VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2020 - Thèse n°077

ESTIMATION DES PARAMETRES DIAGNOSTIQUES DE TESTS EVALUANT UN ETAT INFLAMMATOIRE CHEZ LES BOVINS ADULTES AU CHEVET DU MALADE ET AU CABINET VETERINAIRE

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 5 novembre 2020
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

CARRE Hélène

VetAgro Sup

UNIVERSITÉ DE LYON

VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2020 - Thèse n° 077

ESTIMATION DES PARAMETRES DIAGNOSTIQUES DE TESTS EVALUANT UN ETAT INFLAMMATOIRE CHEZ LES BOVINS ADULTES AU CHEVET DU MALADE ET AU CABINET VETERINAIRE

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 5 novembre 2020
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

CARRE Hélène

VetAgro Sup

UNIVERSITÉ DE LYON

Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon *(01-09-2019)*

ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
AYRAL	Florence	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BECKER	Claire	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BELLUCO	Sara	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENAMOU-SMITH	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENOIT	Etienne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BERNY	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BOULOCHER	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BURONFOSSE	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
CACHON	Thibaut	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CADORÉ	Jean-Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
CAROZZO	Claude	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CHALVET-MONFRAY	Karine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DJELOUADJI	Zorée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ESCRIOU	Catherine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GALIA	Wessam	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
GONTHIER	Alain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GRANCHER	Denis	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
GREZEL	Delphine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
JANKOWIAK	Bernard	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
JOSSON-SCHRAMME	Anne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
KODJO	Angeli	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
KRAFFT	Emilie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LAMBERT	Véronique	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LE GRAND	Dominique	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
LEBLOND	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LEDOUX	Dorothée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEGROS	Vincent	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOISSONNIER	Pierre	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOUNIER	Luc	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
PEPIN	Michel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
PIN	Didier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PONCE	Frédérique	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PORTIER	Karine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
POUZOT-NEVORET	Céline	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
PROUILLAC	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
REMY	Denise	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
SABATIER	Philippe	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
SAWAYA	Serge	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
SCHRAMME	Michael	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
SERGENTET	Delphine	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
THOMAS-CANCIAN	Aurélie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur

REMERCIEMENTS JURY

A Monsieur le Professeur Laurent JUILLARD,
Chef de Service, Néphrologie, H. Édouard Herriot, Hospices Civils de Lyon
Inserm U1060, Université de Lyon
Qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence de jury de cette thèse
Hommage et remerciements respectueux.

A Madame le Professeur Marie-Anne ARCANGIOLI
Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon (Vetagrosup)
Qui nous a fait l'honneur de nous proposer ce travail, et qui, par ses conseils et sa patience, nous ont permis de le mener à bien.
Merci pour ces cinq années d'enseignements.

A Monsieur le Professeur Thierry BURONFOSSE
Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon (Vetagrosup)
Qui nous a fait l'honneur de faire partie de notre jury de thèse, et qui nous a permis de réaliser grand nombre de nos analyses.
Sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Thibaut LURIER
Assistant d'Enseignement et de Recherche Contractuel à Vetagrosup
Pour son accompagnement, ses conseils, et sa disponibilité tout au long de ce travail. Pour sa connaissance de R et son aide précieuse dans la rédaction de la partie statistique.
Encore merci.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ANNEXES 15
TABLE DES FIGURES 17
TABLE DES TABLEAUX 19
LISTE DES ABREVIATIONS 21
INTRODUCTION 25
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE : 27
Les marqueurs sanguins de l'inflammation : nature, variation et méthodes de détection 29
A. L'inflammation chez les bovins 29
1) Généralités 29
2) Mécanisme général et médiateurs inflammatoires 30
a) Mécanisme général 30
b) Médiateurs de l'inflammation 31
i. Les cytokines 31
ii. Les chimiokines 32
iii. Les glucocorticoïdes 32
3) L'inflammation chronique 33
B. Les modifications sanguines lors d'inflammation 34
1) Paramètres hématologiques cellulaires 34
a) Lignée blanche (leucocytes) 34
i. Les granulocytes 34
ii. Les monocytes et macrophages 35
iii. Les lymphocytes 35
b) Lignée rouge 35
c) Plaquettes 36
2) Les protéines de l'inflammation 36
a) Albumine et globulines 36
b) Les protéines de la phase aigüe (PPA) 38
i. Définition et classification 38
ii. Variations inter-spécifiques 39
iii. Les PPA des bovins et leurs rôles au cours du processus inflammatoire 40
3) Cinétique des marqueurs 41
a) Cinétique des cellules sanguines 41
b) Cinétique des protéines de la phase aigüe de l'inflammation 44

