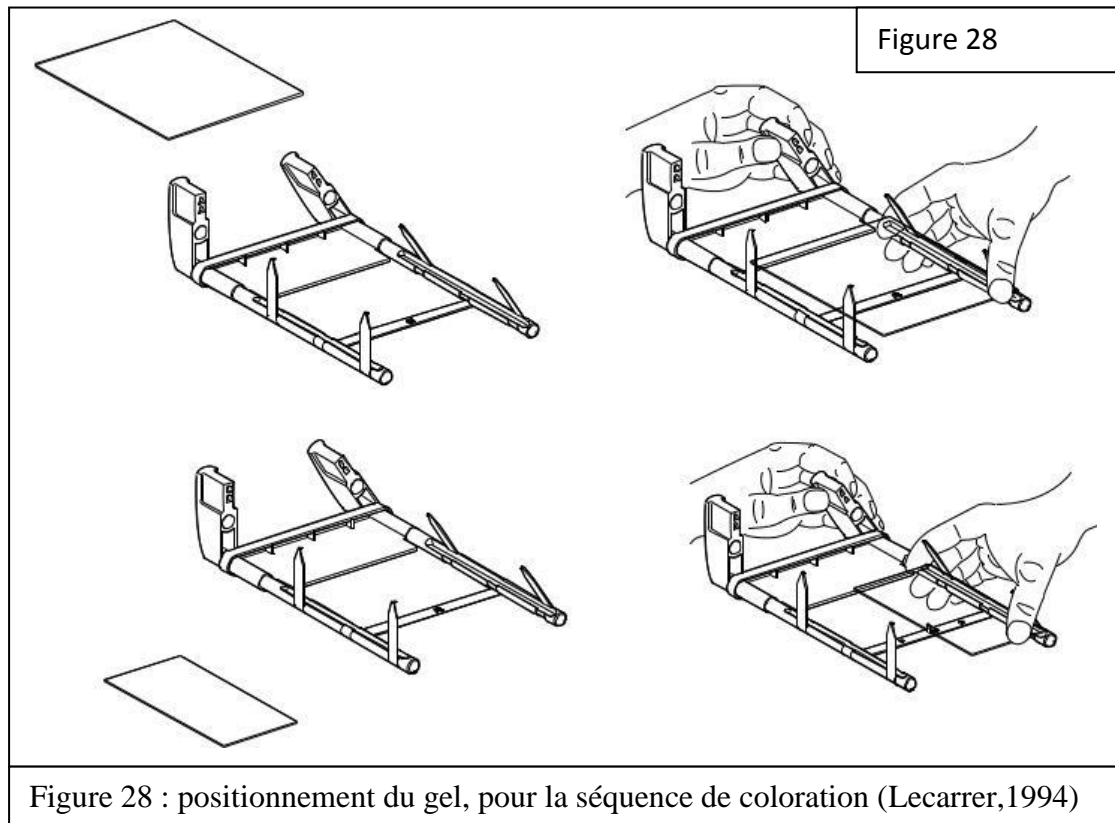
Figure 26(a et b) : Pose des échantillons au niveau de l'applicateur (Lecarrer, 1994)

- Les applicateurs sont placés dans la chambre humide, dents vers le haut.
- On laisse diffuser 5 minutes après le dépôt du dernier échantillon. Pour une conservation prolongée (8 heures maximum), puis la chambre humide est mise au réfrigérateur.
- On ouvre le capot du module de migration, les chariots porte-applicateurs sont relevés avec porte-électrodes (Figure 26b)
- On Sélectionne le programme de migration pour HYDRAGEL PROTEINE 15/30 dans le menu.
- On Sort les mèches tamponnées de leur emballage en les manipulant à l'aide de languettes plastiques. Puis elles sont Fixées sur le chariot porte-électrodes à l'aide des languettes perforées. La face de la mèche fixée sur la languette vient en contact avec l'électrode (Figure 26 b).
- On fait Sortir le gel de son emballage, puis on le Place (face gel orientée vers le haut) sur le plateau contre la barrette, à l'intérieur du cadre sérigraphié (Figure 27a). Les numérotations de l'applicateur sont toujours dirigées vers l'opérateur (Figure 27b).

- Après Fermeture du capot du module de migration. On démarre la séquence en appuyant sur « START »



- La migration s'effectue à 20 W constants pour HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30, à 20 °C, température contrôlée par effet Peltier, jusqu'à 33 Vh accumulés (pendant environ 7 minutes).
- La déconnexion des électrodes se fait par remontée du chariot porte-électrodes. Le séchage du film se fait pendant 10 minutes à 65 °C, par montée en température du plateau. quand la température du plateau atteint 50 °C, un signal sonore (bip) retentit et la sécurité du capot du module de migration se débloque. Le plateau reste à 50 °C jusqu'à l'ouverture du capot. Après ouverture, la température baisse jusqu'à 20 °C (en moins de 5 minutes). Une nouvelle migration peut alors être relancée.
- Après le retrait du film, on positionne le gel dans les gorges des colonnettes (Figure 28), pour la coloration du gel et on redémarre sur « START ». Le système reste verrouillé pendant toutes les séquences de coloration, décoloration et séchage. Puis on patiente jusqu'à refroidissement de la cuve.
- Le gel sec est retiré pour son traitement final : la lecture se fera à travers un densitomètre, qui permet de définir les concentrations relatives (pourcentages) de chaque fraction et cela grâce au logiciel PHORESIS SEBIA (**Annexe II: photo10**)



4.5 Etape post- analytique :

Pour valider les résultats bruts, et afin de les présenter dans une forme permettant une bonne interprétation ; nous nous sommes astreints aux considérations techniques pour la validation d'un test de biologie clinique vétérinaire selon les critères définis par Radostits *al*, 2004 et Tóthová et al, 2016. Nous prendrons en compte les variations biologiques, dont plusieurs facteurs sont une source qui peut influencer les résultats d'un paramètre biologique (Piccione et al, 2011), non seulement l'espèce mais aussi la race, l'âge, le sexe, l'alimentation, le stade et le rang de lactation. On peut alors établir des intervalles de référence pour un groupe donné avec ces critères objectifs bien définis. D'autres facteurs biologiques notamment intra-individuels sont moins facilement identifiables comme l'état de stress d'un animal (lors de la contention, d'un transport, d'une excitation passagère), le rythme biologique propre à chaque animal ou bien l'administration de médicaments ou de tranquillisants. Ils ont eux aussi un impact sur les résultats de l'analyse (Hogan et al, 2015 ; Carlson, 1990).

Pour cette raison nous prendrons en compte les valeurs usuelles citées dans le Tableau (01), sachant que le concept de santé est relatif et il n'existe pas de santé « parfaite ». Il faut des critères objectifs pour déterminer si l'on accepte ou si on rejette un individu comme source de valeurs usuelles (Stockham et Scott, 2002 (a)). Une valeur usuelle est le résultat d'une mesure obtenue chez un individu cliniquement sain. Cet individu est un animal sélectionné à partir de critères définis (âge, sexe, race,...). On parle d'intervalle de référence pour désigner l'intervalle compris entre deux limites de référence. Il inclut généralement 95 % des valeurs mesurées. Les intervalles de référence sont utilisés pour interpréter les mesures biologiques. Ces intervalles représentent les valeurs que l'on est susceptible de trouver chez des animaux sains en fonction de leur état physiologique (production, âge,...) ; ils doivent permettre de détecter les processus pathologiques (Carlson, 1990 ; Kaneko, 2000, Stockham et Scott, 2002 (a)), voir le tableau (01).

3.7 Analyse statistique des données

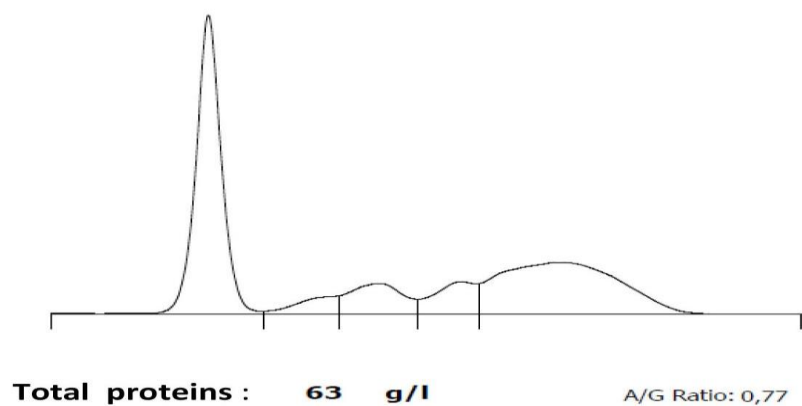
Pour mieux cerner les facteurs de variations des paramètres dosés, et les données récoltées sur chaque individu, nous avons effectué une ACP (analyse en composantes principales) en utilisant le logiciel IBM SPSS statistics version 20 (Méthode factorielle de réduction de dimension pour l'exploration statistique de données quantitatives complexes. Elle nous permettra d'établir une représentation graphique des individus et des variables).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

L'étude des différents tracés d'électrophorèse des protéines sériques (EPP) de chaque cas clinique associés aux autres paramètres biochimiques nous ont permis de relever les particularités suivantes :

4.1 Tracé d'électrophorèse d'un bovin sain :

Un sujet est considéré cliniquement sain s'il ne présente aucune baisse de sa valeur zootechnique, n'exprime aucun signe révélateur d'une quelconque maladie (Stockham et Scott, 2002 (a)). Nous avons pris la précaution d'éviter toute influence des variations biologiques (l'état de stress d'un animal, le rythme biologique propre à chaque animal), l'administration de médicaments ou de tranquillisants (Carlson, 1990). Nous avons obtenu un tracé électrophorétique standard, comprenant 5 fractions : La première fraction en partant de gauche est représentée par l'albumine, suivie par α_1 , α_2 , β , γ globulines. A l'état physiologique, on constate un creux net entre la fin de la fraction α_2 , et celle de la β globuline (Figure 01). Ce résultat corrobore avec celui trouvé par : Dartois, (2011), Errico et al, (2012), Alberghina et al., (2011) et Piccione et al., 2012. D'autres auteurs décrivent une séparation à six fractions en utilisant l'électrophorèse sur gel d'agarose : l'albumine, des α_1 - et α_2 -, β_1 - et β_2 - et γ -globulines (Nagy et al., 2015).



fractions à partir de la gauche : Albumine, α_1 globulines α_2 globulines, β globulines, γ globulines.

La seule différence entre les auteurs se situe au niveau de la fraction β : Dartois, (2011) la divise en deux zones (β_1 , β_2), c'est un tracé d'électrophorèse à 6 fractions. Quant à nos résultats ils tiennent compte d'une seule zone indivise (tracé à 5 fractions) (Smith, 2009 ; Mouiche Mouliom, 2007). Les valeurs mentionnées dans le tableau (03) sont proches de celles proposées par d'autres auteurs (Boudercues et al, 1971 ; Mouiche Mouliom ,2007 ; Mouiche Mouliom et al, 2013 ; Dartois, 2011 ; Alberghina, 2011).

4.2 Rapport albumine et globuline :

55 sujets soit (27,5%), présentent un rapport A/G plus bas que celui admis comme valeur physiologique ($A/G < 0,7$: Dartois, 2011 ; Smith, 2009). Ils présentent un taux de globulines bien plus élevé que les valeurs usuelles (Smith, 2009 ; Mouiche Mouliom, 2013 ; Alberghina et al, 2011). Ils dépassent une moyenne de : $23,76 \text{ (gr/l)} \pm 11,57$. Bien que d'expression clinique inapparente, ces valeurs élevées seraient dues aux différentes affections «sub-cliniques» à évolution chronique, cette particularité de l'espèce bovine a été citée par Radostits, 2000, voir l'exemple de la figure (13) qui représente le cas d'une vache qui est atteinte d'acidose du rumen associée à une insuffisance hépatique révélée par la biochimie : augmentation de la protidémie (145 gr/l), des α_2 globulines (13,78 gr/l), des γ globulines (13,05 gr/l), des β globulines (73,23 gr /l). On y distingue aussi, 21 cas qui seraient dû cette fois à un défaut de synthèse d'albumine (l'exploration biochimique du foie ne révèle pas de cas d'insuffisance de cet organe), ceci rejoint Jain et al, (2011) qui signalent que la synthèse d'Albumine peut être nettement réduite au cours de la réponse en phase aiguë, et de ce fait considérée comme la principale protéine de la phase aiguë. Dans ce cas, nous supposons une infestation parasitaire spoliatrice, fréquente chez cette espèce (Brugère-Picoux et Brugère , 1981). C'est deux exemple rejoint l'avis de Smith, (2009) qui considère que lors d'affections chroniques et sévères du foie, il y a généralement une augmentation des immunoglobulines (gammaglobulines : IgM, IgG, IgA) conjointement à une diminution de la concentration en albumine sérique

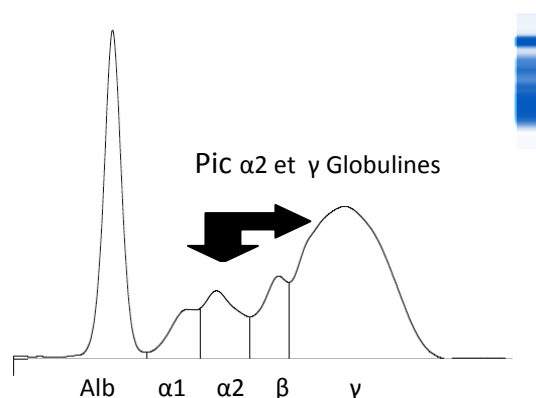


Figure 13 : Electrophorèse d'une vache âgée de 8 ans, atteinte d'acidose du rumen

Pour ceux qui présentent un rapport élevé ($A/G > 0,7$) ils représentent une forte majorité : 145 sujets soit 72,5%. C'est la conséquence d'une forte synthèse d'albumine, voir l'exemple de la figure (19) qui représente le cas d'une vache âgée de 6ans avec un $SCC=02$,

atteinte d'insuffisance hépatique révélée par la biochimie : augmentation de la protidémie (107 gr/l), des α_2 globulines (10,7g /l), des γ globulines (34,03 gr/l), de la PAL (247 U/l), de la GGT (51U/l).

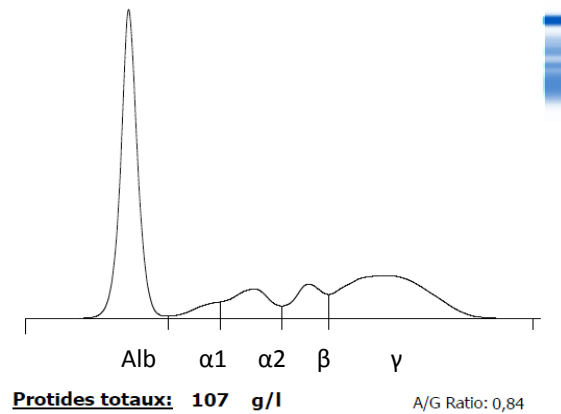


Figure (19) : Tracé d'électrophorèse d'une vache, atteinte d'insuffisance hépatique

4.3 L'Hypo-albuminémie essentielle :

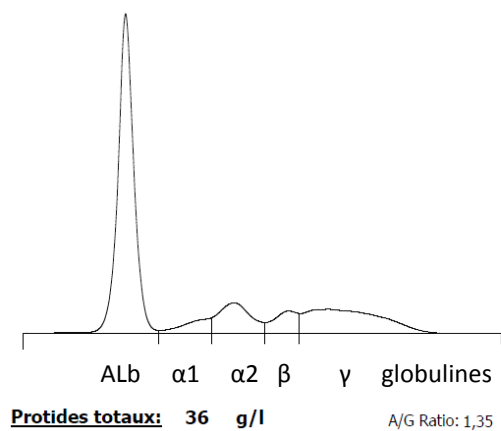


Figure 15 : Tracé d'électrophorèse d'une vache âgée de 6 ans, avec une hypo protéinémie

Les graphes caractérisés par un pic rétréci sont signalés pour les sujets ayant un taux d'albumine au dessous de la valeur : 25gr/l (Smith BP, 2009 ; Kaneko 2000) cela concerne un nombre de 38 sujets (19%), voir l'exemple de figure (15) d'une vache qui souffre d'un déficit en apport protidique. L'analyse biochimique a révélé une hypo albuminémie (20,66 gr/l). Ceci est dû à un amaigrissement apparent des sujets concernés ($SCC < 2$, en dehors de la lactation), conséquence d'un mauvais rationnement associé ou non avec une infestation parasitaire (Lee, 2012 ; Prinsen et al, 2004). Ceci confirme le fait qu'elle soit un bon

marqueur négatif de l'inflammation, comme préalablement établi par Jacobsen et al, 2000 ; Don, (2004); Diogenes, (2010); Toussaint et al, (2005).

4.4 Les alpha1 globulines:

La zone alpha 1 est constituée par l'alpha 1 antitrypsine, orosomucoïde et alpha 1 anti chymotrypsine. La plupart des bovins 195 sujets soit (97,5%), présentent une valeur basse, (nous avons obtenu une moyenne (3,67 gr/l \pm 1,16)), tandis que la valeur usuelle est de 6gr/l (Dartois, 2009 ; Smith, 2009 ; Kaneko, 2000 ; Mouiche Mouliom , 2013, Tóthová et al, 2015).

Cette anomalie n'a entraîné aucune manifestation clinique spécifique (corrélation non significative, voir le tableau : 4). Ce phénomène est décrit dans l'exemple de la figure (10) qui représente le cas d'un veau caractérisé par un retard de croissance. La biochimie révèle : une baisse des α 1 globulines, (3,42 gr/l) et une augmentation marquée de la PAL (400 U /l), témoin de la fragilité osseuse qui est une conséquence de la carence alimentaire en minéraux. D'autres auteurs comme Fairbanks et Tavill (2008) associent cette déficience chez l'humain à l'emphysème pulmonaire, la maladie pulmonaire obstructive chronique et les maladies du foie. C'est aussi le cas de la figure (11) représentant une vache gestante de 5 mois, atteinte de mammite. La biochimie révèle une baisse des α 1 globulines (1,94 gr/l), de l'Albumine (23,22 gr/l), des β globulines (3,83 gr/l).

Pour notre part, nous n'avons pas pu déterminer la cause. l'hypothèse d'une origine congénitale de cette déficience en α 1 antitrypsine (protéine majeur de cette zone) a été décrite chez l'humain par Denden et al., (2010). D'autres auteurs, aussi chez l'humain lui prête un rôle de témoins de l'atteinte de l'appareil respiratoire (Janciauskiene et al, 2011 ; Tuder et al, 2010). Cette anomalie signalée chez l'être humain n'a pas été révélée auparavant chez les ruminants (Slev et al., 2005).

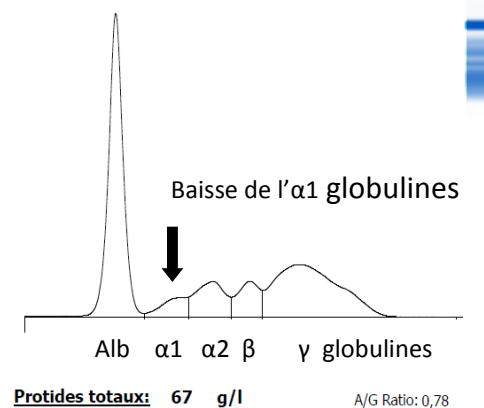


Figure 10 : Tracé d'électrophorèse d'un veau, âgé de 5 mois, carence en alpha1 globuline

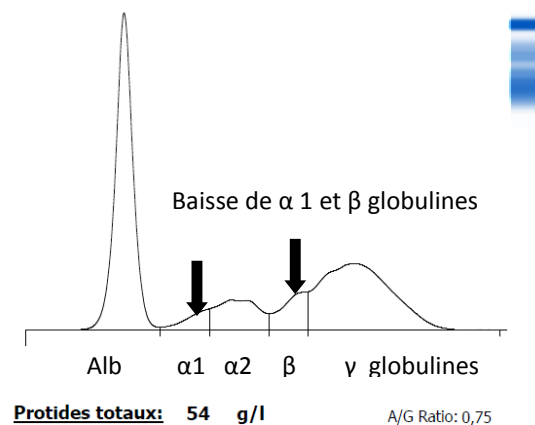


Figure 11 : Tracé d'électrophorèse d'une vache âgée de 3 ans, carence en alpha1 globuline

4.5 Les alpha2 globulines :

La zone alpha 2 est constituée par l'haptoglobine, céruloplasmine, globuline Gc, l'alpha 2 macroglobuline, l'alpha-lipoprotéines. Nous avons remarqué qu'elle présente des pics pour les cas de bronchopneumonie avec un état de maigreux (pour ces sujets son dosage se situe à un intervalle de :] 10,3-12,57[gr/l) et ils sont au nombre de 28 soit (14%). Ces derniers sont suspectés de développer des affections inflammatoires chroniques sans expression clinique qui les empêcheraient de gagner du poids (Smith, 2009 ; Kaneko, 2000). On a relevé que cela coïncide avec une augmentation de la protidémie totale voir l'exemple de la figure (13) et la figure (12) qui représente le cas d'une vache atteinte de boiterie. La biochimie révèle une augmentation de la protidémie (115gr/l), des $\alpha 2$ globulines (12,31 gr/l), des γ globulines (57,04 gr/l). Tous témoins de la forte inflammation. Par ailleurs, sur l'ensemble des graphes nous n'avons relevé aucun dédoublement de cette zone, cela confirme l'inexistence d'une hémolyse des échantillons prélevés (Lecarrer , 1994 ; Ambroise , 1995, Gupta et Stockham, 2014).

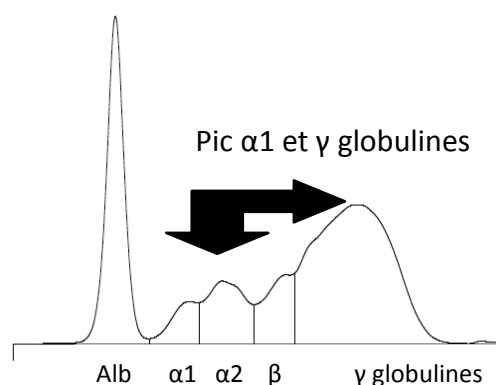


Figure 12 : Tracé d'électrophorèse d'une vache âgée de 3 ans, atteinte de boiterie

4.6 Les Béta-globulines :

Elles sont composées par les fractions : Transférine, Héopexine, Bétalipoprotéine, Complément C3. Cette fraction a enregistré une augmentation de sa zone lors des affections hépatiques, comme cela fut décrit par Camus et al (2010) et Smith, (2009) car elle est concomitante à une augmentation des enzymes spécifiques à la fonction hépatique et à la protidémie totale (inclus la fraction gammaglobuline, alpha2globuline).

Ce phénomène a concerné 03 sujets soit (1,5%), dont l'examen clinique a révélé : deux cas de vaches en post-partum (15 jours chacune, après le vêlage), la première âgée 8 ans avec un SCC inférieur à 2, en bilan énergétique négatif et l'autre âgée de 6 ans, souffrant de bronchopneumonie, elles sont représentées respectivement par la figure (13) et celui de la figure (20). Pour le cas de cette dernière on note la coexistence de la bronchopneumonie avec l'affection hépatique, révélée par la biochimie par une augmentation des α_2 globulines (11,78 gr/L), des β globulines (11,78 gr/L), des γ globulines (57,66 gr/L), de la PAL (198 U/L), de la GGT (106 U/L), de la protidémie (124 gr/L)

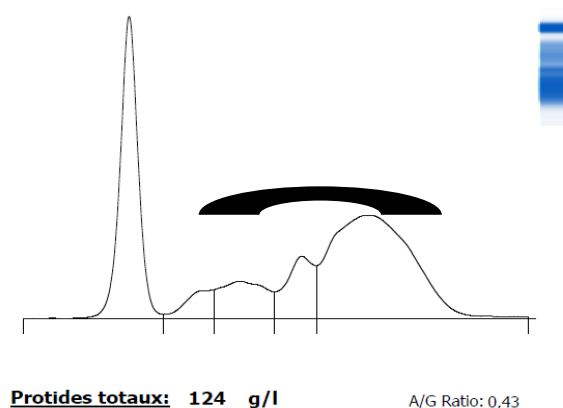


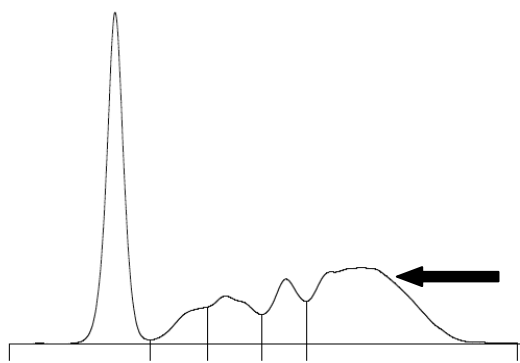
Figure 20 : Tracé d'électrophorèse d'une vache, atteinte de bronchopneumonie

Par ailleurs, la dernière était un cas de génisse de plus de 6 mois (Figure 14) qui était soumise à un régime exclusivement composé d'aliments concentrés. Dans ce cas, nous soupçonnons un cas d'inflammation hépatique secondaire à un état d'acidose du rumen, comme cela fut rapporté par Kaneko, (1997).

Pour les cas d'hypo-béta globulinémie (petite onde), nous avons relevé 15 cas soit (7,5%), qui apparaissent simultanément avec les cas d'hypo albuminémie et ceci en l'absence d'augmentation des enzymes de la fonction hépatique et sans signes cliniques particuliers (voir figures 15, 11). Pour ces cas, nous pensons qu'il s'agit d'un défaut d'apport alimentaire par rapport à l'état physiologique et aux besoins réels de ces animaux (Jacobsen *et al*, 2004).

4.7 Les Gamma- globulines :

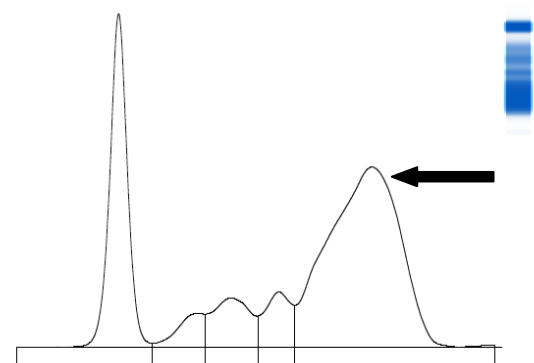
Ils constituent le groupe des immunoglobulines (IgG, IgA, IgD, IgE et IgM) : nous avons remarqué que leur augmentation est permanente lors des affections cliniques telles que les boiteries, les bronchopneumonies et la mammite. Ils n'ont pas pu être révélés par les autres paramètres biochimiques dosés, indépendamment de la clinique ; ce qui les rend un bon indicateur de l'inflammation, c'est le cas des figures (21), (22). Le premier représente le tracé d'une vache, âgée de 5ans et gestante de 5mois, atteinte d'une affection mammaire. Il est étayé par une augmentation des α_2 globulines (11,13 gr/l), des γ globulines (40,35gr/l), de la PAL (140U/l) témoin de la croissance osseuse fœtale. Le deuxième tracé représente une vache, âgée de 8ans, atteinte de bronchopneumonie. La Biochimie révèle une augmentation de la protidémie (102gr/l), des γ globulines (57,3 gr/l), de l'Hp (0,41 gr/l), témoins de l'importance de l'inflammation.



Protides totaux: 104 g/l

A/G Ratio: 0,51

Figure 21 : Electrophorèse d'une vache atteinte de mammite.



Protides totaux: 102 g/l

A/G Ratio: 0,34

Figure 22 : Electrophorèse d'une vache atteinte de Bronchopneumonie.

Nous distinguons deux groupes représentatifs des hyper-gammas globulinémie :

1. Ceux avec des pics monoclonaux (étroits et homogènes) : la gammopathie monoclonale (GM) est caractérisée par l'augmentation d'un seul type d'Ig appartenant à une classe et à une sous-classe bien déterminée (Iecarrer, 1994). Il s'agit d'une synthèse d'anticorps dirigés contre d'éventuels antigènes spécifiques provoqués par des attaques virales, bactériennes ou parasitaires (Tóthová et al, 2016). De ce fait, le mauvais état d'embonpoint de ces jeunes bovins qui n'expriment pas de manifestations cliniques, s'explique (Jackson, 2015). D'autres auteurs ont décrit ces pics monoclonaux chez cette espèce pour des sujets plus âgés (dépassant les 6 mois) pour des cas de leucémie lymphocytaire ou de tumeur du système réticuloendothéliale (Smith, 2009 ; Kaneko, 2000). La gammopathie monoclonale est caractérisée par un pic pointu, homogène, en forme de pic dans la région focale de la zone γ -globuline. Dans ce qui suit nous décrivons 8 cas cliniques représentatifs de cette anomalie : 4 veaux ,2 taurillons et 2 génisses :

- La gammopathie monoclonale chez les veaux : les Figures (2) et (3) représentent des cas accusant un retard de croissance, sans aucune anomalie lors du dosage des autres paramètres biochimiques. La Figure (4) représente aussi un cas accusant un retard de croissance et souffrant d'une arthrite confirmée par la biochimie : augmentation de la protéinémie (90gr/l), des α_2 globulines (10,8 gr/l), des γ globulines (34,56), de la PAL (224 U/L). La Figure (7) est un cas u souffrant d'une arthrite. La biochimie révèle : une augmentation de la PAL (222 U/l), témoin du remaniement osseux.
- La gammopathie monoclonale chez des taurillons : La Figure (5) est un cas accusant un retard de croissance, la biochimie révèle seulement une augmentation de la PAL (146 U/l) qui est témoin de la croissance osseuse, notant un pic des α_2 globulines sans augmentation de sa valeur (8,31/l). La Figure (9) décrit un cas caractérisé par un retard de croissance. Biochimie : augmentation de la PAL (155 U/l) témoin de la croissance osseuse.
- La gammopathie monoclonale chez des génisses : La Figure (6) est un cas d'atteinte de bronchopneumonie associée à une affection hépatique révélée par une augmentation de l'alpha2 globulines (10,3gr/l), Bil.T (9 gr/l), GGT (42U/l). La Figure (8) représente un cas caractérisée par un retard de croissance et une augmentation des α_2 globulines (9,88 gr/l), de la PAL (281U/l) témoin de la croissance osseuse.

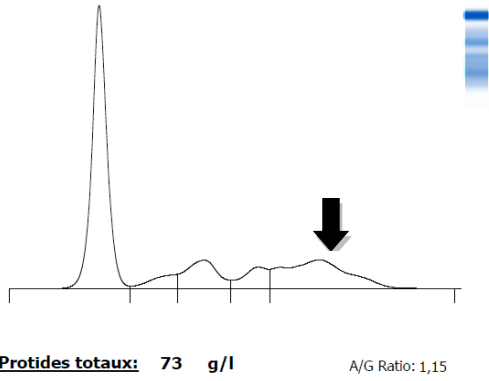


Figure 02: Pic monoclonal chez un veau âgé de moins de 2 mois

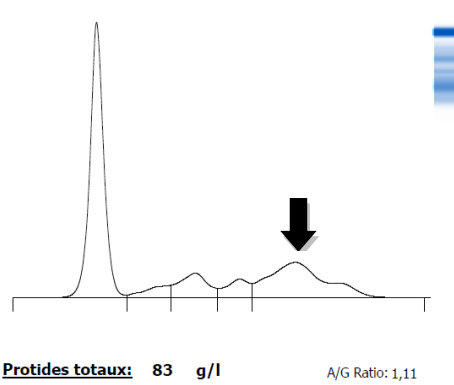


Figure 03: Pic monoclonal chez un veau âgé de moins de 4 mois

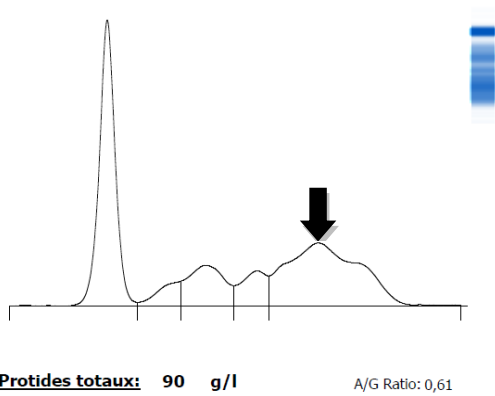


Figure 04: Pic monoclonal chez un veau, âgé de moins de 3 mois

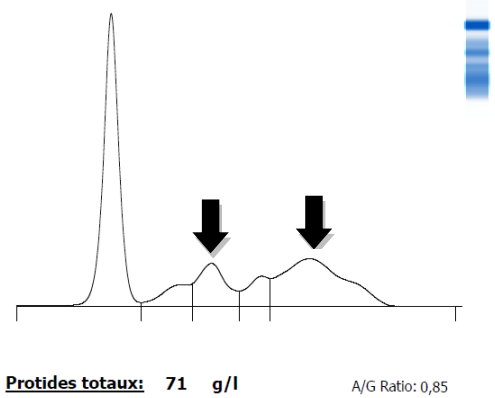


Figure 05: Pic monoclonal chez un jeune taurillon, âgé de 6 mois

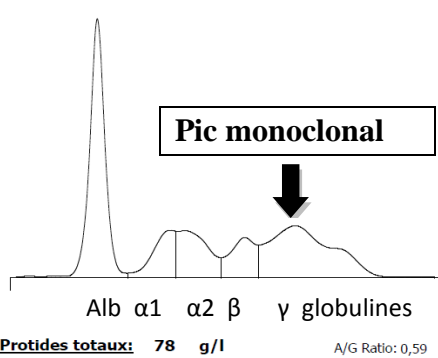


Figure 06 : Pic monoclonal chez une génisse

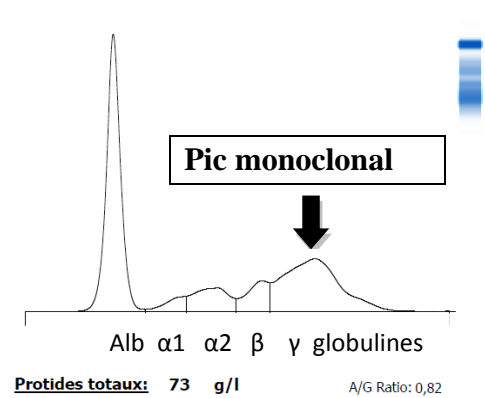


Figure 07: Pic monoclonal chez un veau âgé de moins de 3 mois

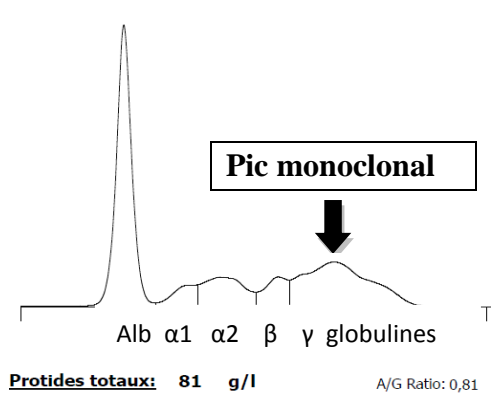


Figure 08: Pic monoclonal chez une jeune génisse, âgée de 6 mois

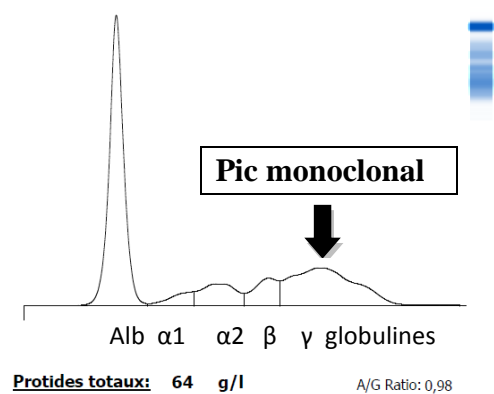


Figure 09: Pic monoclonal chez un taurillon âgé de moins de 6mois

2. Le deuxième groupe (57 sujets, soit 28%) comporte les hyper- gamma-globulinémies poly clonales (augmentation diffuse). C'est le cas de bovins qui développent des affections inflammatoires générales ou spéciales à un organe, voir les cas décrits dans les figures : 12, 13, 21, 22 ainsi que le cas de la figure (18) qui représente une vache, âgée de 10 ans, atteinte d'une affection mammaire chronique, caractérisée par un pic γ globulines (40,04 gr/l).

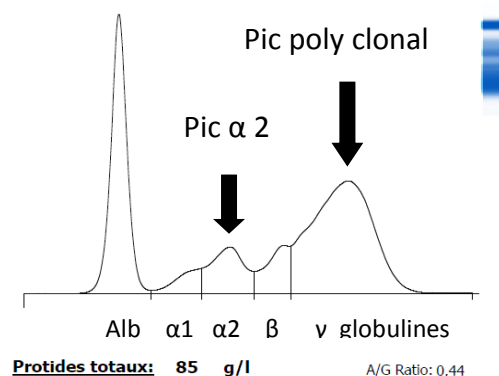


Figure 18 : Protéinogramme d'une vache, atteinte de mammite chronique.

4.8 Variations des tests biochimiques réalisés par rapport à l'inflammation :

A travers l'interprétation de l'EPP associée au dosage d'autres paramètres biochimiques, nous avons pu confirmer des cas cliniquement apparents, voir le cas de la figure (18) précédemment décrit et celui de la figure (16) qui présente le cas d'une vache, âgée de 8 ans, atteinte d'une affection mammaire associée à une bronchopneumonie. La biochimie a révélé une augmentation de la GGT (40U/l), PAL (181 U/l), Hp (0,54 gr/l), γ globulines (25,38 gr/l). Aussi, la figure (17) qui présente le cas d'une vache, âgée de 2ans, avec un tracé caractérisé par la formation d'un bloc (β - γ), elle est atteinte d'acidose du rumen associée à une affection hépatique, révélée par une augmentation de la protéinémie (95gr/l), de la Bil.T (8gr/l), des α_2 globulines (9,75 /l), des γ globulines (30,02 gr/l). Le même cas fut décrit par Piccione et al, 2012.

