

FORMATION CONTINUE-ARTICLE DE SYNTHÈSE

L'haptoglobine, marqueur protéique de l'inflammation aiguë, dans l'espèce bovine

HUMBLET M.-F., GODEAU J.-M.

Service de Biochimie

Département des Sciences Fonctionnelles

Faculté de Médecine Vétérinaire (B 42), Université de Liège

20 Bvd de Colonster, 4000 Liège

Correspondance : Marie-France Humblet, Service de Biochimie - e-mail : mfhumblet@ulg.ac.be

RESUME: Parmi les marqueurs protéiques de l'inflammation aiguë, l'haptoglobine est considérée comme le plus intéressant chez le bovin. Par son augmentation précoce et marquée lors d'inflammation aiguë, elle représente un outil de diagnostic, de pronostic et de suivi de traitement très utile. À côté des variations physiologiques de sa concentration sérique dans les jours suivant le vêlage, notamment, ses valeurs augmentent également au cours de diverses pathologies dont celles associées au post-partum. De valeurs très faibles voire indétectables dans les conditions physiologiques, ses concentrations augmentent de manière très significative lors d'inflammation aiguë. Utilisé à l'échelle de l'individu, ce marqueur permettrait d'améliorer le suivi sanitaire des animaux ainsi que la détection des maladies subcliniques ou encore de dépister les pathologies avant l'apparition des premiers signes cliniques. Son utilisation pourrait permettre de rendre plus performant le contrôle sanitaire des carcasses à l'abattoir car l'haptoglobine présente une spécificité mais également une sensibilité intéressantes dans ce contexte. Tandis qu'à l'échelle du troupeau, elle permettrait d'évaluer son état de santé dans l'optique de lui attribuer un label de qualité.

INTRODUCTION

La réaction inflammatoire aiguë représente la réponse de l'animal hôte face à un trouble de son homéostasie contre toute lésion tissulaire pouvant être de nature infectieuse, traumatique, immunologique, néoplasique ou autre (Gruys *et al.*, 1994). De plus, elle est aspécifique. Ce type de réponse a pour but d'aider l'animal à lutter contre l'agresseur ou le trauma en vue de restaurer l'homéostasie et de prévenir la croissance microbienne. La réaction locale au niveau du site de la lésion est caractérisée par diverses réponses dont l'aggrégation plaquettaire, la formation du clou plaquettaire, une dilatation et une augmentation de perméabilité des vaisseaux sanguins mais également une accumu-

lation des granulocytes et cellules mononucléaires qui libèrent des médiateurs de l'inflammation : les cytokines (Heinrich *et al.*, 1990). Les cytokines 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'adrénocorticotropine (ACTH) et de glucocorticoïdes, l'activation du complément et de la cascade de coagulation, une diminution des taux sériques du fer, du zinc, du calcium et des vitamines A et E, une balance azotée négative se traduisant par une diminution de poids vif, une augmentation des concentrations sériques de cer-

taines protéines appelées les protéines de la phase aiguë (*Acute phase proteins* ou APPs) mais encore une diminution d'autres protéines qui sont des marqueurs négatifs, minoritaires : l'albumine, la rétinol-binding protein, la transthyrétine et la transferrine (Eckersall et Conner, 1988 ; Heinrich *et al.*, 1990 ; Van Miert *et al.*, 1990 ; Gruys *et al.*, 1994 ; Gabay et Kushner, 1999). Les marqueurs protéiques positifs sont pour la plupart des glycoprotéines synthétisées par le foie et libérées dans la circulation lorsque des récepteurs spécifiques de l'hépatocyte sont stimulés par les cytokines en réponse à divers stress comme une inflammation locale, une infection bactérienne, l'action d'endotoxines, une néoplasie, une lésion thermique ou encore mécanique (Kushner, 1993). Les APPs appartiennent à dif-

férentes classes de protéines, dont les antiprotéases, les composés du complément, des transporteurs d'ions et de métaux ou encore des opsonines (Gabay et Kushner, 1999). La protéine de l'inflammation la plus intéressante du point de vue diagnostique est celle qui présente des valeurs basales très faibles (fourchette de référence très étroite), qui n'est pas influencée par l'âge, le sexe, la génétique, mais qui augmente vite, à des taux très élevés (plus de 100 fois) en réponse à l'inflammation. C'est également une protéine 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 guérison. Une infection secondaire ou la rechute d'un phénomène inflammatoire sont des stimuli suffisants pour engendrer une nouvelle augmentation des taux plasmatiques. Enfin, des conditions non inflammatoires, le statut nutritionnel, l'exercice, la manipulation ou des conditions de stress minimales ne devraient pas affecter ses valeurs (Kent, 1992). Les marqueurs protéiques de l'inflammation aiguë se répartissent en trois groupes: ceux à réponse modérée telles que la céruloplasmine ou la protéine C3 du complément (leur concentration augmente d'au moins 50 % lors de phénomène inflammatoire aigu), ceux à réponse marquée comme l'alpha-1-glycoprotéine acide, l'alpha-1-antitrypsine, l'alpha-1-antichymotrypsine, 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), qui augmentent de plus de 1000 fois lors d'inflammation aiguë (Gabay et Kushner, 1999). Le présent article s'attache à décrire plus particulièrement les caractéristiques de l'haptoglobine chez le bovin, ses rôles divers, l'interprétation des variations de ses concentrations sériques dans l'espèce bovine, son dosage dans le lait ainsi que l'intérêt de son dosage en clinique de routine.

I. GENERALITES SUR LES PROTEINES DE L'INFLAMMATION AIGUË

I.1. Particularités d'espèces

Nombre de marqueurs identifiés chez l'homme se comportent également comme tels chez les animaux domestiques lors d'inflammation aiguë. Néanmoins, il existe des particularités d'espèces, certaines protéines étant plus spécifiques d'une espèce en particulier. Certaines APPs sont des protéines fœtales qui ne se trouvent généralement qu'en très faibles quantités dans le plasma de l'adulte, comme l'alpha-1-glycoprotéine acide chez le bovin et le porc par exemple (Conner *et al.*, 1988b ; 1989 ; Itoh *et al.*, 1990). D'autres APPs ne sont pas du tout modifiées lors d'inflammation ou d'infection chez une espèce, mais bien chez une autre: le *serum amyloid P* est une APP chez la souris mais pas dans l'espèce bovine (Akiyama *et al.*, 1992 ; Bijl *et al.*, 2004), l'alpha-1-antitrypsine ne se comporte pas comme une APP chez le chien, mais bien chez le bovin (Conner *et al.*, 1988b).

La **protéine-C réactive (CRP)** est une APP chez le chien (Conner *et al.*, 1988a), le porc (Eckersall *et al.*, 1996 ; Heegaard *et al.*, 1998) 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 (Maudsley *et al.*, 1987 ; Kent 1992). Plusieurs études ont démontré que la CRP pourrait également être considérée comme marqueur de l'inflammation aiguë chez le cheval et chez le chat (Takiguchi *et al.*, 1990 ; Watanabe *et al.*, 1993).

La **céruloplasmine** est une protéine de l'inflammation aiguë chez le mouton, le bovin et le chien (Conner *et al.*, 1988b ; Solter *et al.*, 1991 ; Skinner et Roberts, 1994). Par contre, ce n'est pas un très bon marqueur chez le porc (Eckersall *et al.*, 1996).

L'**alpha-1-glycoprotéine acide** 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).

Le **fibrinogène** est considéré comme marqueur de l'inflammation dans les espèces bovine, ovine et équine (Allen et Kold, 1988 ; Conner *et al.*, 1988b ; Pfeffer et Rogers, 1989).

L'haptoglobine est une protéine de l'inflammation aiguë reconnue chez le porc (Heegaard *et al.*, 1998), le chat (Kajikawa *et al.*, 1999), le cheval (Taira *et al.*, 1992), le chien (Solter *et al.*, 1991), le mouton (Skinner et Roberts, 1994) et le bovin (Conner *et al.*, 1988b ; Eckersall et Conner, 1988 ; Conner *et al.*, 1989 ; Skinner *et al.*, 1991 ; Gruys *et al.*, 1994). L'haptoglobine est, comme chez l'homme, présente dans le sérum de chiens en bonne santé (Conner *et al.*, 1988b).

L'**amyloïde A sérique** est un marqueur très précoce de l'inflammation aiguë dans l'espèce bovine (Alsemgeest *et al.*, 1994), chez le cheval (Pepys *et al.*, 1989) et le porc (Heegaard *et al.*, 1998). De récents travaux ont pu mettre en évidence une réponse positive de cette protéine chez le chien mais également chez les chats souffrant de péritonite infectieuse féline (Kajikawa *et al.*, 1999 ; Higgins *et al.*, 2003).

Certaines protéines de l'inflammation aiguë sont également typiques d'espèces en particulier telles que la **pig-MAP** (*pig-major acute phase protein*) chez le porc (Alava *et al.*, 1997 ; Heegaard *et al.*, 1998) ou encore la **lipopolysaccharide binding protein** chez le bovin (Horadagoda *et al.*, 1995).

I.2. Protéines de l'inflammation aiguë dans l'espèce bovine

Chez les ruminants, et plus particulièrement chez le bovin, les principales protéines de l'inflammation aiguë ont été identifiées. Les marqueurs négatifs sont le fer, le zinc, le calcium, les vitamines A et E, mais également l'albumine (Verheijden *et al.*, 1982 ; Luthman *et al.*, 1991 ; Gruys *et al.*, 1993 ; 1994 ; Jacobsen *et al.*, 2004). La transferrine s'est également comportée comme une APP négative chez des bovins infectés expérimentalement par *Haemophilus somnus* (MacNair *et al.*, 1998). 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 (Conner *et al.*, 1986 ; 1988b; 1989 ; Itoh *et al.*, 1990 ; Godson *et al.*, 1995). Le SAA est considéré comme un des deux principaux marqueurs de l'inflammation aiguë chez le bovin (Conner *et al.*, 1988b ; Gruys *et al.*, 1993 ; Alsemgeest *et al.*, 1994).