C. Marqueurs de l'inflammation chez les bovins : valeurs usuelles, variations physiologiques et pathologiques. 46
1) Valeurs usuelles 46
a) Paramètres hématologiques 46
i. La Numération Formule Sanguine (NFS) 47
ii. Frottis sanguin 48
b) Les protéines de la phase aigüe de l'inflammation 49
2) Variations physiologiques 51
a) Age. 51
b) Sexe et race 52
c) Stress et excitation 53
d) Statut physiologique 53
e) Variations iatrogènes 55
3) Variations pathologiques d'origine non inflammatoire 55
a) Déshydratation 55
b) Atteinte rénale 56
c) Atteinte hépatique 56
d) Maladie congénitale 56
e) Affections gastro-intestinales 56
4) Variations en cas de processus inflammatoire 57
a) Variations associées à un contexte inflammatoire infectieux 57
i. Infections gastro-intestinales 57
ii. Infections respiratoires 58
iii. Infections de l'appareil reproducteur 59
iv. Pathologies systémiques 60
v. Affections locomotrices 62
vi. Infections de l'appareil cardio vasculaire 64
vii. Infections mammaires 64
v. Infections hépatiques 65
vi. Parasitisme 66
b) Variations associées à un contexte inflammatoire non infectieux 66
i. Cétose et lipidose hépatique 66
ii. Néoplasie 67
iii. Traumatisme 68
D. Démarche diagnostique des états inflammatoires 69
1) Signes inflammatoire détectés/recherchés lors de l'examen clinique 69
a) Signes généraux 69

b) Signes locaux 69
2) Examens complémentaires réalisables au chevet du patient 70
a) Le test au glutaraldéhyde 70
i. Principe 70
ii. Sensibilité et spécificité 71
3) Examens réalisables au cabinet 72
a) NF/ frottis sanguin (aspect des cellules) 72
b) Dosage du fibrinogène 72
i. Principe 72
ii. Sensibilité et spécificité 74
c) Dosage du SAA 74
i. Principe 74
ii. Sensibilité et spécificité 75
d) Haptoglobine 75
i. Principe 75
ii. Sensibilité et spécificité 76
e) A1 acide glycoprotéique 77
i. Principe 77
ii. Sensibilité et spécificité 77
PARTIE EXPERIMENTALE 79
A. Matériel et méthodes 83
1) Population d'étude et critère d'inclusion 83
2) Collecte des données 83
a) Feuille de renseignements (Annexe 1) 83
b) Prélèvements et analyses 83
3) Synthèse de la fiche d'examen clinique (Annexe 1): 84
a) Données générales : 84
b) Commémoratifs et traitements réalisés : 84
c) Constantes vitales : 84
d) Traitement des anomalies à l'examen clinique : 84
4) Mesures réalisées et protocoles 85
5) Analyse statistique 86
a) Plan d'analyse 86
b) Statistique descriptive 87
i. Description des distributions des biomarqueurs dans chaque groupe : 87
ii. Comparaison des 2 méthodes de dosage du fibrinogène et du comptage des neutrophiles et ratio N/L 87