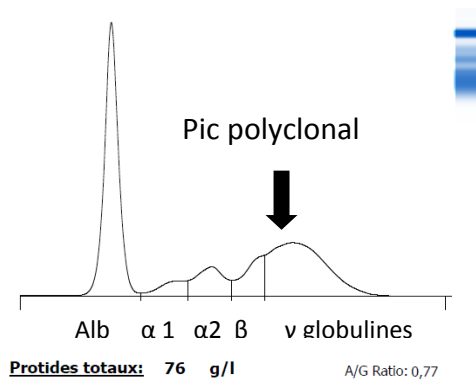


Figure 16 : Electrophorèse d'une vache, atteinte de bronchopneumonie et mammite

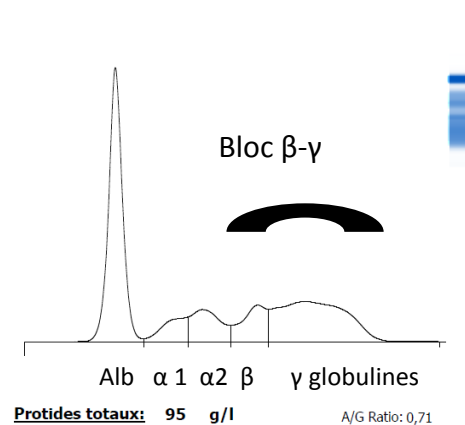


Figure 17 : Electrophorèse d'une vache, atteinte d'acidose du rumen

D'autres cas sont asymptotiques. On a pu les découvrir représentés dans les Figures (19), (20) précédemment décrits. Pour ces derniers, il s'agit d'affections hépatiques (une évolution sans signes cliniques apparents).

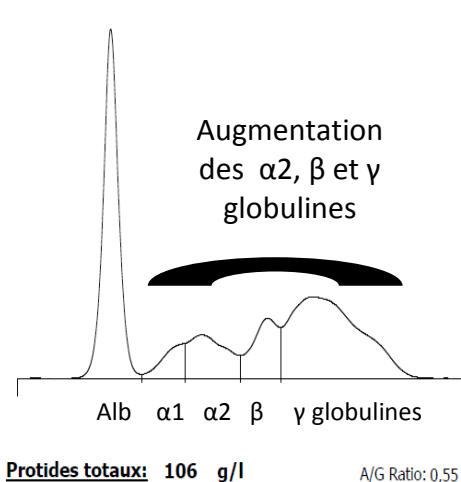


Figure 14 : Tracé d'électrophorèse d'une génisse âgée de 6mois

Le cas de la figure (14) est aussi caractérisé par une pathologie d'expression asymptomatique révélée par la biochimie clinique, il s'agit d'une génisse atteinte d'acidose du rumen associée à une insuffisance hépatique. Avec une augmentation de la protidémie (106 gr/l) qui suit souvent les cas d'acidose, des globulines α_2 (11,55 gr/l), des γ globulines (11,02gr/l), témoins de l'inflammation, des β globulines (40,39 gr/l), de la PAL (161U/l), de la GGT (274U/l), témoins de l'insuffisance hépatique secondaire à l'acidose du rumen, comme cela fut décrit par Tóthová et al, (2017).

Nos résultats corroborent avec la conclusion émise par Jania, Andraszek (2016) à savoir, que de nombreux processus pathologiques sont associés à des profils protéiques sériques anormaux. Les changements dans le profil protéique se produisent souvent en tant que symptômes secondaires dans de nombreuses maladies, mais ils peuvent aussi être le symptôme principal de certains états pathologiques spécifiques.

Le dosage du fibrinogène pour tous les sujets étudiés révélera que sa valeur ne dépassera jamais le seuil de 5 gr/l, ce chiffre est au dessous de la valeur d'auteurs comme : Kaneko, (2000), Tóthová et al, (2015) et cela même pour les sujets qui expriment des signes cliniques pathologiques. Ce paramètre s'est révélé moins sensible que l'interprétation des renseignements fournis par l'électrophorèse en ce qui concerne l'inflammation. Bien que son rôle soit depuis longtemps reconnu comme un bon indicateur de l'inflammation (Tóthová et al, 2014 ; Eckersall 2004, Davalos et Akassoglou, 2012), l'inexistence d'une importante augmentation de sa valeur dans les cas étudiés, pourrait s'expliquer par l'influence du bilan énergétique négatif qui est la conséquence de la non application des techniques de rationnement de l'alimentation nécessaire aux besoins des animaux dans les élevages en question (Tóthová et al, 2014).

Seules 10 vaches soit (5%) avaient un taux d'haptoglobine supérieure à 0,41g /l, le reste leurs taux n'étaient pas significatifs. Elles sont toutes atteintes de bronchopneumonie et appartiennent au même élevage. Cette sensibilité de l'haptoglobine à révéler l'inflammation d'origine respiratoires a été citée par Berry et al, 2005 ; Humblet et al, 2004 ; Tourlomoussis et al, 2004 ; Tóthová et al, 2013. Sa valeur concorde avec celle relevée par ceux qui la situent entre 0 à 60-70 mg/l (Skinner et al, 1991 ; Alsemgeest et al, 1994 ; Heegard et al, 2000 ; Grell et al, 2005 ; Godson et al, 1996 ; Salonen et al, 1996 ; Saini et al, 1998).

4.9 Valeurs du protéinogramme :

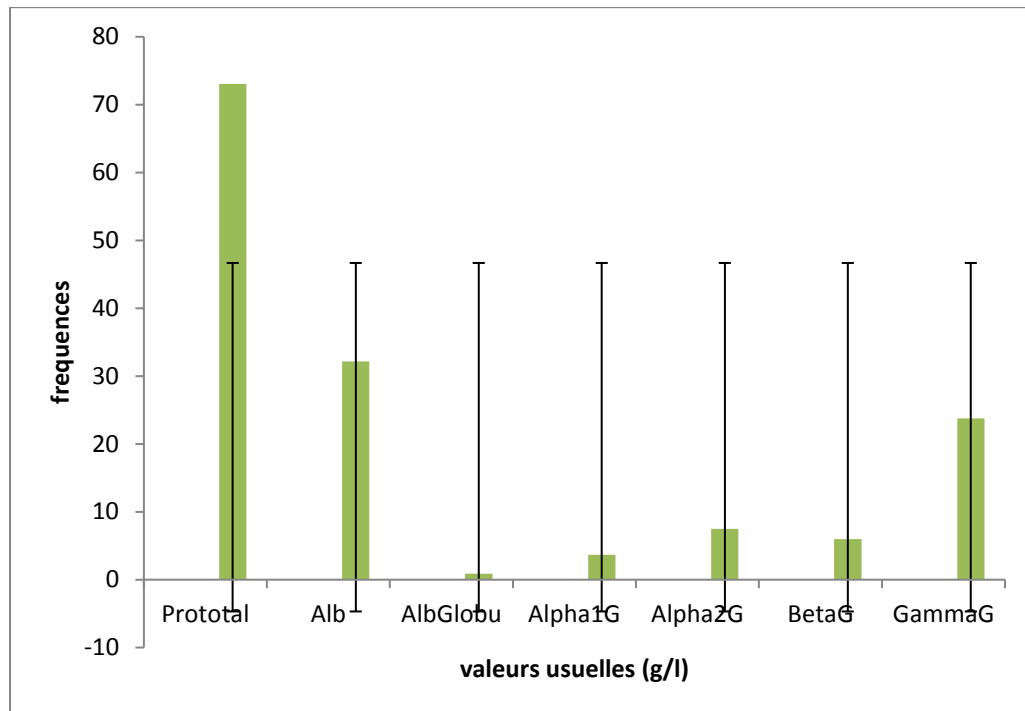


Figure (23) : Représentation graphique des valeurs usuelles du protéinogramme, n = 200

voir en annexe le tableau (03)

A travers les moyennes et écart-types trouvés (voir le tableau (4) en annexe (I) et la figure (23)) nous ne relevons aucune différence par rapport aux valeurs présentés dans la bibliographie (voir Tableau 01), exceptée pour la fraction alpha 1 globuline (étudiée dans la partie description du tracé). Nous avons pris aussi en considération le facteur santé (examen clinique) et ainsi, nous avons pu avoir les moyennes pour les sujets sains et celles des bovins malades (voir le tableau (3) en annexe (I) et la figure (23)) elles sont dans l'ensemble identiques à celles proposées par la bibliographie pour toute la population.

4.10 Variations des marqueurs protéiques de l'inflammation par rapport à l'âge, le SCC, stade physiologique :

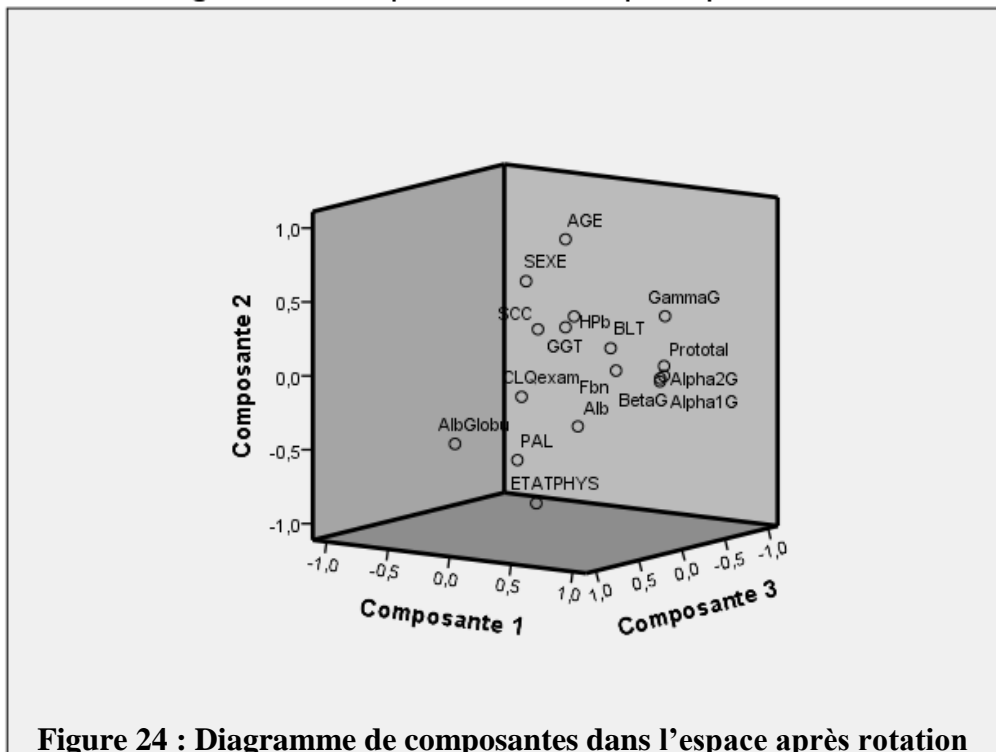
En prenant compte les résultats de la statistique descriptive (Tableau (3), annexe (I)), et celui du tableau représentant la matrice de corrélation (Tableau (4), annexe (I)), seules les fractions protéiques appartenant au protéinogramme (fractions d'électrophorèse) sont corrélées positivement entre elles car elles ne peuvent être dissociées l'une de l'autre. Le reste des paramètres : sexe, âge, stade physiologiques et SCC, leurs variables ont une différence significative ($P < 0,05$) avec chacun des paramètres biochimiques dosés (voir la figure 24 : diagramme de composantes dans l'espace après rotation).

- **Variation du protéinogramme par rapport à l'âge :** L'influence de l'âge sur les valeurs du protéinogramme a été étudiée par d'autres auteurs et qui ne corroborent avec nos résultats. Il y'a le travail de Fayos et al, (2005) qui pensent que l'âge des animaux est l'un des facteurs importants qui peut affecter les concentrations des différentes fractions protéiques sériques ou leur schéma électro- phorétique. Tóthová et al, (2013) ont montré que chez des bovins jeunes et adultes il y'a aussi l'existence d'une influence liée à l'âge pour les fractions α - et γ -globuline : à savoir que les valeurs des α_1 -globulines étaient plus élevées chez les veaux, alors que pour les animaux adultes ils présentaient des concentrations plus élevées de γ -globulines.
- **Variation du protéinogramme par rapport au Score de condition corporel :** l'état corporel des animaux est un des indicateurs de l'efficacité et de la sécurité d'une ration (Enjalbert, 1995). En ce qui concerne nos dosages biochimiques, les valeurs de ce paramètre ont une faible corrélation et une différence significative ($P < 0,05$) avec les valeurs de l'analyse des protéines sériques.
- **Variation du protéinogramme par rapport au stade physiologique :** l'état corporel varie significativement en fonction du stade physiologique dans le cycle de production d'où l'intérêt de la conduite du tarissement qui est une période stratégique et déterminante quant à l'avenir nutritionnel de l'animal et du troupeau (Drame et al, 1999). En ce qui concerne nos dosages biochimiques, les valeurs de ce paramètre ont une faible corrélation et une différence significative ($P < 0,05$) avec les valeurs de l'analyse des protéines sériques.
 - **Variations du protéinogramme par rapport à l'ensemble des paramètres étudié :** En ce qui nous concerne et à partir de nos résultats, nous sommes arrivés à prouver que l'interprétation des paramètres biochimiques dosés ne peut être significative que pour un individu, car chaque organisme possède une réactivité spécifique envers son environnement et un avis diagnostique, reste exclusivement du domaine du clinicien. Pour cela, on ne peut se baser sur la biochimie clinique pour une étude à l'échelle d'une population de bovin. Ceci est prouvé par de faible corrélation, une différence significative entre les différentes variables étudiées ($P < 0,05$) et les intervalles de confiance entre les sujets sains et les sujets malades qui sont très proches. S'ajoute à cela, qu'à partir des valeurs mentionnées dans le tableau (3), (voir l'annexe (I)), il existe qu'une légère différence entre l'ensemble des deux populations (les sujets malades et les sujets sains) car les chiffres se rapprochent (moyennes, écart-types et intervalles de confiances).

Si le praticien de terrain négligeait l'examen clinique en se basant seulement sur les analyses biochimiques, il va considérer l'ensemble comme étant totalement confondu (bovins cliniquement sains et bovins malades). Ce rapprochement peut s'expliquer par la mauvaise condition d'élevage (les élevages ne correspondent pas aux normes zootechniques) qui provoquerait un état de stress permanent, alors que ça pourrait rentrer dans l'ordre en améliorant les paramètres zootechniques requis, sans que cela nécessite une prise en charge médicale. Comme ce fût mentionné par Alsemgeest et al, 1995 ; Bach et al, 2005 ; Merlot, 2005 ; Solocombe et Colditz, 2005.

Pour cette raison il faudrait éviter d'utiliser les analyses des protéines sériques pour un diagnostic généralisé à une population non homogène, mais plutôt avoir une approche individuelle et spécifique. Excepter pour les protéines de la phase aiguë de l'inflammation, comme cela fût cité précédemment (protéines sentinelles).

Diagramme de composantes dans l'espace après rotation



AGE : l'âge

SEXE : le sexe

SCC : score condition corporelle

GammaG : γ globulines

Hpb : l'haptoglobine

Fb : fibrinogène

PAL : phosphatase alcaline

Alb : Albumine

GGT : gamma glutamyltransferase

AlbGlob : rapport Albumine/globulines

BLT : Bilirubine totale

4.11 Avantages et limites de la biochimie clinique pour le diagnostic des affections chez le bovin:

Dans cette partie nous allons reprendre l'ensemble des cas cliniques examinés au cours de notre partie expérimentale, afin de faire ressortir le rôle de la biochimie clinique pour affiner le diagnostic.

4.11.1 L'acidose du rumen :

- **Examen clinique** : il s'agit d'une vache laitière, âgée de 2 ans, avec un SCC = 4, elle présente une hyper-salivation avec inappétence, déshydratation (persistance du pli de peau et assèchement des muqueuses). Légère hyperthermie.
- **Dosages biochimiques** : ils révèlent, une élévation de la bilirubinémie (8mg/l), hyper-protéïnémie (95gr/l), les alpha2 globulines et gammaglobulines sont élevées (9,79gr /l ; 30,02gr/l, respectivement), avec formation d'un bloc Béta-gamma.
- **Tracé d'Electrophorèse des protéines sériques** : Voir la figure (17)
- **Diagnostic et discussion** :

Il s'agit d'une vache souffrant d'une insuffisance post-hépatique par cholé stase, révélée par l'augmentation de la bilirubine totale, et la formation d'un bloc béta-gamma globulines ; réaction concomitante à la forte inflammation qui siège au niveau du rumen, permettant l'infiltration d'agents infectieux à travers la circulation portale (veine porte hépatique) provoquant une forte inflammation (augmentation des globulines alpha et gamma). Cette inflammation peut résulter aussi par la présence d'abcès hépatique (Smith, 2009)

Cet exemple d'un cas clinique de terrain pourrait induire en erreur le praticien vétérinaire s'il avait négligé l'atteinte du foie (cas clinique d'évolution fugace). La réflexion suivie dans ce diagnostic clinico-biochimique est étayée par les travaux des auteurs : Radostits, 2000 ;Kaneko,1997 ; Thothovà, 2017.

4.11.2 Les Broncho-pneumonies:

- **Examen clinique :** nous avons rencontré 47 cas de broncho-pneumonies sur l'ensemble des bovins étudiés (23.5%). Ils présentaient tous des râles mixtes, le jetage muco-purulent et l'émission de toux ne concernaient pas la majorité. L'ensemble avait un SCC inférieur ou égal à (2).
- **Dosages biochimiques :** la majorité des sujets présentaient une élévation des globulines alpha2 : (] 10,64-12,57 [gr/l) et gamma : (] 26,4- 58,68 [gr/l). Seulement 10 cas ont enregistré un taux élevé d'haptoglobine (comme discuté précédemment).
- **Exemple d'un tracé d'électrophorèse d'un bovin souffrant de bronchopneumonie**

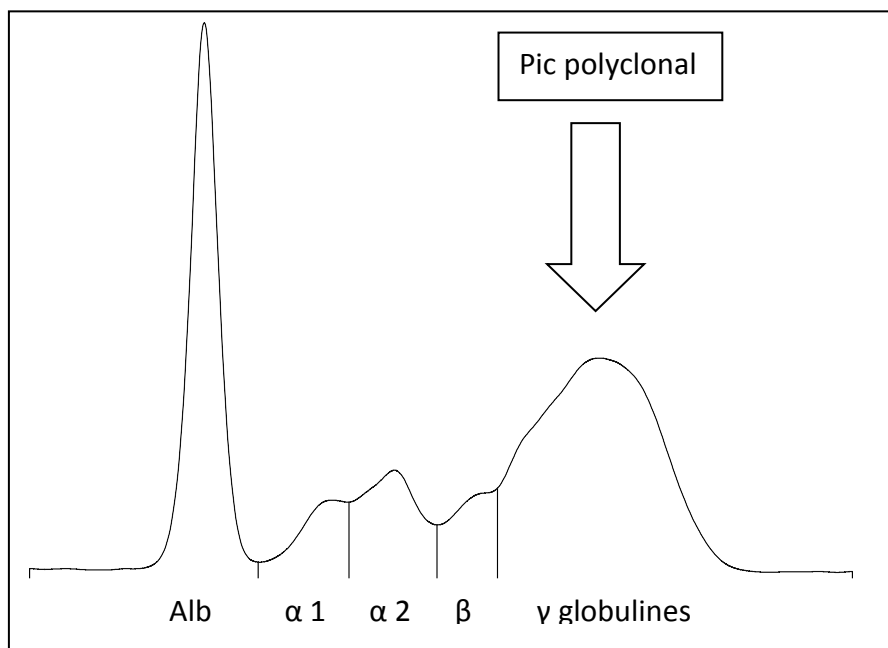


Figure (30): Protéinogramme d'un bovin souffrant d'une broncho-pneumonie

- **Diagnostic et discussion :** Pour ce cas de Figure clinique il semblerait que l'inflammation révélée par l'augmentation des gammas et alpha2 globulines soit d'un apport intéressant pour le clinicien. Car souvent les bronchopneumonies d'origine virale ou parasitaire sans surinfection bactérienne peuvent passer inaperçues dans un ensemble de cheptel de bovin non homogène.

4.11.3 Les Boiteries

- **Examen clinique :** nous avons rencontré 7 cas de boiterie. Sur l'ensemble : 5 cas d'affection de l'onglon, un autre d'arthrite et pour le dernier il s'agit d'une fracture du métatarse.
- **Dosages biochimiques :** comme expliqué précédemment (la faible corrélation entre la pathologie et les paramètres biochimiques dosés). Pour ces cas, la biochimie clinique n'a pas été utile. Il faut prendre en considération le cas par cas. Trois cas de boiterie ne présentaient aucune modification du profil biochimique (faculté de compensation de l'espèce). La phosphatase Alcaline était élevée pour un veau atteint d'arthrite (222 U/l), témoin du remaniement osseux. les trois autres présentaient une augmentation des gammaglobulines : (] 26,34-57,04[gr/l) témoins de l'inflammation.
- **Exemple d'un tracé d'électrophorèse d'un bovin souffrant de boiterie**

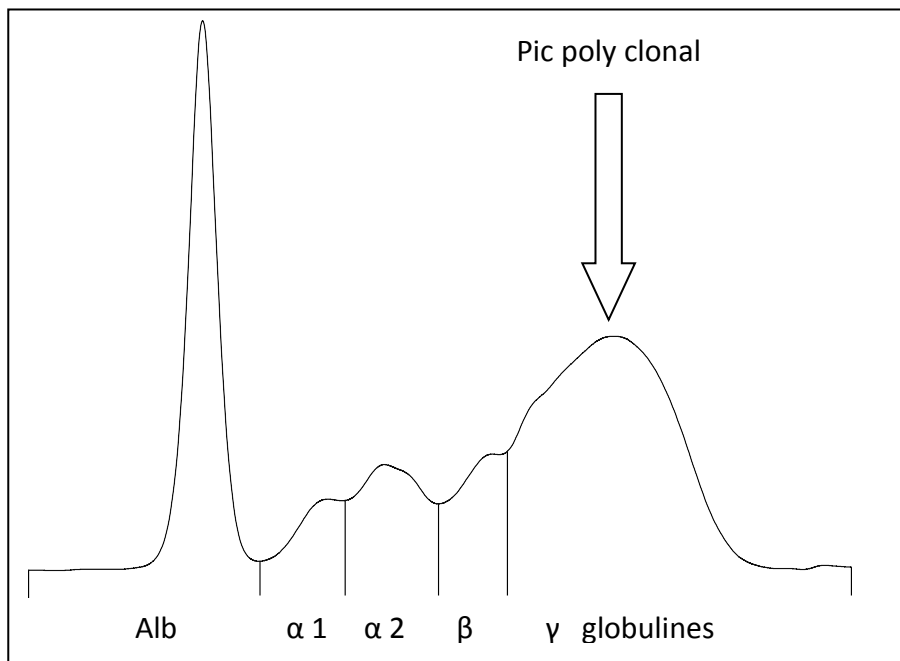


Figure (31): Protéinogramme d'un bovin souffrant de boiterie

- **Diagnostic et discussion :** pour la pathologie de l'appareil locomoteur la biochimie clinique semble peu révélatrice et d'un apport mitigé pour le clinicien. Seuls, les témoins de l'inflammation sont détectables et comme ils ne sont pas spécifiques l'examen clinique de près reste incontournable.

4.11.4 Les affections mammaires et métrites :

- **Examen clinique :** nous avons recensé 9 cas de mammite clinique, ainsi que 8 cas de métrite (les deux entités pathologiques ne sont pas associées pour chaque individu). L'expression clinique était explicite : signes inflammatoires, lait dénaturé et jetage vaginal purulent.
- **Dosages biochimiques :** sur l'ensemble, les variations des paramètres biochimiques étaient spécifiques à chaque individu et ne peuvent être généralisées :
 - Pour les cas de mammites : seulement quatre sujets présentaient des gammopathies poly- clonales : (]27,65-40,04[gr/l), le reste des paramètres , aucune anomalie significative.
 - Pour les cas de métrites : seulement trois sujets présentaient des gammopathie poly- clonales : (] 29,18-41,37 [gr/l), le reste des paramètres , aucune anomalie significative.
- **Exemple d'un tracé d'électrophorèse pour un cas de mammite**

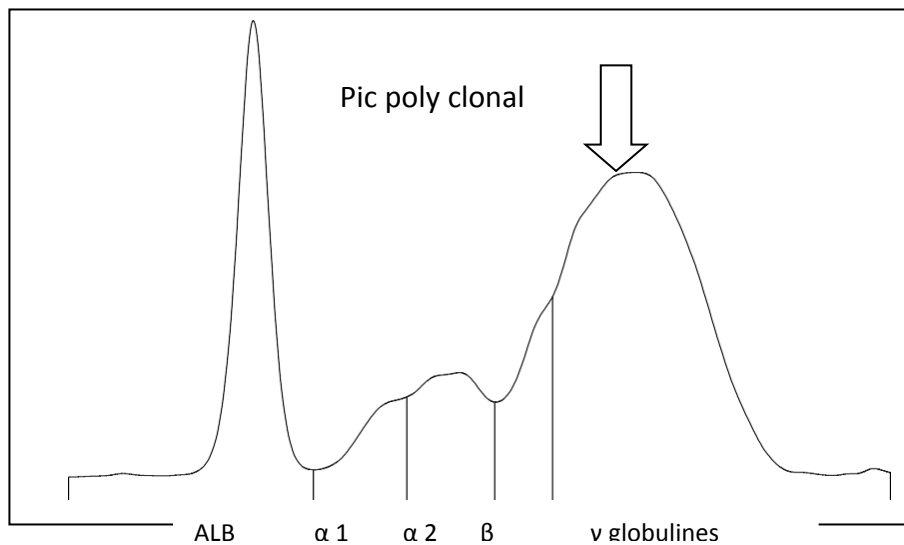
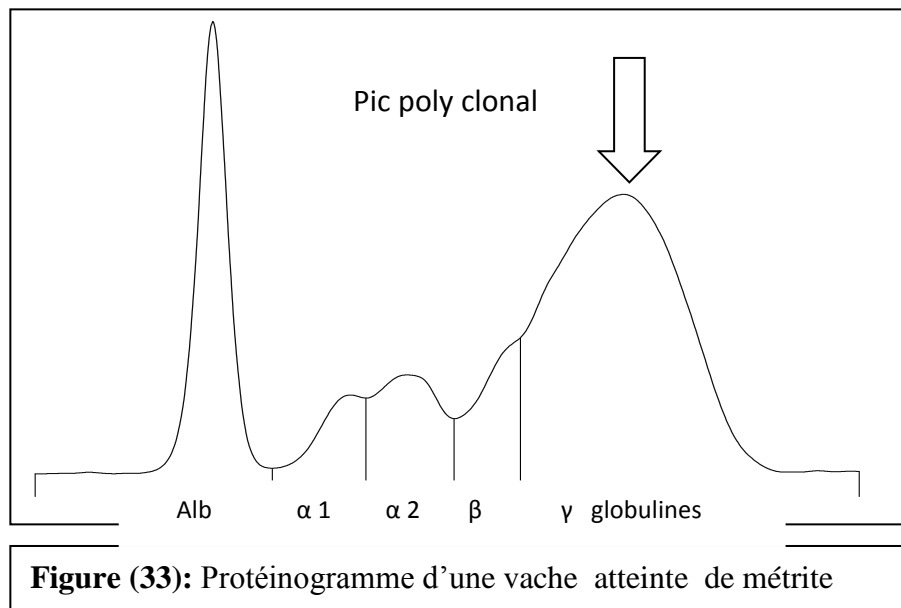


Figure (32): protéinogramme d'une vache atteinte de mammite clinique

- **Exemple d'un tracé d'électrophorèse pour un cas de métrite**



- **Diagnostic et discussion :** idem pour la pathologie précédente. Les résultats des paramètres biochimiques étudiés sont à prendre au cas par cas et ne peuvent être généralisés pour l'ensemble. Il faut seulement retenir que le plus souvent les hyper gammaglobulines représentent le témoin d'un processus inflammatoire sous-jacent. Ceci a été mentionné pour les vaches atteintes d'endométrites par Constantin et al, (2015).

4.11.5 Les troubles hépatiques:

- **Examen clinique :** les troubles fonctionnelles du foie peuvent englober des cas asymptomatiques (seule une chute de la production est palpable) et des cas, avec des signes cliniques avérés (maigreur, pâleur des muqueuses ou ictère, alternance de diarrhée et de constipation, inappétence).
- **Dosages biochimiques :** 18 cas ont présenté une augmentation de leur taux en « gamma glutamyl transférase » (]40-274 [UI) par rapport aux normes (voir tableau 01). Pour les autres, 15 cas ont présenté des taux élevés de bilirubine (] 4-9 [mg/l).

Par ailleurs, nous signalons une forte augmentation du taux d'activité de la phosphatase Alcaline pour 65 cas de bovins (]105-431 [UI). Ces derniers, ont en commun le fait d'être de jeunes bovins ou des vaches gestantes au deuxième tiers. Cette dernière enzyme n'est qu'un témoin du remaniement osseux chez ces sujets, qui sont exigeants en minéraux pour la constitution de leur squelette (ou fœtal pour celles qui sont gestantes) (Tennant, 1997).

Il est généralement admis qu'il faudra suspecter une choléstase (obstruction du canal cholédoque) dans le cas où cela coïnciderait avec l'augmentation de deux enzymes : la Bilirubine totale et la GGT (Tennant, 1997). c'est le cas d'une génisse de moins d'un an, soumise à un régime pauvre en fibres longues (BiliT=9 mg/l ; GGT :42U/l ; α_2 élevée = 10,3gr/l). Pour le tracé d'électrophorèse, voir la figure (06).

- **Diagnostic et Discussion :**

La phosphatase alcaline s'est révélée peu sensible pour la détection s'une souffrance hépatique, sauf pour la croissance osseuse, cela confirme l'avis des auteurs : Bain, 2011 ; Jackson, 2007. La coïncidence de l'augmentation de la Bili.T avec la GGT est rare (un seul cas, sur 200 Bovins), cette remarque rejoint l'avis de Jackson, 2007 et Kelly, 2003 qui affirment que la capacité régénérative de l'organe et la nécessité d'une perte de plus 70% de sa capacité fonctionnelle est nécessaire pour révéler son atteinte.

CONCLUSION

5. CONCLUSION

Grâce aux résultats trouvés, nous avons pu faire ressortir les caractéristiques de l'analyse des protéines sérique chez le bovin, quand elle est associée ou non aux autres paramètres biochimiques, ainsi que ces avantages et limites, dans les points suivants :

- La fraction α_2 obtenue par l'électrophorèse est toujours en augmentation lors d'un processus inflammatoire ou infectieux, étant donné que la majorité des APPs (protéines de la phase aiguë de l'inflammation), migrent vers cette zone. Il serait donc judicieux de prendre en compte ce fait plutôt que d'avoir recours séparément aux dosages des APPs qui nécessitent des techniques plus coûteuses. Les alpha2 globulines augmentent le plus souvent lors de bronchopneumonie.
- la majorité des bovins (72,5%) présentent un rapport Albumine - Globuline (A/G) élevé. conséquence d'une forte synthèse d'albumine
- 97,5% des bovins présentent un taux inférieur à (6gr/l) des alpha1 globulines (déficience du taux, avec un tracé plat) sans aucune répercussion sur leur état de santé.
- L'interprétation des paramètres biochimiques dosés ne peut être significative que pour un individu, (un avis diagnostique, reste exclusivement du domaine du clinicien). Pour cela, on ne peut se baser sur la biochimie clinique pour une étude à l'échelle d'une population. Ceci est prouvé par une différence significative entre les différentes variables étudiées ($P < 0,05$) et les intervalles de confiance entre les sujets sains et les sujets malades qui sont très proches.
- L'étude des tracés nous a permis de découvrir que l'électrophorèse peut à elle seule apporter une réponse à un grand nombre de problèmes de diagnostic clinique. Son interprétation en association à l'ensemble des données collectées pour chaque individu a permis de confirmer des cas cliniquement apparents et de découvrir d'autres cas asymptomatiques. Nous pouvons considérer l'électrophorèse des protéines sériques comme un outil pratique pour le diagnostic en médecine rurale : la facilité de réalisation, la simplicité de sa méthode, la rapidité de sa réponse (moins d'une heure), la qualité de son information ; l'électrophorèse constitue donc, une alternative pratique et économique dans l'exploration sémiologique des ruminants.

En fin, il est utile de signaler que :

- L'haptoglobine s'est révélée efficace pour déceler un processus inflammatoire, pour des cas cliniquement avérés (bronchopneumonie). il s'agit de 10 cas observés (5%). L'haptoglobine était supérieure à 0,41g /l.
- Le dosage du fibrinogène pour tous les sujets s'est révélé un faible témoin de l'inflammation, il ne dépassera jamais le seuil de 5 gr/L.

6. Recommandations:

- L'usage de l'électrophorèse est plus utile pour une approche clinique individuelle et ne peut se prêter à une interprétation à l'échelle d'une population à cause de l'existence de spécificité propre à chaque individu (physiologie, milieu, adaptation)
- L'électrophorèse devrait s'articuler avec l'examen clinique et les autres examens complémentaires (biopsie, hématologie, bactériologie). il faudrait l'associer à d'autres dosages biochimiques plus spécifiques (exploration fonctionnelle spécifique d'organes) afin d'éviter au vétérinaire praticien d'avoir à préconiser des traitements incertains.
- Le profil électrophorétique anormal des protéines sériques, peut être caractéristique de certains troubles ou maladies, mais dans d'autres cas peut indiquer seulement des processus pathologiques non spécifiques. En dépit de cette faible spécificité dans le diagnostic de certaines maladies, la détermination du profil protéique sérique chez les ruminants et l'interprétation correcte de leurs résultats sont très utiles pour les cliniciens dans le diagnostic d'animaux sains et malades, et peut servir de base à d'autres examens de laboratoire spécifiques.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. ÅKERSTEDT M, BJÖRCK L, WALLER KP., STERNESJÖ Å., 2005
Development of rapid biosensor method for determination of haptoglobin in bovine milk
The 5th International Colloquium On Animal, Acute Phase Proteins, Dublin,
Ireland March 14th – 15th 2005
2. ALBERGHINA D, GIANNETTO C, VAZZANA I, FERRANTELLI V, PICCIONE G. 2011
Reference intervals for total protein concentration, serum protein fractions, and albumin/globulin ratios in clinically healthy dairy cows. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2011;**23**:111-114
3. ALDRED AR, SCHREIBER G. 1993.
The negative acute phase protein. In: Mackiewicz I, Kushner I, Baumann H, editors. *Acute Phase Proteins. Molecular Biology, Biochemistry, and Clinical Applications*. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1993. pp. 21-37
4. ALLEN B.V., KOLD S.E. 1988
Fibrinogen response to surgical tissue trauma in the horse. *Equine Vet. J.*, 1988, 20, 441-443.
5. ALSEMGEEST S.P.M., KALSBECK H.C., WENSING T.H., KOEMAN J.P., VAN EDERN A.M., GRUYS E, 1994
Concentrations of Serum Amyloid A (SAA) and Haptoglobin (Hp) as parameters of inflammatory diseases in cattle. *Vet. Q.*, 1994, 16, 21-23.
6. ALSEMGEEST S.P.M., LAMBOOY I.E., WIERENGA H.K., DIELEMANS.J., MEERKERD B., VANEDEREN A.M., NIEWOLD T.A. 1995
Influence of physical stress on the plasma concentration of serum amyloid-a (SAA) and haptoglobin (Hp) in calves. *Vet. Q.*, 1995, 17, 9-12.
7. AMBROISE M, 1995
Introduction au laboratoire de biochimie médicale, Ed : ELLIPSES, 226p (139p-178p), 1995.
8. ANDERSON D.E., RINGS D.M. 2009
Current Veterinary Therapy: Food Animal Practice. 5th Edition. Philadelphia : Saunders Elsevier, 715 p (2009).
9. ARTHINGTON D., EICHER S. D., KUNKLE W. E., G. MARTIN F., 2003
Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves
J. Anim. Sci. 2003. 81:1120-1125.
10. AZIM W, AZIM S, AHMED K, SHAFI H, RAFI T, LUQMAN M. 2004
Diagnostic significance of serum protein electrophoresis. *Biomédica*. 2004;**20**:40-44
11. BACH A, IGLESIAS C , DEVANT M, MANTECA X, CALSAMIGLIA S, FERRET A, GIMENEZ M, SACO Y, BASSOLS A., 2005
Evaluation of acute phase proteins as potential indicators of social stress in dairy cattle.
The 5th International Colloquium On Animal, Acute Phase Proteins, Dublin,
Ireland March 14th – 15th 2005
12. BADOLATO R., JOHNSTON J.A., WANG J.M., MCVICAR D., XU L.L., OPPENHEIM J.J., KELVIN D.J., 1995
Serum amyloid A induces calcium mobilisation and chemotaxis in human monocytes by activating a pertussis toxin sensitive signalling pathway, *J. Immunol.*
155 (1995) 4004–4010.