La **fétuine** serait également une protéine de l'inflammation aiguë chez les bovins. Elle se retrouve en concentrations importantes pendant le développement fœtal des artiodactyles, mais également lors de traumatismes chez le bovin. C'est la première protéine fœtale à avoir été décrite et identifiée comme APP dans l'espèce bovine (Dziegielewska *et al.*, 1992).

La **protéine-C réactive** n'est pas considérée comme une APP chez les bovins (Maudsley *et al.*, 1987).

L'**haptoglobine** est considérée comme l'autre APP majeure chez les ruminants, et plus particulièrement dans l'espèce bovine (Makimura et Suzuki, 1982 ; Conner *et al.*, 1986 ; Conner *et al.*, 1988b ; Eckersall et Conner, 1988 ; Conner *et al.*, 1989 ; 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.

1.3. Régulation de la synthèse des protéines de l'inflammation aiguë

Les macrophages et monocytes qui se rendent sur le site de l'inflammation (mais aussi d'autres types cellulaires comme les lymphocytes T) peuvent sécréter des médiateurs appelés cytokines, suite à l'action de divers stimuli tels les lipopolysaccharides, les endotoxines, l'ADN ou les peptidoglycans d'origine bactérienne (Heinrich *et al.*, 1990 ; Gabay et Kushner, 1999). Les cytokines sont des protéines de faible poids moléculaire qui jouent un rôle central comme médiateurs au niveau de la régulation de l'inflammation (Van Miert, 2002). Après leur libération, les cytokines entrent dans la circulation et vont directement stimuler les cellules hépatiques, avec pour

Tableau I : cinétique de la réponse en Hp chez 7 vaches laitières suite à une inoculation intramammaire d'*Escherichia coli* deux fois à trois semaines d'intervalle.

Paramètre	Unité	Première Inoculation		Seconde Inoculation		Signification
		Moyenne Géométrique	Fourchette	Moyenne Géométrique	Fourchette	
Lag phase	h	2	8-24	12	8-24	NS
tmax	h	72	42-130	58	42-83	NS
Cmax	mg/L h	1820	1115-2938	1000	495-2469	P < 0,05
t2/1 increase	h	20	13-32	14	11-22	P < 0,01
t1/2 decrease	h	46	35-66	30	22-53	P < 0,01
MRT	h	112	83-144	78	63-104	P < 0,01

Lag phase = délai d'obtention d'une réponse en haptoglobine ; tmax = délai après lequel la concentration maximale en haptoglobine est atteinte ; Cmax = concentration maximale ; t2/1 increase = délai après lequel la concentration en haptoglobine a doublé ; t1/2 decrease = demi-vie de diminution de la concentration en haptoglobine ; MRT = mean residence time ou temps moyen de résidence ; NS = non significativement différent (d'après Salonen *et al.*, 1996)

Tableau II : prévalence de l'haptoglobine (Hp) chez des vaches laitières et viandeuses dans diverses conditions

Groupes	Nombre	Moment du prélèvement	Hp + (%)
1 Cheptel laitier	300	≠ stades de gestation	7
2 Vêlage normal	31	2 jours post-partum	10
3 Infections utérines	14	< 30 jours post-partum	100
4 Avortements induits	10	2 jours après avortement	0
5 Avortements spontanés	587	1 à 4 jours après avortement	68

Groupe 1 = cheptel laitier en bonne santé (screening de routine) ; groupe 2 = vaches laitières et viandeuses 2 jours après le vêlage ; groupe 3 = infections utérines ; groupe 4 = avortements provoqués ; groupe 5 = avortements naturels ; Hp+ = toute valeur d'haptoglobine supérieure au seuil de 200 mg/L (d'après Skinner, 1992)

conséquence une augmentation de la transcription des ARN messagers codant pour les APPs (Gabay et Kushner, 1999). Dans ce processus, l'interleukine-1 (IL-1), l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale (TNF α) sont les principales cytokines impliquées dans la régulation de la synthèse hépatique des marqueurs protéiques de l'inflammation, dont l'Hp, chez l'homme mais également dans l'espèce bovine, comme illustré dans la figure 1 (Heinrich *et al.*, 1990 ; Gruys *et al.*, 1994 ; Godson *et al.*, 1995 ; Gabay et Kushner, 1999). La synthèse d'Hp aurait été stimulée in vitro par l'administration d'IL-6 ou de TNF α mais pas par l'IL-1 chez des hépatocytes bovins en culture (Nakagawa-Tosa *et al.*, 1995). Une autre étude a mis en évidence que l'IL-1

pouvait stimuler la synthèse d'APPs chez le bovin, dont l'Hp (Godson *et al.*, 1995). L'IL-6 reste néanmoins le régulateur majeur de la synthèse des protéines de l'inflammation aiguë. Les hépatocytes sont les cellules cibles visées par son action. Elle interagit avec un récepteur hépatique et il y a transduction du signal après son amplification (Castell *et al.*, 1988). Nakajima et collaborateurs (1993) ont mis en évidence l'induction d'Hp suite à l'administration continue d'IL-6 humaine recombinante chez les veaux. Le TNF α peut induire la synthèse d'Hp in vitro, en culture d'hépatocytes bovins, et peut présenter des effets combinés avec l'interféron gamma sur la sécrétion d'Hp induite par l'IL-6 (Nakagawa-Tosa *et al.*, 1995).

Tableau III : sensibilité, spécificité, valeurs prédictives et efficience de l'haptoglobine, de la numération des globules blancs totaux et du taux de neutrophiles dans la détection de l'infection chez 33 moutons malades.

	Haptoglobine (%)	Leucocytes (%)	Neutrophiles (%)
Sensibilité	86	52	61
Spécificité	85	75	88
VP +	93	87	93
VP -	73	33	44
Efficience	86	58	68

Sensibilité = pourcentage de vrais positifs chez les animaux infectés ; Spécificité = vrais négatifs parmi les animaux non infectés ; VP + = valeur prédictive positive (pourcentage de positifs qui sont des vrais positifs) ; VP - = valeur prédictive négative (pourcentage de vrais négatifs parmi tous les négatifs) ; Efficience = pourcentage de résultats corrects, positifs ou négatifs (d'après Skinner et Roberts, 1994)

Tableau IV : coefficients de corrélation entre le fer sérique (Fe), le zinc (Zn), l'amyloïde A sérique (SAA), l'haptoglobine (Hp) et la sévérité des lésions pathologiques (Sev) lors de diverses pathologies.

	Fe	Zn	SAA	Hp
Zn	0,89	0	0	0
SAA	-0,49	-0,35	0	0
Hp	-0,53	-0,52	0,79	0
Sev	-0,54	-0,47	0,85	0,94

Les pathologies identifiées en post-mortem étaient les suivantes : ulcères de caillette, abcès, péricardite fibrineuse, myo- et endocardite, pyélonéphrite, pneumonie gangréneuse, galactophorite, péritonites aiguë et chronique, péritonite villeuse, entérite proliférative. (d'après Gruys et al., 1993)

II. L'HAPTOGLOBINE BOVINE

II.1 Nature biochimique

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 (Eckersall et Conner, 1990 ; Morimatsu *et al.*, 1991). Elle s'organise en complexes multimériques de plus de 1×10^6 à 2×10^6 Da (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).

II.2 Lieux de synthèse

L'Hp est synthétisée principalement au niveau des hépatocytes (Friedrichs *et al.*, 1995), mais d'autres lieux de synthèse ont également été mis en évidence, principalement chez l'homme. Yang et son équipe (2000) ont décrit, chez l'homme, l'expression du gène codant pour l'Hp par les macrophages et éosinophiles alvéolaires lors d'inflammation pulmonaire. L'Hp serait principalement détectée dans les régions où se sont infiltrées des cellules inflammatoires et pourrait être impliquée dans différents processus allergiques (Yang *et al.*, 2000). Friedrichs et collaborateurs (1995) ont mis en évidence une synthèse d'Hp par le tissu adipeux : l'expression du gène codant pour l'Hp s'accroît dans les adipocytes lors d'inflammation. L'Hp serait également synthétisée au niveau utérin chez la femme et la lapine

(Olson *et al.*, 1997 ; Sharpe-Timms *et al.*, 2000). Plus récemment, une étude a permis de confirmer son expression au niveau de la glande mammaire chez la vache laitière (Hiss *et al.*, 2004).

II.3 Principaux rôles de l'haptoglobine

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 néphrotoxicité de l'Hb libre ; elle permet également de récupérer le fer (Gruys *et al.*, 1993). 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).

En ce qui concerne l'influence de l'Hp sur l'immunité, la plupart des études ont été réalisées en médecine humaine. 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, un enzyme de dégradation libéré par les neutrophiles activés *in vitro* (Pagano *et al.*, 1980). 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 (Oh *et al.*, 1990 ; 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). Elle a un rôle anti-oxydant en prévenant les lésions vasculaires oxydatives engendrées par l'Hb libre en se liant avec elle (Miller *et al.*, 1997). Elle apporte de la sorte une certaine protection contre le stress oxydatif favorisé par le fer de l'Hb. L'Hp a un rôle bactériostatique en rendant le fer de l'Hb non disponible pour les bactéries, mais également une activité bactéricide directe (Eaton *et al.*, 1982). Les complexes Hp-Hb incorporés dans les phagolysosomes des cellules phagocytaires pourraient générer des radicaux libres ayant une activité microbicide directe (Lewis et Dyer, 1995).

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 (Kato 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 (Kato et Nakagawa, 1999).