iii. Corrélation entre les différents paramètres inflammatoires 88
c) Relations entre les variables : analyse factorielle 88
B. Résultats 89
1) Statistiques descriptives 89
2) Comparaison de plusieurs variables quantitatives entre les deux groupes. 89
a) Observation globale 90
i. Comparaison du fibrinogène selon le groupe d'individus 90
ii. Comparaison de l'haptoglobine sérique selon le groupe 93
iii. Comparaison du nombre de neutrophile et du ratio N/L selon le groupe 94
iv. Test du temps au glutaraldéhyde selon les groupes 95
v. Bilan des caractéristiques des individus avec des valeurs anormales aux différents tests 96
b) Comparaison des moyennes de chacune des méthodes selon chaque groupe 96
3) Comparaison des méthodes de dosage du fibrinogène, des neutrophiles et du ratio N/L 97
a) Représentation générale et concordance des méthodes 97
b) Etude de l'interchangeabilité des méthodes 100
4) Evolution 2 à 2 des variables quantitatives 101
5) Corrélation entre les variables : Analyse Factorielle des Données Mixtes 102
a) Gestion des données manquantes 102
b) Détermination du nombre de valeurs propres 104
c) Graphique des variables quantitatives 104
d) Graphique des variables qualitatives 105
e) Graphique de toutes les variables 106
f) Graphique des individus 107
6) Intérêt diagnostique de nos marqueurs dans la détection d'un état inflammatoire. 108
C. Discussion 109
1) Comparaison des variables entre les deux groupes et interchangeabilité des méthodes 109
a) Le fibrinogène 109
i. Comparaison entre les groupes 109
ii. Comparaison des méthodes de dosage Millar et Clauss 111
b) Cas de l'haptoglobine 111
c) Cas des neutrophiles et du ratio N/L 112
i. Comparaison entre les groupes 112
ii. Comparaison des méthodes de comptage 113
d) Cas du test au glutaraldéhyde 114

2) Comparaison des différentes méthodes d'appréciation d'un évènement inflammatoire. 114
a) Corrélation des variables prises 2 à 2 114
b) Résultats de l'AFDM 115
i. Résultats sur les variables 115
ii. Résultats sur les individus 117
3) Intérêt diagnostique de nos marqueurs dans la détection d'un état inflammatoire 117
CONCLUSION 121
BIBLIOGRAPHIE 123
ANNEXES 137

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1: Feuille de renseignement 138
Annexe 2: Gestion des données manquantes 140
Annexe 3: Etude de l'interchangeabilité des méthodes : régression de Passing et Bablok et graphiques de Bland et Altman 143
Annexe 4: Eboulis des valeurs propres 147
Annexe 5: Cercle de corrélation sur les axes 1-3 et 2-3 148
Annexe 6: Boxplot de la température rectale selon le groupe 149
Annexe 7: Tableau des individus et feuille de renseignement. 150