13. BAIN P.J. 2011
Liver. In : LATIMER K.S., ed. Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine. Clinical Pathology. 5th Edition. Ames : Wiley-Blackwell, pp. 211-230. (2011).
14. BALLOU S.P., KUSHNER I., 1992
C-reactive protein and the acute phase response, *Adv. Intern. Med.* 37 (1992) 313–336.
15. BARNOUIN J., VOUREC'H G., 2004
Les maladies émergentes : un défi pour le développement durable des productions animale
INRA Prod. Anim., 2004, 17 (5), 355-363
16. BAUMANN H., GAULDIE J., 1994
The acute phase response, *Immunol. Today* 15 (1994) 74–80.
17. BERRY B.A., CONFER A.W., KREHBIEL C.R., GILL D.R., SMITH R.A., MONTELONGO M. 2004
Effects of dietary energy and starch concentrations for newly received feedlot calves: II. Acute phase protein response. *J. Anim. Sci.*, 2004, 82, 845-850.
18. BERRY E A., HILLERTON J.E., HETT B., HARTE D, 2005
Measuring milk quality by milk amyloid. The 5th International Colloquium On Animal, Acute Phase Proteins, Dublin, Ireland March 14th – 15th, 2005
19. BOYER R. 2000
Modern Experimental Biochemistry. 3rd ed. California: Addison Wesley Longman Inc.; 2000. 475 pp
20. BOUDERCUES, R., CALVET, H.; VENCAY, J. A. DE, 1971
Recherches sur le métabolisme du rumen chez les bovins tropicaux. 4. Evolution des taux de nutriments au cours d'une période de 24 heures. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 1971, Vol.24, No.2 pp.313-318.
21. BRODZKI P, KOSTRO K, BRODZKI A, WAWRON W, MARCZUK J, KUREK L. 2015
Inflammatory cyto-kines and acute-phase proteins concentrations in the peripheral blood and uterus of cows that developed endometritis during early postpartum. *Theriogenology*. 2015;**84**:11-18
22. BRUGERE-PICOUX J, BRUGERE H, 1981
Diagnostic des affections hépatiques chez les bovins (données d'examen cliniques, résultats de la biopsie et de la biochimie sanguine). *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 1981.
23. CALAMARI L., LIBRANDI F., TREVISI E., BERTONI G., 2003
Transition period in dairy cows: immune system, inflammatory conditions and liver activity . *J. Dairy Sci.* Vol. 85,.
24. CAMPBELL MD, BELLAMY J.E.C and SEARGY G, 1981
Determination of plasma fibrinogen concentration in horses
American journal of veterinary research, 1981, 42(1), 100-104
25. CAMUS MS, KRIMER PM, LEROY BE, ALMY FS. 2010
Evaluation of the positive predictive value of serum protein electrophoresis beta-gamma bridging for hepatic disease in three domestic animal species. *Veterinary Pathology*. 2010;**47**:1064-1070

26. CARLSON G.P, 1990
Clinical Chemistry Tests. In : *Large animal internal medicine*. Publisher : Mosby, St Louis, Missouri 63146, USA, 1990, pp. 386 – 411.
27. CASTELL J.V., GEIGER T., GROSS V., ANDUS T., WALTER E., HIRANO T., KISHIMOTO T., HEINRICH P.C. 1988
Plasma clearance, organ distribution and target cells of interleukin-6/hepatocyte-stimulating factor in the rat. *Eur. J. Biochem.*, 1988, 177, 357-361.
28. CECILIANI F, POCACQUA V, PROVASI E, BRONZO V, MORONI P., SALTORELLI P. 2005
Identification of the bovine alpha 1 –acid glycoprotein in colostrums and milk The 5th International Colloquium On Animal, Acute Phase Proteins, Dublin, Ireland March 14th – 15th 2005.
29. CERMAK J., KEY N.S., BACH R.R., BALLA J., JACOB H.S., VERCELLOTTI G.M., 1993
C-reactive protein induces human periferal blood monocytes to synthesize tissue factor, *Blood* 82 (1993) 513–520.
30. CHERYK L. A., HOOPER-MCGREVVY K.E., GENTRY P.A., 1998
Alterations in Bovine Platelet Function and Acute Phase Proteins Induced by *Pasteurella haemolytica* AI
Can J Vet Res 1998; 62: 1-8
31. CONNER J.G., ECKERSALL P.D., WISEMAN A., AITCHISON, 1988
T.C., DOUGLAS T.A. Bovine acute phase response following turpentine injection. *Res. Vet. Sci.*, 1988, 44, 82-88.
32. CORBIERE B JM, 2002
Les marqueurs de l'inflammation chez les bovins, nature, physiopathologie, et intérêt diagnostic Thèse 2002, Toulouse 3 école vétérinaire
33. CONSTANTIN TN, FAFANEATA C, POP A, BIRTOIU IA. 2015
Comparative electrophoresis of serum proteins between healthy dairy cows and dairy cows affected by endometritis. *Journal of Biotechnology*. 2015;208:S22
34. CRAY C, TATUM LM. 1998
Applications of protein electrophoresis in avian diagnostics. *Journal of Avian Medicine and Surgery*. 1998;12:4-10
35. CRAY C, RODRIGUEZ M, ZAIAS J. 2007
Protein electrophoresis in psittacine plasma. *Veterinary Clinical Pathology*. 2007;36:64-72
36. CRAY C, ZAIAS J, ALTMAN NH.
Acute phase response in animals: A review. *Comparative Medicine*. 2009; 59:517-526
37. CRAWFORD R.G., LESLIE K. E., BAGG R., DICK C. P., DUFFIELD T.F., 2005
The impact of controlled release capsules of monensin on postcalving haptoglobin concentrations in dairy cattle *The Canadian Journal of Veterinary Research* 2005; 69:208–214.
38. CRIVELLENTI F, BONATO M, CRISTOFORI P. 2008
Analysis of mouse, rat, dog, marmoset, and human serum proteins by capillary electrophoresis: Comparison with agarose gel electrophoresis. *Veterinary Clinical Pathology*. 2008;37:73-78

39. DARTOIS. H.R.A, 2011
Contribution à la mise en œuvre d'une méthode d'analyse des protéines sériques par électrophorèse en gel d'agarose. Thèse 2011, Ecole vétérinaire d'Alfort.
40. DAVALOS D, AKASSOGLU K. 2012
Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease. *Seminars in Immunopathology*. 2012;**34**:43-62
41. DENDEN S., LAKHDAR R, LEBAN N, DAIMI H, ELHAYEK D, KNANI J, PERRIN P, LEFRANC G, BENCHIBANI J, HAJKHELIL, 2010.
Mise au point: déficit en alpha 1 antitrypsine. , Avril 2010. *Rev Med Genet Hum*, 1:26-33.
42. DELANGE J., LANGLOIS M., OUYANG J., CLAEYS G., DE BUYZERE M., WUYTS B., 1998
Effect of haptoglobin phenotypes on growth of *Streptococcus pyogenes*, *Clin. Chem. Lab. Med.* 36 (1998) 691–696.
43. DIOGENES PVA, SUASSUNA ACD, AHID SMM, SOTO-BLANCO B. 2010
Serum protein electro-phoretic profile of goats infected with *Haemonchus contortus*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2010;**9**:1603-1606
44. DON BR, KAYSEN G. 2004
Serum albumin: Relationship to inflammation and nutrition. *Seminars in Dialysis*. 2004;**17**:432-437
45. DRAME E.D., HANZEN C., HOUTAIN J.Y., LAURENT Y., FALL A., 1999
Profil de l'état corporel au cours du post-partum chez la vache laitière. *Ann. Med. Vét.*, 1999, **143**: p. 265-270.
46. DUFFIELD T., 2000
Biochemistry reference intervals. Users Guide 2000. <http://www.uoguelph.ca/ahl.htm>.
47. DZIEGIELEWSKA K.M., BROWN W.M., GOULD C.C., MATTHEWS N., SEDGWICK J.E., SAUNDERS N.R. 1992
Fetuin: an acute phase protein in cattle. *J. Comp. Physiol. (B)*, 1992, 162, 168-171.
48. ECKERSALL PD, BELL R. 2010
Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *The Veterinary Journal*. 2010;**185**:23-27
49. ECKERSALL PD, YOUNG F.J., NOLAN A.M., KNIGHT C.H., SCOTT E.M., FITZPATRICK J.L, 2005
Acute phase proteins in milk : local production of mammary associated serum amyloid A3 and haptoglobin. The 5th International Colloquium On Animal, Acute Phase Proteins, Dublin, Ireland March 14th – 15th , 2005.
50. ECKERSALL PD, 2004
How can we measure the innate immune system? Or Acute Phase Proteins: Biomarkers for the innate immune system. Report for Workshop Participants, Symposium Hall Royal College of Surgeons, Edinburgh, January 2004.
51. ECKERSALL P.D., CONNER J.G. 1990
Plasma haptoglobin in cattle (*Bos taurus*) exists as polymers in association with albumin. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1990, 96B, 309-314.

52. ECKERSALL P.D., GOW J.W., MC COMB C., BRADLEY B., RODGERS J., MURRAYM., KENNEDY P.G. 2001a
Cytokines and the acute phase response in post-treatment reactive encephalopathy of *Trypanosoma brucei brucei* infected mice. *Parasitol. Int.*, 2001a,50, 15-26.
53. ECKERSALL P.D., YOUNG F.J., MC COMB C., HOGARTH C.J., SAFI S., WEBER A., MC DONALD T., NOLAN A.M., FITZPATRICK J.L. 2001b
Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. *Vet. Rec.*, 2001b, 148, 35-41.
54. EDMONSON. J. I, J LEAN, L.D WEAVER, T FARVER, G WEBSTER, 1989
A body condition scoring chart for Holstein dairy cows, *Journal of Dairy Science*, Volume 72, Issue 1, January 1989, Pages 68-78.
55. EICHER S. D., 2001
Transportation of Cattle in the Dairy Industry: Current Research and Future Directions 2001, *J. Dairy Sci.* 84: 19-23
56. EL-GHMATI S.M., VAN HOEYVELD E.M., VAN STRIJP J.G., CEUPPENS J.L., STEVENS E.A. 1996
Identification of haptoglobin as an alternative ligand for CD11b/CD18. *J. Immunol.*, 1996, 156, 2542-2552.
57. ENJALBERT F., 1995
Conseil alimentaire et maladies métaboliques en élevage. *Point Vét*, 1995, 27 (N° spécial maladies métaboliques): p. 33-38.
58. ERRICO G, GIORDANO A, PALTRINIERI S. 2012
Diagnostic accuracy of electrophoretic analysis of native or defibrinated plasma using serum as a reference sample. *Veterinary Clinical Pathology*. 2012;41:529-540
59. ESMAEILNEJAD B, TAVASSOLI M, ASRI-REZAEI S, DALIR-NAGHADEH B, POURSEYED SH. 2014
Evaluation of serum total protein concentration and protein fractions in sheep naturally infected with *Babesia ovis*. *Comparative Clinical Pathology*. 2014;23:151-155
60. FARRAN T. B., DROUILLARD J. S., BLASI D. A., SPIRE M. F, SINDT J. J., MONTGOMERY S. P., COETZER C. M.,LABRUNE H. J, MINTON J. E., HIGGINS J. J., ELSASSER T. H., 2002
Immune response in feeder cattle fed different sources of dietary lipid
Cattlemen's Day 2002
61. FISHER A.D., CROWE M.A., OKIELY P., ENRIGHTW.J. 1997
Growth, behaviour, adrenal and immune responses of finishing beef heifers housed on slatted floors at 1.5, 2.0, 2.5 or 3.0 m² space allowance.
Livest. Prod. Sci., 1997, 51, 245-254.
62. FISHER A.D., KNIGHT T.W., COSGROVE G.P., 2001
Effects of Surgical or Banding Castration on Stress Response and Behavior of Bulls
Australian Veterinary Journal 79(4):279-284, April 2001

- 63. FITZPATRICK J.L., YOUNG F.J., ECKERSALL P.D., LOGUE D.N., KNIGHT C.J., NOLAN A., 1998**
Recognising and controlling pain and inflammation in mastitis Proceedings of the British Mastitis Conference 1998, Axient/Institute for Animal Health, Milk Development Council/Novartis, Animal Health, p36-44
- 64. FONTAINE.M. 1993**
Vade-mecum du vétérinaire, 15ème édition, office nationale des publications universitaire, 1993.
- 65. FROMENT. P, 2007.**
Note d'état corporel et reproduction chez la vache laitière. Thèse doctorat vétérinaire 2007, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.112p
- 66. FÜERLL M., KIRBACH H., PIETSCH H.,2005**
Haptoglobin in routine analysis of bovine serum The 5th International Colloquium On Animal, Acute Phase Proteins, Dublin, Ireland March 14th – 15th 2005
- 67. GABAY C., KUSHNER I. 1999**
Mechanisms of disease: acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. N. Engl. J. Med., 1999, 340, 448-454.
- 68. GANHEIM C., HOGLUND J., WALLER K.P. 2004**
Acute phase proteins in response to *Dictyocaulus viviparus* infection in calves. Acta Vet. Scand., 2004, 45, 79-85.
- 69. GENTRY PA. 1999**
Acute phase proteins. In: Loeb WF, Quimby FW, editors. Clinical Chemistry of Laboratory Animals. Philadelphia: Taylor & Francis; 1999. pp. 336-398
- 70. GIORDANO A, PALTRINIERI S. 2010**
Interpretation of capillary zone electrophoresis compared with cellulose acetate and agarose gel electrophoresis: Reference intervals and diagnostic efficiency in dogs and cats. Veterinary Clinical Pathology. 2010;**39**:464-473
- 71. GLASS E.J., CRAIGMILE S.C., SPRINGBETTA., PRESTON P.M., KIRVAR E., WILKIE G.M., ECKERSALL P.D., HALL F.R., BROWN C.G. 2003**
The protozoan parasite, *Theileria annulata*, induces a distinct acute phase protein response in cattle that is associated with pathology. Int. J. Parasitology, 2003, 33, 1409-1418.
- 72. GRELL S.N., TJORNEHOJ K., LARSEN L.E., HEEGAARD P.M, 2005**
Marked induction of IL-6, haptoglobin and IFN γ following experimental BRSV infection in young calves. Vet. Immunol. Immunopathol., 2005, 103, 235-245.
- 73. GRUYS E., OBWOLO M.J., TOUSSAINT M.J.M. 1994**
Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. Vet. Bull., 1994, **64**, 1009-1018.
- 74. GODEAU J.M., PIRLOT A., RIZET C., CABANAC S., SCHELCHER F., NAVETAT H, 2000**
Surveys of haptoglobin and fibrinogen changes during a challenge infection with *Pasteurella haemolytica* in one week old calves subjected to an antibiotherapy. Rev. Méd. Vét., 2000, 151, 705.

75. GODSON D.L., BACAESTRADA M.E., VANKESEL A.G., HUGHES H.P.A., MORSY M.A., VANDONKERSGOED J., HARLAND R.J., SHUSTER D.E., DALEY M.J., BABIUK L.A. 1995
Regulation of bovine acute phase responses by recombinant interleukin- 1 beta. *Can. J. Vet. Res.*, 1995, 59, 249-255.
76. GODSON D.L., CAMPOS M., ATTAH-POKUJ S.K., REDMOND M.J., CORDEIRO D.M., SETHI M.S., HARLAND R.J., BABIUK L.A. 1996
Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1996, 51, 277-292.
77. GRÖNLUND U., HALLÉN SANDGREN C., PERSSON WALLER K. 2005
Haptoglobin and Serum amyloid A in milk from dairy cows with chronic sub-clinical mastitis. *Vet. Res.*, 2005, 36, 191-198.
78. GRÖNLUND ANDERSSON U., 2004
The Immune Response during Acute and Chronic Phase of Bovine Mastitis with emphasis on *Staphylococcus aureus* infection. **Doctoral thesis**; Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Swedish University of Agricultural Sciences, And Department of Ruminant and Porcine Diseases, National Veterinary Institute, Uppsala, Sweden (2004)
79. GRELL S.N., TJORNEHOJ K., LARSEN L.E., HEEGAARD P.M. 2005
Marked induction of IL-6, haptoglobin and IFN γ following experimental BRSV infection in young calves. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2005, 103, 235-245.
80. GRUYS E., TOUSSAINT M.J.M., UPRAGARIN N., VAN EDEREN A.M., ADEWUYI A.A., CANDIANI D., NGUYEN T.K.A., SABACKIENE J, 2005
Acute phase reactants, challenge in the near future of animal production and veterinary medicine. *J Zhejiang Univ SCI* 2005 6B(10):941-947.
81. GRUYS E., VAN EDEREN A.M., ALSEMGEEST S.P.M., KALSBECK H.C., WENSING T. 1993
Acute phase proteins values in blood of cattle as indicator of animals with pathological processes. *Arch. Lebensmittelhyg.*, 1993, 44, 105-111.
82. GRUYS E., OBWOLO M.J., TOUSSAINT M.J.M. 1994
Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. *Vet. Bull.*, 1994, 64, 1009-1018.
83. GRUYS E., TOUSSAINT M.J.M., NIEWOLD T.A., KOOPMANS S.J., 2005
Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ SCI* 2005 6B(11):1045-1056
84. GUPTA A, STOCKHAM SL. 2014
Negative interference of icteric serum on a bichromatic biuret total protein assay. *Veterinary Clinical Pathology*. 2014;**43**:422-427
85. HANKINS J. 2006
The role of albumin in fluid and electrolyte balance. *Journal of Infusion Nursing*. 2006;**29**:260-265
86. HEEGAARD P.M.H., GODSON D.L., TOUSSAINT M.J.M., TJORNEHOJ K., LARSEN L.E., VIUFF B., RONSHOLT L, 2000
The acute phase response of haptoglobin and serum amyloid A (SAA) in cattle undergoing experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2000, 77, 151-159.

87. HEINRICH P.C., CASTELL J.V., ANDUS T. 1990
Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem. J.*, 1990, 265, 621-636.
88. HERDT T.H., 2000
Ruminant adaptation to negative energy balance. *In : Metabolic disorders of Ruminants*, The veterinary clinics of North America, 16 : 2, pp 215 – 230, 2000.
89. HIRVONEN J., PYORALA S. 1998
Acute phase response in dairy cows with surgically-treated abdominal disorders. *Vet. J.*, 1998, 155, 53-61.
90. HIRVONEN J., HUSZENICZA G., KULCSAR M., PYORALA S. 1999b
Acute-phase response in dairy cows with acute postpartum metritis. *Theriogenology*, 1999b, 51, 1071-1083.
91. HODGSON J.C., 2005
Acute phase response profiles as indicators of disease severity, recovery or vaccine efficacy in bovinds infected with *Pasteurella Multocida* The 5th International Colloquium On Animal, Acute Phase Proteins, Dublin, Ireland March 14th – 15th 2005.
92. HOFNER M.C., FOSBERY M.W., ECKERSALL P.D., DONALDSON A.I. 1994
Hatpoglobine response of cattle infected with foot-andmouth disease virus. *Res. Vet. Sci.*, 1994, 57, 125-128.
93. HOGAN I, DOHERTY M, FAGAN J, KENNEDY E, CONNEELY M, BRADY P, RYAN C, LORENZ I. 2015
Comparison of rapid laboratory tests for failure of passive transfer in the bovine. *Irish Veterinary Journal*. 2015;68:18-27
94. HORADAGODA N.U., KNOX K.M.G., GIBBS H.A., REID S.W.J., HORADAGODA A., EDWARDS S.E.R., ECKERSALL P.D. 1999
Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. *Vet. Rec.*, 1999, 144, 437-441.
95. HUMBLET M.-F., GODEAU J.-M. 2005
L'haptoglobine, marqueur protéique de l'inflammation aiguë, dans l'espèce bovine
Ann. Méd. Vét., 2005, 149, 20-33.
96. HUMBLET M.F., COGHE J., LEKEUX P., GODEAU J.M, 2004
Acute phase proteins assessment for an early selection of treatments in growing calves suffering from bronchopneumonia under field conditions. *Res. Vet. Sci.*, 2004, 77, 41-47.
97. IWATA H, ONO K, HASEGAWA A and TOMODA I, 1987
Isolation of bovine serum α (1)-acid glycoprotein. *Japanese journal of veterinary science*, 1987, 49(2), 383-386
98. JACKSON M.L. 2007
Hepatobiliary system. *In : JACKSON M.L., ed. Veterinary Clinical Pathology. An Introduction*. Ames : Blackwell Publishing, pp. 223-245. (2007).
99. JACKSON DA, ELSAWA SF. 2015
Factors regulating immunoglobulin production by normal and disease-associated plasma cells. *Biomolecules*. 2015;5:20-40

- 100.** JACOBSEN S., ANDERSEN P.H., TOELBOEL T., HEEGAARD P.M.H, 2004
Dose dependency and individual variability of the lipopolysaccharide- induced bovine acute phase protein response. *J. Dairy Sci.*, 2004, 87, 3330-3339.
- 101.** JAIN S, GAUTAM V, NASEEM S. 2011
Acute phase proteins: As diagnostic tool. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences.* 2011;**3**:118-127
- 102.** JANCIAUSKIENE SM, BALS R, KOCZULLA R, VOGELMEIER C, KÖHNLEIN T, WELTE T. 2011
The dis-covery of α 1-antitrypsin and its role in health and disease. *Respiratory Medicine.* 2011;**105**:1129-1139
- 103.** JANIA B, ANDRASZEK K. 2016
Application of native agarose gel electrophoresis of serum pro-teins in veterinary diagnostics. *Journal of Veterinary Research.* 2016;**60**:501-508
- 104.** JUE D.M., SHIM B.S., KANG Y.S. 1983
Inhibition of prostaglandin synthetase activity of sheep seminal vesicular gland by human serum haptoglobin. *Mol. Cell. Biochem.*, 1983, 51, 141-147.
- 105.** KANEKO JJ. 1997
Serum proteins and the dysproteinemias. In: Kaneko JJ, editor. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals.* 5th ed. London, UK: Academic Press; 1997. pp. 117-138
- 106.** KANEKO J. J., 2000
A century of animal clinical biochemistry : growth, maturity and visions for the future
Revue Méd. Vét., 2000, 151, 7, 601-605.
- 107.** KATOH N., NAKAGAWA H. 1999
Detection of haptoglobin in the highdensity lipoprotein and the very high-density lipoprotein fractions from sera of calves with experimental pneumonia and cows with naturally occurring fatty liver. *J. Vet. Med. Sci.*, 1999, 61, 119-124.
- 108.** KENT J. 1992
Acute phase proteins: their use in veterinary diagnosis.
Br. Vet. J., 1992, 148, 279-282.
- 109.** KELLY R. 2003
Ruminant liver disease. In : COTTON M., Post-Graduate Foundation in Veterinary Science, University of Sydney, eds. *Gross Pathology of Ruminants. Proceedings Sydney : Post-Graduate Foundation in Veterinary Science, University of Sydney*, pp. 81-96(2003).
- 110.** KESSELL A. 2015
Bovine hematology and biochemistry. In : COCKCROFT P.D., ed. *Bovine Medicine.* 3rd Edition. Ames : Wiley-Blackwell, pp. 146-160. (2015).
- 111.** KIM I.K., LEE J.H., KIM H.S., KWON O.J., SHIM B.S. 1995
A novel function of haptoglobin: haptoglobin-haemoglobin complex induces apoptosis of hepatocarcinomatous hep 3B cells. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1995, 55, 529-535.
- 112.** KUJALA M, ORRO T, SOVERI T. 2010
Serum acute phase proteins as a marker of inflammation in dairy cattle with hoof diseases. *Veterinary Record.* 2010;**166**:240-241

- 113.** KUSHNER I. 1993
Regulation of the acute phase response by cytokines. *Perspect. Biol. Med.*, 1993, 36, 611-622.
- 114.** LEE JS. 2012
Albumin for end-stage liver disease. *Korean. Journal of Internal Medicine.* 2012;**27**:13-19
- 115.** LECARRER, D. 1994
Serum protein electrophoresis immunofixation, 125p (11p-31p) , Editeur : SEBIA (INC), 1994
- 116.** LEE WEN-CHUAN, HSIAO HUO-CHENG, WU YING-LING, LIN JYH-HUNG, LEE YEN-PAI, FUNG HANG-POUNG, CHEN HSIN-HSIN, CHEN YU-HSIN, CHU REA-MIN., 2003
Serum C-reactive protein in dairy herds. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 2003; 67:102.107
- 117.** LEWIS D.A., DYER D.W. 1995
Identification of an iron-regulated outer membrane protein of *Neisseria meningitidis* involved in the utilization of haemoglobin complexed with haptoglobin. *J. Bacteriol.*, 1995, 177, 1293-1306.
- 118.** LIANG J., SIPE J.D., 1995
Recombinant human serum amyloid A (apoSAAp) binds cholesterol and modulates cholesterol flux, *J. Lipid Res.* 36 (1995) 37–46.
- 119.** LOWE GD, RUMLEY A, MACKIE IJ. 2004
Plasma fibrinogen. *Ann Clin Biochem.* 2004; 41(6):430-440.
- 120.** LUDWIG, P., LEIDINGER, E.F. et HOOIJBERG, E.H. 2004
Evaluation of the fibrinogen antigenic turbidimetric assay as a screening method for measurement of fibrinogen concentration in dogs. *Vet. Clin. Pathol.*, (2012), **41** (2), pp. 243-248.
- 121.** LUNDBLAD R. 2003
Considerations for the use of blood plasma and serum for proteomic analysis. *The Internet Journal of Genomics and Proteomics.* 2003;1:1-8
- 122.** MAKIMURA S., SUZUKI N. 1982
Quantitative determination of bovine serum haptoglobin and its elevation in some inflammatory diseases. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 1982, **44**, 15-21.
- 123.** McSHERRY B.J., LUMSDEN J.H., VALLI V.E., BAIRD J.D., 1984.
Hyperbilirubinemia in sick cattle. *Can. J. Comp. Med.* ; 1984, 48(3):237-40.
- 124.** McDONALD T L. , LARSON M A. , MACK DR. , WEBER A, 2001
Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary-associated serum amyloid a 3 (m-saa3) into colostrums. *Veterinary immunology and immunopathology.* volume 83, issues 3–4, december 2001, pages 203-211
- 125.** MACKIEWICZ A. 1997
Acute phase proteins and transformed cells. *International Review of Cytology.* 1997;**170**:225-300
- 126.** MAC NAIR J., ELLIOTT C.T., MACKIE D.P. 1995
Development of a sensitive and specific time resolved fluorimetric immunoassay for the bovine acute phase protein haptoglobin. *J. Immunol. Methods*, 1995, **184**, 199-205.

- 127.** MCNAIR J, KENNEDY D.G, BRYSON D.G, REILLY G.A.C, MCDOWELL S.W.J and MACKIE D.P, 1997
Evaluation of competitive immunoassays for the detection of bovine haptoglobin. *Research in veterinary science*, 1997, 63, 145-149.
- 128.** MILLER Y.I., ALTAMENTOVA S.M., SHAKLAIN N. 1997
Oxidation of low-density lipoprotein by hemoglobin stems from a heme-initiated globin radical: antioxidant role of haptoglobin. *Biochemistry*, 1997, 36, 12189-12198.
- 129.** MERLOT E., 2004
Conséquences du stress sur la fonction immunitaire chez les animaux d'élevage. *INRA Prod. Anim.*, 2004, 17 (4), 255-264.
- 130.** MOLENAAR A., HARRIS P., GREEN J., CALLAGHAN M., KIM K., WIELICZKO R., JOHANNESSEN K., DINES R., WATSON R., ARKUS V., DALZIEL J., SINGH K., RAJAN G., PEARSON M., FARR V., MILES M., ODEN K., GOOD L., MCLAREN R., PROSSER C., GRIGOR M., DAVIS S., STELWAGEN K. 2005
Mammary seum amyloid A3, progress toward determining structure and function The 5th International Colloquium On Animal, Acute Phase Proteins, Dublin, Ireland March 14th – 15th 2005
- 131.** MORIMATSU M., SYUTO B., SHIMADA N., FUGINAGA T., YAMAMOTO S., SAITO M., NAIKI M. 1991
Isolation and characterisation of bovine haptoglobin from acute phase sera. *J. Biol. Chem.*, 1991, 266, 11833- 11837.
- 132.** MOUICHE MOULIOM, M. M , 2007
Etude du profil électrophorétique des protéines sériques de vaches ayant avorté après insémination artificielle au Sénégal. Mémoire, 2007. Université Cheikh Anta diop de dakar .
- 133.** MOUICHE MOULIOM M.M, SOW A., KALANDI M., MPOUAM S. E., OUEDRAOGO G. A, SAWADOGO G. J , , 2013
Analyse du profil protéique chez des vaches zébus Gobra artificiellement inséminées au Sénégal. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 7(2): 780-789, April, 2013.
- 134.** MÜLLER-DOBLIES D., ARQUINT A., SCHALLER P., HEEGAARD P. M. H., HILBE M., ALBINI S., ABRIL C., TOBLER K., EHRENSPERGER F., PETERHANS E., ACKERMANN M., METZLER A., 2004
Innate Immune Responses of Calves during Transient Infection with a Noncytopathic Strain of Bovine Viral Diarrhea Virus *American Society for Microbiology, Clinical and diagnostic laboratory immunology*, Mar. 2004, p. 302–312 Vol. 11, No. 2
- 135.** MURATA H., MIYAMOTO T. 1993
Bovine haptoglobin as a possible immunomodulator in the sera of transported calves. *Br. Vet. J.*, 1993, 149, 277-283.
- 136.** NAGY O, TÓTHOVÁ CS, NAGYOVÁ V, KOVÁČ G. 2015
Comparison of serum protein electrophoretic pattern in cows and small ruminants. *Acta Veterinaria Brno.* 2015;**84**:187-195
- 137.** NAKAGAWA H., YAMAMOTO O., OIKAWA S., HIGUCHI H., WATANABE A., KATO H. N. 1997
Detection of serum haptoglobin by enzyme-like immunosorbent assay in cows with fatty liver. *Res. Vet. Sci.*, 1997, 62, 137-141.

- 138.** NAKAJIMA Y., MOMOTANI E., MURAKAMI T., ISHIKAWAY., MORIMATSU M., SAITO M., SUZUKI H., YASUKAWA K. 1993
Induction of acute phase proteins by recombinant human interleukin- 6 (IL-6) in calves. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1993, 35, 385-391.
- 139.** NIELSEN B.H., JACOBSEN S., ANDERSEN P.H., NIEWOLD T.A., HEEGAARD P.M.H. 2004
Acute phase protein concentrations in serum and milk from healthy cows with clinical mastitis and cows with extramammary inflammatory conditions. *Vet. Rec.*, 2004, 154, 361-365.
- 140.** O'CONNELL TX, HORITE TJ, KASRAVI B. 2005
Understanding and interpreting serum protein elec-trophoresis. *American Family Physician.* 2005;**71**:105-112
- 141.** O'MAHONY MC, HEALY AM, HARTE D, WALSHE KG, TORGERSON PR, DOHERTY ML. 2006
Milk amyloid A: correlation with cellular indices of mammary inflammation in cows with Normal and raised serum amyloid A. *Res Vet Sci* 2006;**80**(2):155–61.
- 142.** PANNDORF H., RICHTER H., OITTRICH B. 1976
Haptoglobin bei Haussäugetieren.V. Mitteilung :Plasma-Haptoglobin-Spiegel beim Rind unter pathologischen Bedingungen. *Arch. Exp. Veterinarmed.*, 1976, 30, 193-202.
- 143.** PETERSEN JR, OKORODUDU AO, MOHAMMAD A, PAYNE DA. 2003
Capillary electrophoresis and its application in the clinical laboratory. *Clinica Chimica Acta.* 2003;**330**:1-30
- 144.** PETERSEN H.H., NIELSEN J.P., HEEGAARD P.M.H., 2004
Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry
Vet. Res. 35 (2004) 163–187
- 145.** PEARSON E.G, CRAIG A.M, ROWE K., 1992.
Variability of serum bile acid concentrations over time in dairy cattle, and effect of feed deprivation on the variability.*American Journal of Veterinay Research*, 53(10):1780-3
- 146.** PICCININI R., BINDA E., BELOTTI M., CASIRANI G., ZECCONI A., 2004
The evaluation of non-specific immune status of heifers in field conditions during the periparturient period. *Vet. Res.* 35 (2004) 539–550
- 147.** PICCIONE G, MESSINA V, ALBERGHINA D, GIANNETTO C, CASELLE S, ASSENZA A. 2012
Seasonal vari-ations in serum protein fractions of dairy cows during different physiological phases. *Comparative Clinical Pathology.* 2012;**21**:1439-1443
- 148.** PICCIONE G, MESSINA V, SCHEMBARI A, CASELLA S, GIANNETTO C, ALBERGHINA D. 2011
Pattern of serum protein fractions in dairy cows during different stages of gestation and lactation. *Journal of Dairy Research.* 2011;**78**:421-425
- 149.** PIRLOT A., JANSSENS, SKINNER J.G., GODEAU J.-M. 1999
Quantitative determination of haptoglobin in human and bovine sera by capillary zone electrophoresis (CZE). *Vet. Res.*, 1999, **30**, 483-493.

- 150.** PFEFFER A., ROGERS K.M. 1989
Acute phase response of sheep: changes in the concentration of ceruloplasmin, fibrinogen, haptoglobin and the major blood cell types associated with pulmonary damage. *Res. Vet. Sci.*, 1989, 46, 118-124.
- 151.** PRINSEN BHCM, DE SAIN-VAN DER, VELDEN MG. 2004
Albumin turnover: Experimental approach and its application in health and renal diseases. *Clinica Chimica Acta*. 2004;**347**:1-14
- 152.** PYÖRÄLÄ S. 2003
Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis *Vet. Res.* 34 (2003) 565–57
- 153.** PYÖRÄLÄ S., 2000
Hirvonen's thesis on acute phase response in dairy cattle. University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Publications, Helsingin yliopiston verkkojulkaisut, Helsinki 2000
- 154.** PUE C.A., MORTENSEN R.F., MARSH C.B., POPE H.A., WEWERS M.D., 1996
Acute phase levels of C-reactive protein enhance IL-1 β and IL-1ra production by human blood monocytes but inhibit IL-1 β and IL-1ra production by alveolar macrophages, *J. Immunol.* 156 (1996) 1594–1600.
- 155.** RADOSTITS, O. 2000
Diseases of the liver and pancreas. In : 9th Edition of veterinary Medicine : A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses, 2000, pp 347 – 360.
- 156.** RADOSTITS O.M., GAY C.C., HINCHCLIFF K.W., CONSTABLE P.D. 2007
Diseases of the liver and pancreas. In : Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. 10th Edition. Edinburgh : Saunders Elsevier, pp. 383-397. (2007).
- 157.** RADOSTITS O. M.; MAYHEW I. G.; HOUSTON D. M. 2000
Department of Veterinary Internal Medicine, Western College of Veterinary Medicine, University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, Canada. Veterinary clinical examination and diagnosis 2000 pp.771 pp
- 158.** REID I.M., HARRISON R.D., COLLINS R.A., 1977.
Fasting and refeeding in the lactating dairy cow. 2. The recovery of liver cell structure and function following a six-day fast. *J. Comp. Pathol.* ; 87(2):253-65
- 159.** RICO A.G., 2000
Animal clinical biochemistry : implication in toxicology and control of environment
Revue Méd. Vét., 2000, 151, 7, 631-635
- 160.** RIOLLET C., RAINARD P., POUTREL B., 2000
Differential Induction of Complement Fragment C5a and Inflammatory Cytokines during Intramammary Infections with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* *Clinical and diagnostic laboratory immunology* ,American Society for Microbiology
Mar. 2000, p. 161–167 Vol. 7, No. 2,
- 161.** RIOND B, WENGER-RIGGENBACH B, HOFMANN-LEHMANN R, LUTZ H. 2009
Serum protein concentrations from clinically healthy horses determined by agarose gel electrophoresis. *Veterinary Clinical Pathology*. 2009;**38**:73-77

- 162.** RICO A.G. 2000
Animal clinical biochemistry : implication in toxicology and control of environment *Revue Méd. Vét.*, 2000, 151, 7, 631-635.
- 163.** ROCHE DIAGNOSTICS, 2016
METHOD SHEETS, https://dialog1.roche.com/pi/en_us/elabdoc, 2016 (consulté en 2017)
- 164.** ROSENBERGER G., 1977.
Examen spécial : le foie. *In : Examen clinique des bovins.* Editions du Point Vétérinaire, 2ième édition
- 165.** ROSSI S, BERTAZZOLO W, PALTRINIERI S, GIORDANO A. 2008
Cellulose acetate electrophoresis of canine plasma after fibrinogen precipitation by ethanol. *Veterinary Clinical Pathology.* 2008;**37**:422-428
- 166.** SAINI P.K., WEBERT D.W. 1991
Application of acute phase reactants during antemortem and postmortem meat inspection. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1991, 198, 1898-1901.
- 167.** SAINI P.K., RIAZ M., WEBERT D.W., ECKERSALL P.D., YOUNG C.R., STANKER L.H., CHAKRABARTI E., JUDKINS J.C. 1998
Development of a simple enzyme immunoassay for blood haptoglobin concentration in cattle and its application in improving food safety. *Am. J. Vet. Res.*, 1998, 59, 1101-1107.
- 168.** SALONEN M., HIRVONEN J., PYORALA S., SANKARI S., SANDHOLM M. 1996
Quantitative determination of bovine serum haptoglobin in experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *Res. Vet. Sci.*, 1996, 60, 88-91.
- 169.** SCHUMANN G, BONORA R, CERIOTTI F ET AL. 2002
IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37 °C – Part 6. Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of gamma-glutamyltransferase. *Clin Chem Lab Med* 2002;**40**(7):734-738.
- 170.** SHAINKIN-KESTENBAUM R., BERLYNE G., ZIMLICHMAN S., SORIN H.R., NYSKA M., DANON A., 1991
Acute phase protein, serum amyloid A, inhibits IL-1- and TNF-induced fever and hypothalamic PGE2 in mice, *Scand. J. Immunol.* 34 (1991) 179–183.
- 171.** SHELDON I.M., NOAKES D.E., RYCROFT A., DOBSON H. 2001
Acute phase responses to uterine bacterial contamination in cattle after calving. *Vet. Rec.*, 2001, 148, 172-175.
- 172.** SHEFFIELD C.L., KAMPS-HOLTZAPPLE C., DE LOACH J.R., STANKER L.H. 1994
Production and characterisation of a monoclonal antibody against bovine haptoglobin and its use in an ELISA. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1994, **42**, 171-183.
- 173.** SKINNER J.G., BROWN R.A.L., ROBERTS L. 1991
Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. *Vet. Rec.*, 1991, 128, 147-149.
- 174.** SKINNER J.G., 2001
International Standardization of Acute Phase Proteins. for the European Concerted Action Group on Acute Phase Proteins . *Vet.Clin. Pathol.*, 2001; 30:2-7.