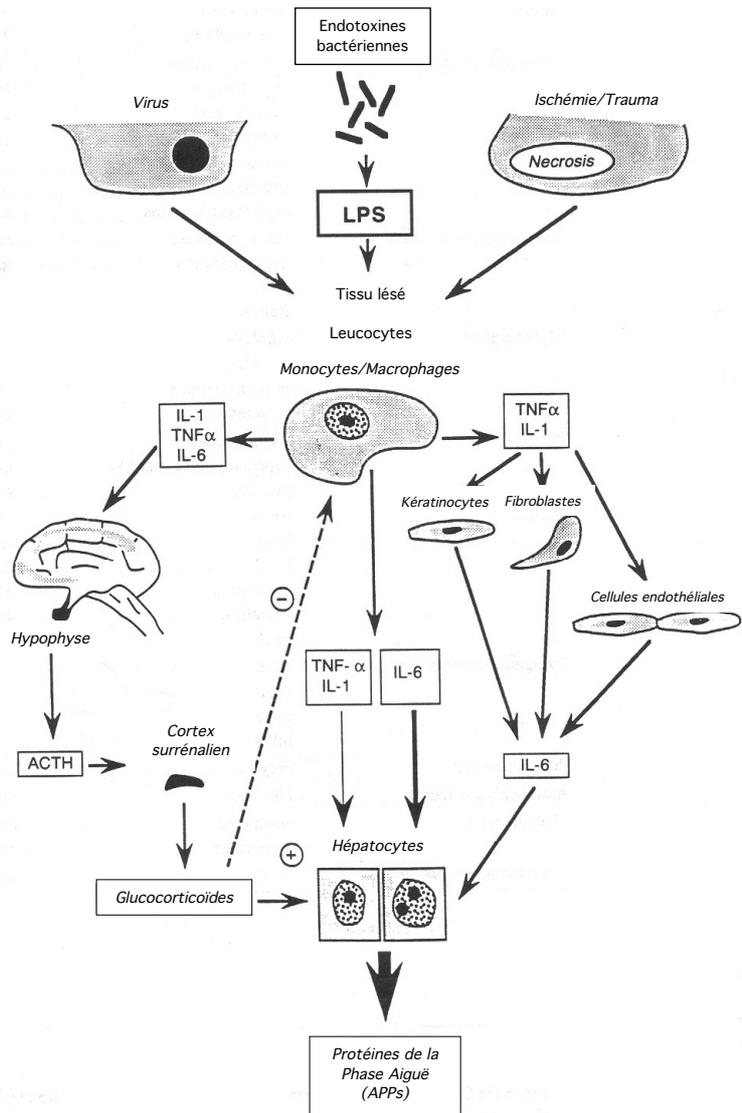
L'Hp présente un effet promoteur sur l'angiogenèse, la prolifération et la différenciation des cellules endothéliales des vaisseaux sanguins (Cid *et al.*, 1993). Cette propriété angiogénique a été découverte lors d'angiogenèse pathologique caractérisant l'endométriose chez la femme (Sharpe-Timms *et al.*, 2000).

Certaines études ont pu mettre en évidence des taux d'Hp élevés lors de néoplasie maligne. Le complexe Hp-Hb a présenté 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).

II.4. Méthodes de dosage de l'haptoglobine

D'une part, il existe des méthodes de dosage colorimétriques, dont l'HbBC

Figure 1. Représentation schématique de la stimulation de la synthèse des protéines de la phase aiguë ; LPS = lipopolysaccharide ; IL = interleukine ; TNF = Tumor necrosis factor ; ACTH = adrénocorticotropine ; APPs = protéines de la phase aiguë (d'après Gruys *et al.*, 1994, modifié de Heinrich *et al.*, 1990)



ou *Haemoglobin binding capacity* qui s'appuient 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 (Owen *et al.*, 1960 ; Jones et Mould, 1984 ; Skinner *et al.*, 1991). Cette coloration est alors mesurée et comparée à un standard connu. L'hémolyse peut néanmoins interférer avec cette

technique (Makimura et Suzuki, 1982).

Dans l'espèce bovine, plusieurs tests immunologiques ont été mis au point pour le dosage de l'Hp dont des *enzyme like immunosorbent assays* (ELISA), des *enzyme immunoassays* (EIA) ainsi que l'immunodiffusion radiale (Sheffield *et al.*, 1994 ; Mac Nair *et al.*, 1995 ; Young *et al.*, 1995 ; Nakagawa *et al.*, 1997 ; Saini *et al.*, 1998).

L'électrophorèse capillaire a été utilisée pour doser l'Hp dans le sérum de bovins. 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.

III. VARIATIONS DE L'HAPTOGLOBINE DANS L'ESPECE BOVINE

III.1. Variations physiologiques

Chez l'homme, mais encore chez les espèces équine et porcine, l'Hp est une protéine sérique normale, tandis que chez la vache en bonne santé, il a été clairement défini que les taux de base étaient très bas, voire indétectables (Spooner et Miller, 1971 ; Morimatsu *et al.*, 1992 ; Godson *et al.*, 1996). Une concentration allant jusqu'à 100 mg/L peut être considérée comme étant dans les limites physiologiques (Panndorf *et al.*, 1976). Les techniques de dosages mises au point récemment ont permis de déterminer avec plus de précision les valeurs de référence de l'Hp chez les bovins en bonne santé. De manière générale, elles varient de 0 à 60-70 mg/L selon les auteurs et les méthodes utilisées (Skinner *et al.*, 1991 ; Godson *et al.*, 1996 ; Salonen *et al.*, 1996 ; Saini *et al.*, 1998).

Le vêlage est associé à une réaction inflammatoire aiguë et physiologique : cette réponse débute juste après le vêlage probablement suite aux lésions tissulaires liées à l'activité du myomètre puis à la relaxation et dilatation subséquentes du cervix lors de l'expulsion du veau (Koets *et al.*, 1998). La parturition s'accompagne d'une augmentation de la concentration en Hp qui peut être considérée comme physiologique chez la vache. L'Hp commence généralement à augmenter la veille du vêlage, pour atteindre un pic aux alentours des deuxième et troisième jours post-partum, et revient à des taux de base entre 7 et 14 jours

après le vêlage (Uchida *et al.*, 1993). Le mode de parturition pourrait avoir une influence sur les taux d'Hp : en effet, des brebis ayant dû subir une césarienne présentaient une Hp moyenne significativement plus élevée que les brebis délivrées manuellement (Aziz et Taha, 1997). Ultérieurement, l'Hp décroît au fur et à mesure de l'involution utérine (Sheldon *et al.*, 2001).

Un transport 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).

Alsemgeest et collaborateurs (1995) ont dosé les concentrations en Hp sérique chez des veaux âgés de quelques jours. Le mode de vêlage n'a eu aucune influence sur la concentration en Hp chez le veau car elle est restée indétectable chez tous les animaux inclus dans l'étude. L'Hp sérique était également non détectable chez six veaux sur huit souffrant de pathologies diverses (omphalite, phlegmon urinaire, diarrhée, hernie diaphragmatique et pneumonie catarrhale). Par contre, deux veaux malades âgés de 4 jours ont présenté une réponse en Hp ; l'un souffrait d'un trauma et l'autre d'une pneumonie aiguë nécrosante et fibrineuse. La synthèse hépatique d'Hp pourrait ne pas être pleinement fonctionnelle dans les premiers jours de la vie extra-utérine. Il semblerait en effet que le foie du nouveau-né soit capable de synthétiser du SAA, mais dans un moindre mesure que le foie de l'adulte. En effet, les valeurs mesurées chez les veaux sains étaient inférieures à celles observées chez des animaux adultes en bonne santé (Alsemgeest *et al.*, 1995).

III.2 Variations pathologiques

L'Hp est considérée comme un excellent marqueur d'inflammation aiguë chez le bovin, que ce soit lors de phénomène naturel ou d'inflammation expérimentale car ses taux physiologiques sont très bas voire indétectables chez les animaux en bonne santé mais elle peut présenter des augmentations sévères (jusqu'à plus de cent fois) en cas d'inflammation aiguë.

L'augmentation de sa concentration sérique a souvent été corrélée avec l'étendue et la sévérité de l'infection (Spooner et Miller, 1971 ; Conner *et al.*, 1986 ; Skinner *et al.*, 1991 ; Alsemgeest *et al.*, 1994 ; Heegaard *et al.*, 2000 ; Grell *et al.*, 2005). Par contre, cette corrélation n'a pas toujours été établie lors d'infections mammaires et génitales notamment (Hirvonen *et al.*, 1999a ; 1999b). L'Hp peut permettre de faire la distinction entre un phénomène inflammatoire aigu et un phénomène chronique, car elle augmente rarement dans ce dernier cas (Alsemgeest *et al.*, 1994 ; Horadagoda *et al.*, 1999). Elle a fait preuve d'une plus grande efficacité que l'hématologie pour différencier l'inflammation aiguë d'un phénomène chronique (Horadagoda *et al.*, 1999).

Le délai d'augmentation des concentrations sériques en Hp peut être variable, mais de manière générale, elle commence à augmenter dans les 12 à 24 heures suivant le début du phénomène inflammatoire (Conner *et al.*, 1988b ; Salonen *et al.*, 1996). Des concentrations sériques jusqu'à 100 fois supérieures aux valeurs basales peuvent être observées lors de processus inflammatoire aigu (Conner *et al.*, 1988b).

Différents seuils ont déjà été proposés pour faire la distinction entre absence et présence d'inflammation aiguë, et même pour qualifier la sévérité de l'inflammation. De manière générale, une valeur inférieure à 100 mg/L peut être considérée comme étant toujours dans les valeurs physiologiques. Si l'Hp n'est pas détectée dans le plasma, il y a une forte probabilité d'absence d'inflammation aiguë (Panndorf *et al.*, 1976). Des variations individuelles ont pu être mises en évidence quant à la réponse en Hp. Elles pourraient être liées au génotype, au métabolisme de l'animal et à son statut face à la maladie, certaines vaches pouvant avoir une réponse en APPs plus importante de manière innée. Idéalement, des mesures séquentielles chez le même individu seraient indispensables pour ne pas biaiser les résultats avec cet effet individu (Jacobsen *et al.*, 2004). Il existerait peut-être même une différence de réponse selon le type d'infection ou d'inflammation (Jacobsen *et*

al., 2004). L'agent pathogène pourrait éventuellement influencer l'intensité de la réponse en Hp lors de pathologies mammaires notamment, mais cela reste encore à démontrer par des études plus ciblées impliquant divers agents pathogènes.