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Mécanisme de l'inflammation et phase de la réaction inflammatoire aigüe. 30
Figure 2: Les différentes cibles des cytokines pro-inflammatoires, et les résultats de leurs actions. .. 32
Figure 3: Profil de migration électrophorétique des protéines sériques de bovin sain..... 37
Figure 4: Aspect des neutrophiles au frottis sanguin. 42
Figure 5: Nombre de neutrophiles (10^3/µL) et comptage différentiel à la suite d'une induction expérimentale de mammites à Escherichia coli chez 8 vaches laitières. 43
Figure 6: Concentration en SAA et Hp sériques après 2 challenges consécutifs à E.coli intra-mammaire, réalisés à 2 semaines d'intervalle. 44
Figure 7: Valeur de cinq PPA chez des veaux ayant reçu une injection d'essence de térébenthine. ... 45
Figure 8: Cinétique des différents marqueurs depuis le début d'une inflammation. 46
Figure 9: Cellules bovines observables au frottis sanguin..... 48
Figure 10 : Diagramme d'interprétation d'un frottis sanguin en cas de neutrophilie. 49
Figure 11: Variations de la concentration moyenne en Hp (en haut) et SAA (en bas) pendant le péripartum, chez 158 vaches Holstein. 54
Figure 12: Représentation schématique conceptuelle de la réponse inflammatoire et immunitaire chez des vaches laitières en période postpartum. 60
Figure 13: Représentation du tube à hématocrite après précipitation à la chaleur et centrifugation. 73
Figure 14: Lecture du résultat du test BIO K 328 - QuantELISA Haptoglobine bovine / Sandwich 86
Figure 15: Boxplots (médiane et quartiles) des résultats du fibrinogène dosés par la méthode de Millar selon le groupe d'appartenance. 90
Figure 16: Boxplot (médiane et quartiles) des résultats du fibrinogène dosé par la méthode de Clauss selon le groupe d'appartenance. 91
Figure 17: Boxplots (médiane et quartiles) des valeurs d'haptoglobine dosées sur sérum selon le groupe. 93
Figure 18: Boxplots (médiane et quartiles) du nombre de neutrophilex10^3/mm^3 obtenu par l'analyseur MS4, selon le groupe d'appartenance. 94
Figure 19: Boxplots (médiane et quartiles) du ratio neutrophiles/lymphocytes obtenu par l'analyseur MS4, selon le groupe d'appartenance. 95
Figure 20: Boxplots (médiane et quartiles) du temps de coagulation du test au glutaraldéhyde selon le groupe d'appartenance. 95
Figure 21: Représentation graphique du dosage du fibrinogène par la méthode de Clauss en fonction de celle de Millar. 97
Figure 22: Représentation graphique du nombre de neutrophiles par comptage manuel et par l'analyseur. 98
Figure 23: Représentation graphique des résultats du ratio N/L obtenus par l'analyseur en fonction de ceux obtenus par comptage manuel. 99
Figure 24: Cercle de corrélation des variables quantitatives, la couleur de chaque variable varie selon sa contribution sur les deux premières dimensions. 104
Figure 25: Résultats de l'AFMD où ne sont représentées que les variables qualitatives, selon les dimensions 1 et 2. 105
Figure 26: Plan factoriel (dimensions 1 et 2) de l'analyse factorielle réalisée sur l'ensemble des variables. 106
Figure 27: Graphique des individus, coloriés selon le groupe. 107

Figure 28: Superposition du graphique des individus et des variables qualitatives sur les deux premières dimensions. 107
Figure 29 : Les ellipses (en haut) représentent l'incertitude pour les individus, les nuages de points (en bas) représentent celle pour les variables. 141
Figure 30: Représentation de la qualité de l'imputation réalisée grâce au package missMDA, ici pour les variables quantitatives. 142
Figure 31: Régression de Passing et Bablok pour le dosage du fibrinogène. 144
Figure 32: Graphique de Bland et Altman pour la comparaison de 2 méthodes de dosage du fibrinogène. 144
Figure 33: Régression de Passing et Bablok pour les neutrophiles. 145
Figure 34: Graphique de Bland et Altman pour la comparaison de 2 méthodes de comptage des neutrophiles. 145
Figure 35: Régression de Passing et Bablok pour le ratio N/L. 146
Figure 36: Graphique de Bland et Altman pour la comparaison de 2 méthodes de comptage du ratio N/L. 146