- 175.** SLEV PR, WILLIAMS BG, HARVILLE TO, ASHWOOD ER, BOMHORST JA. 2008
Efficacy of the detection of the alpha1-antitrypsin “Z” deficiency variant by routine serum protein electrophoresis. *American Journal of Clinical Pathology*. 2008;**130**:568-572
- 176.** SLOCOMBE L.L., COLDITZ I.G., 2005
Evaluating the stress of production in cattle using haptoglobin The 5th International Colloquium On Animal, Acute Phase Proteins, Dublin, Ireland March 14th – 15th 2005
- 177.** SMITH BP, 2009
Large animal internal medicine, Book, 4nd edition, 2040pp.(375p- 447p), 2009.
- 178.** SMITH B.I., DONOVAN G.A., RISCO C., LITTELL R., YOUNG C.R., STANKER L.H., ELLIOTT J. 1998
Comparison of various antibiotic treatments for cows diagnosed with toxic puerperal metritis. *J. Dairy Sci.*, 1998, 81, 1555-1562.
- 179.** SMITH G.W., DAVIS J.L. 2015
Diseases of the hepatobiliary system. In : SMITH B.P., ed. Large animal internal medicine. 5th Edition. St Louis : Elsevier, pp. 843-872. (2015).
- 180.** SPOONER R.L., MILLER J.K. 1971
The measurement of haemoglobin reactive protein in ruminants as an aid to the diagnosis of acute inflammation. *Vet. Rec.*, 1971, 88, 2-4.
- 181.** STEVEN, L., STOCKHAM, A., MICKAEL, A. et SCOTT, E. 2002
Chap 5 Hemostasis. In : *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology (2002)*. 1st edition. Iowa state press, pp. 192-193.
- 182.** STOCKHAM S.L., SCOTT M.A., 2002 (a).
Introductory concepts. In : *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. BLACKWELL Publishing Company, Iowa state Press, pp 3– 31
- 183.** STOCKHAM S.L., SCOTT M.A., 2002 (b).
Liver Function. In : *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. BLACKWELL Publishing Company, Iowa state Press, pp 461 – 487
- 184.** SWANSON J. C., MORROW-TESCH J. 2001
Cattle transport: Historical, research, and future perspectives
2001, *J. Anim. Sci.* 79: 102– 109
- 185.** TAMURA K, YATSU T, ITOH H and MOTOI Y, 1989
Isolation, characterization and quantitative measurement of serum α 1- acid glycoprotein in cattle. *Japanese journal of veterinary science*, 1989,51(5), 987-994
- 186.** TENNANT B. C., 1997.
Hepatic function. In : *Clinical Biochemistry of Domestic Animals, Fifth edition*. Publisher: Academic Press, San Diego CA, USA, pp. 327 – 352
- 187.** TENNANT B.C., CENTER S.A. 2008
Hepatic function. In : KANEKO J.J., HARVEY J.W., BRUSS M.L., eds. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th Edition. San Diego : Academic Press, pp. 379-412(2008).

- 188.** TING S.T.L., EARLEY B., HUGHES J., AND CRO M. 2003
Effect of Ketoprofen, Lidocaine local anesthesia, and combined Xylazine and Lidocaine caudal epidural anesthesia during castration of beef cattle on stress responses, immunity, growth, and behaviour. *Journal of Animal Science*, Vol. 81, No. 1289-1293, 2003
- 189.** THOMAS JS. 2000
Overview of plasma proteins. In: Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC, editors. *Schalm's Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. pp. 891-898
- 190.** TÓTHOVÁ CS, NAGY O, NAGYOVÁ V, KOVÁČ G. 2016
The concentrations of selected blood serum proteins in calves during the first three months of life. *Acta Veterinaria Brno*. 2016;**85**:33-40
- 191.** TÓTHOVÁ C, NAGY O, KOVÁČ G. 2014
Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants: A review. *Veterinární Medicína*. 2014;**59**:163-180
- 192.** TÓTHOVÁ CS, NAGY O, NAGYOVÁ V, KOVÁČ G. 2015
Changes in the concentrations of acute phase proteins in calves during the first month of life. *Acta Veterinaria Beograd*. 2015;**65**:260-270
- 193.** TÓTHOVÁ C, NAGY O, SEIDEL H, KOVÁČ G. 2013
Serum protein electrophoretic pattern in clinically healthy calves and cows determined by agarose gel electrophoresis. *Comparative Clinical Pathology*. 2013;**22**:15-20
- 194.** TÓTHOVÁ CS, NAGY O, NAGYOVÁ V, KOVÁČ G. 2018
Serum protein electrophoretic pattern in dairy cows during the periparturient period. *Journal of Applied Animal Research*. 2018;**46**:33-38
- 195.** TÓTHOVÁ C, NAGY O, KOVÁČ G. 2016
Serum proteins and their diagnostic utility in veterinary medicine: A review. *Veterinární Medicína*. 2016;**61**:475-496
- 196.** TÓTHOVÁ CS, NAGY O, KOVÁČ G. 2013
The serum protein electrophoretic pattern and acute phase protein concentrations in calves with chronic respiratory diseases. *Acta Veterinaria Beograd*. 2013;**63**:473-486
- 197.** TÓTHOVÁ CS, MUDROŇ P, NAGY O. 2017
The electrophoretic pattern of serum proteins in dairy cows with inflammatory diseases. *Acta Veterinaria Beograd*. 2017;**67**:178-190
- 198.** TOURLMOUSSIS P., ECKERSALL P.D., WATERSON M.M., BUNCIC S.A. , 2004
Comparison of Acute Phase Protein Measurements and Meat Inspection Findings in Cattle. *Food borne pathogens and disease*, Volume 1, Number 4, 2004.
- 199.** TOUSSAINT M.M., CAMPBELL F.M., PIÑEIRO M., GRUYS E., 2005
Measuring negative acute phase proteins to assess acute phase response and starvation
The 5th International Colloquium On Animal, Acute Phase Proteins, Dublin, Ireland March 14th – 15th 2005

- 200.** THRALL MA, WEISER G, ALLISON R, CAMPBELL TW. 2012
Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Ames: Wiley-Blackwell; 2012. pp. 461-470
- 201.** TUDER RM, JANCIAUSKIENE SM, PETRACHE I. 2010
Lung disease associated with α 1-antitrypsin deficiency. Proceedings of the American Thoracic Society. 2010;7:381-386
- 202.** TYMCHAK LL. 2010
Amino acids and proteins. In: Bishop ML, Fody EP, Schoeff LE, editors. Clinical Chemistry: Techniques, Principles, Correlations. 6th ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2010. pp. 223-265
- 203.** UCHIDA E., KATOH N., TAKAHASHI K. 1993
Appearance of haptoglobin in serum from cows at parturition. J. Vet. Med. Sci., 1993, 55, 893-894.
- 204.** VAN MIERT A.S. 2002
Present concepts on the inflammatory modulators with special reference to cytokines. Vet. Res. Commun., 2002, 26, 111-126.
- 205.** VAN LENTE F, MARCHAND A, GALEN RS. 1979
Evaluation of a nephelometric assay for haptoglobin and its clinical usefulness. Clin Chem 1979;25:2007
- 206.** VAVRICKA SR, BURRI E, BEGLINGER C, DEGEN L, MANZ M. 2009
Serum protein electrophoresis: An underused but very useful test. Digestion. 2009;79:203-210
- 207.** VESTWEBER J.G., KLEMM RD, LEIPOLD HW, JOHNSON DE and BAILIE WE., 1990
Clinical and pathological studies of experimentally induced pasteurilla haemolytica pneumonia in calves. American journal of veterinary research, 1990, 51(11), 1792-1798.
- 124.** VILLARREAL-RAMOS B., MANSER J.M., COLLINS R.A., CHANCE V., ECKERSALL P.D., JONES P.W., DOUGAN A.G., 2000
Susceptibility of calves to challenge with *Salmonella typhimurium* 4/74 and derivatives harbouring mutations in *htrA* or pure MICROBIOLOGY (2000), 146, 2775-2783
- 208.** WAGNER L., GESSL A., PARZER S.B., BASE W., WALDHÄUSL W., PASTERNAK M.S. 1996
Haptoglobin phenotyping by newly developed monoclonal antibodies. Demonstration of haptoglobin uptake into peripheral blood neutrophils and monocytes. J. Immunol., 1996, 156, 1989-1996.
- 209.** WINTER P., MINY M., BAUMGARTNER W., 2005
Interpretation of SAA concentrations in milk from dairy ewes The 5th International Colloquium On Animal, Acute Phase Proteins, Dublin, Ireland March 14th – 15th 2005
- 210.** WITTUM T.E., YOUNG C.R., STANKER L.H., GRIFFIN D.D., PERINO L.J., LITLEDIKE E.T. 1996
Haptoglobin response to clinical respiratory tract disease in feedlot cattle. Am. J. Vet. Res., 1996, 57, 646-649.
- 211.** WOLTER R. 1997
Alimentation de la vache laitière, Edition France agricole, 3^{ème} édition, 1997.
- 212.** YAYLAK E., YENISEY C., SEYREK K. 2009
Effects of lameness, stage of lactation and body condition score on some blood parameters in Holstein cows. Asian J. Anim. Vet. Adv., 4, pp. 245-251. (2009).

- 213.** YOSHINO K., KATOH N., TAKAHASHI K., YUASA A. 1993
Possible involvement of protein kinase C with induction of haptoglobin in cows by treatment with dexamethasone and by starvation. *Am. J. Vet. Res.*, 1993, 54, 689-694.
- 214.** YOUNG C.R., WITTUM T.E., STANKER L.H., PERINO L.J., GRIFFIN D.D. LITLEDIKE E.T. 1996
Serum haptoglobin concentration in a population of feedlot cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 1996, 57, 138-141.
- 215.** ZHOU Z, M-J X, GAO B. 2016
Hepatocytes: A key cell type for innate immunity. *Cellular and Molecular Immunology*. 2016;**13**:301-315

ANNEXES

ANNEXE (I): TABLEAUX
STATISTIQUES

Tableau (3) : Statistique descriptive des paramètres étudiés

		N	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard	Intervalle de confiance à 95% pour la moyenne		Minimum	Maximum
						Borne inférieure	Borne supérieure		
Prt.total	malade	114	74,5000	19,14280	1,79289	70,9480	78,0520	,00	124,00
	sain	86	71,1163	18,87196	2,03502	67,0701	75,1624	34,00	145,00
	Total	200	73,0450	19,05330	1,34727	70,3882	75,7018	,00	145,00
Albumine	malade	114	31,6310	8,90287	,83383	29,9790	33,2829	,00	50,95
	sain	86	32,9031	8,61093	,92854	31,0570	34,7493	11,56	62,59
	Total	200	32,1780	8,77938	,62080	30,9538	33,4022	,00	62,59
ALB/GLB	malade	114	,7942	,27538	,02579	,7431	,8453	,00	1,40
	sain	86	,9560	,31092	,03353	,8894	1,0227	,21	1,71
	Total	200	,8638	,30134	,02131	,8218	,9058	,00	1,71
Alpha1glob	malade	114	3,7684	1,18879	,11134	3,5478	3,9890	,00	7,72
	sain	86	3,5509	1,12807	,12164	3,3091	3,7928	1,39	8,85
	Total	200	3,6749	1,16520	,08239	3,5124	3,8374	,00	8,85
Alpha2glob	malade	114	7,6192	2,10126	,19680	7,2293	8,0091	,00	12,57
	sain	86	7,2634	2,16091	,23302	6,8001	7,7267	3,77	13,78
	Total	200	7,4662	2,12906	,15055	7,1693	7,7631	,00	13,78
Betaglob	malade	114	6,0431	1,83632	,17199	5,7023	6,3838	,00	11,78
	sain	86	5,8705	1,75750	,18952	5,4937	6,2473	2,20	13,05
	Total	200	5,9688	1,80041	,12731	5,7178	6,2199	,00	13,05
Gammaglob	malade	114	25,4366	11,53066	1,07994	23,2970	27,5761	,00	61,27
	sain	86	21,5297	11,31605	1,22024	19,1035	23,9558	7,52	73,23
	Total	200	23,7566	11,57383	,81839	22,1428	25,3704	,00	73,23
PhosAlkaline	malade	114	93.24	69.200	6.481	80.40	106.08	20	400
	sain	86	111.90	89.177	9.616	92.78	131.01	19	431
	Total	200	101.26	78.751	5.569	90.28	112.24	19	431
GammaGT	malade	114	26.82	15.819	1.482	23.88	29.75	1	106
	sain	86	27.87	30.313	3.269	21.37	34.37	9	274
	Total	200	27.27	23.127	1.635	24.05	30.49	1	274
Bili.Total	malade	114	1.82	1.393	.130	1.56	2.07	0	9
	sain	86	1.66	1.047	.113	1.44	1.89	0	6
	Total	200	1.75	1.255	.089	1.57	1.93	0	9
Fibrinogène	malade	114	2.39	.917	.086	2.22	2.56	0	5
	sain	85	1.98	.904	.098	1.78	2.17	0	4
	Total	199	2.22	.932	.066	2.09	2.35	0	5
Age en mois	malade	114	44,31	34,322	3,215	37,94	50,68	2	120
	sain	86	43,53	29,008	3,128	37,32	49,75	8	96
	Total	200	43,98	32,070	2,268	39,50	48,45	2	120
Bodyscore	malade	114	2,30	,623	,058	2,18	2,41	1	4
	sain	86	2,70	,615	,066	2,57	2,83	1	4
	Total	200	2,47	,649	,046	2,38	2,56	1	4
Physio.satatus	malade	114	3,32	2,256	,211	2,91	3,74	1	7
	sain	86	3,02	1,940	,209	2,61	3,44	1	7
	Total	200	3,20	2,126	,150	2,90	3,49	1	7
sexe des animaux	malade	107	1,80	,399	,039	1,73	1,88	1	2
	sain	85	1,89	,310	,034	1,83	1,96	1	2
	Total	192	1,84	,364	,026	1,79	1,90	1	2
Haptoglobine	malade	114	,0595	,15276	,01431	,0311	,0878	,00	,58
	sain	86	,0063	,04119	,00444	-,0026	,0151	,00	,30
	Total	200	,0366	,12113	,00857	,0197	,0535	,00	,58

AGE : l'âge

SEXE : le sexe

SCC : score condition corporelle

GammaG : γ globulines

Hpb : l'haptoglobine

Fbn : fibrinogène

Alpha2G : α_2 globulinesAlpha1G : α_1 globulines

PAL : phosphatase alcaline

Alb : Albumine

GGT : gamma glutamyltransferase

AlbGlob : rapport Albumine/globulines

BLT : Bilirubine totale

CLQexamen : état de santé (Malade ou sain)

ETATPHYS : statut physiologique

BetaG : β globulines

Tableau (4) : Matrice de corrélation des paramètres étudiés

	Prt.total	Albumine	ALB/GLB	Alpha1glob	Alpha2glob	Betaglob	Gammaglob	PhosAlkaline	GammaGT	Bili.Total	Fibrinogène	Age	Bodyscore	Physio.satatus	examen clinique	sexe des animaux	Haptoglobine	
Corrélation	Prt.total	1,000	,629	-,290	,763	,883	,842	,799	-,085	,223	,216	,002	,177	,002	-,142	-,136	,062	,127
	Albumine	,629	1,000	,472	,369	,581	,517	,053	,170	,004	-,017	-,257	-,212	,083	,193	-,055	-,025	-,028
	ALB/GLB	-,290	,472	1,000	-,323	-,248	-,274	-,714	,338	-,242	-,264	-,369	-,469	,052	,389	,064	-,077	-,202
	Alpha1glob	,763	,369	-,323	1,000	,742	,722	,627	-,031	,178	,342	,090	,055	-,049	-,066	-,178	,042	,108
	Alpha2glob	,883	,581	-,248	,742	1,000	,802	,630	-,062	,235	,199	,073	,098	-,076	-,087	-,129	,024	,063
	Betaglob	,842	,517	-,274	,722	,802	1,000	,618	,032	,260	,185	,100	,078	-,030	-,032	-,190	,031	,077
	Gammaglob	,799	,053	-,714	,627	,630	,618	1,000	-,259	,263	,269	,160	,417	-,036	-,353	-,111	,107	,196
	PhosAlkaline	-,085	,170	,338	-,031	-,062	,032	-,259	1,000	-,046	-,081	-,183	-,477	-,206	,514	,094	-,153	-,168
	GammaGT	,223	,004	-,242	,178	,235	,260	,263	-,046	1,000	,067	-,064	,186	-,008	-,196	-,145	,135	,039
	Bili.Total	,216	-,017	-,264	,342	,199	,185	,269	-,081	,067	1,000	,153	,107	,003	-,166	-,167	,131	,109
	Fibrinogène	,002	-,257	-,369	,090	,073	,100	,160	-,183	-,064	,153	1,000	,002	-,038	,030	-,050	-,079	,116
	Age en mois	,177	-,212	-,469	,055	,098	,078	,417	-,477	,186	,107	,002	1,000	,209	-,774	-,089	,355	,365
	Bodyscore	,002	,083	,052	-,049	-,076	-,030	-,036	-,206	-,008	,003	-,038	,209	1,000	-,187	-,133	,052	,105
	Physio.satatus	-,142	,193	,389	-,066	-,087	-,032	-,353	,514	-,196	-,166	,030	-,774	-,187	1,000	,243	-,549	-,202
	examen clinique	-,136	-,055	,064	-,178	-,129	-,190	-,111	,094	-,145	-,167	-,050	-,089	-,133	,243	1,000	-,191	,129
	sexe des animaux	,062	-,025	-,077	,042	,024	,031	,107	-,153	,135	,131	-,079	,355	,052	-,549	-,191	1,000	,104
	Haptoglobine	,127	-,028	-,202	,108	,063	,077	,196	-,168	,039	,109	,116	,365	,105	-,202	,129	,104	1,000

ANNEXE (II): AUTOMATE DE
BIOCHIMIE ET SEMI-
AUTOMATE
D'ELECTROPHORESE



Photo 01 : automate ROTAFIX pour la centrifugation des échantillons (photo personnelle)



Photo 02 : automate de biochimie COBAS 6000 (photo personnelle)

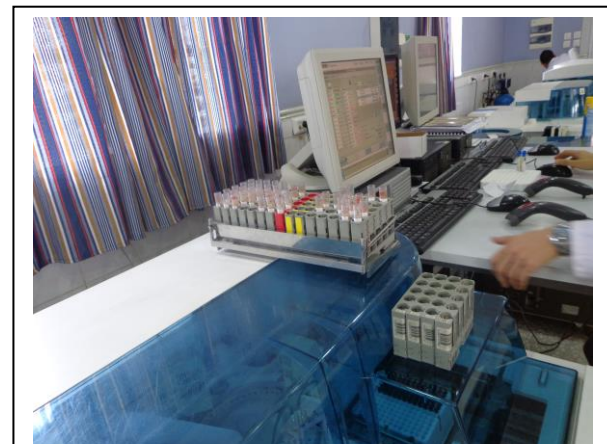


Photo 03 : lecture dosage des différents paramètres biochimiques (photo personnelle)



Photo 04 : automate de dosage des protéines de l'inflammation (photo personnelle)



Photo 5 : appareil d'électrophorèse sur système semi-automatique HYDRASIS (photo personnelle)



Photo 6 : des bidons contenant des solutions à base de diluants colorants (solution concentrée), colorant Amidoshwartz (solution concentrée), solution de décolorant, solution de lavage HYDRASYS (photo personnelle)

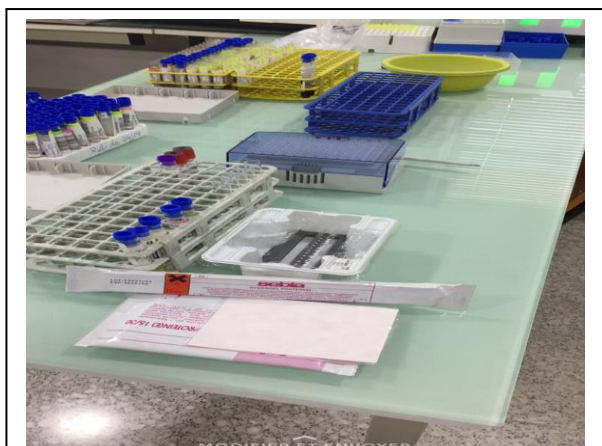


Photo 7 : décongélation des sérums à température ambiante (photo personnelle)

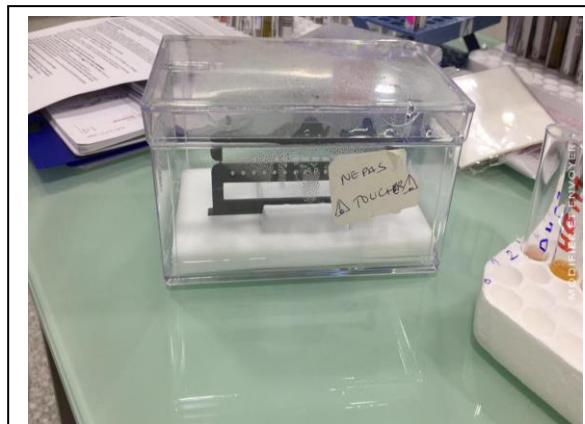


Photo 8 : une goutte de chaque échantillon est posée sur l'applicateur, qui sera mis à l'intérieur de la boîte humide (Photo personnelle)



Photo 9 : Ouverture du capot du module de migration avec la remontée des chariots porte-applicateurs et porte-électrodes (photo personnelle)

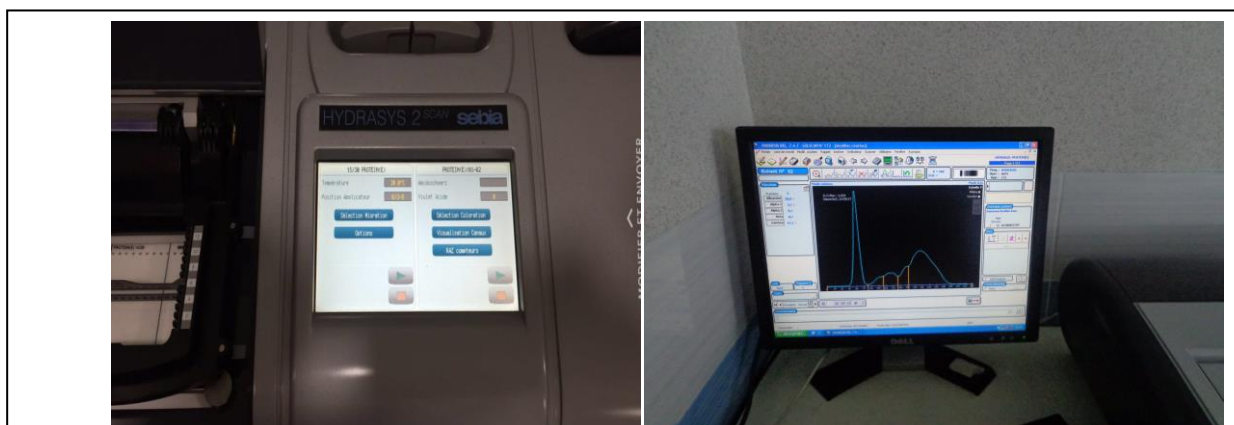


Photo 10 : l'automate effectue les étapes de migration électrophorétique, séchage, coloration, décoloration et séchage final, en fin la lecture par densitomètre s'effectue à travers un logiciel informatique HYDRASYS (photo personnelle)

**ANNEXE (III): FICHE
SIGNALETIQUE
INDIVIDUELLE**

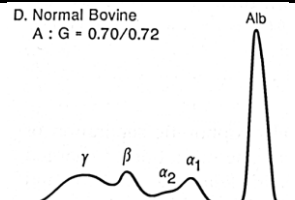
ANNEXE III : FICHE DE DONNEES CLINIQUES INDIVIDUELLES

Identification de l'élevage :	
Nom et prénom du Propriétaire	
Type	
Adresse	

Identification du sujet											
Vache		Génisse		Taureau		Taurillon		Veau		Véle	
Nom				Race							
NID				Robe							
Age (ans)				Signes distinctifs							

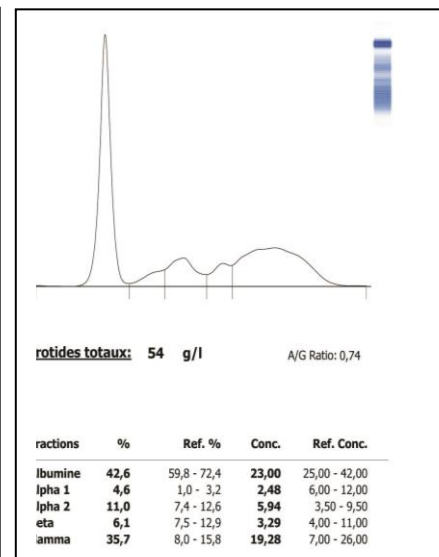
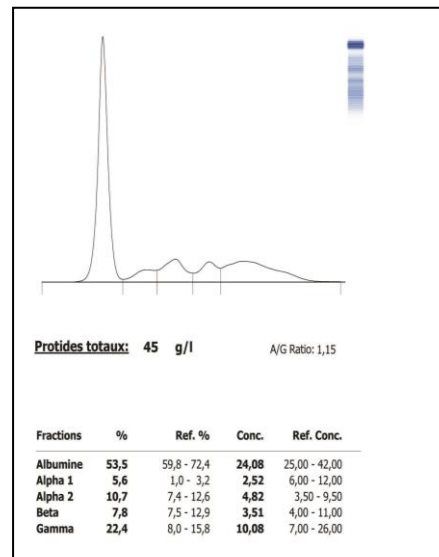
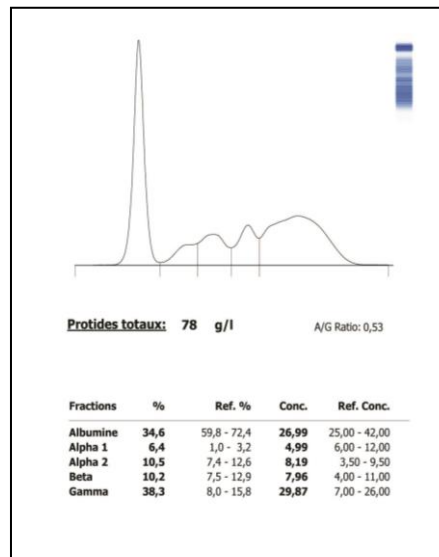
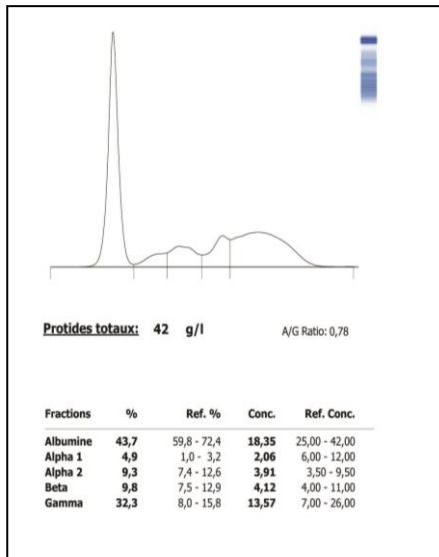
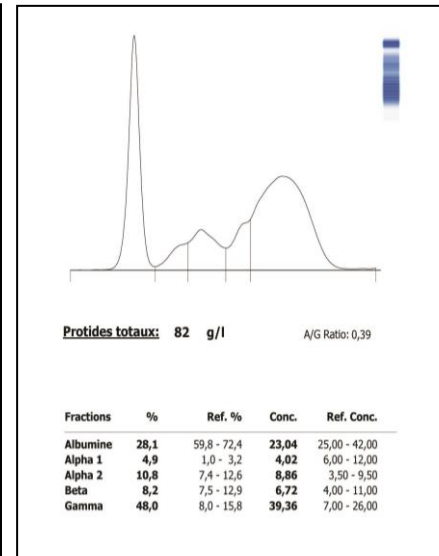
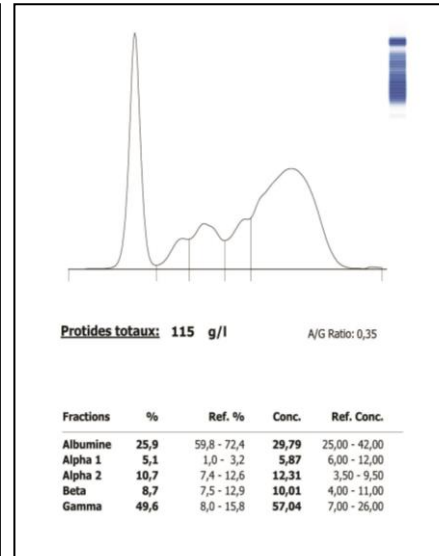
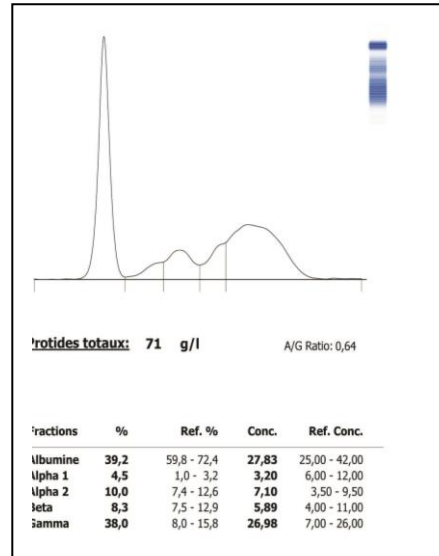
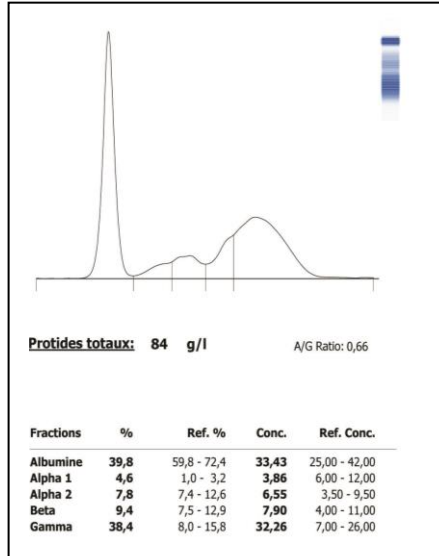
Etat physiologique							
Lactation		Tarie		Pré-partum		Post-partum	
SCC							

Examen clinique (diagnostic de suspicion)

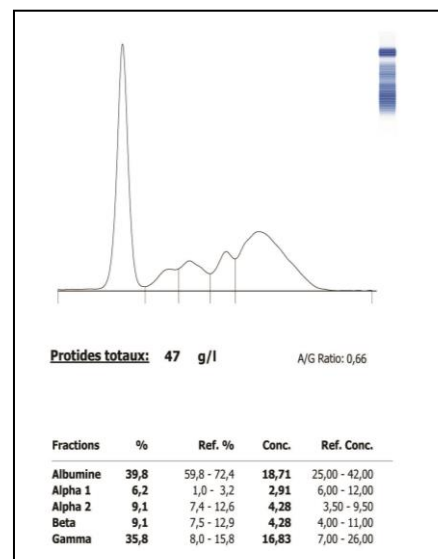
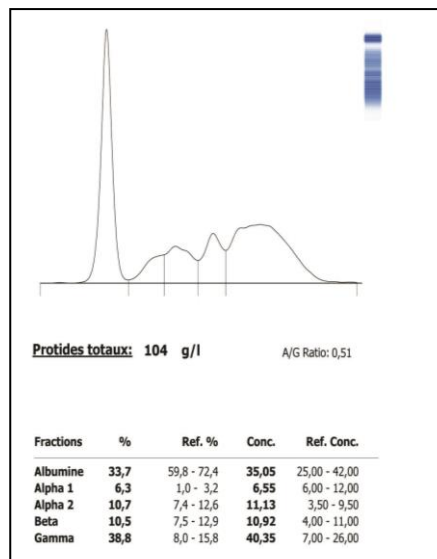
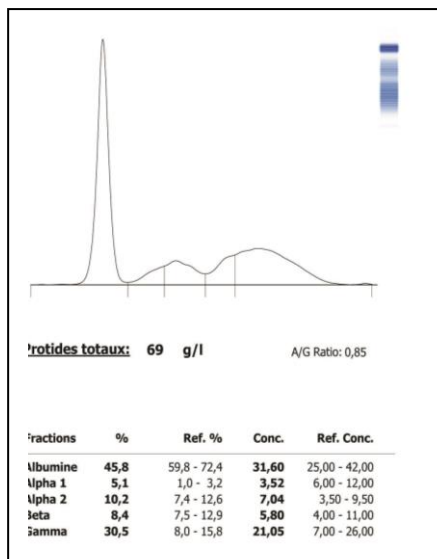
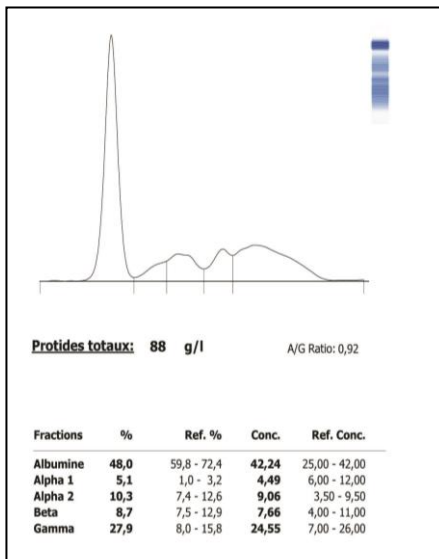
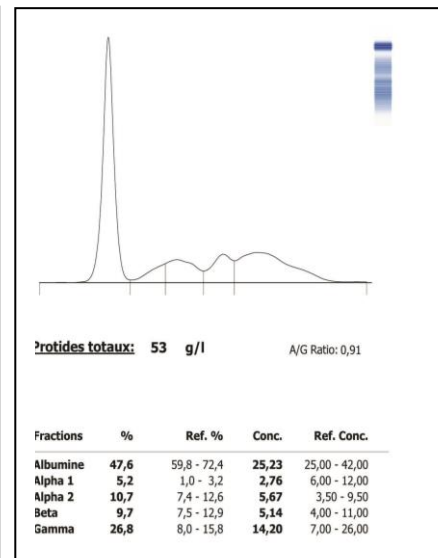
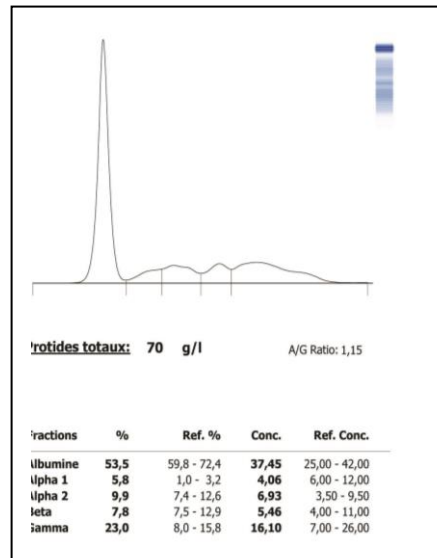
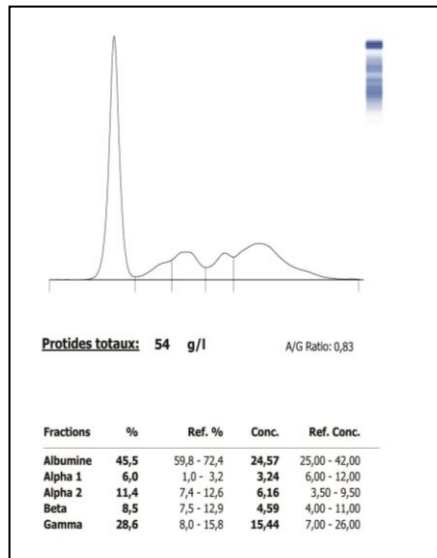
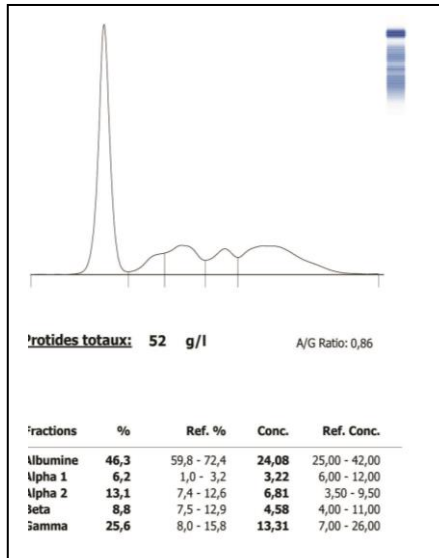
Données biochimie sanguine		
Paramètres	Valeurs références	Valeurs trouvées
PAL (U/L)	41-116	
Bilirubinémie (totale, directe et indirecte)mg/L	≤6	
GGT (U/L)	13-37	
Haptoglobine mg/L	≤100	
Fibrinogène g/L	5-7	
PCR		
Electrophorèse des protéines sériques :	<p>D. Normal Bovine A : G = 0.70/0.72</p> 	