III.2.1 A l'échelle de l'individu

La réponse de l'Hp lors d'infection virale est variable. 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). D'autres maladies virales, probablement accompagnées de lésions inflammatoires plus sévères ont engendré une réponse en Hp. Hofner et collaborateurs (1994) ont pu mettre en évidence une augmentation d'Hp chez des bovins souffrant de fièvre aphteuse après la phase de virémie (le jour même d'apparition des signes cliniques, maximum 1 ou 2 jours après). 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'engrais (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).

Les infections bactériennes sont considérées comme le stimulateur naturel le plus puissant pour la production d'APPs et sont généralement responsables des augmentations les plus sévères (Conner *et al.*, 1989). Les métrites aiguës s'accompagnent souvent d'une réponse en Hp contrairement aux pathologies chroniques. 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 (Skinner *et al.*, 1991 ; 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 concen-

tration en Hp après le vêlage serait corrélée au degré de contamination bactérienne de l'utérus (Sheldon *et al.*, 2001). Il serait néanmoins délicat d'utiliser l'Hp comme marqueur d'inflammation aiguë (et d'infection utérine notamment) 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 à la parturition (Uchida *et al.*, 1993). Il pourrait être envisagé de définir une valeur seuil au-delà de laquelle l'augmentation de l'Hp sérique signifierait un état pathologique, et ne serait plus simplement liée au vêlage. Cette étape est discutable à cause de la grande variabilité selon les individus de la réponse en Hp (Jacobsen *et al.*, 2004).

Dans le cas des maladies respiratoires bactériennes, il existe une grande variabilité de la réponse. Certaines études basées sur des infections naturelles ou expérimentales ont mis en évidence une réponse plus ou moins importante, mais l'intensité de la réponse n'était pas systématiquement corrélée avec la sévérité de la pathologie (Conner *et al.*, 1989 ; Godson *et al.*, 1996 ; Wittum *et al.*, 1996 ; Young *et al.*, 1996 ; Godson *et al.*, 1996 ; Godeau *et al.*, 2000 ; Humblet *et al.*, 2004). Les mammites, tant naturelles qu'expérimentales, s'accompagnent généralement d'une réponse en Hp (Conner *et al.*, 1986 ; Salonon *et al.*, 1996 ; Hirvonen *et al.*, 1996 ; 1999a ; Eckersall *et al.*, 2001b ; Grönlund *et al.*, 2003 ; Pedersen *et al.*, 2003). Lors de mammitte expérimentale à *Escherichia coli*, la cinétique de cette protéine a été observée avec beaucoup d'attention (tableau I).

Une infection expérimentale à *Salmonella* (mélange de trois sérotypes : *S. dublin*, *S. enteritidis* et *S. heidelberg*) chez des veaux âgés de 3 à 4 semaines s'est accompagnée d'une réponse en Hp corrélée avec la sévérité des signes cliniques d'entérite (Deignan *et al.*, 2000).

L'administration expérimentale d'endotoxines s'est accompagnée d'une élévation de l'Hp sérique (Conner *et al.*, 1989 ; Jacobsen *et al.*, 2004). La réponse en Hp était dose-dépendante vis-à-vis des endotoxines mais jusqu'à

une certaine limite seulement ; le foie disposerait en effet d'une capacité de synthèse maximale (Jacobsen *et al.*, 2004).

Concernant les infections parasitaires, les réponses en Hp ne sont généralement pas très significatives, que ce soit lors d'infestation naturelle ou expérimentale. La vermineuse gastro-intestinale ne s'accompagne pas systématiquement d'une réponse en Hp (Conner *et al.*, 1989). Des veaux infectés expérimentalement avec des larves de *Dictyocaulus viviparus* ont également 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). Chez l'homme, il a été scientifiquement prouvé que les complexes Hp-Hb, après endocytose, se retrouvent dans les phagolysosomes des cellules phagocytaires. Le pH peu élevé du lysosome stimule l'activité peroxydasique du complexe, qui réagit alors avec l'H₂O₂ et entraîne une peroxydation lipidique de la membrane lysosomiale ; le lysosome libère alors ses enzymes après rupture, et il y a destruction du trypanosome (Smith *et al.*, 1995). Cependant, l'augmentation de l'Hp lors de parasitose sanguine pourrait être masquée par l'hémolyse intravasculaire graduelle et le retrait du complexe Hp-Hb par le système réticulo-endothélial (Esievo *et al.*, 1984). Une diminution de l'Hp sérique a d'ailleurs été mise en évidence chez des bovins souffrant de trypanosomiase aiguë (Esievo *et al.*, 1984). Lorsque l'hémolyse s'accompagne d'un phénomène inflammatoire concomittant, 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).

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 réa-

lisée 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 lipi-dose 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).

La libération d'Hp par des cellules parenchymateuses hépatiques de veaux en culture a pu être mise en évidence après un traitement aux glucocorticoïdes, mais chez l'animal vivant, le même phénomène a seulement été observé suite à deux jours de jeûne (Yoshino *et al.*, 1993 ; Higuchi *et al.*, 1994). Chez le chien, par contre, un traitement aux glucocorticoïdes peut engendrer à lui seul une réponse en Hp, corrélée avec la dose et la durée du traitement (Martinez-Subiela *et al.*, 2004). Récemment, une étude réalisée chez des génisses de 6 mois a démontré que le jeûne à lui seul pouvait être responsable d'un accroissement des taux en Hp, mais cette observation devra être confirmée par des études ultérieures (Katoh *et al.*, 2002).

Des vaches laitières ayant subi une chirurgie abdominale suite à diverses pathologies (réticulo-péritonite traumatique, torsion de caillette, césarienne ou laparotomie exploratrice) avaient toutes présenté une augmentation de leur concentration sérique en Hp en post-opératoire (Hirvonen et Pyörälä, 1998). La plupart des vaches présentaient déjà des concentrations élevées en Hp au moment de la chirurgie suite aux pathologies présentées, et l'augmentation n'était donc pas aussi importante en post-opératoire (Hirvonen et Pyörälä, 1998).

Le suivi des concentrations en Hp permet également d'apprécier l'efficacité d'un traitement. En effet, l'Hp reviendra à des concentrations physiologiques plus rapidement si le traitement se montre efficace. Smith et collaborateurs (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. Malheureusement, comme aucun groupe contrôle n'avait été inclus dans l'étude, deux hypothèses étaient envisageables : soit le traitement s'est accompagné d'une réduction rapide des concentrations en Hp, soit les diminutions observées étaient une conséquence de la cinétique normale de la protéine. Au cours d'une étude réalisée chez 60 veaux, les animaux auxquels une antibiothérapie avait été administrée présentaient, après guérison, des concentrations inférieures à celles des veaux non traités (Wittum *et al.*, 1996). Plus récemment, une étude réalisée chez des porcs infectés expérimentalement avec *Actinobacillus pleuropneumoniae* a permis de confirmer l'utilité de l'Hp en tant que marqueur d'efficacité de traitement (Hultén *et al.*, 2003). Dans le groupe d'animaux infectés n'ayant reçu aucune antibiothérapie, la concentration en Hp a commencé à augmenter entre 20 et 44 heures selon les animaux et le pic de concentration (3200 à 5800 mg/L) était atteint après 4 à 7 jours. La durée de la réponse, chez ces animaux, était de 6 à 16 jours. Au contraire, chez les animaux traités, le pic était atteint 44 heures après l'infection (1000 à 2800 mg/L), la réponse en Hp ne durant que 1 à 3 jours. L'augmentation de l'Hp sérique était donc plus sévère et a duré plus longtemps chez les porcs infectés non traités que chez ceux ayant reçu l'antibiothérapie (Hultén *et al.*, 2003).

III.1.2. A l'échelle du troupeau

Plusieurs études ont permis de mettre en évidence une sensibilité de 70 à 80 % pour l'Hp. Elle a pu déceler une réaction inflammatoire chez 70 à 80 % des animaux déclarés malades cliniquement (Horadagoda *et al.*, 1999 ; Godeau *et al.*, 2000). Une sensibilité de 100 % a été observée dans les cas d'infection utérine chez des vaches en période péripartum, comme le montre le tableau II (Skinner, 1992). Néanmoins il faut tenir compte de l'évolution de la maladie. En effet, les réponses individuelles se font selon une cinétique qui est propre à chaque individu, démontrant de la sorte l'in-

égalité des individus face à la maladie (Godeau *et al.*, 2000). Sur 508 échantillons obtenus de bovins malades sans diagnostic précis (inappétence, perte de poids, troubles digestifs et diarrhée), seulement 99 présentaient des concentrations en Hp supérieures au seuil de décision médicale ; la plupart des pathologies étaient probablement présentes au stade chronique ou subclinique, et donc l'Hp se trouvait logiquement à des taux physiologiques (Spooner et Miller, 1971). L'Hp a présenté une meilleure sensibilité que l'hématologie dans la détection d'infections bactériennes chez le mouton, comme illustré dans le tableau III (Skinner et Roberts, 1994).

La prévalence de l'Hp au sein d'un troupeau peut être considérée comme le pourcentage d'animaux dont la concentration sérique est supérieure au seuil de décision médicale. Considérant des échantillons avec une concentration supérieure à 100 mg/L, la prévalence en Hp s'élevait à 7 % chez des troupeaux laitiers en bonne santé (Skinner, 1992). Lors du suivi de plusieurs troupeaux de moutons, la prévalence était faible et ne dépassait pas les 2 % (Skinner et Roberts, 1994). Il serait intéressant de considérer la prévalence en Hp dans le troupeau entier, et de s'en servir comme marqueur de l'état de santé du troupeau. Chez le porc, l'Hp a déjà prouvé son utilité dans l'évaluation de la gestion et du bien-être des troupeaux. Une étude comparative menée au sein de plusieurs exploitations a permis de démontrer que la mauvaise hygiène avait notamment pour conséquence un retard de croissance, et des taux significativement plus élevés en Hp ; la mesure de l'Hp pourrait être utile pour l'identification précoce des facteurs diminuant la production (Lipperheide *et al.*, 2000). Néanmoins, certaines difficultés pourraient se présenter dans le cadre de cette approche. Il faut déterminer si elle est applicable dans tous les types d'élevages car les études réalisées jusqu'à présent ont été principalement réalisées chez les veaux à l'engrais et dans les troupeaux laitiers. Dans les élevages laitiers, il faudra tenir compte du stade physiologique des animaux et des pathologies accompagnant le post-partum pour

constituer l'échantillon représentatif du troupeau. D'autres facteurs restent à déterminer tels que la fréquence des dosages et la taille de l'échantillon qui auraient une conséquence sur le coût inhérent à ces analyses.