**ANNEXE (IV): TRACES
D'ELECTROPHORESE
ET VALEURS
DU PROTEINOGRAMME**

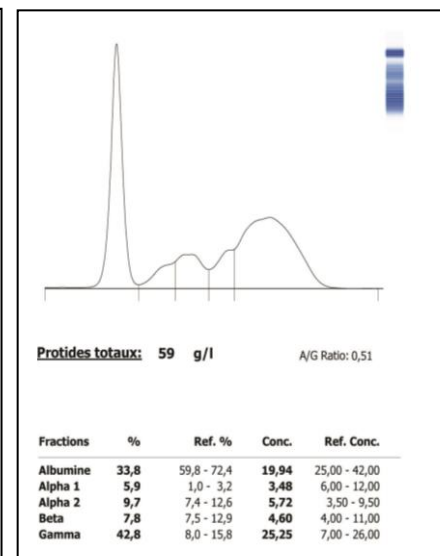
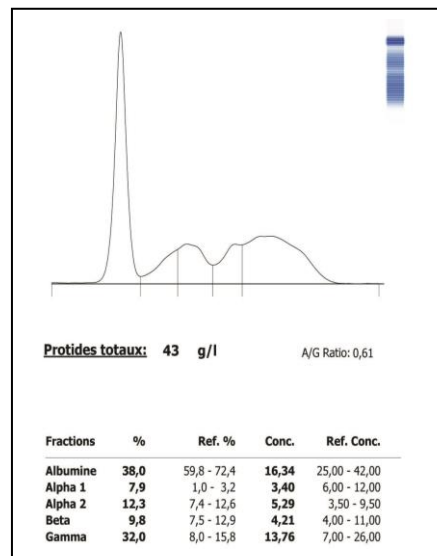
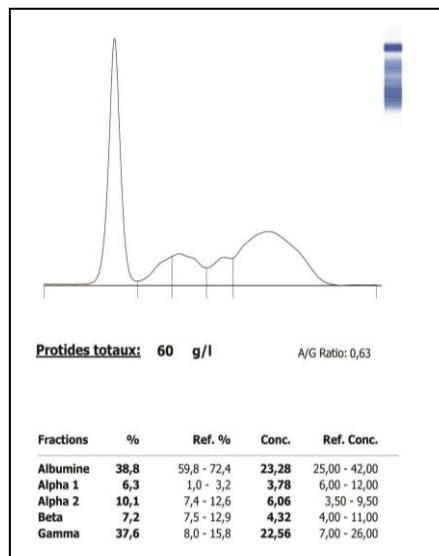
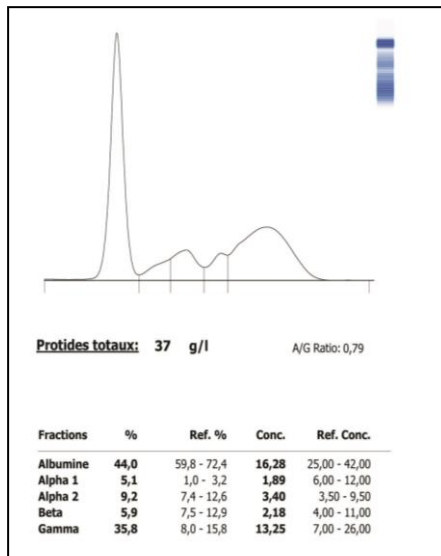
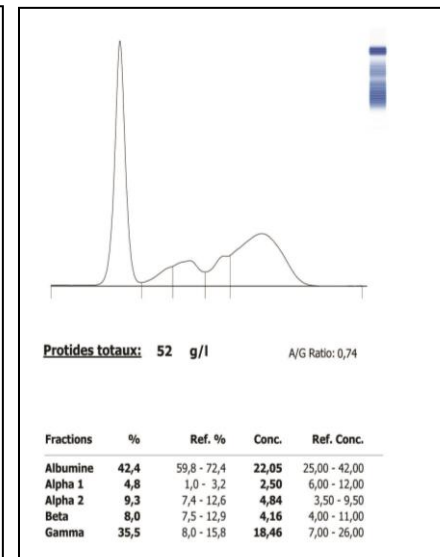
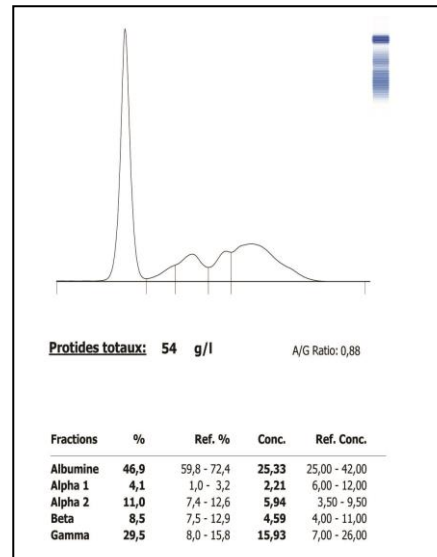
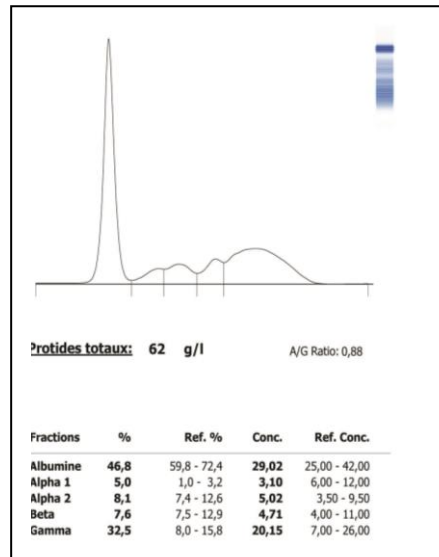
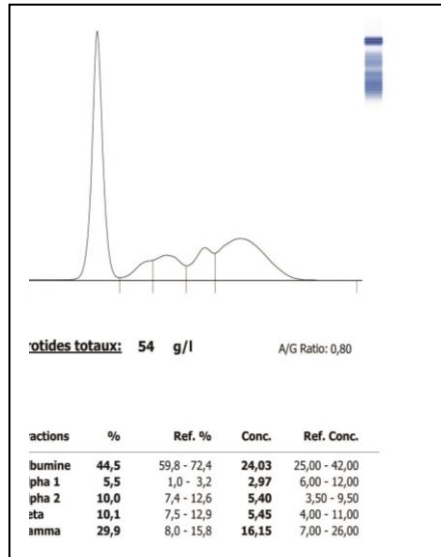
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



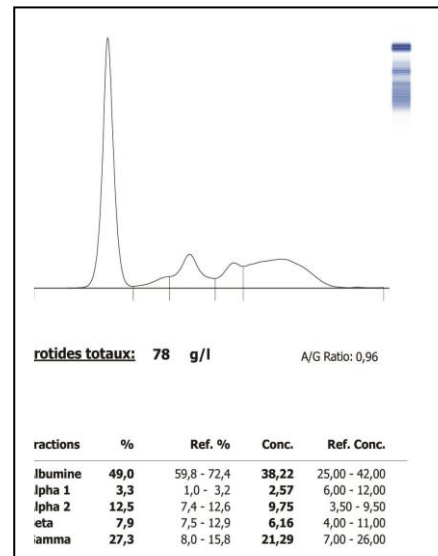
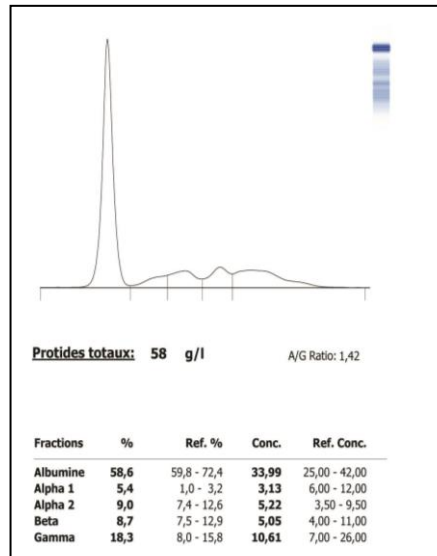
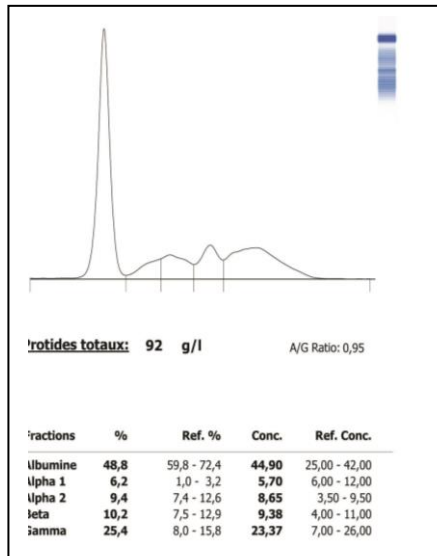
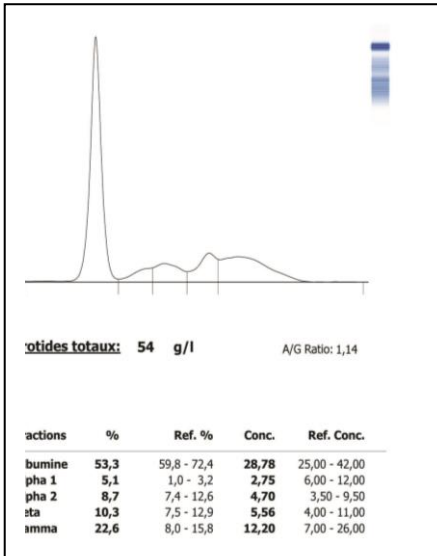
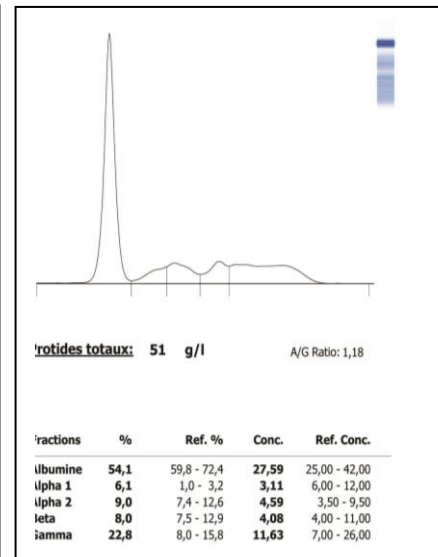
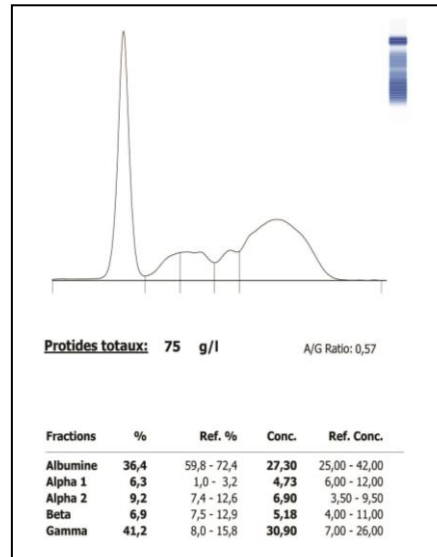
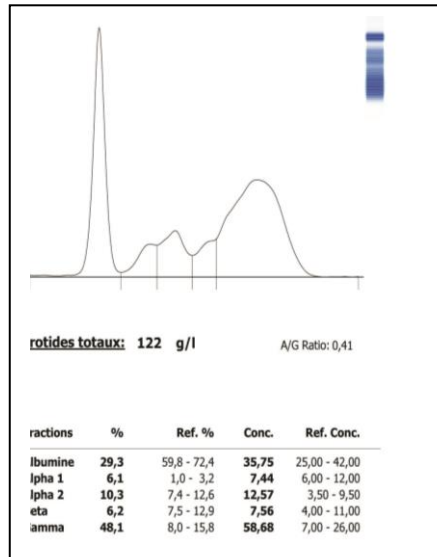
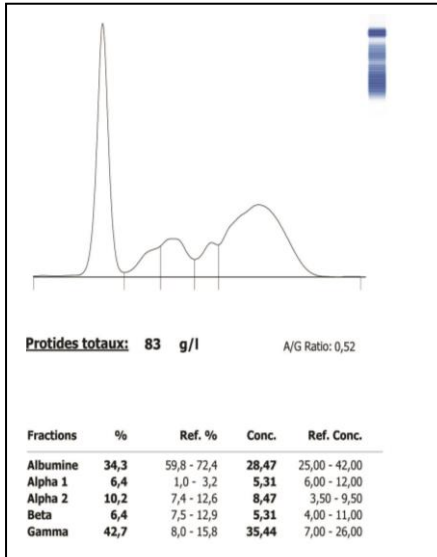
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



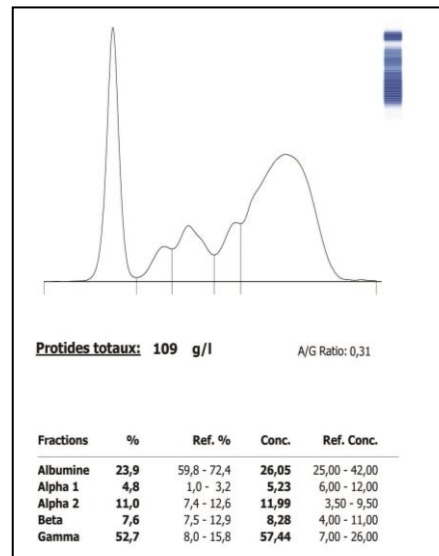
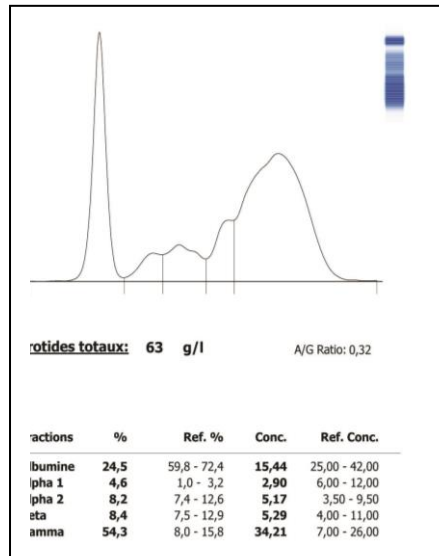
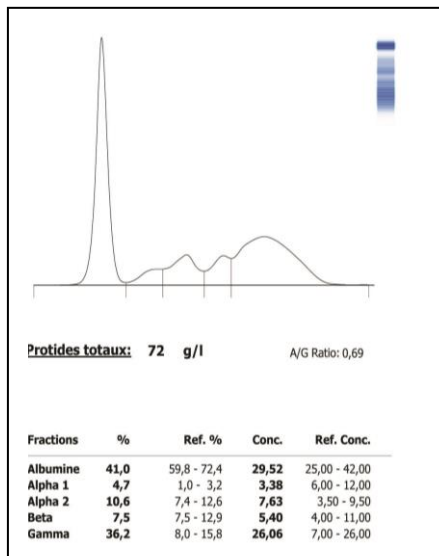
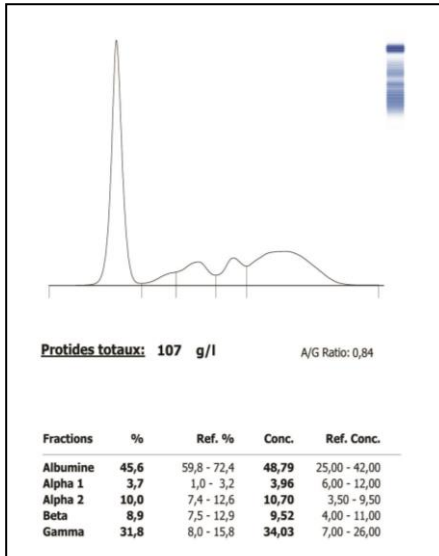
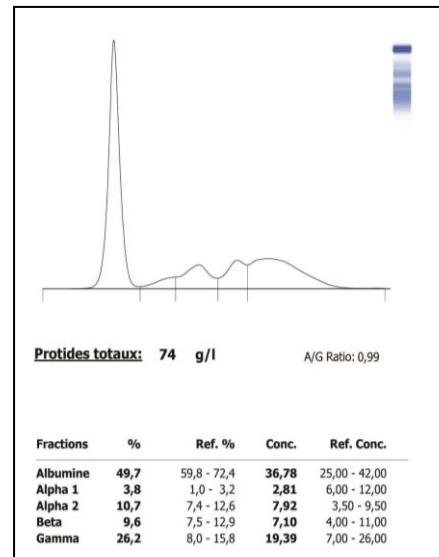
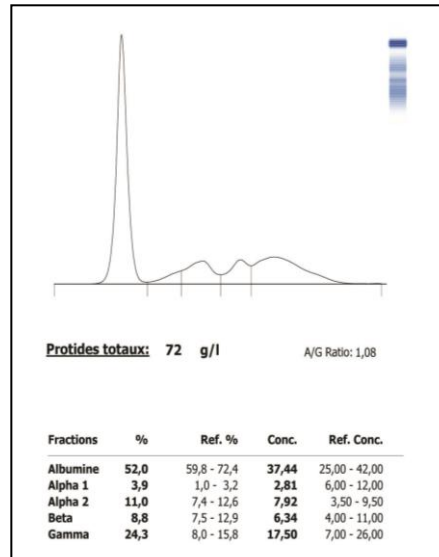
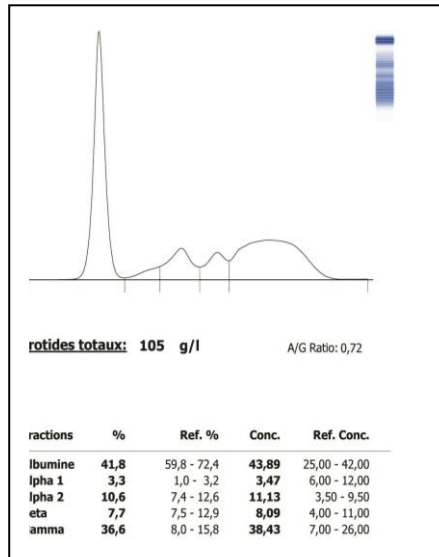
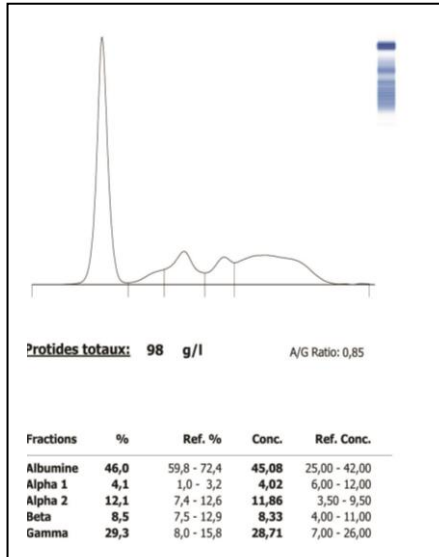
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



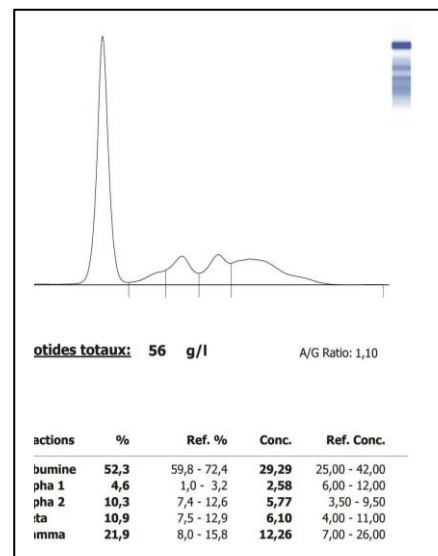
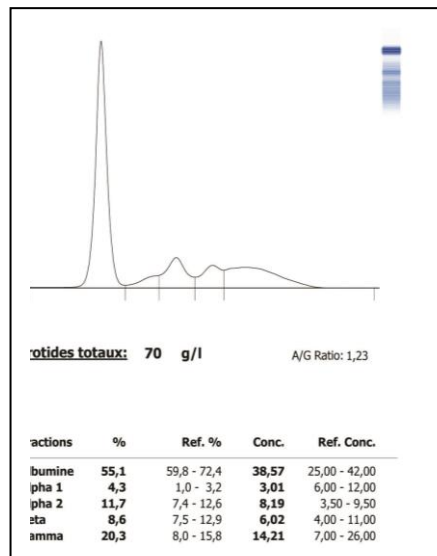
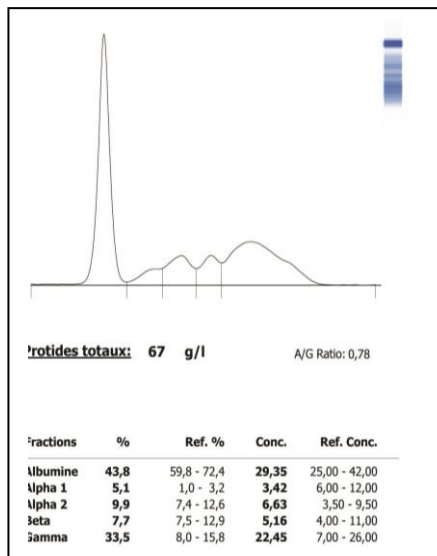
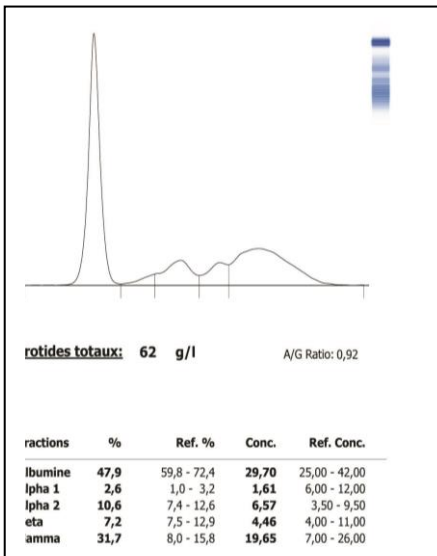
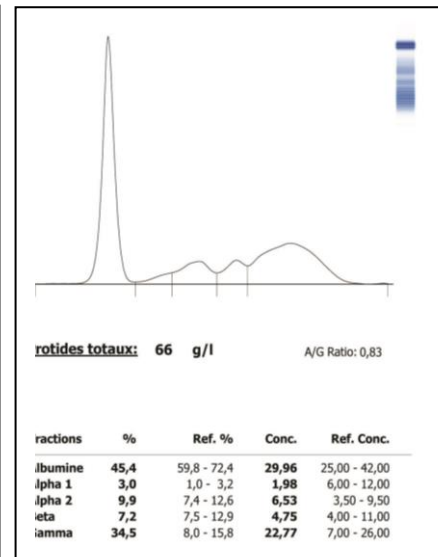
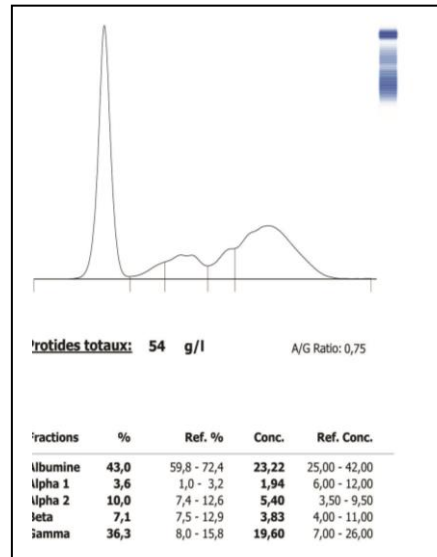
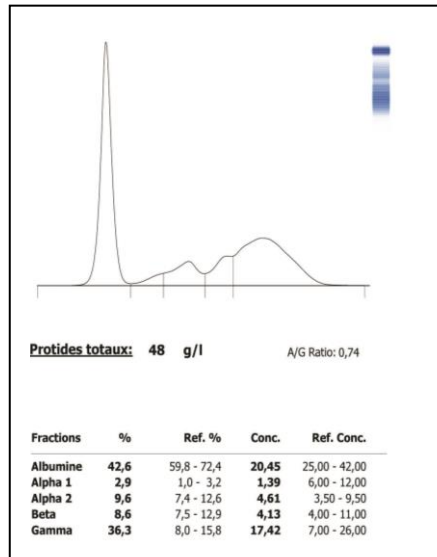
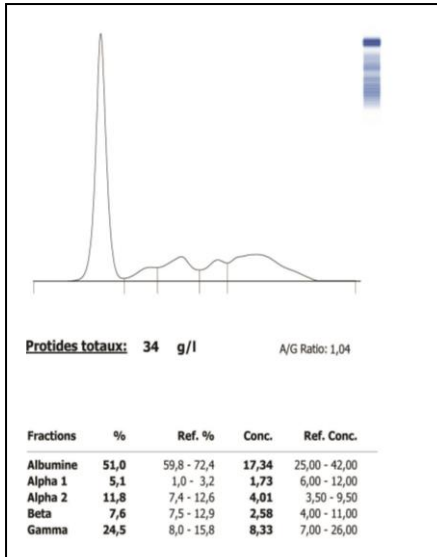
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



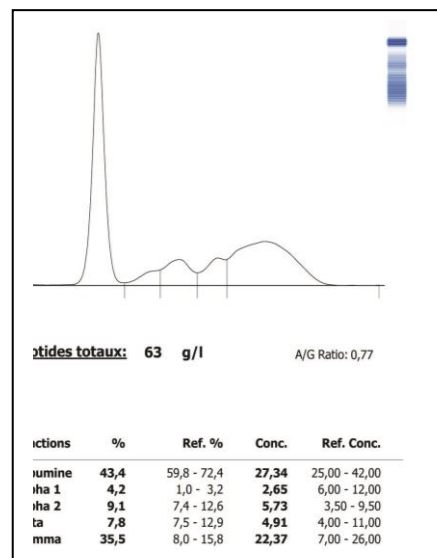
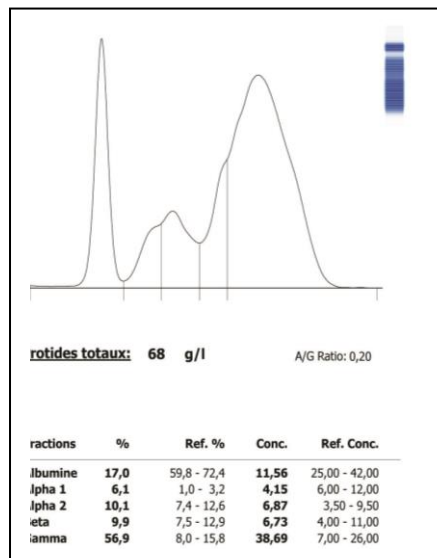
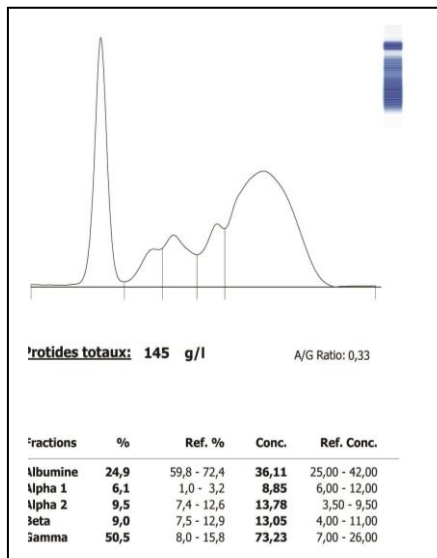
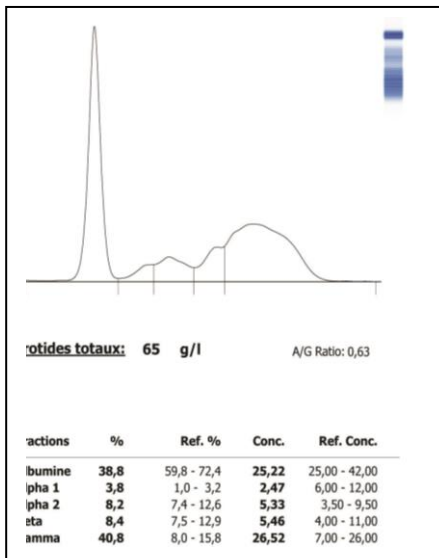
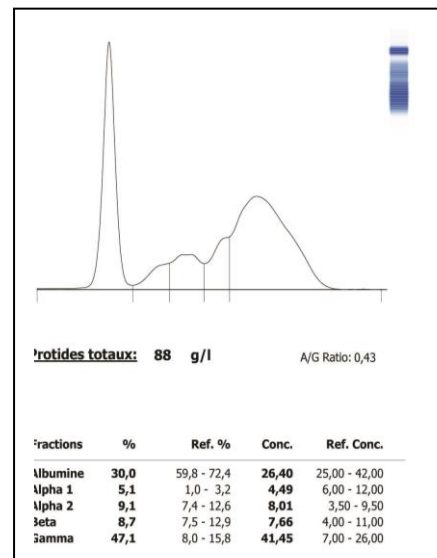
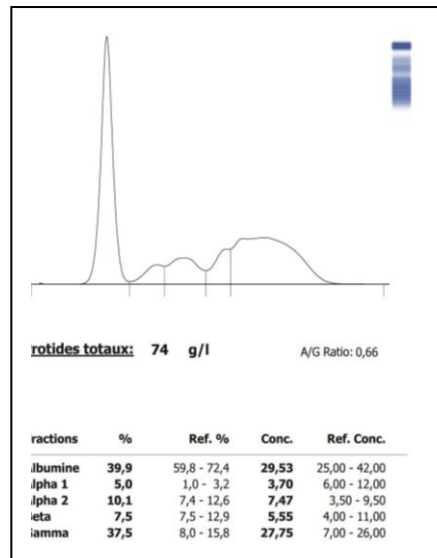
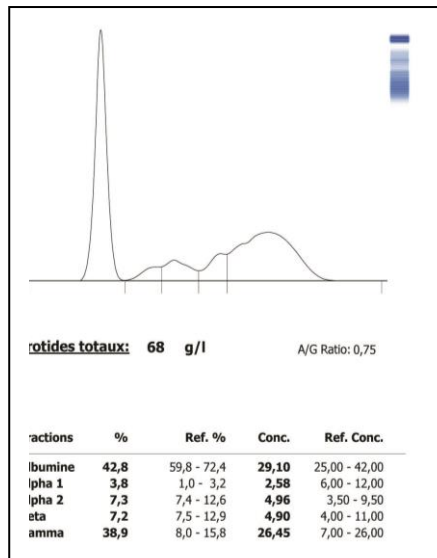
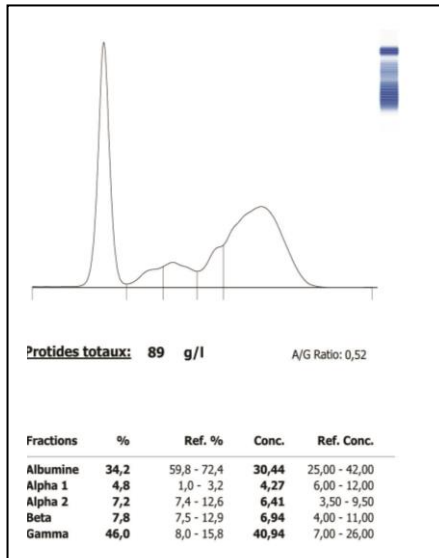
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



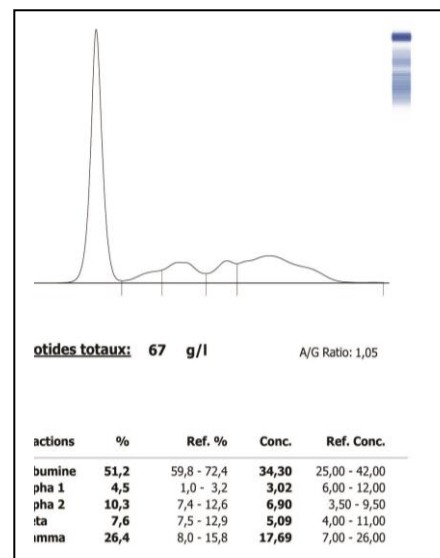
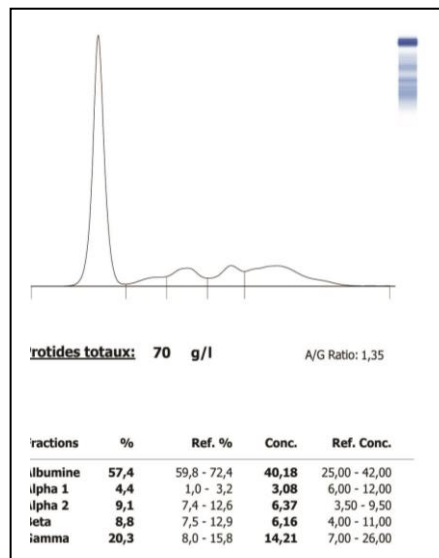
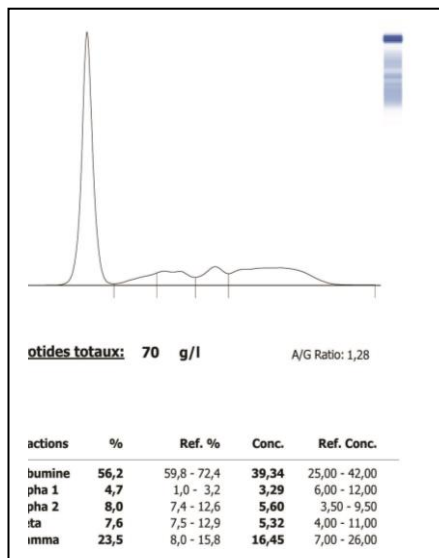
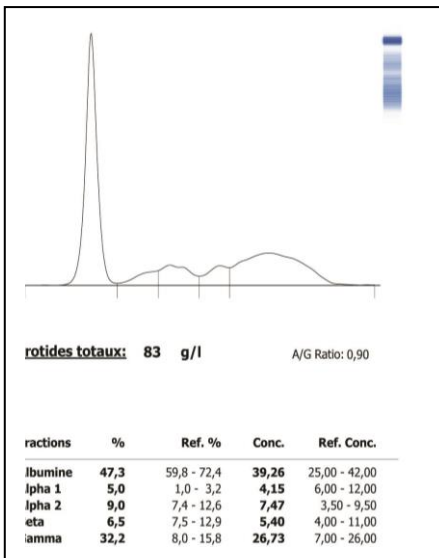
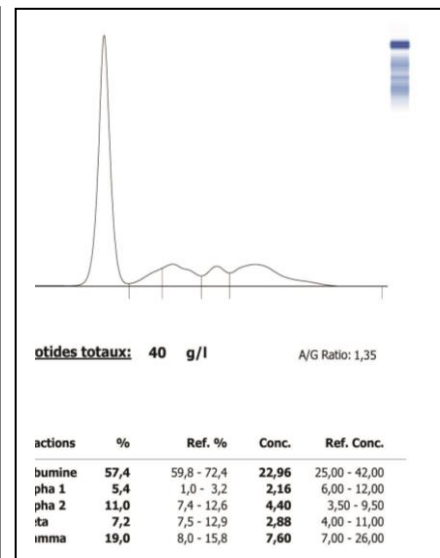
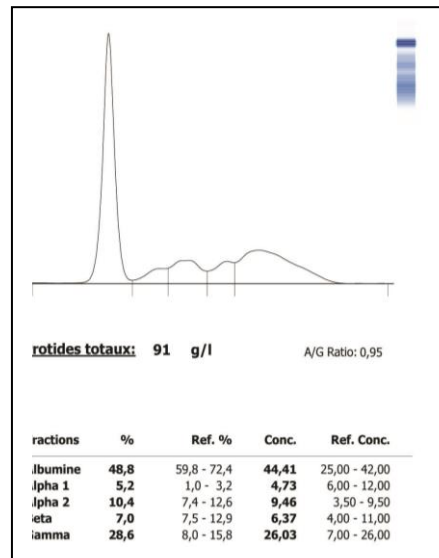
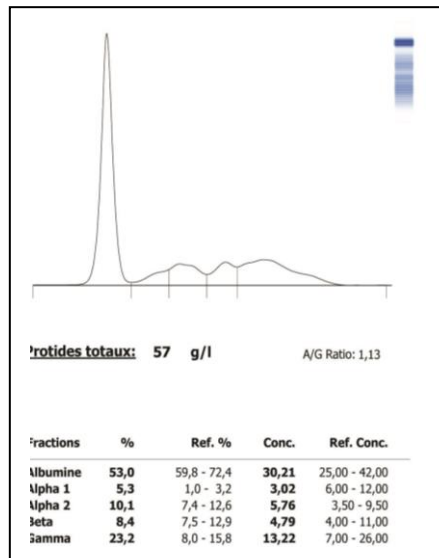
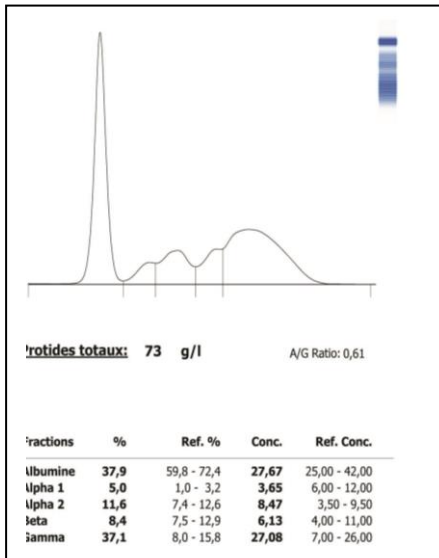
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



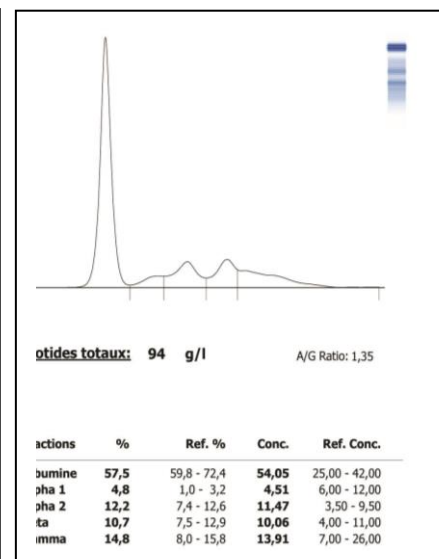
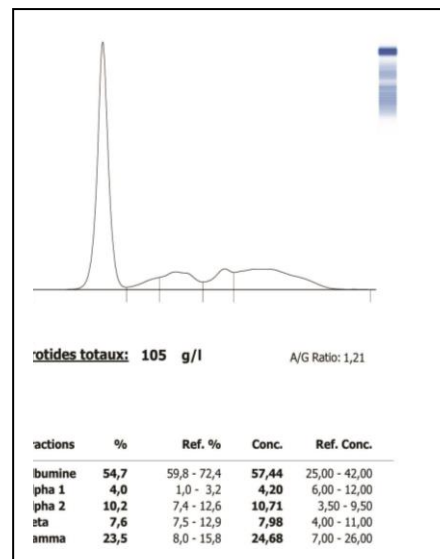
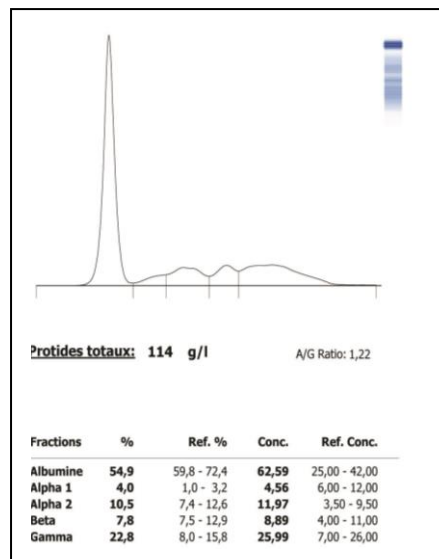
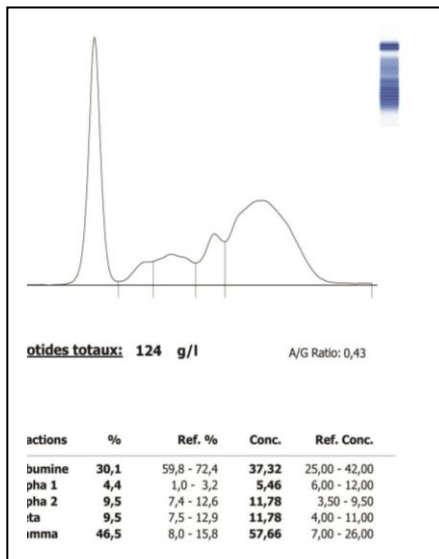
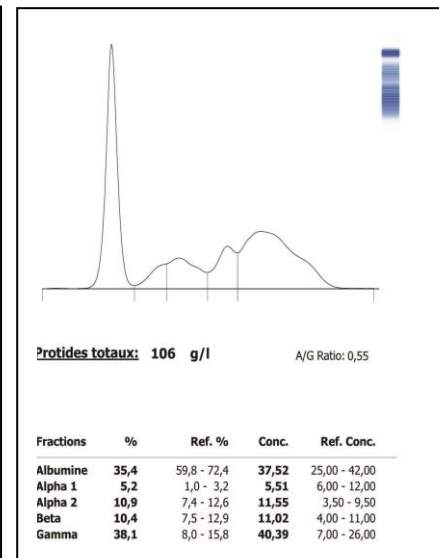
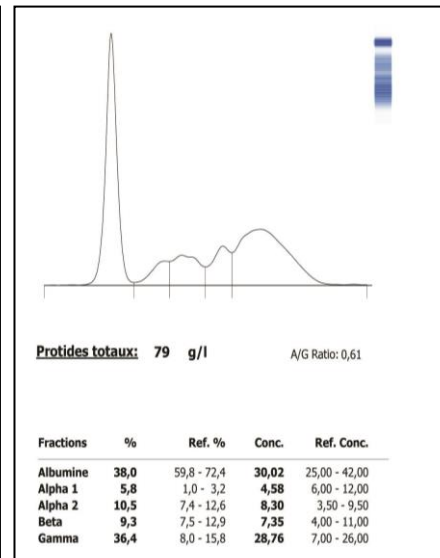
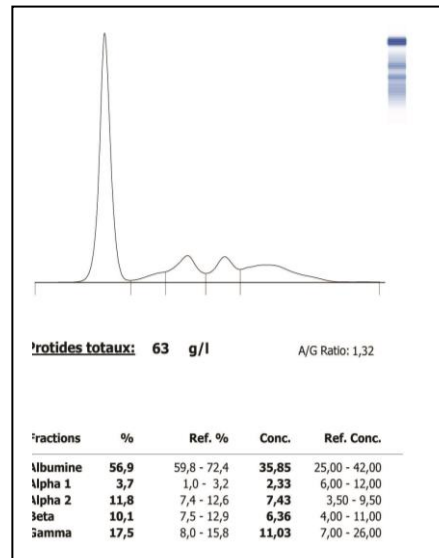
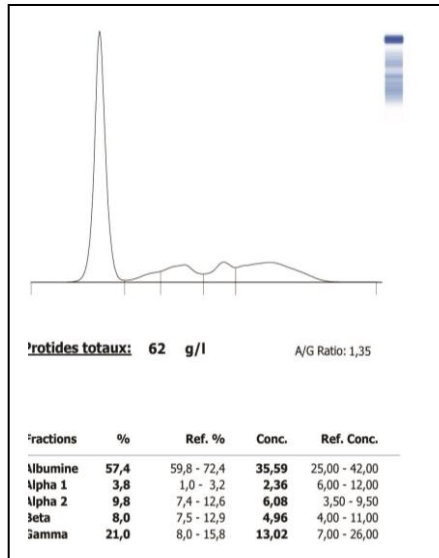
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



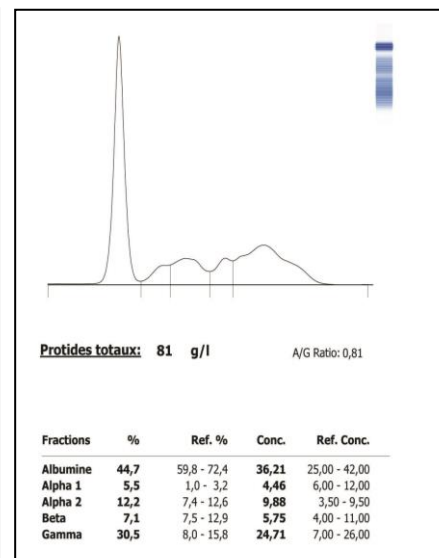
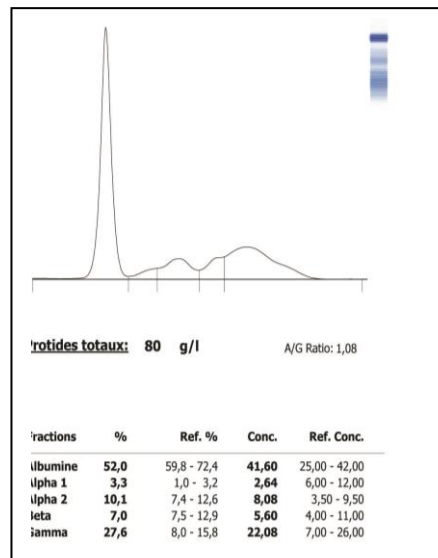
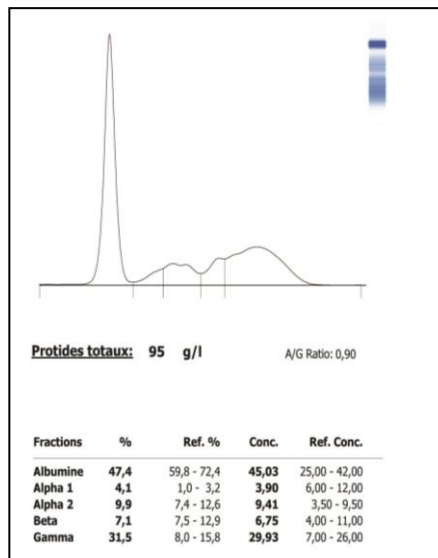
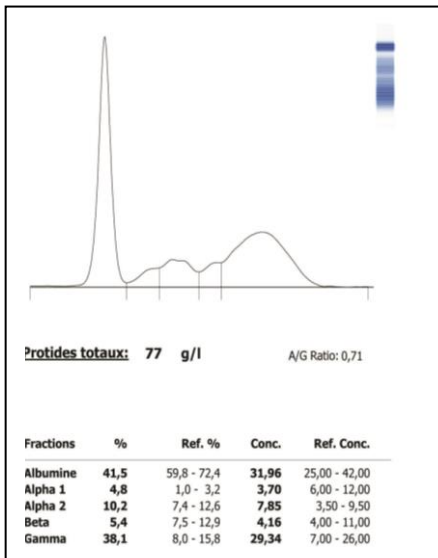
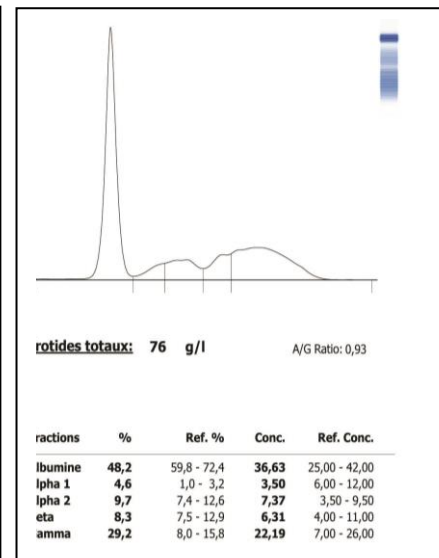
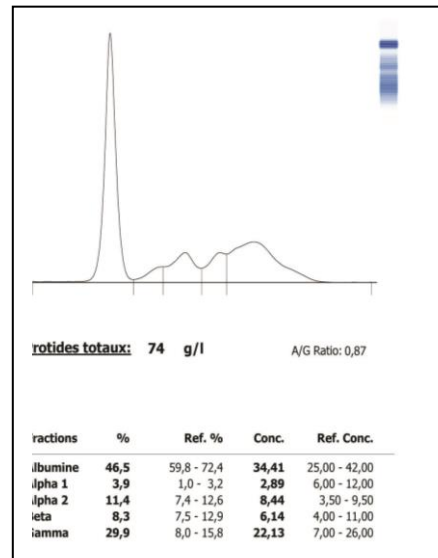
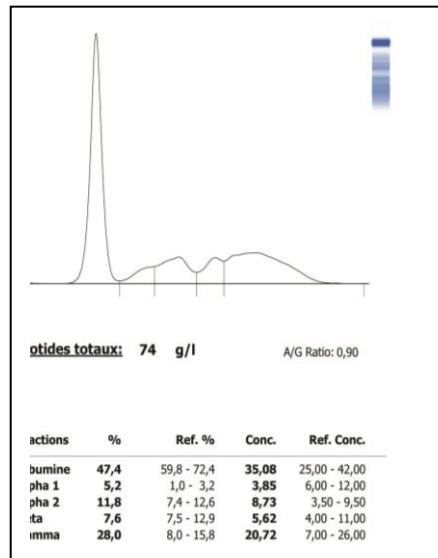
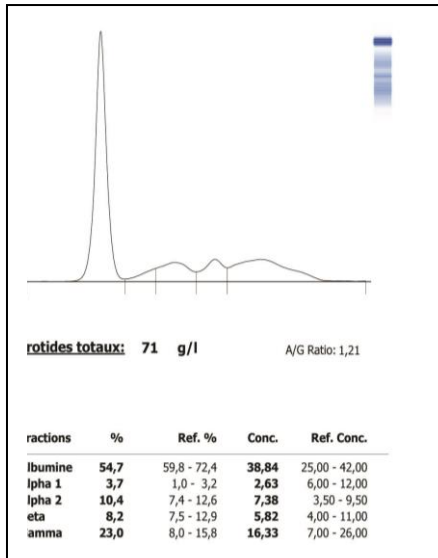
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



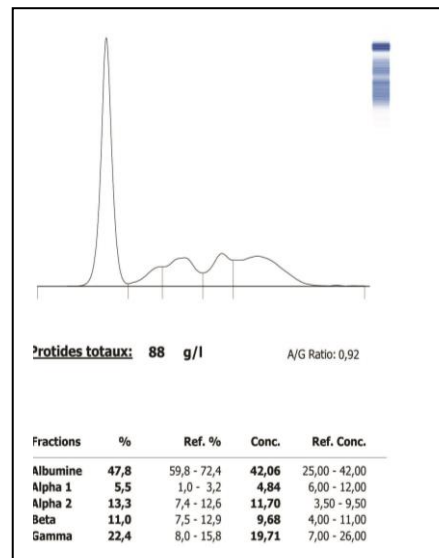
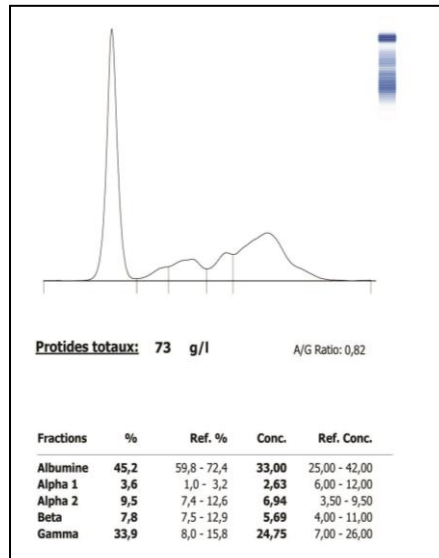
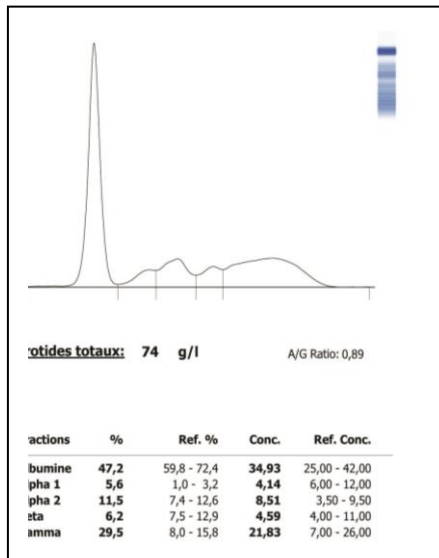
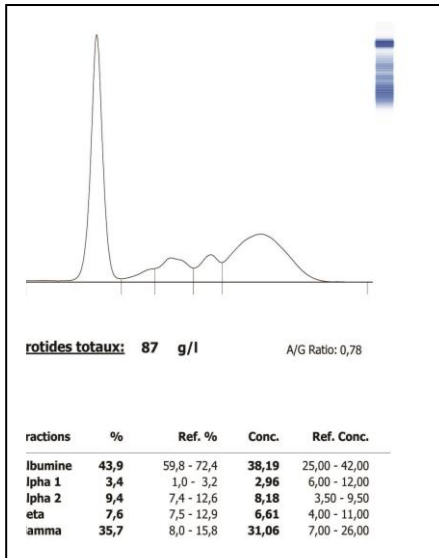
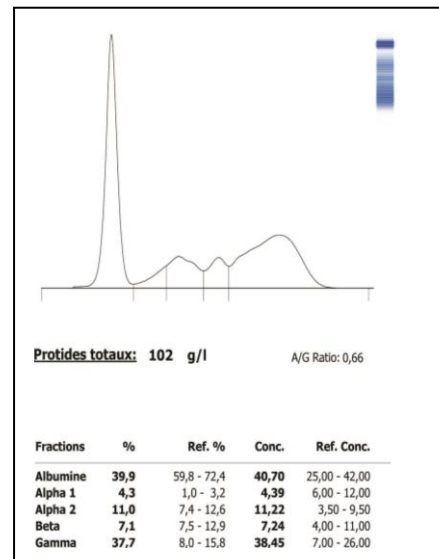
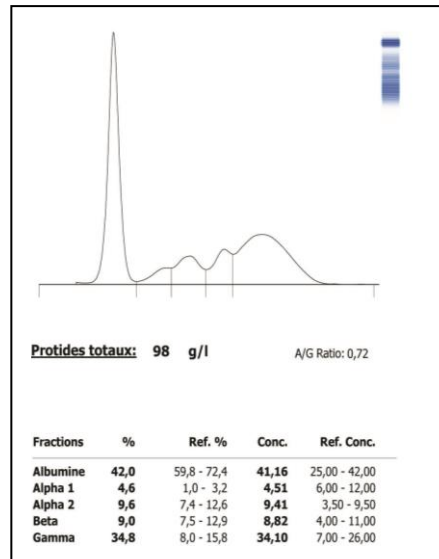
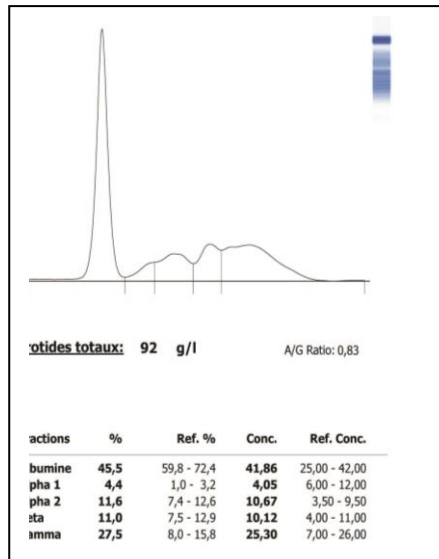
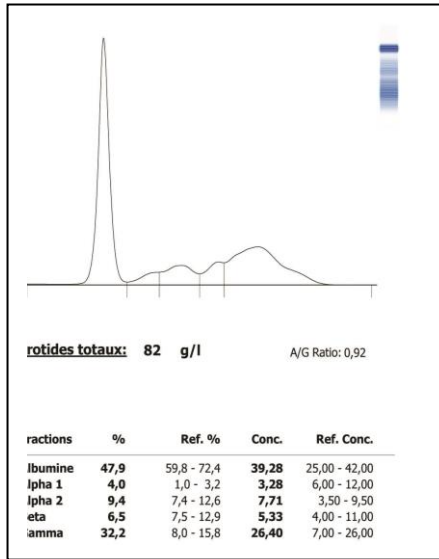
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



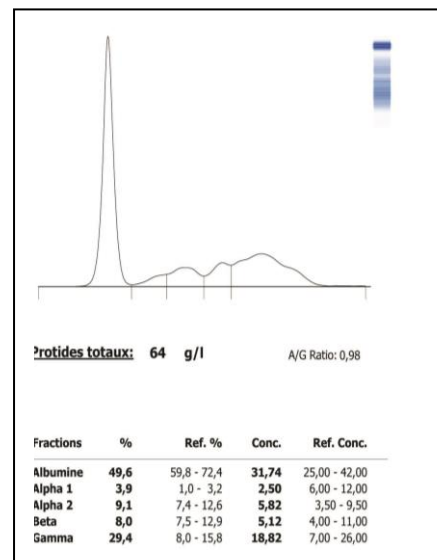
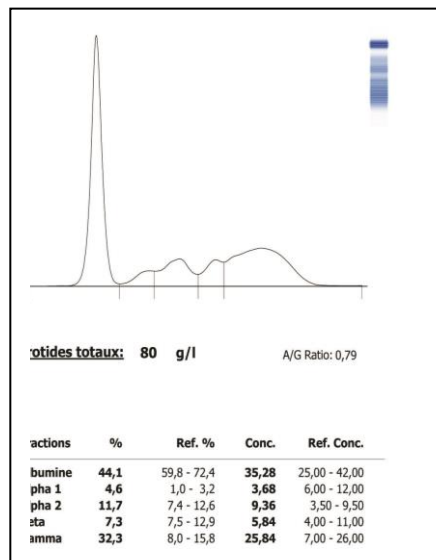
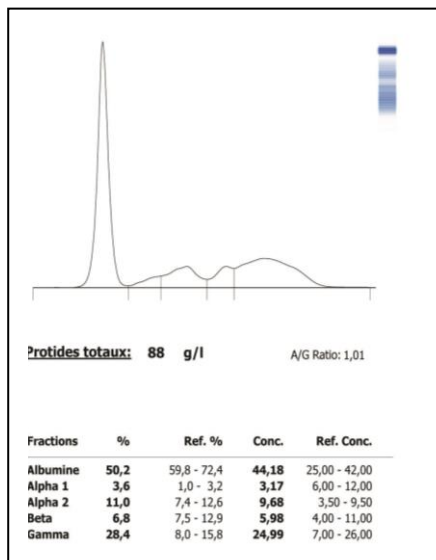
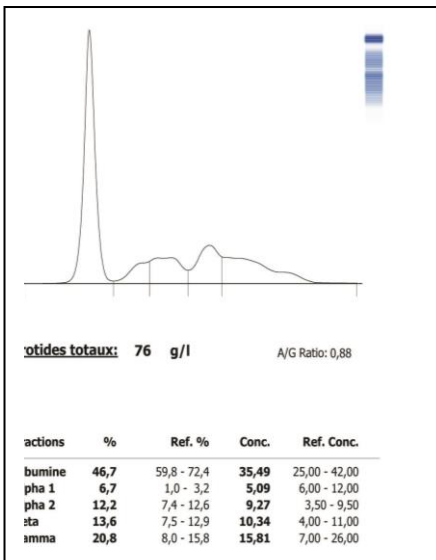
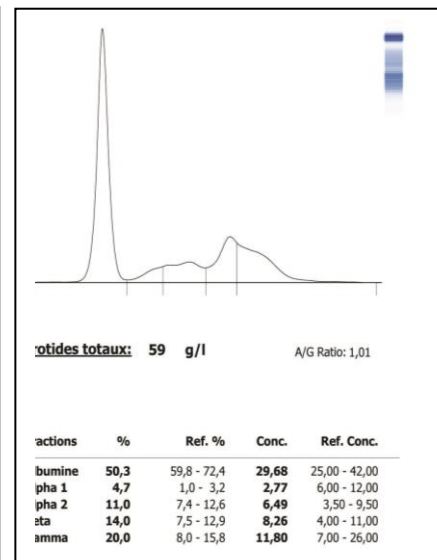
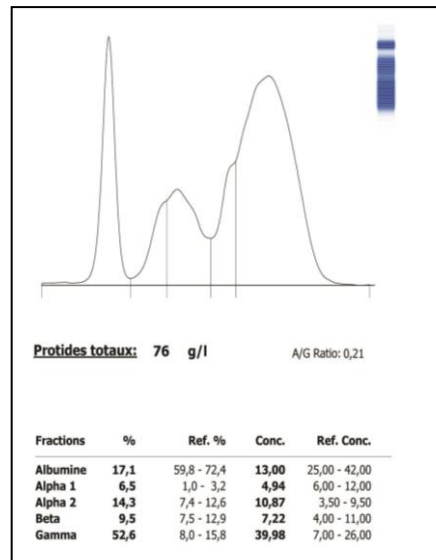
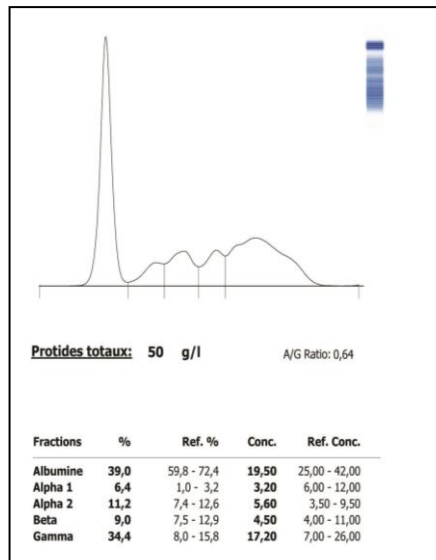
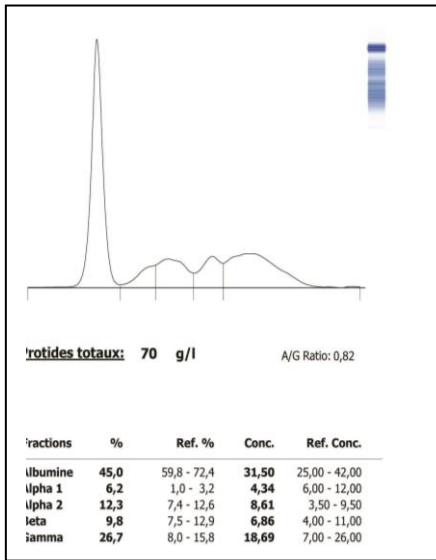
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



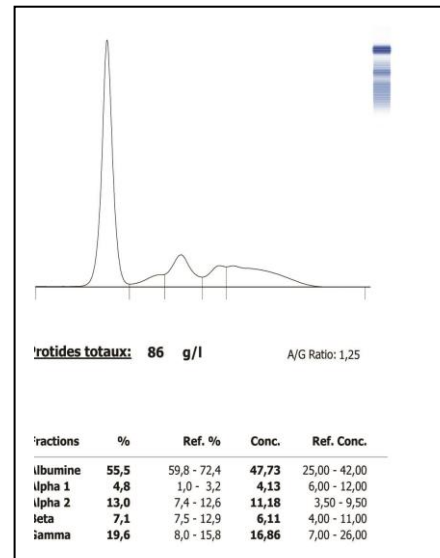
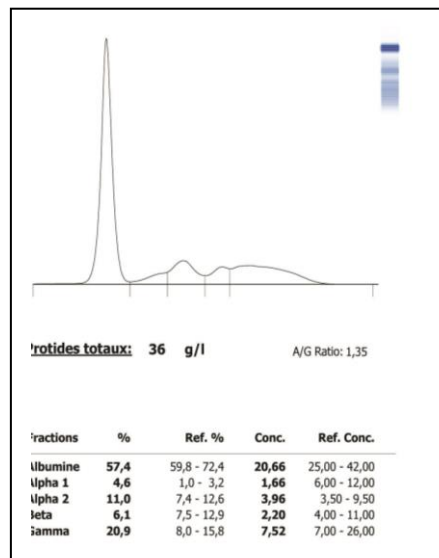
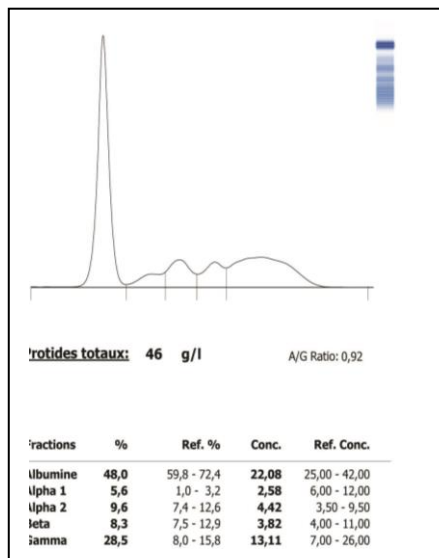
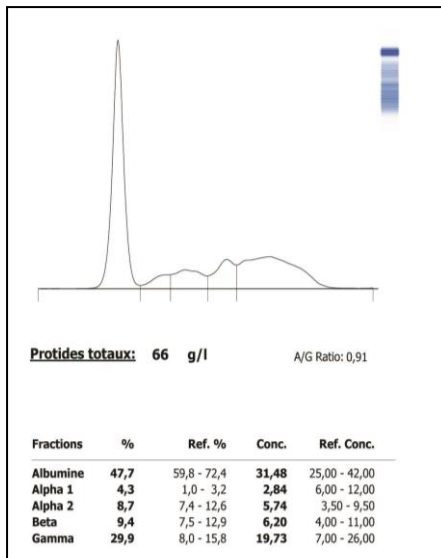
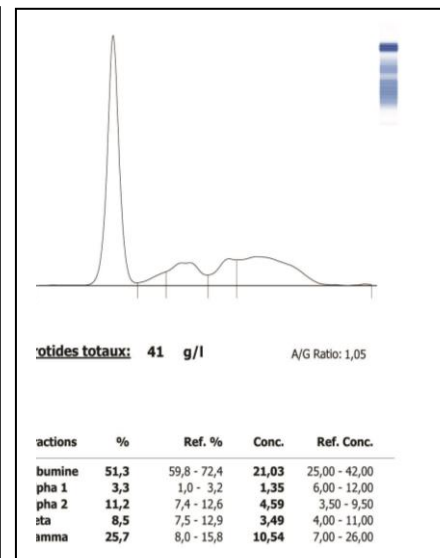
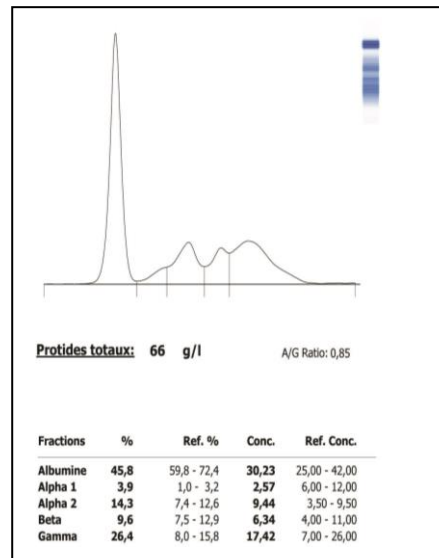
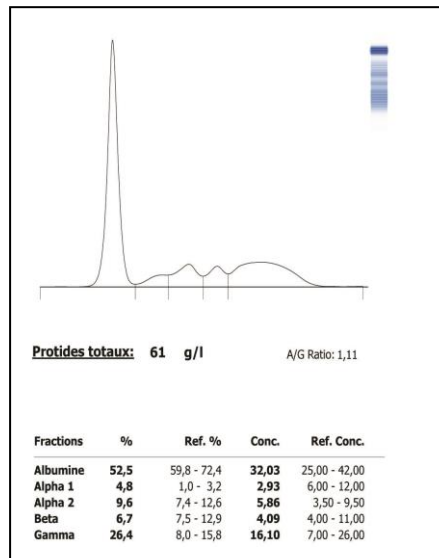
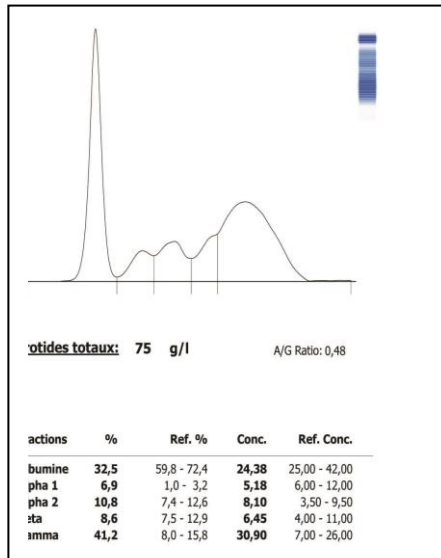
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



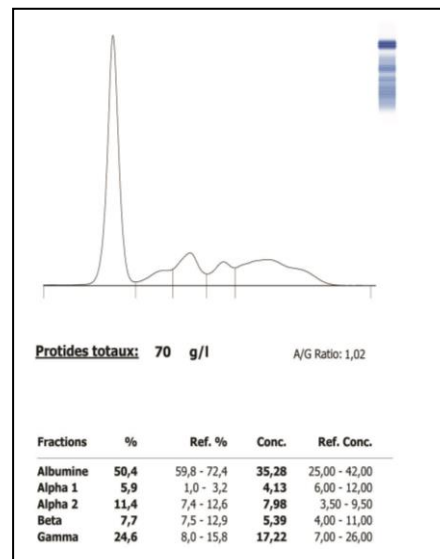
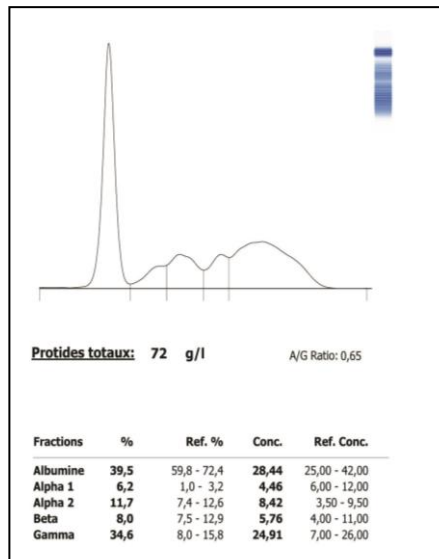
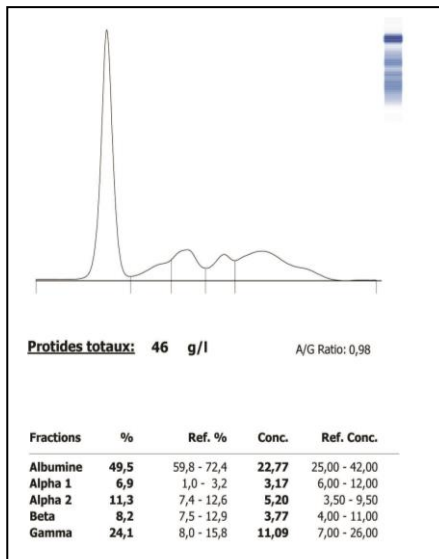
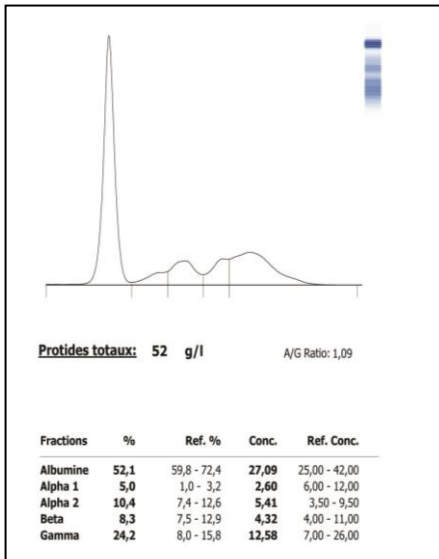
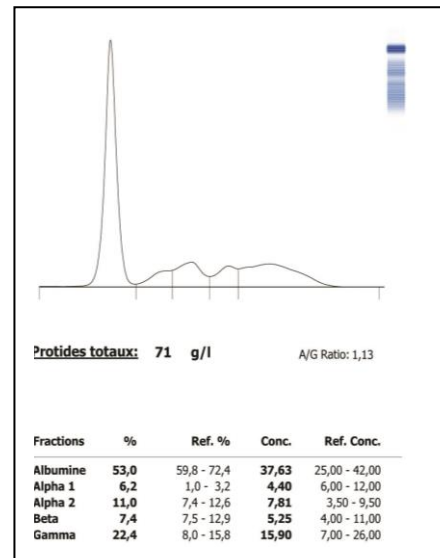
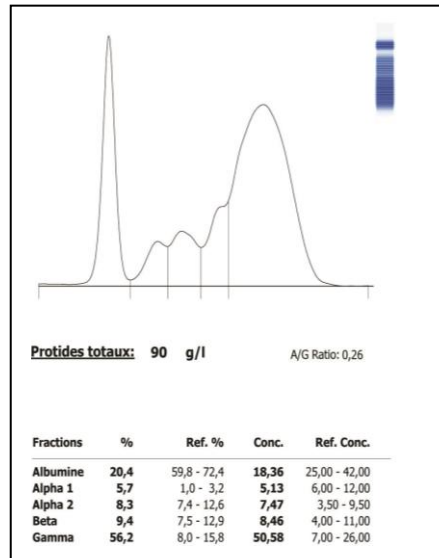
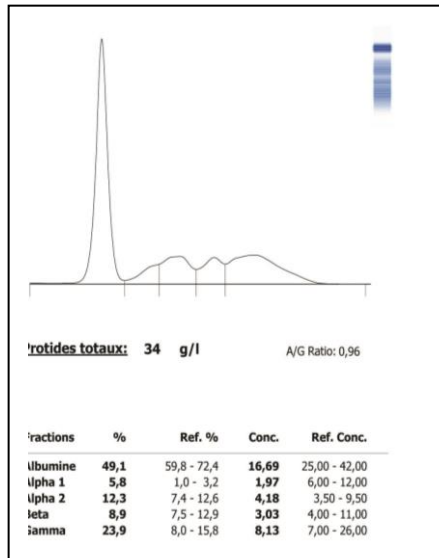
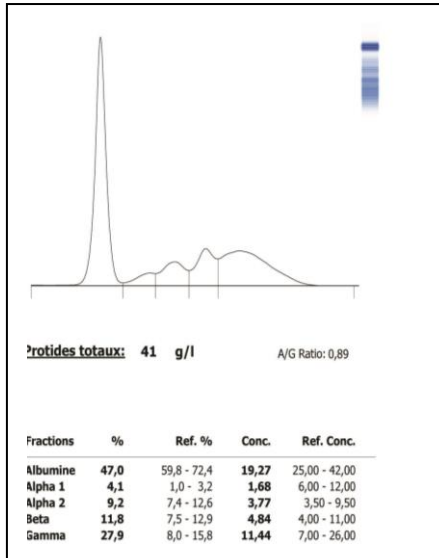
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