III.1.3 Haptoglobine et inspection sanitaire

L'Hp est intéressante pour réaliser le monitoring de 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. L'Hp était corrélée dans 94 % des cas avec la présence de lésions en post-mortem comme le montre le tableau IV (Gruys *et al.*, 1993). La présence d'abcès hépatiques découverts à l'abattoir a systématiquement engendré une réponse en Hp (Spooner et Miller, 1971). Des mesures effectuées à l'abattoir sur des taureaux (n = 157) et des vaches laitières de réforme (n = 92) en *ante mortem*, ainsi que sur les carcasses qui avaient été retenues en *post mortem* mais dont l'examen *ante mortem* n'avait rien révélé d'anormal (sur une période d'1 an, n = 57) ont permis de déterminer la prévalence de l'Hp (le nombre d'animaux dont la valeur en Hp était supérieure au seuil pathologique) : elle était de 6 % chez les taureaux, 15 % chez les vaches de réforme et 56 % sur les carcasses retenues ; une prévalence plus élevée est facilement explicable chez les vaches de réforme étant donné le risque lié à la production laitière notamment (Saini *et al.*, 1998). Cette prévalence plus élevée chez les vaches de réforme pourrait être également mise en relation avec la cause de la réforme ou avec l'âge plus avancé de ces animaux.

Cette approche est intéressante mais nécessiterait une standardisation à grande échelle ; en effet, comme décrit antérieurement, un long *transport* peut s'accompagner d'un accroissement de la concentration en Hp sérique (Murata et Miyamoto, 1993). Une concentration élevée chez les animaux à leur arrivée à l'abattoir pourrait simplement être due au *transport*, et pas à la présence de lésions inflammatoires. 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. De nouveau, cette application requiert d'abord une étude à très grande échelle afin de fixer ce seuil pathologique chez les animaux à l'abattoir, tout en gardant à l'esprit que la réponse en Hp peut varier selon les individus (Jacobsen *et al.*, 2004).

III.1.4 L'haptoglobine dans le lait

Comme il a déjà été dit plus haut, l'Hp sérique a présenté des augmentations plus ou moins sévères lors de mammmites tant naturelles qu'expérimentales. Il était alors intéressant d'envisager le dosage de l'Hp dans le lait. Malheureusement, les méthodes colorimétriques utilisées pour doser l'Hp sérique ne conviennent pas pour doser l'Hp dans le lait car l'activité peroxydase du lait interfère avec la technique (Eckersall *et al.*, 2001b). Eckersall et collaborateurs (2001b) ont réussi à doser l'Hp dans le lait de vaches avec mammmites par immunodiffusion ; 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 de vaches saines. Au cours de cette même étude, ce sont les vaches souffrant de mammite sévère qui avaient le mieux répondu en Hp. Cette corrélation entre Hp du lait et Hp sérique a été confirmée dernièrement (Nielsen *et al.*, 2004). L'hypothèse d'un passage dans le lait depuis la circulation sanguine a été envisagée. Une méthode de dosage de l'Hp dans le lait faisant appel à un test ELISA a été mise au point récemment mais elle ne s'est pas avérée assez sensible pour détecter l'Hp dans le lait des animaux sains (Grönlund *et al.*, 2003). Lors d'infections expérimentales aiguës et chroniques à *Staphylococcus aureus* chez des vaches laitières à mi-lactation, l'Hp sérique était plus élevée en phase aiguë, mais de manière non significative (Grönlund *et al.*, 2003). L'augmentation de l'Hp dans le lait est moins importante qu'au niveau sérique, mais est de loin plus précoce comme démontré lors d'infection expérimentale à *Streptococcus uberis* et lors d'administration expérimentale d'endotoxines d'*Escherichia coli* (Grönlund *et al.*, 2003 ; Pedersen *et*

al., 2003 ; Hiss *et al.*, 2004). La synthèse par la glande mammaire d'un autre marqueur plus précoce de l'inflammation aiguë, le SAA, a été identifiée il y a quelques années (Mc Donald *et al.*, 2001). L'expression de l'ARN messager codant pour l'Hp a été mise en évidence au niveau mammaire suite à l'administration expérimentale d'endotoxines d'*Escherichia coli* (Hiss *et al.*, 2004). Le test ELISA développé au cours de cette expérience a permis de détecter l'Hp dans le lait de vaches en bonne santé, car le seuil de détection était très bas. L'hypothèse d'une synthèse locale d'Hp a aussi été confirmée par l'augmentation plus précoce dans le lait que dans le sang. La localisation précise des cellules responsables de l'expression de l'Hp reste encore à déterminer (Hiss *et al.*, 2004). L'Hp pourrait supporter ou compléter les actions de la lactoferrine, étant donné son rôle en tant que bactériostatique (Eaton *et al.*, 1982).

Plus récemment, certains auteurs se sont intéressés aux réponses de l'Hp et du SAA lors de mammmites subcliniques chroniques chez des vaches dont les taux cellulaires étaient supérieurs à 300 000 cellules/ml (Grönlund *et al.*, 2005). L'Hp et le SAA étaient significativement corrélés, mais pas totalement unanimes dans la détection des échantillons positifs : quand une seule des deux APPs était détectée, il s'agissait la plupart du temps de l'Hp. Le test utilisé n'avait pas permis de détecter des taux physiologiques chez les vaches en bonne santé ; des taux d'Hp supérieurs à la limite de détection étaient considérés comme pathologiques (Grönlund *et al.*, 2005). L'étape ultérieure sera la mise au point d'un test sur tigelette qui pourra être utilisé par les éleveurs afin de détecter la présence d'Hp dans le lait et de confirmer un phénomène inflammatoire à ce niveau.

IV. INTERET PRATIQUE DU DOSAGE DE L'HAPTOGLOBINE DANS L'ESPECE BOVINE

L'intérêt majeur du dosage de l'Hp chez le bovin reste la mise en évidence d'une inflammation aiguë, puisque cette protéine représente un excellent marqueur chez cette espèce (Makimura et Suzuki,

1982 ; Conner *et al.*, 1986 ; Skinner *et al.*, 1991 ; Gruys *et al.*, 1994). 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 ; Humblet *et al.*, 2004). 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). L'Hp pourrait s'avérer utile dans la détection d'éventuelles complications infectieuses en 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). D'autres auteurs ont par contre démontré qu'il n'existait aucune corrélation entre l'augmentation de l'Hp et le pronostic de la pathologie, et qu'elle n'était donc pas intéressante pour prédire le pronostic (Skinner *et al.*, 1991 ; Hirvonen et Pyörälä, 1998). Cette corrélation reste donc à confirmer. L'Hp pourrait servir d'indicateur de bien-être, mais des études à plus grande échelle restent à entreprendre, car celles réalisées dans les troupeaux bovins jusqu'à présent ont donné des résultats divergents (Alsemgeest *et al.*, 1995 ; Fisher *et al.*, 1997). La prévalence en Hp pourrait être un outil de suivi systématique des troupeaux, renseignant sur la qualité de leur gestion. Il pourrait même être envisagé d'attribuer un label de qualité aux troupeaux dans lesquels la prévalence en Hp serait la moins élevée. Les troupeaux avec une prévalence en Hp anormalement élevée pourraient faire l'objet d'un examen clinique plus approfondi afin de mettre en évidence d'éventuelles pathologies subcliniques (Skinner *et al.*, 1991 ; Skinner et Roberts, 1994). Le dosage systématique de l'Hp pourrait être effectué chez les animaux à leur arrivée à l'abattoir ; en effet, plusieurs études ont pu démontrer la pertinence de cette protéine dans le diagnostic des animaux malades à l'abattoir (Saini et Webert, 1991 ; Hirvonen *et al.*, 1997). Les maladies subcliniques se traduisant

par des altérations au niveau de la carcasse se sont accompagnées d'une augmentation de l'Hp (Saini et Webert, 1991). L'Hp pourrait s'avérer utile pour faire la distinction entre carcasses saines et celles présentant des lésions inflammatoires aiguës car elle n'est pas mesurable chez des bovins sains, et présente des taux souvent très élevés lors de lésions (Gruys *et al.*, 1993). A cette fin, il serait intéressant de disposer d'un test peu coûteux et dont les résultats sont obtenus dans un délai très court. L'Hp n'a cependant pas pu prédire le résultat de l'inspection sanitaire chez des animaux abattus en urgence (Hirvonen *et al.*, 1997). Une étude à très grande échelle s'impose afin de comparer la sensibilité de l'examen post-mortem avec le dosage de l'Hp, tout en gardant en mémoire que le stress du transport, notamment, est susceptible d'engendrer une réponse en Hp (Murata et Miyamoto, 1993). Enfin, le dosage de l'Hp dans le lait pourrait aider à l'identification des animaux souffrant de mammites subcliniques.

CONCLUSION

Les bovins d'élevage doivent être suivis régulièrement pour prévenir ou guérir les maladies parasitaires, bactériennes et virales dont ils peuvent être atteints. En général, le traitement n'est instauré qu'après l'apparition des signes cliniques. De plus, certaines affections ne sont pas traitées ou ne le sont que tardivement, car elles existent sous une forme subclinique qui atteint l'individu ou le troupeau entier et s'accompagne de retombées économiques souvent non négligeables. Découvrir à temps l'apparition de ces maladies permettrait de les soigner précocement afin de réduire les chutes de production et d'améliorer l'issue du traitement. Le moyen d'y parvenir serait de disposer d'un marqueur non spécifique, c'est-à-dire un marqueur qui se manifesterait quelle que soit la cause des troubles et donc quelle que soit la pathologie impliquée. Il devrait également pouvoir être mis en évidence avant l'apparition des signes cliniques et lors de pathologies subcliniques. Il ne devrait jamais être présent chez les animaux en bonne santé, ou du moins se trouver dans des valeurs inférieures à celles définissant l'état de maladie. La prévalence d'un tel marqueur étudiée à l'échelle d'un troupeau permet-

trait de connaître l'état de santé du troupeau dans le double but d'évaluer la qualité du management et de déterminer la nécessité ou non d'une intervention médicale. Enfin, si un tel examen était réalisé à l'échelle de l'individu, en période post-partum ou au moment de l'abattage, il permettrait d'améliorer le suivi sanitaire des vaches laitières hautes productrices ainsi que le contrôle sanitaire des carcasses destinées à la consommation humaine. Le dosage de l'Hp présente un intérêt à plusieurs niveaux. Elle permet de dépister des pathologies subcliniques, d'effectuer le suivi des troupeaux et d'y déterminer sa prévalence (intérêt pour l'éleveur et le vétérinaire de l'exploitation), de vérifier le suivi d'un traitement anti-infectieux, de prédire le type de traitement à appliquer et d'améliorer l'approche sanitaire à l'abattoir. De nouvelles approches de surveillance sanitaire doivent être envisagées, en passant d'une médecine individuelle à une médecine de troupeau, afin de départager les exploitations et non plus les individus. Pour cela, l'Hp représente un outil approprié, à spectre suffisamment large.

SUMMARY

Haptoglobin, an acute phase protein in cattle

Among acute phase proteins, haptoglobin is considered as the most interesting in cattle. Due to its early and marked increase in acute inflammation, it is useful for the diagnosis and prognosis of acute inflammation and for the evaluation of treatment. Physiological variations of its serum concentrations can be observed in the days following parturition. From very low or even undetectable concentrations, its serum levels can rise significantly during acute inflammation. Haptoglobin could improve the sanitary control of animals and the identification of pathologies even before clinical signs become apparent. It could also detect subclinical diseases and improve the sanitary control at the slaughterhouse, because haptoglobin has a good combination of specificity and sensitivity in such a context. At the herd scale, it could be used to evaluate the sanitary status in order to allocate it a quality label.

BIBLIOGRAPHIE

- AKIYAMA K., SUGII S., HIROTA Y. Conglutinin, mannan-binding protein, and serum amyloid P component concentrations in sera from cows: changes associated with mastitis. *J. Vet. Med. Sci.*, 1992, **54**, 977-981.
- ALAVA M.A., GONZALEZ-RAMON N., HEEGAARD P., GUZY-LACK S., TOUSSAINT M.J.M., LIPPERHEIDE C. Pig-MAP, porcine acute phase proteins and standardisation of assays in Europe. *Comp. Haematol. Int.*, 1997, **7**, 208-213.
- ALLEN B.V., KOLD S.E. Fibrinogen response to surgical tissue trauma in the horse. *Equine Vet. J.*, 1988, **20**, 441-443.
- ALSEMGEEST S.P.M., KALSBECK H.C., WENSING T.H., KOEMAN J.P., VAN EDEREN A.M., GRUYS E. Concentrations of Serum Amyloid A (SAA) and Haptoglobin (Hp) as parameters of inflammatory diseases in cattle. *Vet. Q.*, 1994, **16**, 21-23.
- ALSEMGEEST S.P.M., LAMBOUY I.E., WIERENGA H.K., DIELEMAN S.J., MEERKERD B., VANEDEREN A.M., NIEWOLD T.A. Influence of physical stress on the plasma concentration of serum amyloid-a (SAA) and haptoglobin (Hp) in calves. *Vet. Q.*, 1995, **17**, 9-12.
- AZIZ D.M., TAHA M.B. Effect of dystocia on serum haptoglobin in Awassi ewes. *Theriogenology*, 1997, **48**, 137-141.
- BERRY B.A., CONFER A.W., KREHBIEL C.R., GILL D.R., SMITH R.A., MONTELONGO M. Effects of dietary energy and starch concentrations for newly received feedlot calves: II. Acute-phase protein response. *J. Anim. Sci.*, 2004, **82**, 845-850.
- BIJL M., BOOTSMA H., VAN DER GELD Y., LIMBURG P.C., KALLENBERG C.G., VAN RIJSWIJK M.H. Serum amyloid P component levels are not decreased in patients with systemic lupus erythematosus and do not rise during an acute phase response. *Ann. Rheum. Dis.*, 2004, **63**, 831-835.
- CASTELL J.V., GEIGER T., GROSS V., ANDUS T., WALTER E., HIRANO T., KISHIMOTO T., HEINRICH P.C. Plasma clearance, organ distribution and target cells of interleukin-6/hepatocyte-stimulating factor in the rat. *Eur. J. Biochem.*, 1988, **177**, 357-361.
- CID M.C., GRANT D.S., HOFFMAN G.S., AUERBACH R., FAUCI A.S., KLEINMAN H.K. Identification of haptoglobin as angiogenic factor in sera of patients with systemic vasculitis. *J. Clin. Invest.*, 1993, **91**, 977-985.
- CONNER J.G., ECKERSALL P.D., DOHERTY M., DOUGLAS T.A. Acute phase response and mastitis in the cow. *Res. Vet. Sci.*, 1986, **41**, 126-128.
- CONNER J.G., ECKERSALL P.D., FERGUSON J., DOUGLAS T.A. The acute phase response in the dog following surgical trauma. *Res. Vet. Sci.*, 1988a, **45**, 107-110.
- CONNER J.G., ECKERSALL P.D., WISEMAN A., AITCHISON T.C., DOUGLAS T.A. Bovine acute phase response following turpentine injection. *Res. Vet. Sci.*, 1988b, **44**, 82-88.
- CONNER J.G., ECKERSALL P.D., WISEMAN A., BAIN R.K., DOUGLAS T.A. Acute phase response in calves following injection with *Pasteurella haemolytica*, *Ostertagia ostertagi* and endotoxin administration. *Res. Vet. Sci.*, 1989, **47**, 203-207.
- DEIGNAN T., ALWAN A., KELLY J. Serum haptoglobin: an objective indicator of experimentally-induced *Salmonella* infection in calves. *Res. Vet. Sci.*, 2000, **69**, 153-158.
- DUTHIE S., ECKERSALL P.D., ADDIE D.D., LAWRENCE C.E., JARRETT O. Value of alpha 1-acid glycoprotein in the diagnosis of feline infectious peritonitis. *Vet. Rec.*, 1997, **141**, 299-303.
- DZIEGIELEWSKA K.M., BROWN W.M., GOULD C.C., MATTHEWS N., SEDGWICK J.E., SAUNDERS N.R. Fetuin: an acute phase protein in cattle. *J. Comp. Physiol. (B)*, 1992, **162**, 168-171.
- EATON J.W., BRANDT P., MAHONEY J.R., LEE J.T.Jr. Haptoglobin: a natural bacteriostatic. *Science*, 1982, **215**, 691-693.
- ECKERSALL P.D., CONNER J.G. Bovine and canine acute phase proteins. *Vet. Res. Commun.*, 1988, **12**, 169-178.
- ECKERSALL P.D., CONNER J.G. Plasma haptoglobin in cattle (*Bos taurus*) exists as polymers in association with albumin. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1990, **96B**, 309-314.
- ECKERSALL P.D., SAINI P.K., MC COMB C. The acute phase response of acid soluble glycoprotein, alpha-1 acid glycoprotein, ceruloplasmin, haptoglobin and CRP, in the pig. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1996, **51**, 377-385.
- ECKERSALL P.D., GOW J.W., MC COMB C., BRADLEY B., RODGERS J., MURRAY M., KENNEDY P.G. Cytokines and the acute phase response in post-treatment reactive encephalopathy of *Trypanosoma brucei* infected mice. *Parasitol. Int.*, 2001a, **50**, 15-26.
- 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. Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. *Vet. Rec.*, 2001b, **148**, 35-41.
- EL-GHMATI S.M., VAN HOEYVELD E.M., VAN STRIJP J.G., CEUPPENS J.L., STEVENS E.A. Identification of haptoglobin as an alternative ligand for CD11b/CD18. *J. Immunol.*, 1996, **156**, 2542-2552.
- ESIEVO K.A.N., SAROR D.I., ADEGOKE O.O. Deleted serum haptoglobin in acute bovine trypanosomiasis. *Vet. Parasitol.*, 1984, **15**, 181-185.
- FISHER A.D., CROWE M.A., OKIELY P., ENRIGHT W.J. 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.
- FRIEDRICHS W.E., NAVARIJO-ASHBAUGH A.L., BOWMAN B.H., YANG F. Expression and inflammatory regulation of haptoglobin gene in adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1995, **209**, 250-256.
- GABAY C., KUSHNER I. Mechanisms of disease: acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N. Engl. J. Med.*, 1999, **340**, 448-454.
- GANHEIM C., HOGLUND J., WALLER K.P. Acute phase proteins in response to *Dictyocaulus viviparus* infection in calves. *Acta Vet. Scand.*, 2004, **45**, 79-85.
- GLASS E.J., CRAIGMILE S.C., SPRINGBETT A., PRESTON P.M., KIRVAR E., WILKIE G.M., ECKERSALL P.D., HALL F.R., BROWN C.G. 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.