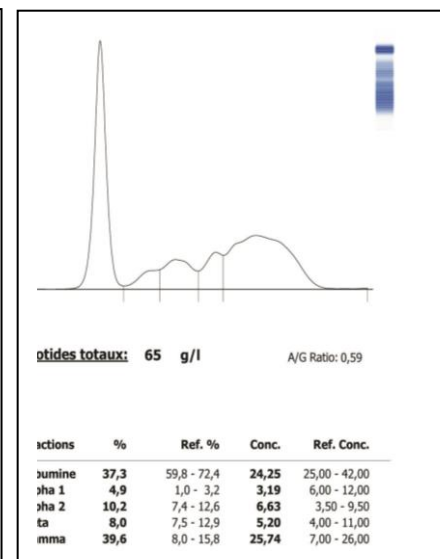
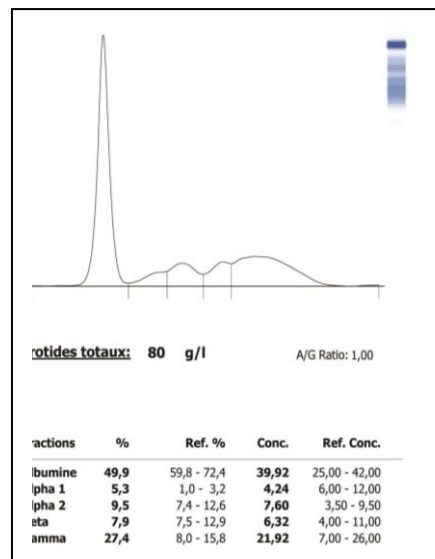
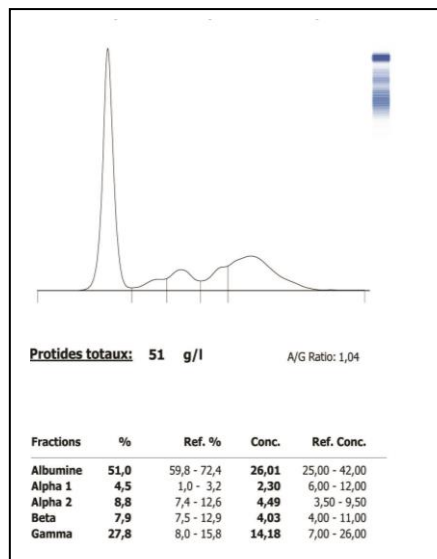
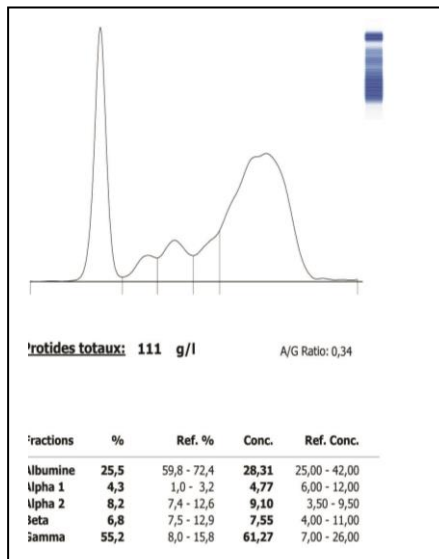
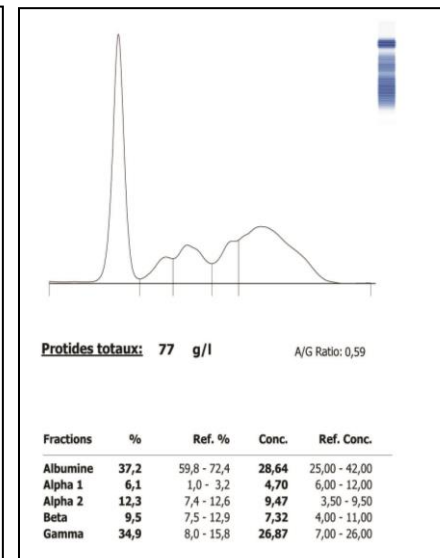
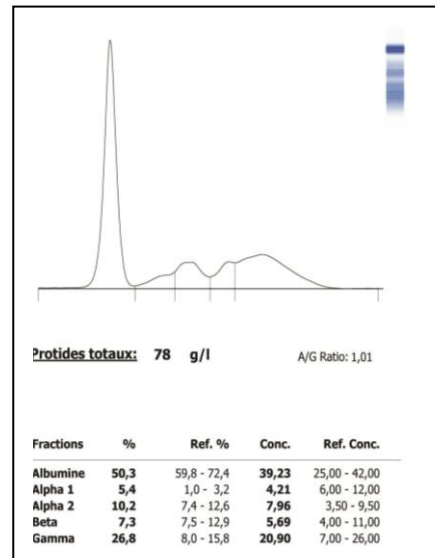
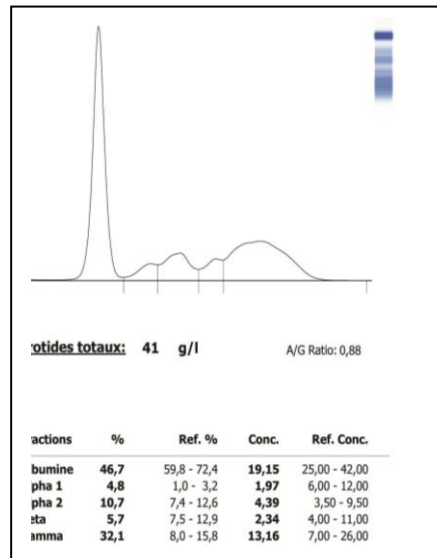
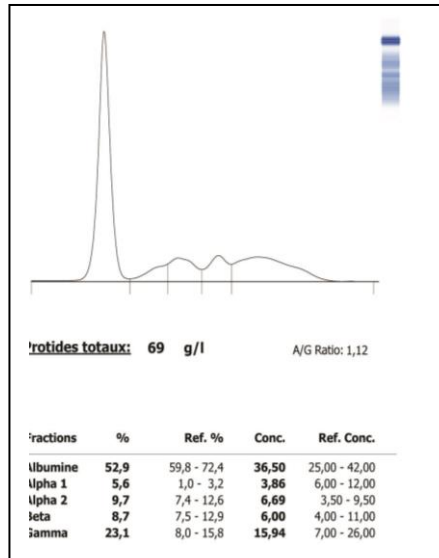
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



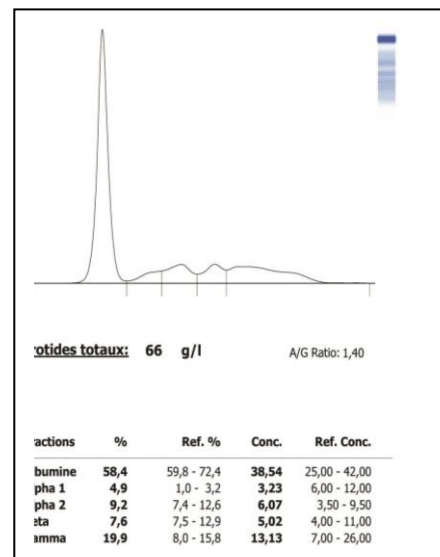
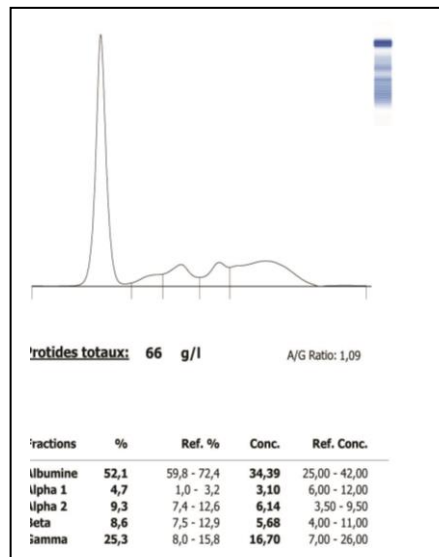
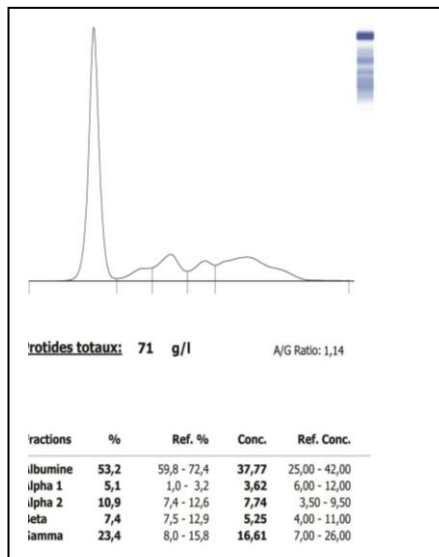
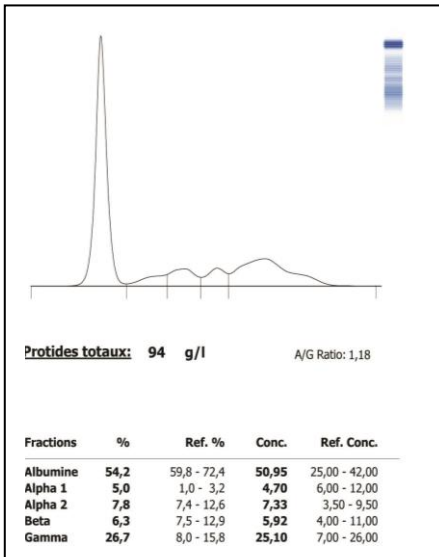
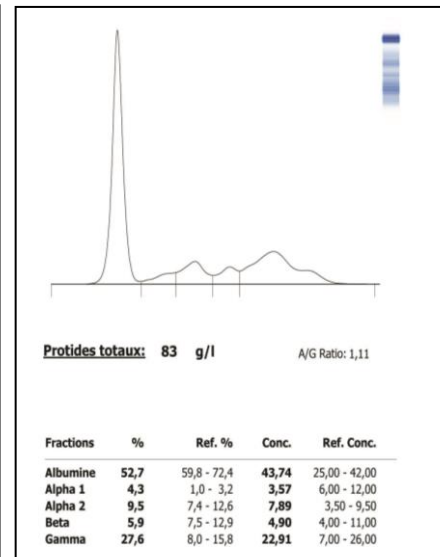
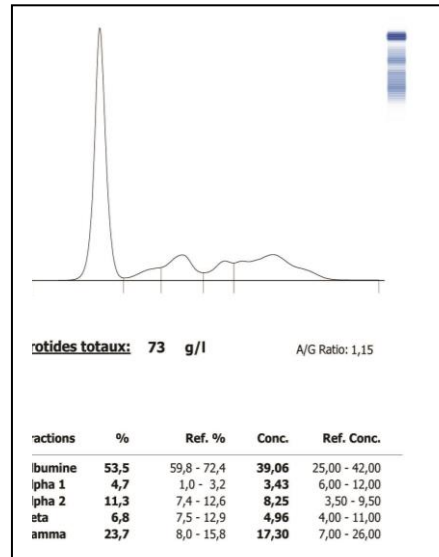
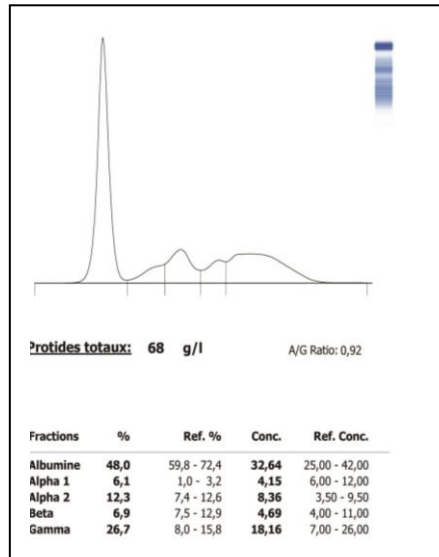
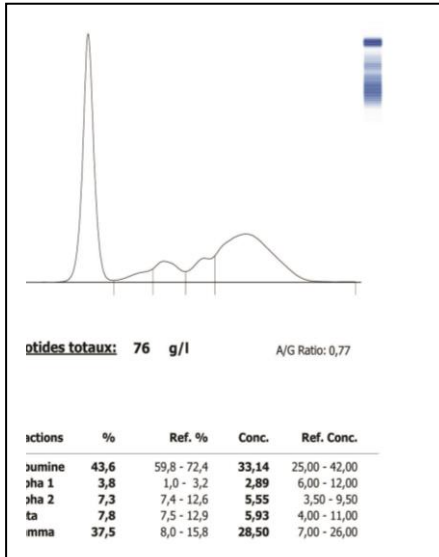
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



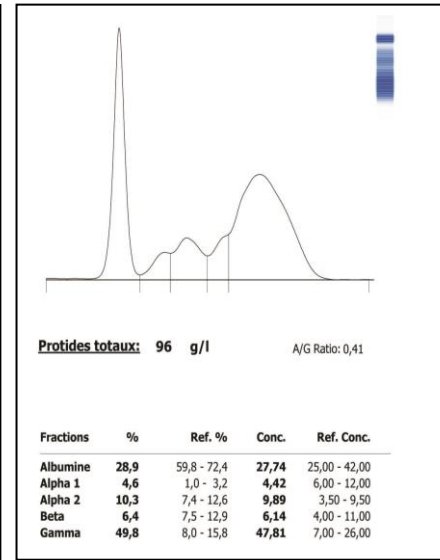
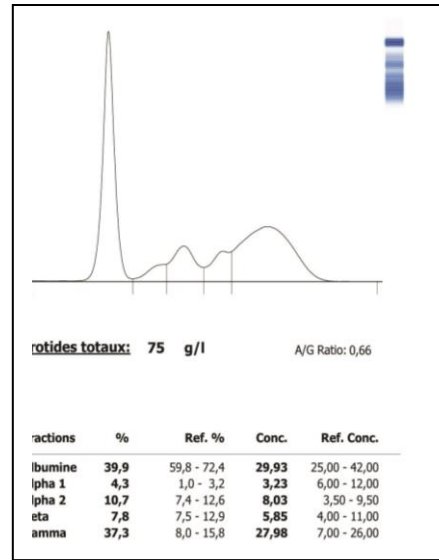
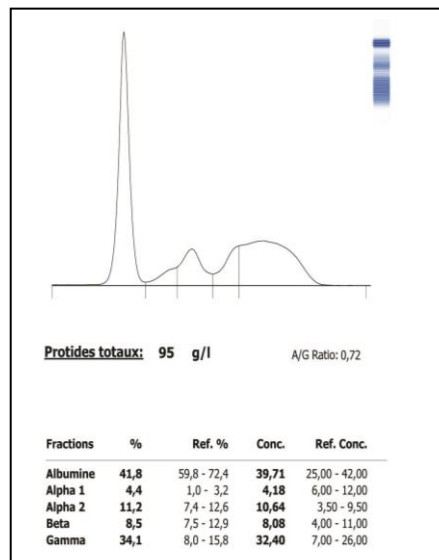
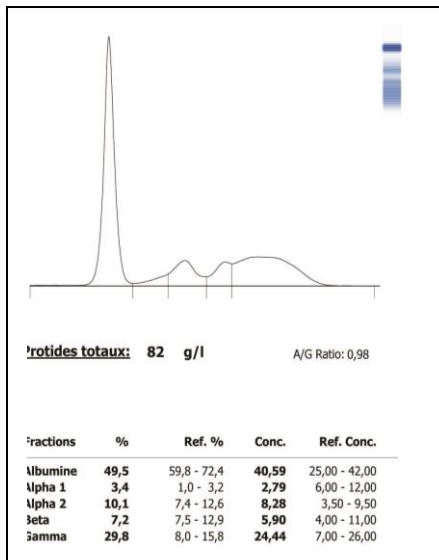
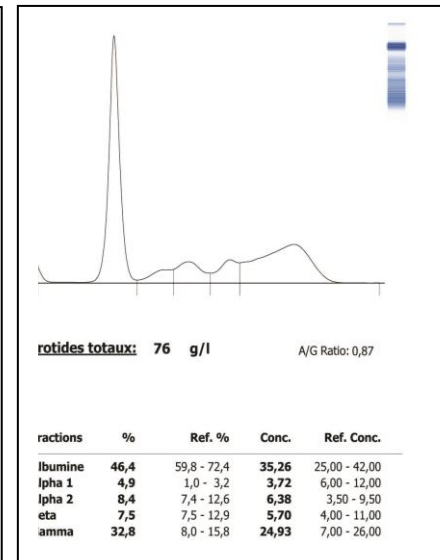
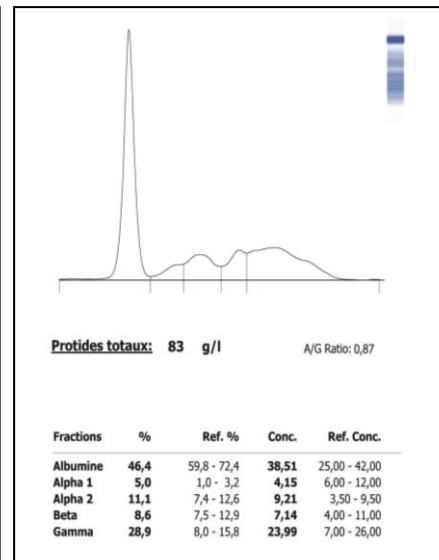
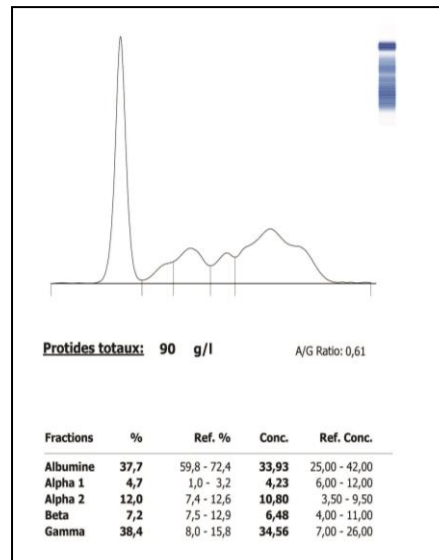
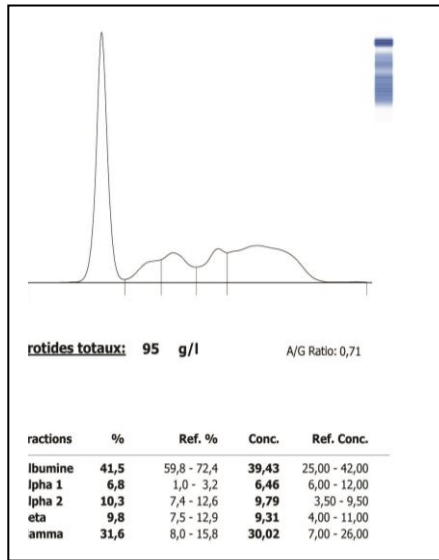
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



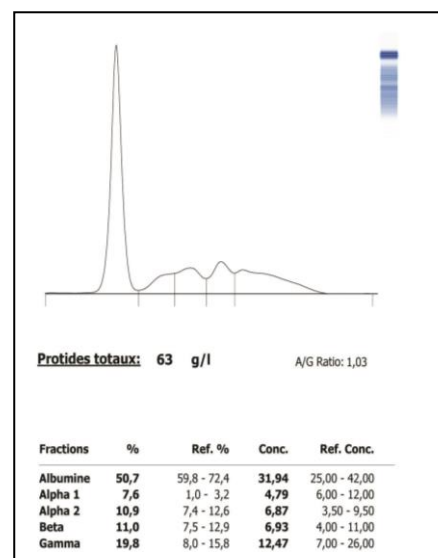
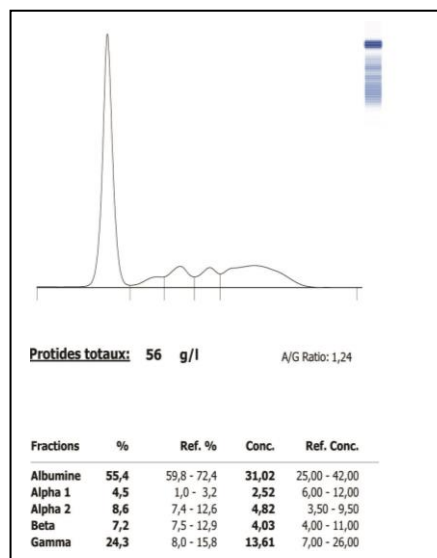
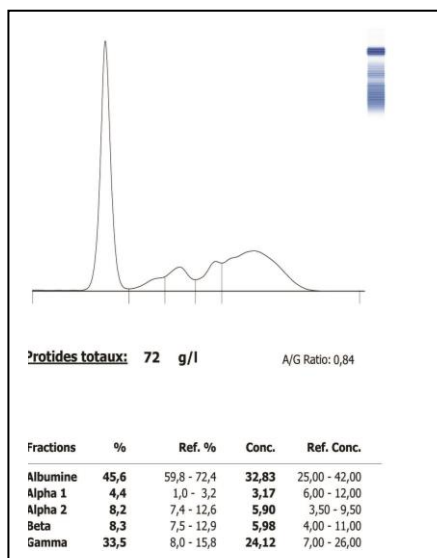
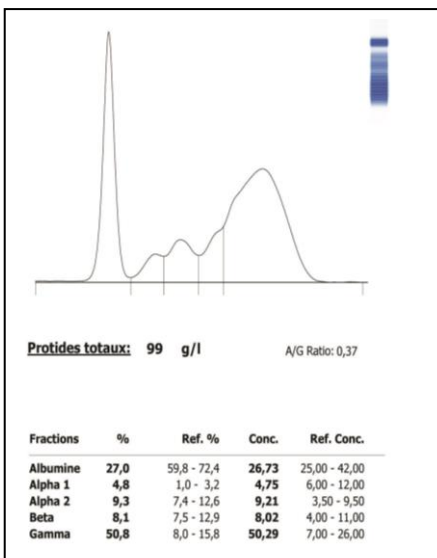
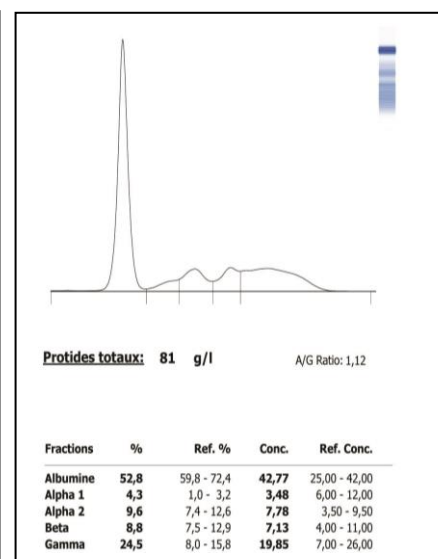
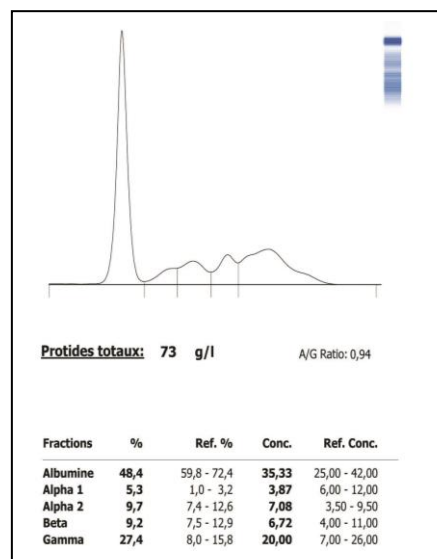
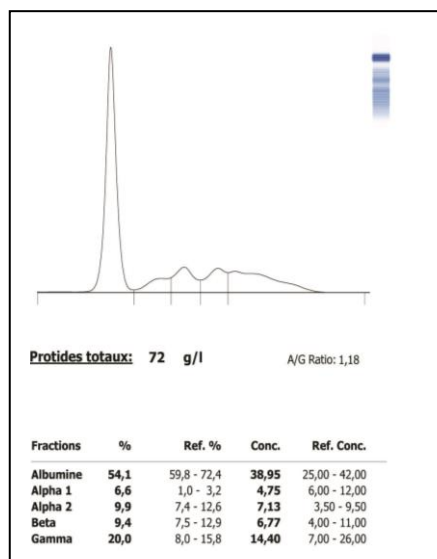
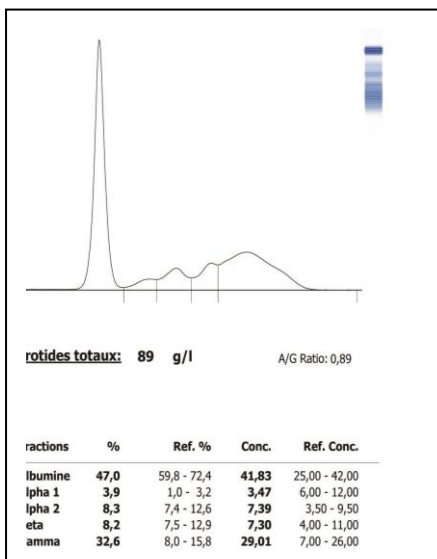
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



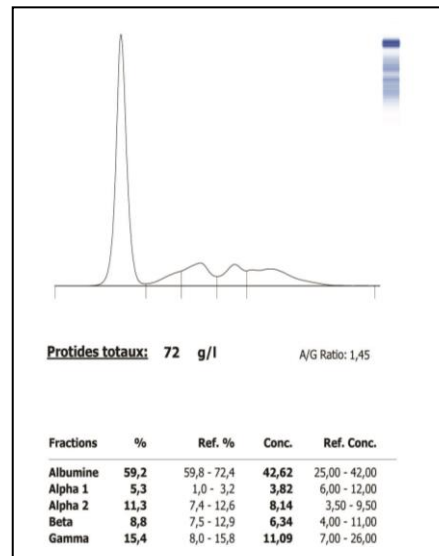
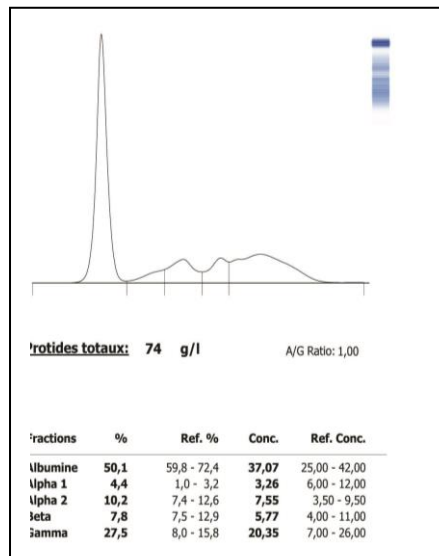
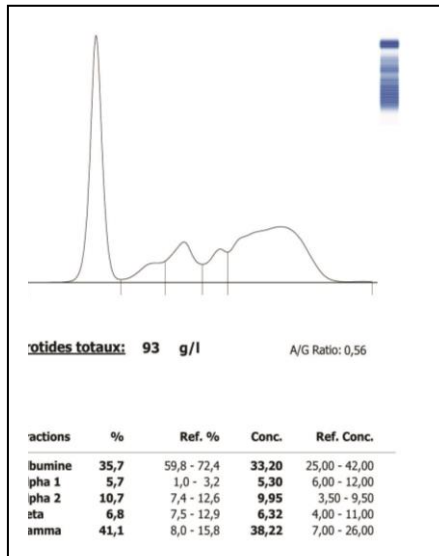
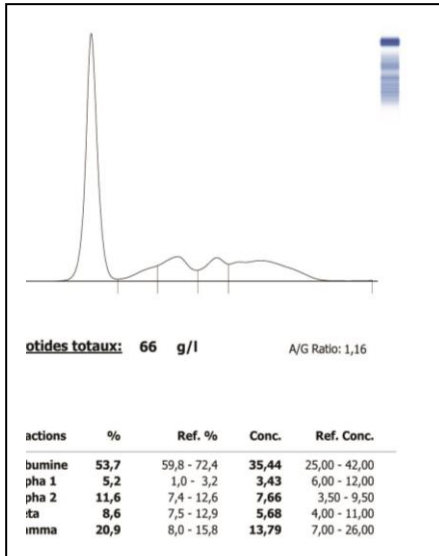
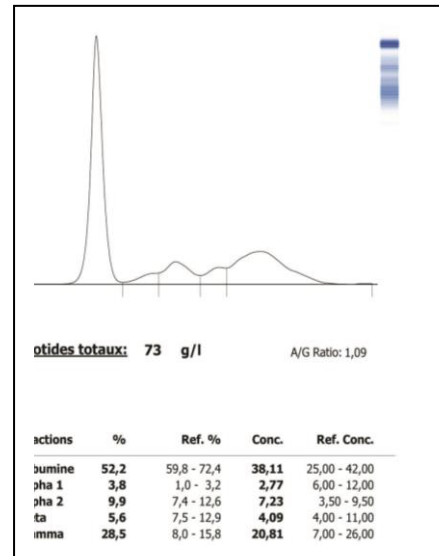
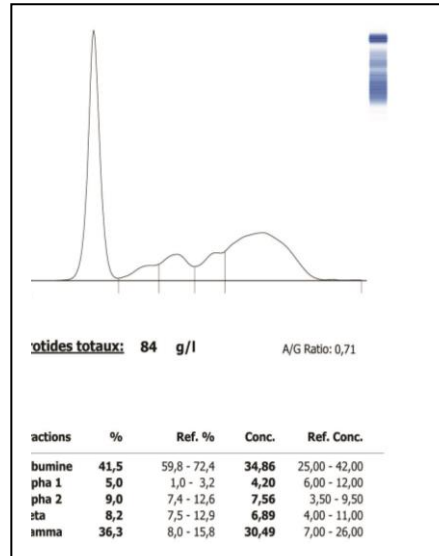
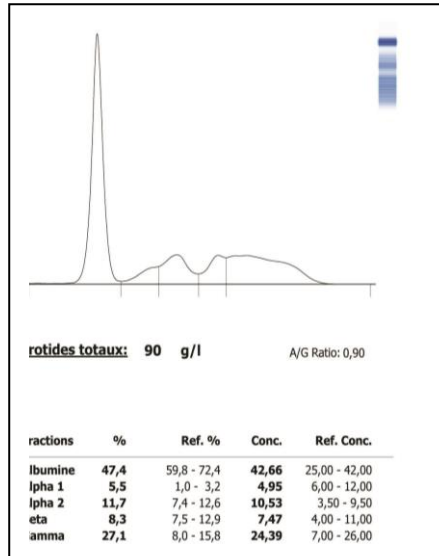
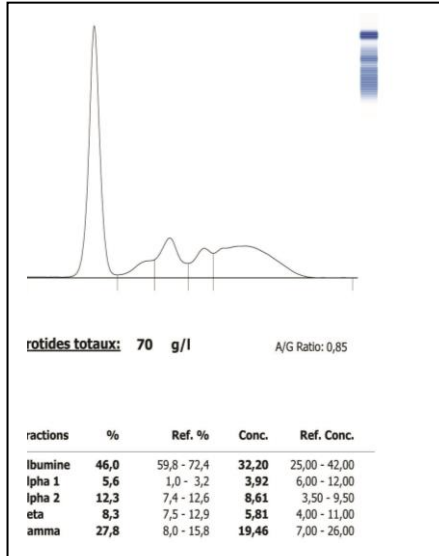
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



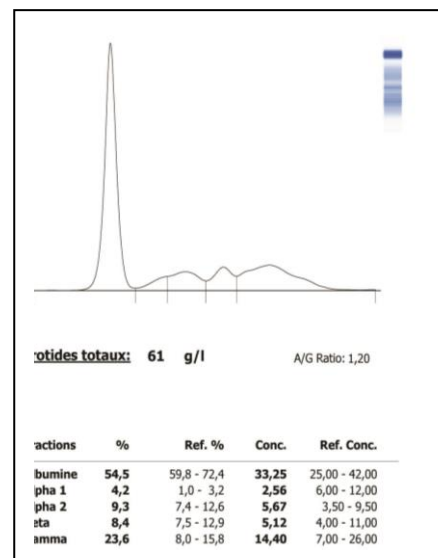
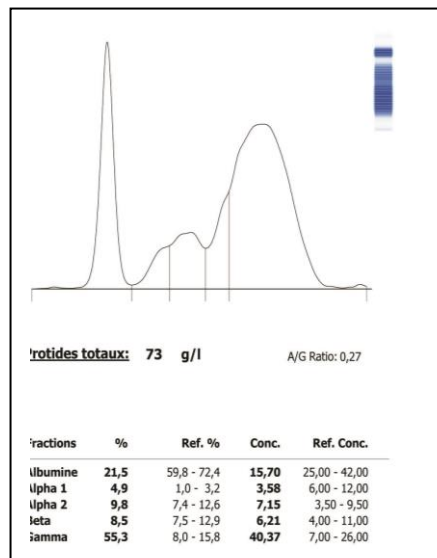
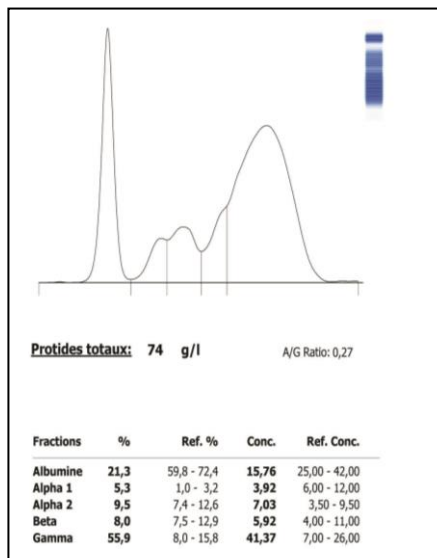
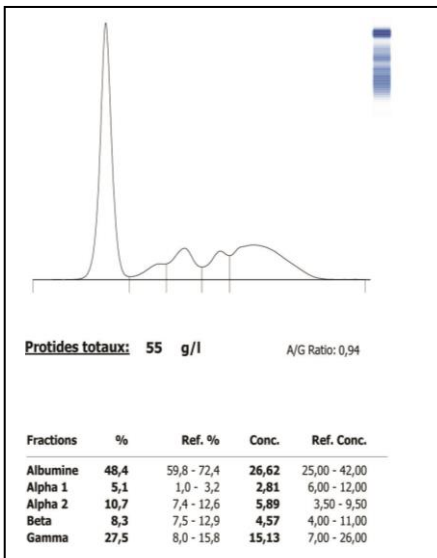
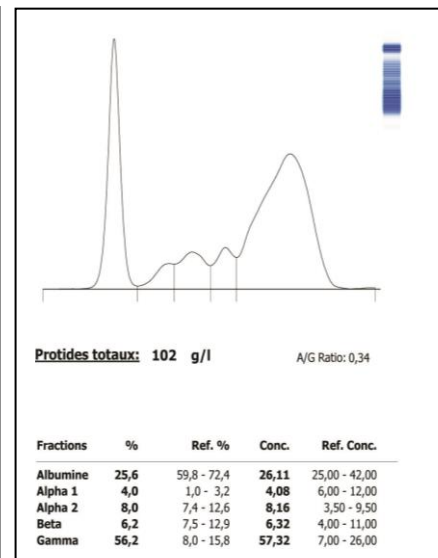
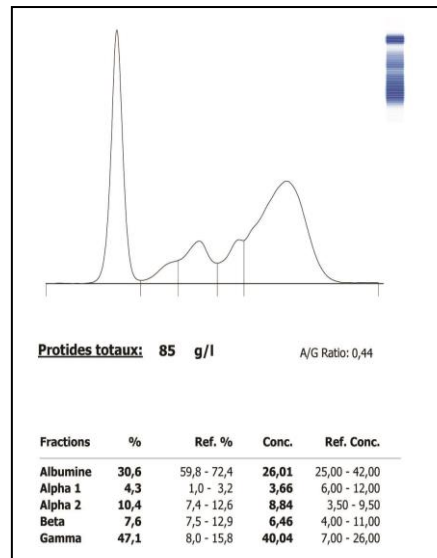
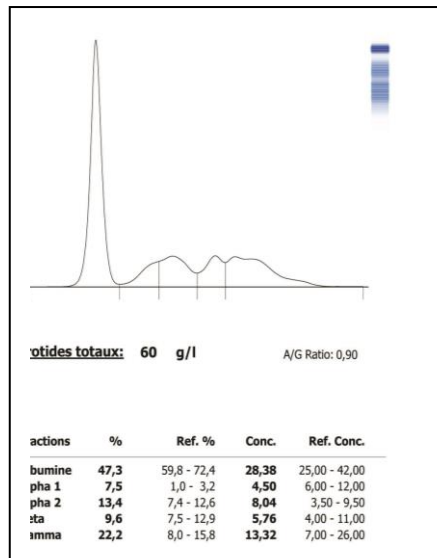
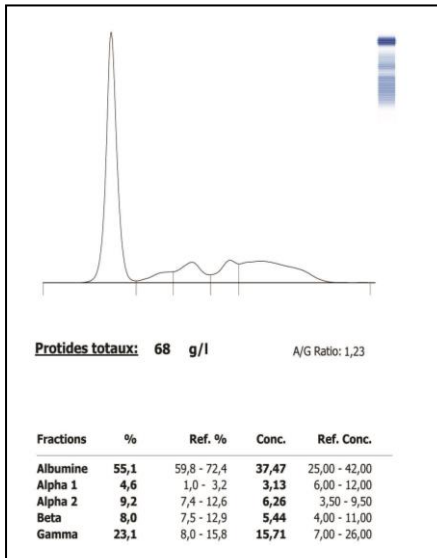
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