- GODEAU J.M., PIRLOT A., RIZET C., CABANAC S., SCHELCHER F., NAVETAT H. 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
- GODSON D.L., BACAESTRADA M.E., VANKESSEL A.G., HUGHES H.P.A., MORSY M.A., VANDONKERSGOED J., HARLAND R.J., SHUSTER D.E., DALEY M.J., BABIUK L.A. Regulation of bovine acute phase responses by recombinant interleukin-1 beta. *Can. J. Vet. Res.*, 1995, **59**, 249-255.
- GODSON D.L., CAMPOS M., ATTAH-POKIJ S.K., REDMOND M.J., CORDEIRO D.M., SETHI M.S., HARLAND R.J., BABIUK L.A. Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1996, **51**, 277-292.
- GRELL S.N., TJORNEHOJ K., LARSEN L.E., HEEGAARD P.M. Marked induction of IL-6, haptoglobin and IFN γ following experimental BRSV infection in young calves. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2005, **103**, 235-245.
- GRÖNLUND U., HULTEN C., ECKERSALL P.D., HOGARTH C., WALLER K.P. Haptoglobin and serum amyloid A in milk and serum during acute and chronic experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis. *J. Dairy Res.*, 2003, **70**, 379-386.
- GRÖNLUND U., HALLÉN SANDGREN C., PERSSON WALLER K. Haptoglobin and Serum amyloid A in milk from dairy cows with chronic sub-clinical mastitis. *Vet. Res.*, 2005, **36**, 191-198.
- GRUYS E., VAN EDEREN A.M., ALSEMGEEST S.P.M., KALS-BEEK H.C., WENSING T. Acute phase proteins values in blood of cattle as indicator of animals with pathological processes. *Arch. Lebensmittelhyg.*, 1993, **44**, 105-111.
- GRUYS E., OBWOLO M.J., TOUSSAINT M.J.M. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. *Vet. Bull.*, 1994, **64**, 1009-1018.
- HEEGAARD P.M., KLAUSEN J., NIELSEN J.P., GONZALEZ-RAMON N., PINEIRO M., LAMPREAVE F., ALAVA M.A. The porcine acute phase response to infection with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Haptoglobin, C-reactive protein, major acute-phase protein and serum amyloid A protein are sensitive indicators of infection. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.*, 1998, **119**, 365-373.
- HEEGAARD P.M.H., GODSON D.L., TOUSSAINT M.J.M., TJORNEHOJ K., LARSEN L.E., VIUFF B., RØNSHOLT L. 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.
- HEINRICH P.C., CASTELL J.V., ANDUS T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem. J.*, 1990, **265**, 621-636.
- HIGGINS M.A., BERRIDGE B.R., MILLS B.J., SCHULTZE A.E., GAO H., SEARFOSS G.H., BAKER T.K., RYAN T.P. Gene expression analysis of the acute phase response using a canine microarray. *Toxicol. Sci.*, 2003, **74**, 470-84
- HIGUCHI H., KATOH N., MIYAMOTO T., UCHIDA E., YUASA A., TAKAHASHI K. Dexamethasone-induced haptoglobin release by calf liver parenchymal cells. *Am. J. Vet. Res.*, 1994, **55**, 1080-1085.
- HIRVONEN J., PYORALA S., JOUSIMIES-SOMER H. Acute phase response in heifers with experimentally induced mastitis. *J. Dairy Res.*, 1996, **63**, 351-360.
- HIRVONEN J., HIETAKORPI S., SALONIEMI H. Acute phase response in emergency slaughtered dairy cows. *Meat Sci.*, 1997, **46**, 249-257.
- HIRVONEN J., PYORALA S. Acute phase response in dairy cows with surgically-treated abdominal disorders. *Vet. J.*, 1998, **155**, 53-61.
- HIRVONEN J., EKLUND K., TEPPA A.M., HUSZENICZA G., HULCSAR M., SALIONEMI H., PYORALA S. Acute phase response in dairy cows with experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *Acta Vet. Scand.*, 1999a, **40**, 35-46.
- HIRVONEN J., HUSZENICZA G., KULCSAR M., PYORALA S. Acute-phase response in dairy cows with acute postpartum metritis. *Theriogenology*, 1999b, **51**, 1071-1083.
- HISS S., MIELENZ M., BRUCKMAIER R.M., SAUERWEIN H. Haptoglobin concentration in blood and milk after endotoxin challenge and quantification of mammary haptoglobin mRNA expression. *J. Dairy Sci.*, 2004, **87**, 3778-3784.
- HOFNER M.C., FOSBERY M.W., ECKERSALL P.D., DONALDSON A.I. Haptoglobin response of cattle infected with foot-and-mouth disease virus. *Res. Vet. Sci.*, 1994, **57**, 125-128.
- HORADAGODA N.U., ECKERSALL P.D., ANDREW L., GALLAY P., HEUMANN D., GIBBS H.A. Characterisation of bovine lipopolysaccharide binding protein and the in vivo acute phase response to *Pasteurella haemolytica* type A. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1995, **49**, 61-74.
- HORADAGODA N.U., KNOX K.M.G., GIBBS H.A., REID S.W.J., HORADAGODA A., EDWARDS S.E.R., ECKERSALL P.D. Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. *Vet. Rec.*, 1999, **144**, 437-441.
- HULTEN C., JOHANSSON E., FOSSUM C., WALLGREN P. Interleukin 6, serum amyloid A and haptoglobin as markers of treatment efficacy in pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet. Microbiol.*, 2003, **95**, 75-89.
- HUMBLET M.F., COGHE J., LEKEUX P., GODEAU J.M. 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.
- ITOH H., TAMURA K., MOTOI Y., TAKASE K., NAKAMURA T. Serum alpha-1-acid glycoprotein in cattle with inflammatory disease and that after operation. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 1990, **52**, 1293-1296.
- JACOBSEN S., ANDERSEN P.H., TOELBOELL T., HEEGAARD P.M.H. Dose dependency and individual variability of the lipopolysaccharide-induced bovine acute phase protein response. *J. Dairy Sci.*, 2004, **87**, 3330-3339.
- JONES G.E., MOULD D.J. Adaptation of the guaiacol (peroxidase) test for haptoglobins to a microtitration plate system. *Res. Vet. Sci.*, 1984, **37**, 87-92.
- JUE D.M., SHIM B.S., KANG Y.S. Inhibition of prostaglandin synthetase activity of sheep seminal vesicular gland by human serum haptoglobin. *Mol. Cell. Biochem.*, 1983, **51**, 141-147.
- KAJIKAWA T., FURUTA A., ONISHI T., TAJIMA T., SUGII S. Changes in concentrations of serum amyloid A, alpha-1-acid glycoprotein, haptoglobin and C-reactive protein in feline sera due to induced inflammation and surgery. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1999, **68**, 91-98.