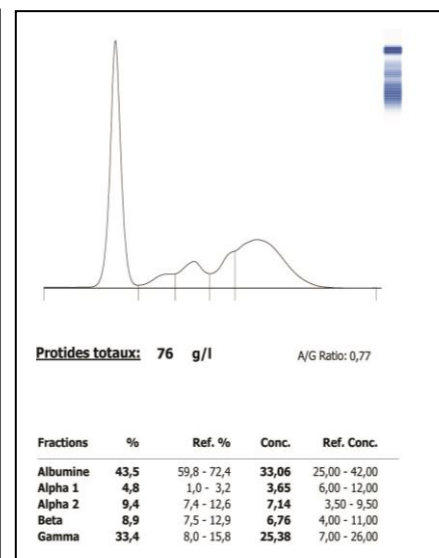
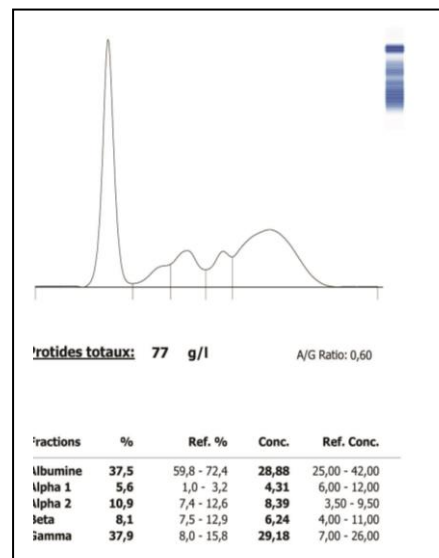
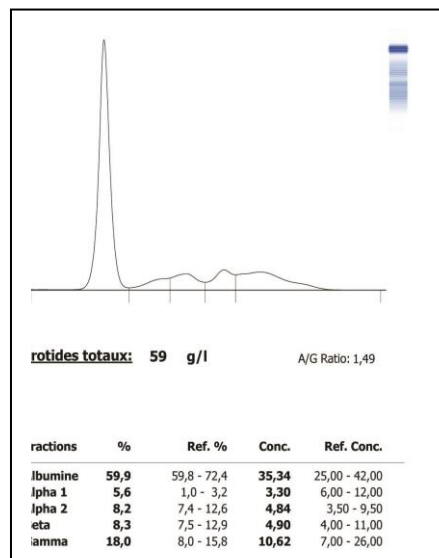
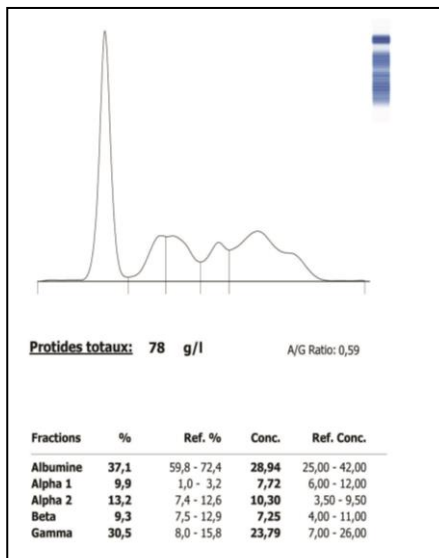
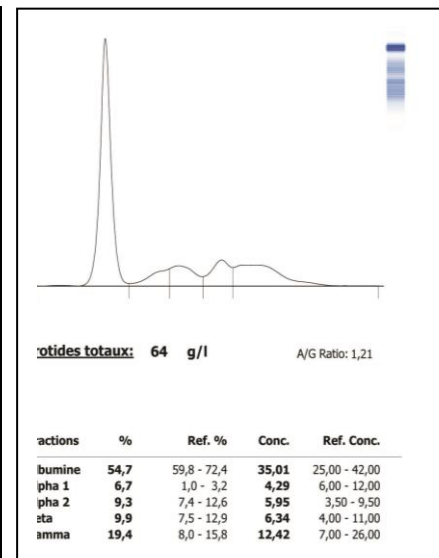
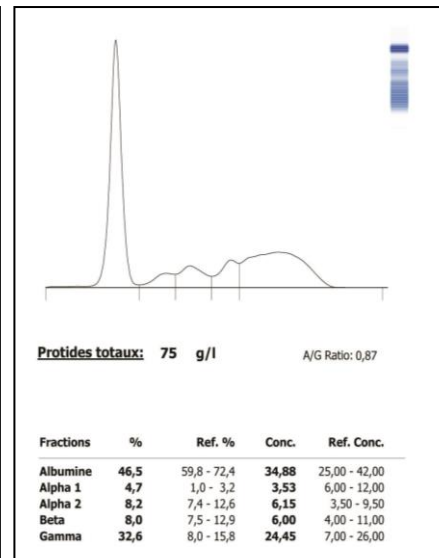
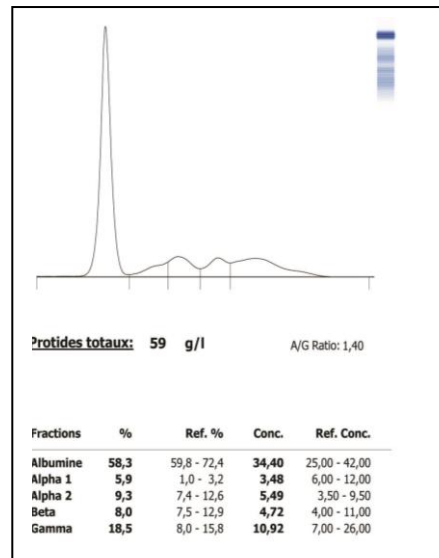
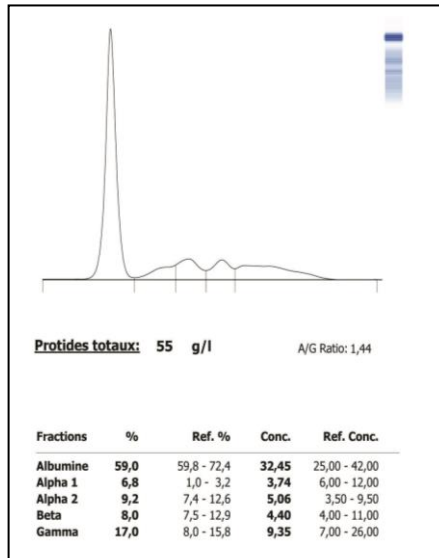
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



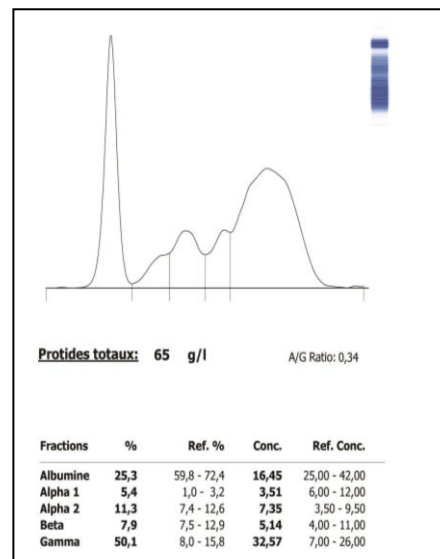
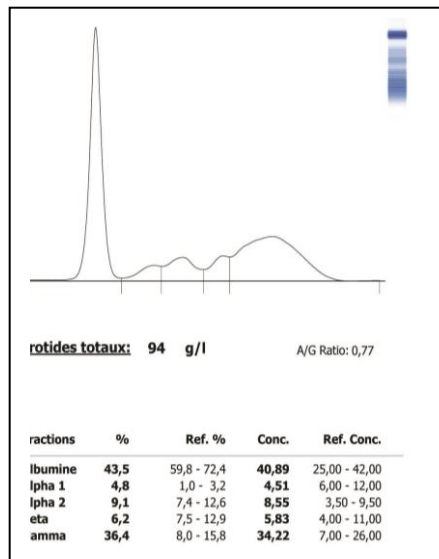
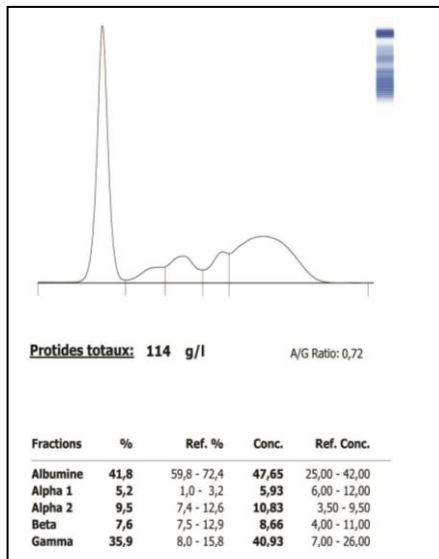
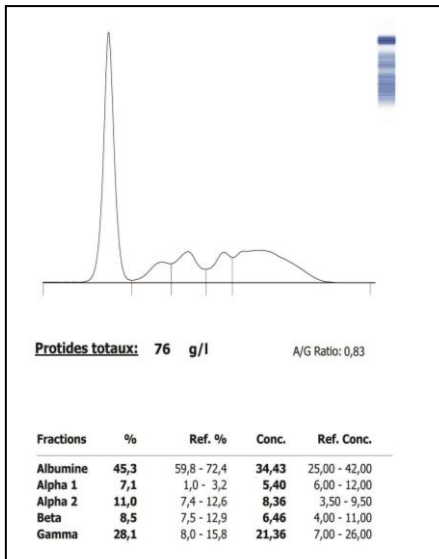
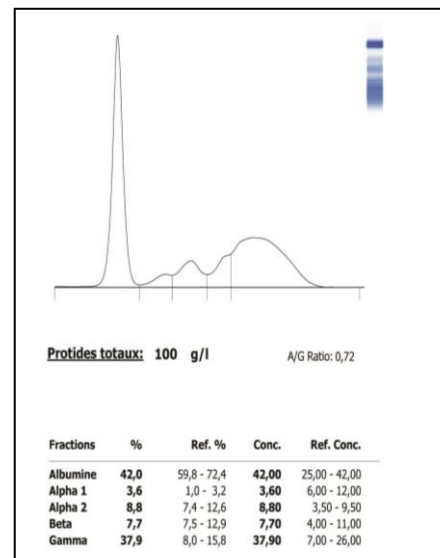
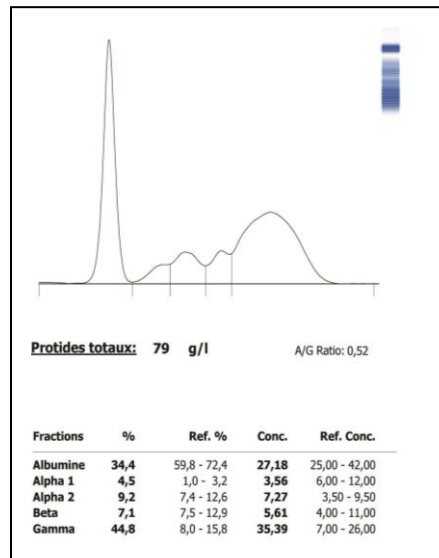
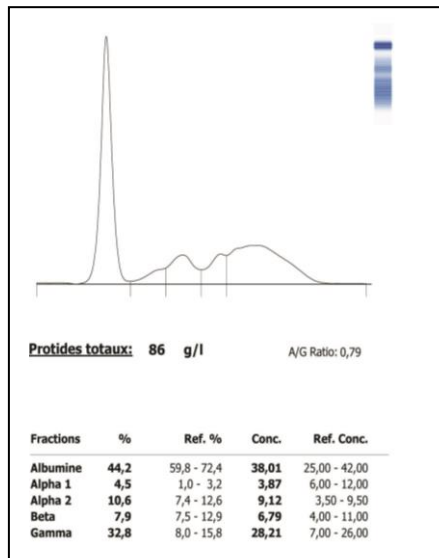
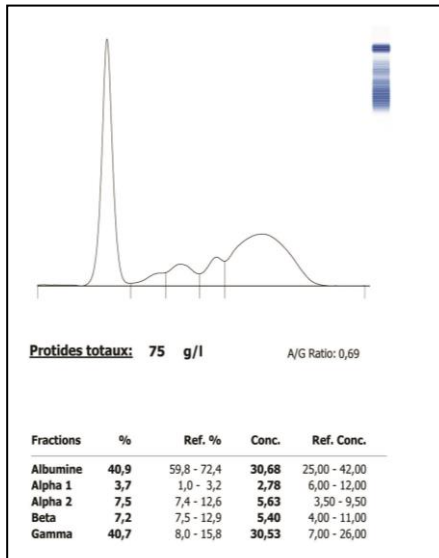
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



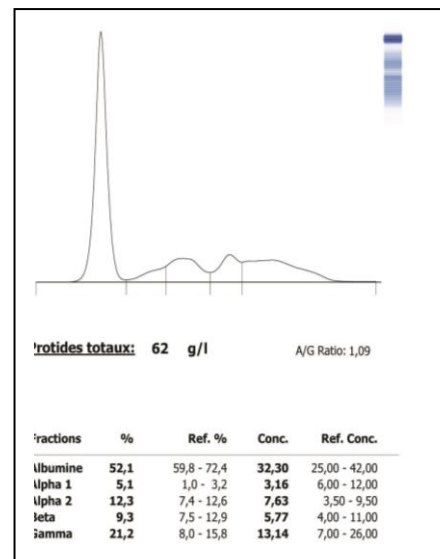
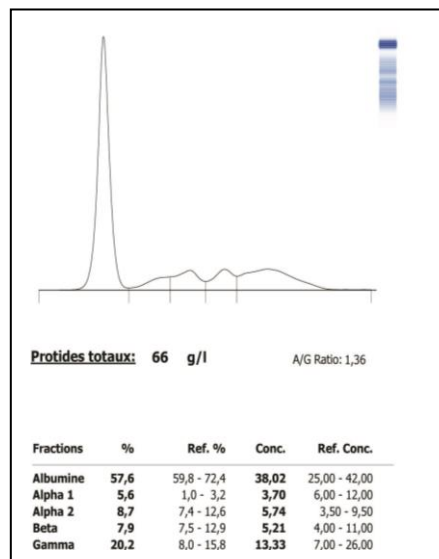
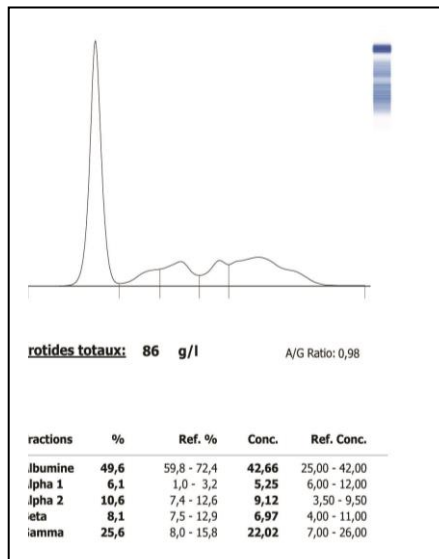
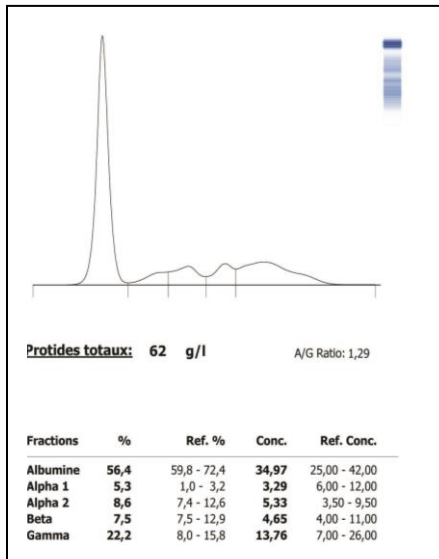
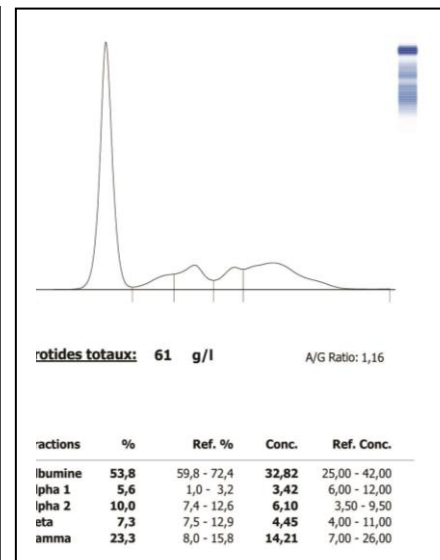
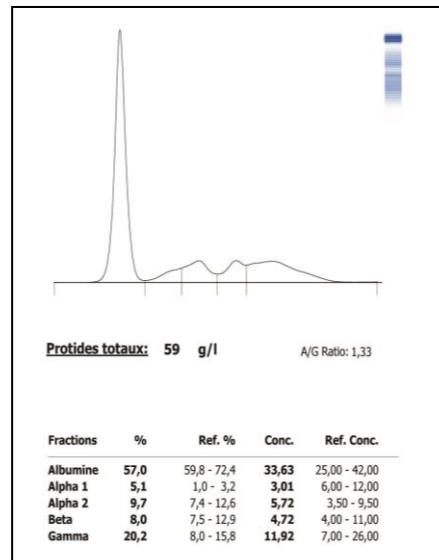
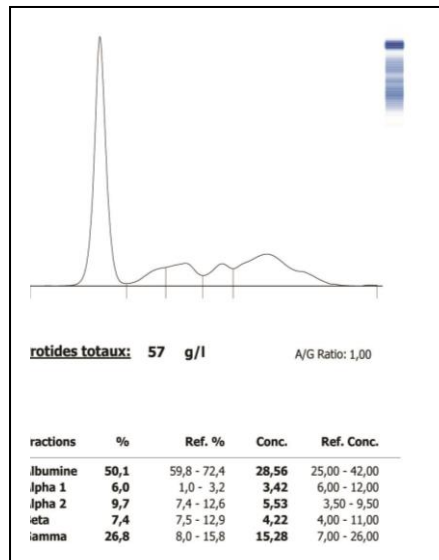
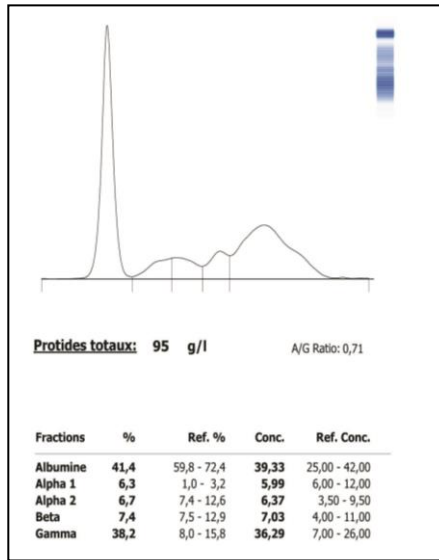
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



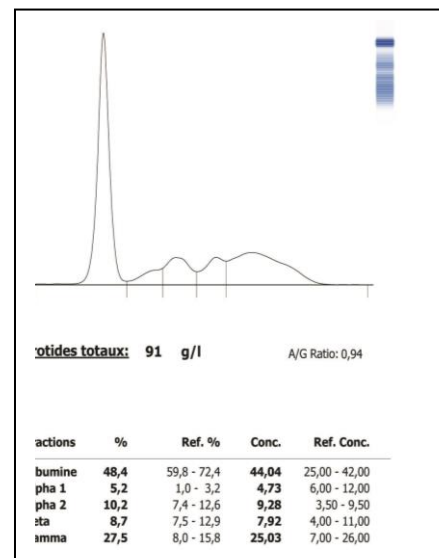
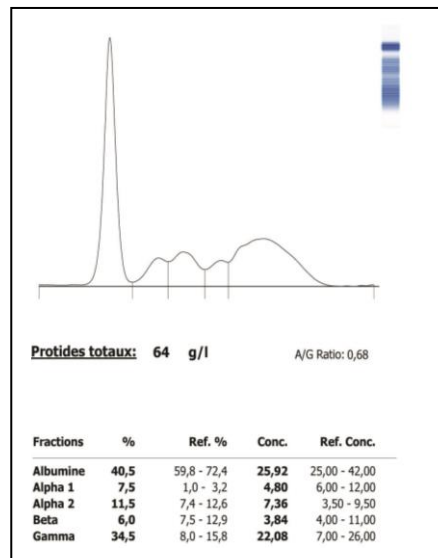
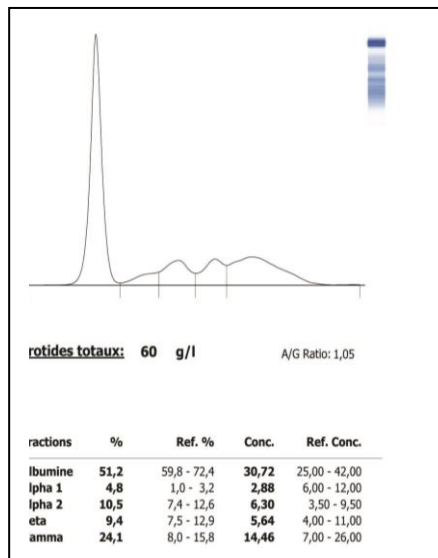
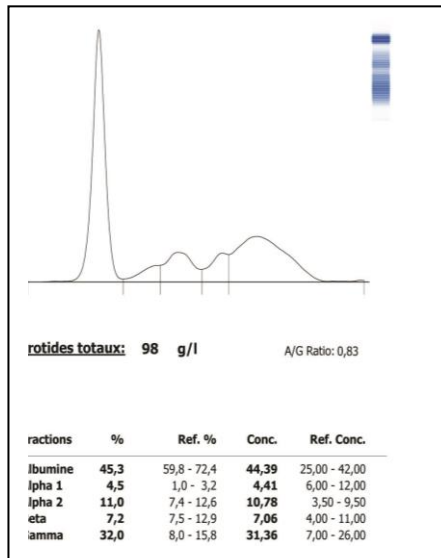
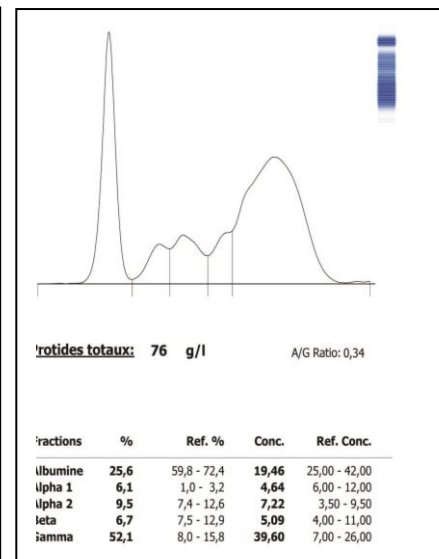
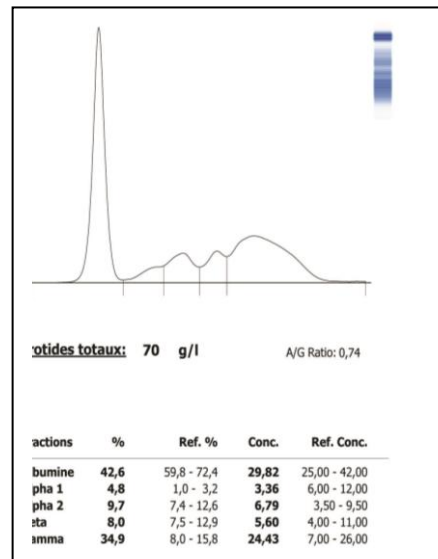
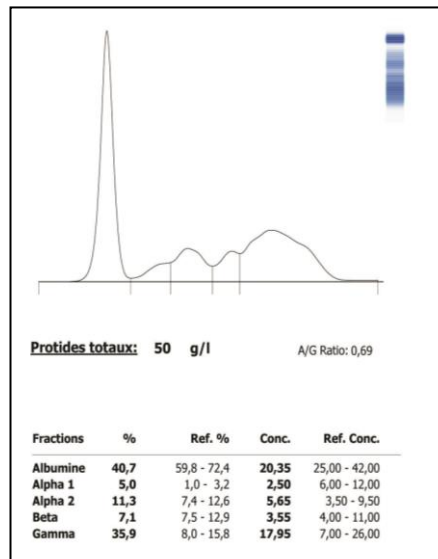
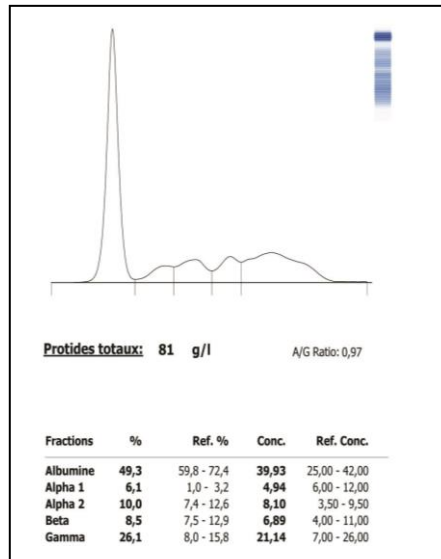
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



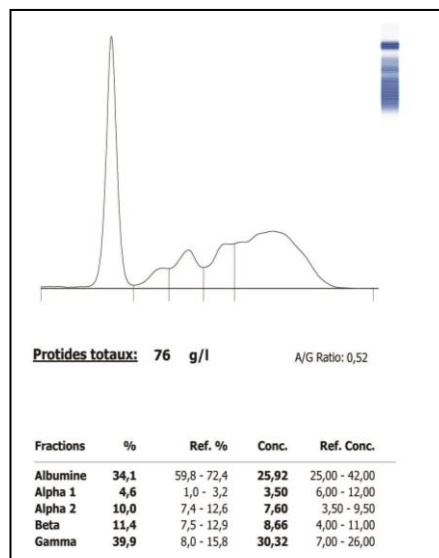
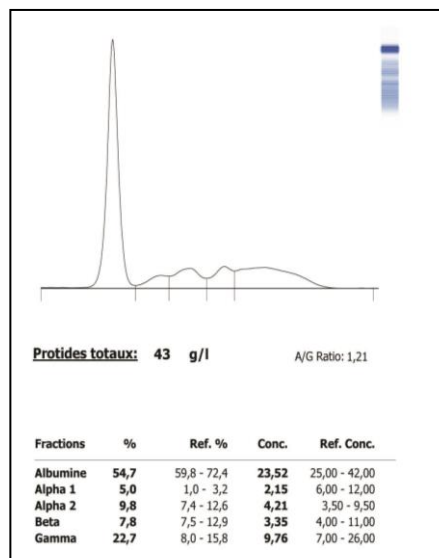
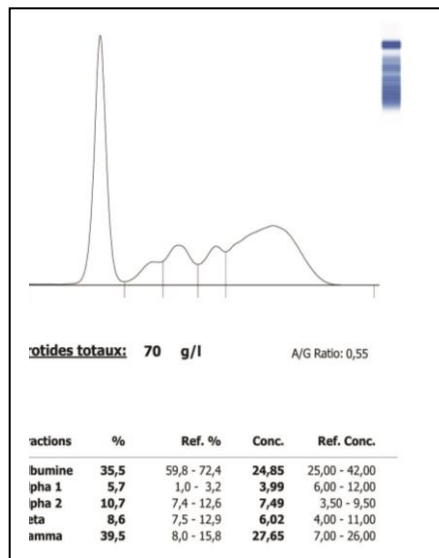
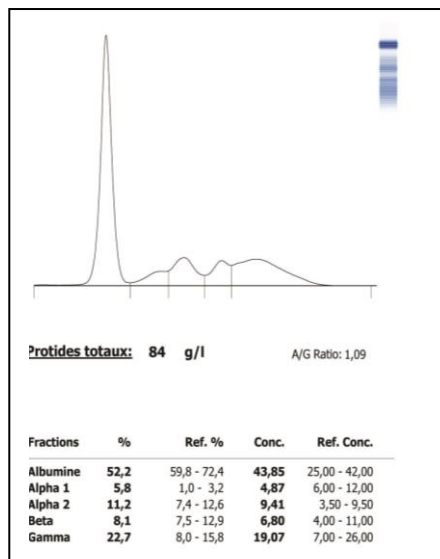
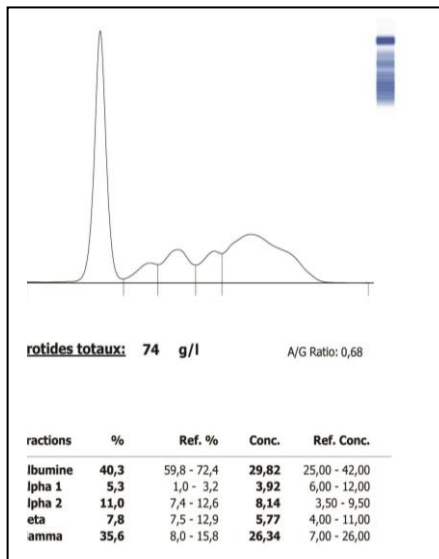
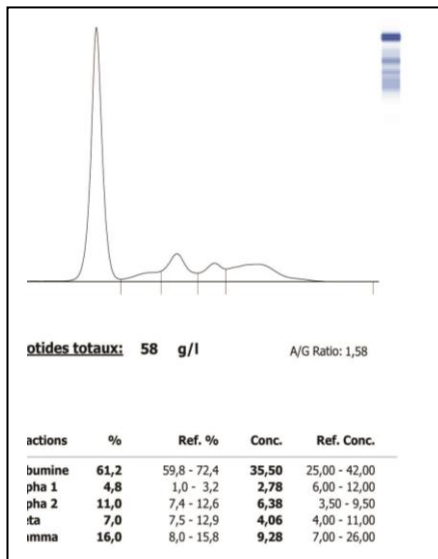
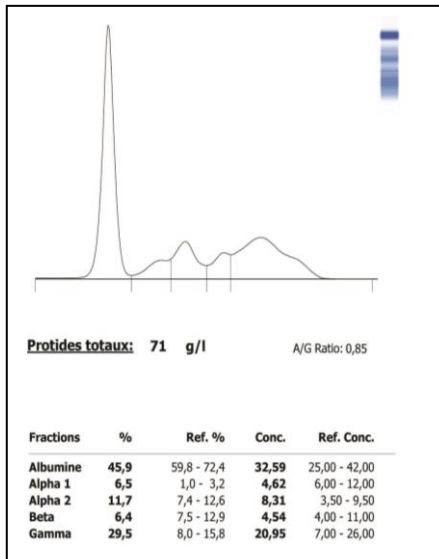
ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



ANNEXE IV : Traces d'électrophorèse et valeurs de protéinogramme



ABSTRACT:

The early and rapid diagnosis of an inflammatory expression pathology is a permanent challenge for the veterinary practitioner. In this alternative, we studied 200 cases (healthy or sick) of cattle. For each case, we performed a blood test, to perform the following biochemical assays: EPP (serum protein electrophoresis), three parameters specific to the exploration of liver function: total Bilirubin (Bil.T), the Gamma Glutamyl Transpeptidase (GGT), Alkaline Phosphatase (PAL). Add to this the dosage of two proteins of the acute phase of inflammation: Haptoglobin (Hp) and Fibrinogen (Fb). The results obtained allowed us to establish a model electrophoresis pattern with 5 fractions. The study of this route allowed us to discover that the majority of cattle (72.5%) have a high albumin-to-globulin (A / G) ratio. 38 subjects (19%) have essential hypo-albuminemia. In addition, 97.5% of cattle have a level below (6gr / l) alpha1 globulins. Alpha2 globulins increase especially during bronchopneumonia. Beta-globulins increase with liver disease. Among the hyper-gamma globulin emitted, we were able to distinguish monoclonal peaks (8 subjects) and 57 subjects (28%) with poly clonal peaks. The fibrinogen dosage will never exceed the threshold of 5 gr / l. Haptoglobin is greater than 0.41 g / l for 10 cases observed (5%). The interpretation of the EPP associated with all the data collected for each individual made it possible to confirm clinically apparent cases and to discover other asymptomatic cases. We can consider electrophoresis of serum proteins as a practical tool for diagnosis in rural medicine. Moreover, its use remains reserved for an individual clinical approach and can not lend itself to an interpretation at the scale of a population because of specificity specific to each individual (physiology, environment, adaptation) this is proved by a little significant correlation between the different variables studied ($P < 0.05$).

Keywords :

Serum protein electrophoresis, Inflammation, Bovine medicine

RESUME:

Le diagnostic précoce et rapide d'une pathologie d'expression inflammatoire constitue un défi permanent pour le praticien vétérinaire. Dans cette alternative, nous avons étudié 200 cas (sains ou malades) de bovins. Pour chaque cas, nous avons effectué une prise de sang, pour réaliser les dosages biochimiques suivants : une EPP (électrophorèse des protéines sériques), trois paramètres spécifiques à l'exploration de la fonction hépatique : la Bilirubine totale (Bil.T), le Gamma Glutamyl Transpeptidase (GGT), la Phosphatase alcaline (PAL). S'ajoute à cela le dosage de deux protéines de la phase aiguë de l'inflammation : l'Haptoglobine (Hp) et le Fibrinogène (Fb). Les résultats obtenus nous ont permis d'établir, un tracé d'électrophorèse modèle à 5 fractions. L'étude de ce tracé nous a permis de découvrir que la majorité des bovins (72,5%) présentent un rapport Albumine - Globuline (A/G) élevé. 38 sujets (19%) présentent une hypo-albuminémie essentielle. Par ailleurs, 97,5% des bovins présentent un taux inférieur à (6gr/l) des alpha1 globulines. Les alpha2 globulines augmentent spécialement lors de bronchopneumonie. Les Béta-globulines augmentent lors d'affection hépatique. Parmi Les hyper Gamma- globulin émiés, nous avons pu distinguer des pics monoclonaux (8 sujets) et 57 sujets soit (28%) avec des pics poly clonaux. Le dosage du fibrinogène ne dépassera jamais le seuil de 5 gr/l. L'haptoglobine est supérieure à 0,41g /l pour 10 cas observés (5%). L'interprétation de l'EPP associé à l'ensemble des données collectées pour chaque individu a permis de confirmer des cas cliniquement apparents et de découvrir d'autres cas asymptomatiques. Nous pouvons considérer l'électrophorèse des protéines sériques comme un outil pratique pour le diagnostic en médecine rurale. Par ailleurs son usage reste réservé à une approche clinique individuelle et ne peut se prêter à une interprétation à l'échelle d'une population à cause de la spécificité propre à chaque individu (physiologie, milieu, adaptation) ceci est prouvé par une corrélation peu significative entre les différentes variables étudiées ($P < 0,05$).

Mots clés :

Electrophorèse des protéines sériques, Inflammation, Médecine bovine

ملخص:

إن التشخيص المبكر والسريع لعلم الأمراض الالتهابي هو تحدٍ دائم للممارس البيطري. في هذا البديل، درسنا 200 حالة (صحية أو مريضة) من الماشية. في كل حالة ، أجرينا فحص الدم ، لإجراء الاختبارات البيوكيميائية التالية) EPP :بروتين مصلى البروتين الكهربائي) ، ثلاث معايير محددة لاستكشاف وظيفة الكبد: مجموع Bilirubin (Bil.T) ، و Gamma Glutamyl Transpeptidase (GGT) ، الفوسفاتيز القلوية (PAL) أضيف إلى ذلك جرعة اثنين من البروتينات من المرحلة الحادة من الالتهاب Haptoglobin (Hp) و Fibrinogen (Fb) النتائج التي تم الحصول عليها سمحت لنا بإنشاء نموذج نموذج الكهربائي مع 5 كسور. سمحت لنا دراسة هذا الطريق باكتشاف أن غالبية الأبقار (72.5 %) لديها نسبة عالية من الزلال إلى الغلوبولين (A / G) شخصًا (19%) لديهم نقص أساسي في ألبومات الدم. بالإضافة إلى ذلك ، 97.5 % من الماشية لديها مستوى أقل (6 gr / لتر) الجلوبولين ألفا 1. يزداد جلوبولين ألفا 2 وخاصةً خلال التهاب القصبات الهوائية. يزداد بيتا الجلوبولين مع مرض الكبد. من بين الجلوبولين المفرط غاما المنبعث ، كنا قادرين على تمييز القمم أحادية النسيلة (8 موضوعات) و 57 موضوعًا (28%) مع قمم بولي متعددة النسيلة. لن تتجاوز جرعة الفيبرينوجين عتبة 5 غ / ل. نسبة الهابتوجلوبين أكبر من 0.41 غم / ل في 10 حالات لوحظت (5%). إن تفسير EPP المرتبط بكل البيانات التي تم جمعها لكل فرد جعل من الممكن تأكيد الحالات الظاهرة سريريًا واكتشاف حالات أخرى بدون أعراض. يمكننا النظر في الكهربائي من البروتينات المصلية كأداة عملية لتشخيص في الطب الريفي. علاوة على ذلك ، يبقى استخدامها محجورًا لمقاربة سريرية فردية ولا يمكن أن يفسح المجال لتفسير على مقياس عدد السكان بسبب خصوصية محددة لكل فرد (علم وظائف الأعضاء ، البيئة ، التكيف) ، وهذا يثبت من خلال ارتباط ضئيل بين المتغيرات المختلفة التي تمت دراستها. (P < 0.05)

كلمات البحث:

مصل البروتين الكهربائي ، والتهاب ، والطب البقري