- KATOH N., NAKAGAWA H. Detection of haptoglobin in the high-density 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.
- KATOH N., OIKAWA S., OOHASHI T., TAKAHASHI Y., ITOH F. Decreases of apolipoprotein B-100 and A-1 concentrations and induction of haptoglobin and serum amyloid A in nonfed calves. *J. Vet. Med. Sci.*, 2002, **64**, 51-55.
- KENT J. Acute phase proteins: their use in veterinary diagnosis. *Br. Vet. J.*, 1992, **148**, 279-282.
- KIM I.K., LEE J.H., KIM H.S., KWON O.J., SHIM B.S. A novel function of haptoglobin: haptoglobin-haemoglobin complex induces apoptosis of hepatocarcinomatous hep 3B cells. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1995, **55**, 529-535.
- KOETS A.P., DE SCHWARTZ N., TOOTEN P., KANKOFER M., BROEKHUIJSEN-DAVIES J.M., RUTTEN V.P., VAN LEENGOED L.A., TAVERNE M.A., GRUYS E. Release of proinflammatory cytokines related to luteolysis and the periparturient acute phase response in prostaglandin-induced parturition in cows. *Theriogenology*, 1998, **49**, 797-812.
- KUSHNER I. Regulation of the acute phase response by cytokines. *Perspect. Biol. Med.*, 1993, **36**, 611-622.
- LEWIS D.A., DYER D.W. 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.
- LIPPERHEIDE C., RABE M., KNURA S., PETERSEN B. Effects of farm hygiene on blood chemical variables in fattening pigs. *Tierarztl. Umsch.*, 2000, **55**, 30-36.
- LUTHMAN J., JACOBSSON S.O., FRANK A. Endotoxin-induced changes in plasma mineral and vitamin levels in calves. *Acta Vet. Scand.*, 1991, **32**, 403-406.
- MAC DONALD L.T., LARSON M.A., MACK D.R., WEBER A. Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary-associated serum amyloid A3 (M-SAA3) into colostrum. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2001, **83**, 203-211.
- MAC NAIR J., ELLIOTT C.T., MACKIE D.P. Development of a sensitive and specific time resolved fluorimetric immunoassay for the bovine acute phase protein haptoglobin. *J. Immunol. Methods*, 1995, **184**, 199-205.
- MAC NAIR J., ELLIOTT C., BRYSON D.G., MACKIE D.P. Bovine serum transferrin concentration during acute infection with *Haemophilus somnus*. *Vet. J.*, 1998, **155**, 251-255.
- MAKIMURA S., SUZUKI N. Quantitative determination of bovine serum haptoglobin and its elevation in some inflammatory diseases. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 1982, **44**, 15-21.
- MARTINEZ-SUBIELA S., GINEL P.J., CERON J.J. Effects of different glucocorticoid treatments on serum acute phase proteins in dogs. *Vet. Rec.*, 2004, **154**, 814-817.
- MAUDSLEY S., ROWE I.F., DE BEER F.C., MUNN E.A., HERBERT J., FEINSTEIN A., PEPYS M.B. Identification and isolation of two pentraxins from bovine serum. *Clin. Exp. Immunol.*, 1987, **67**, 662-673.
- MILLER Y.I., ALTAMENTOVA S.M., SHAKLAI N. Oxidation of low-density lipoprotein by hemoglobin stems from a heme-initiated globin radical: antioxidant role of haptoglobin. *Biochemistry*, 1997, **36**, 12189-12198.
- MORIMATSU M., SYUTO B., SHIMADA N., FUGINAGA T., YAMAMOTO S., SAITO M., NAIKI M. Isolation and characterization of bovine haptoglobin from acute phase sera. *J. Biol. Chem.*, 1991, **266**, 11833-11837.
- MORIMATSU M., SARIKAPUTI M., SYUTO B., SAITO M., YAMAMOTO S., NAIKI M. Bovine haptoglobin: single radial immunodiffusion assay of its polymeric forms and dramatic rise in acute phase sera. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1992, **33**, 365-372.
- MURATA H., MIYAMOTO T. Bovine haptoglobin as a possible immunomodulator in the sera of transported calves. *Br. Vet. J.*, 1993, **149**, 277-283.
- NAKAGAWA H., YAMAMOTO O., OIKAWA S., HIGUCHI H., WATANABE A., KATOH N. Detection of serum haptoglobin by enzyme-like immunosorbent assay in cows with fatty liver. *Res. Vet. Sci.*, 1997, **62**, 137-141.
- NAKAGAWA-TOSA N., MORIMATSU M., KAWASAKI M., NAKATSUJI H., SYUTO B., SAITO M. Stimulation of haptoglobin synthesis by interleukin-6 and tumor necrosis factor, but not by interleukin-1, in bovine primary cultured hepatocytes. *J. Vet. Med. Sci.*, 1995, **57**, 219-223.
- NAKAJIMA Y., MOMOTANI E., MURAKAMI T., ISHIKAWA Y., MORIMATSU M., SAITO M., SUZUKI H., YASUKAWA K. Induction of acute phase proteins by recombinant human interleukin-6 (IL-6) in calves. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1993, **35**, 385-391.
- NIELSEN B.H., JACOBSEN S., ANDERSEN P.H., NIEWOLD T.A., HEEGAARD P.M.H. 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.
- OH S.K., PAVLOTSKY N., TAUBER A.I. Specific binding of haptoglobin to human neutrophils and its functional consequences. *J. Leukoc. Biol.*, 1990, **47**, 142-148.
- OLSON G.E., WINFREY V.P., MATRISIAN P.E., MELNER M.H., HOFFMAN L.H. Specific expression of haptoglobin mRNA in implantation-stage rabbit uterine epithelium. *J. Endocrinol.*, 1997, **152**, 69-80.
- OSADA J. Elimination from rat circulation of goat and sheep haptoglobin and their complexes with rat haemoglobin. *Acta Biochim. Pol.*, 1988, **35**, 169-176.
- OWEN J.A., BELTER F.C., HOBAN J. A simple method for the determination of serum haptoglobin. *J. Clin. Pathol.*, 1960, **13**, 163-164.
- PAGANO M., ENGLER R., GELIN M., JAYLE M.F. Kinetic study of the interaction between rat haptoglobin and rat liver cathepsin B. *Can. J. Biochem.*, 1980, **58**, 410-417.
- PANNDORF H., RICHTER H., OITTRICH B. Haptoglobin bei Haussäugetieren. V. Mitteilung: Plasma-Haptoglobin-Spiegel beim Rind unter pathologischen Bedingungen. *Arch. Exp. Veterinarmed.*, 1976, **30**, 193-202.
- PEDERSEN L.H., AALBOEK B., RØNTVED C.M., INGVARSEN K.L., SORENSEN N.S., HEEGAARD P.M.H., JENSEN H.E. Early pathogenesis and inflammatory response in experimental bovine mastitis due to *Streptococcus uberis*. *J. Comp. Pathol.*, 2003, **128**, 156-164.
- PEPYS M.B., BALTZ M.L., TENNENT G.A., KENT J., OUSEY J., ROSSDALE P.D. Serum amyloid A protein (SAA) in horses: objective measurement of the acute phase response. *Equine Vet. J.*, 1989, **21**, 106-109.

- PFEFFER A., ROGERS K.M. 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.
- PIRLOT A., JANSSENS, SKINNER J.G., GODEAU J.-M. Quantitative determination of haptoglobin in human and bovine sera by capillary zone electrophoresis (CZE). *Vet. Res.*, 1999, **30**, 483-493.
- SAINI P.K., WEBERT D.W. Application of acute phase reactants during antemortem and postmortem meat inspection. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1991, **198**, 1898-1901.
- SAINI P.K., RIAZ M., WEBERT D.W., ECKERSALL P.D., YOUNG C.R., STANKER L.H., CHAKRABARTI E., JUDKINS J.C. 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.
- SALONEN M., HIRVONEN J., PYORALA S., SANKARI S., SANDHOLM M. Quantitative determination of bovine serum haptoglobin in experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *Res. Vet. Sci.*, 1996, **60**, 88-91.
- SHARPE-TIMMS K.L., RICKE E.A., PIVA M., HOROWITZ G.M. Differential expression and localization of de-novo synthesized endometriotic haptoglobin in endometrium and endometriotic lesions. *Hum. Reprod.*, 2000, **15**, 2180-2185.
- SHEFFIELD C.L., KAMPS-HOLTZAPPLE C., DE LOACH J.R., STANKER L.H. Production and characterisation of a monoclonal antibody against bovine haptoglobin and its use in an ELISA. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1994, **42**, 171-183.
- SHELDON I.M., NOAKES D.E., RYCROFT A., DOBSON H. Acute phase responses to uterine bacterial contamination in cattle after calving. *Vet. Rec.*, 2001, **148**, 172-175.
- SKINNER J.G., BROWN R.A.L., ROBERTS L. Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. *Vet. Rec.*, 1991, **128**, 147-149.
- SKINNER J.G. Haptoglobin : a useful marker for detecting periparturient infection in automated metabolic profile screening. In : Proceedings of the Vth Congress of the International Society for Animal Clinical Biochemistry, Parma, 1992, p. 133.
- SKINNER J.G., ROBERTS L. Haptoglobin as an indicator of infection in sheep. *Vet. Rec.*, 1994, **134**, 33-36.
- SMITH A.B., ESKO J.D., HADJUK S.L. Killing of trypanosomes by the human haptoglobin-related protein. *Science*, 1995, **268**, 284-286.
- SMITH B.I., DONOVAN G.A., RISCO C., LITTELL R., YOUNG C.R., STANKER L.H., ELLIOTT J. Comparison of various antibiotic treatments for cows diagnosed with toxic puerperal metritis. *J. Dairy Sci.*, 1998a, **81**, 1555-1562.
- SMITH B.I., DONOVAN G.A., RISCO C.A., YOUNG C.R., STANKER L.H. Serum haptoglobin concentration in holstein dairy cattle with toxic puerperal metritis. *Vet. Rec.*, 1998b, **142**, 83-85.
- SOLTER P.F., HOFFMANN W.E., HUNGERFORD L.L., SIEGEL J.P., ST DENIS S.H., DORNER J.L. Haptoglobin and ceruloplasmin as determinants of inflammation in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 1991, **52**, 1738-1742.
- SPOONER R.L., MILLER J.K. The measurement of haemoglobin reactive protein in ruminants as an aid to the diagnosis of acute inflammation. *Vet. Rec.*, 1971, **88**, 2-4.
- TAIRA T., FUJINAGA T., OKUMURA M., YAMASHITA K., TSUNODA N., MIZUNO S. Equine haptoglobin – Isolation, characterization, and the effects of ageing, delivery and inflammation on its serum concentration. *J. Vet. Med. Sci.*, 1992, **54**, 435-442.
- TAKIGUCHI M., FUJINAGA T., NAIKI M., MIZUNO S., OTOMO K. Isolation, characterization, and quantitative analysis of C-reactive protein from horses. *Am. J. Vet. Res.*, 1990, **51**, 1215-1220.
- UCHIDA E., KATOH N., TAKAHASHI K. Appearance of haptoglobin in serum from cows at parturition. *J. Vet. Med. Sci.*, 1993, **55**, 893-894.
- VAN MIERT A.S., VAN DUIN C.T., WENSING T. Fever and changes in plasma zinc and iron concentrations in the goat. The effects of interferon inducers and recombinant IFN-alpha 2a. *J. Comp. Pathol.*, 1990, **103**, 289-300.
- VAN MIERT A.S. Present concepts on the inflammatory modulators with special reference to cytokines. *Vet. Res. Commun.*, 2002, **26**, 111-126.
- VERHEIJDEN J.H., VAN MIERT A.S., SCHOTMAN A.J., VAN DUIN C.T. Plasma zinc and iron concentrations as measurements for evaluating the influence of endotoxin-neutralizing agents in *Escherichia coli* endotoxin-induced mastitis. *Am. J. Vet. Res.*, 1982, **43**, 724-728.
- WAGNER L., GESSL A., PARZER S.B., BASE W., WALDHÄUSL W., PASTERNAK M.S. Haptoglobin phenotyping by newly developed monoclonal antibodies. Demonstration of haptoglobin uptake into peripheral blood neutrophils and monocytes. *J. Immunol.*, 1996, **156**, 1989-1996.
- WATANABE A., MORIMATSU M., YOSHIMATSU K., YAMAMOTO S., TERAOKA A., TZUKAZAKI K., SAITO M., NAIKI M. Isolation of C-reactive protein from cat serum. *J. Small Anim. Practice*, 1993, **33**, 71-77.
- WITTUM T.E., YOUNG C.R., STANKER L.H., GRIFFIN D.D., PERINO L.J., LITLEDIKE E.T. Haptoglobin response to clinical respiratory tract disease in feedlot cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 1996, **57**, 646-649.
- YANG F., GHIO A.J., HERBERT D.C., WEAKER F.J., WALTER C.A., COALSON J.J. Pulmonary expression of the human haptoglobin gene. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, 2000, **23**, 277-282.
- YOSHINO K., KATOH N., TAKAHASHI K., YUASA A. 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.
- YOUNG C.R., ECKERSALL P.D., SAINI P.K., STANKER L.H. Validation of immunoassays for bovine haptoglobin. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1995, **49**, 1-13.
- YOUNG C.R., WITTUM T.E., STANKER L.H., PERINO L.J., GRIFFIN D.D. LITLEDIKE E.T. Serum haptoglobin concentration in a population of feedlot cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 1996, **57**, 138-141.