TABLE DES TABLEAUX

Tableau I: Variation du protéinogramme et quelques maladies associées 38
Tableau II: Caractéristiques cinétiques des quatre groupes de PPA et évolution de leur concentration au cours d'un processus inflammatoire. 39
Tableau III: Classement des PPA répondant à un stimulus inflammatoire chez plusieurs espèces animales 39
Tableau IV: Valeurs et intervalles de référence de la NFS pour deux études : une de 2018 et une de 1965. 47
Tableau V: Intervalle de référence des protéines sériques 49
Tableau VI: Concentration des quatre PPA étudiées chez des bovins sains, selon différentes études. 49
Tableau VII: Valeurs leucocytaires par classe d'âge chez des vaches Jersiaise. 52
Tableau VIII: Les différentes neutrophilies 53
Tableau IX: Moyennes pré-opératoire ± l'écart type standard de l'haptoglobine et du fibrinogène chez 97 vaches divisé en 4 groupes selon le diagnostic clinique ou l'acte réalisé 58
Tableau X: Valeurs des PPA pour diverses atteintes podales. 63
Tableau XI: Valeurs diagnostiques de l'examen clinique et de l'examen des lésions après abattage pour diagnostiquer une atteinte de l'appareil respiratoire (cas de BPIE). 69
Tableau XII: Critère d'interprétation du test au GGT 70
Tableau XIII: Valeurs diagnostiques du test au glutaraldéhyde dans plusieurs cas cliniques. 71
Tableau XIV: Valeurs diagnostiques de la NF 72
Tableau XV: Valeurs diagnostiques du fibrinogène dans la détection de certaines pathologies. 74
Tableau XVI: Valeurs diagnostiques de la SAA dans la détection de certaines pathologies 75
Tableau XVII: Valeurs diagnostiques de l'haptoglobine dans la détection de certaines pathologies.. 76
Tableau XVIII: Valeurs diagnostiques de l'AGP dans la détection de certaines pathologies 77
Tableau XIX: Interprétation du coefficient de corrélation tau de Kendall. 88
Tableau XX: Caractéristiques des individus avec des valeurs anormalement hautes en Fb. 92
Tableau XXI : Caractéristiques des individus présentant des valeurs anormalement basses en Fb. 92
Tableau XXII: Hypothèse diagnostique et durée d'évolution des symptômes des individus avec une concentration en haptoglobine sérique > 1000mg/L. 94
Tableau XXIII: Nombre d'individu en dehors de valeurs usuelles pour les différents paramètres étudiés, selon le groupe d'appartenance. 96
Tableau XXIV: Comparaison des distributions de chaque biomarqueur entre les vaches saines et suspectes. 96
Tableau XXV: Caractéristiques statistiques des deux méthodes de dosage du fibrinogène 98
Tableau XXVI: Comparaison des deux méthodes vis à vis des résultats du dosage pour le fibrinogène. 98
Tableau XXVII: Valeurs statistiques descriptives des méthodes de comptage des neutrophiles 99

Tableau XXVIII: Comparaison des deux méthodes vis à vis des résultats du comptage des neutrophiles. 99
Tableau XXIX: Valeurs statistiques descriptives des méthodes de comptage du ratio N/L 99
Tableau XXX: Comparaison des deux méthodes vis à vis des résultats du comptage pour le ratio N/L. 100
Tableau XXXI: Résultats des analyses statistiques de comparaison des méthodes 100
Tableau XXXII: Valeur du coefficient de Kendall pour les variables prises 2 à 2. 101
Tableau XXXIII : Résumé des données manquantes de certaines variables et caractéristiques des individus associés. 102
Tableau XXXIV: Résultat de l'AFDM sur les variables qualitatives et quantitatives. 108
Tableau XXXV: Pouvoir diagnostic des marqueurs choisis et de la variable température. 109
Tableau XXXVI: Pouvoir diagnostic des différents marqueurs après adaptation des seuils. 118

LISTE DES ABREVIATIONS

ACM : Analyse par Composante Mixte

ACP : Analyse par Composante Principale

ACTH : Adreno CorticoTropic Hormone

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AFDM : Analyse Factorielle des Données Mixtes

AGNE : Acides Gras Non Estérifiés

AGP : α1 Acide Glycoprotéique

Alb : Albumine

ARN : Acide ribonucléique

BLAD : Bovine Leukocyte Adherence Deficiency

BLV : Bovine Leucosis Virus

βOH : β- hydroxybutyrate

BPIE : Broncho-Pneumonie Infectieuse Enzootique

BVD : Bovine Viral Diarrhea

CCMH : Concentration Corpusculaire en Hémoglobine

CD14 : Cluster de différentiation 14

CRP : Protéine C-Réactive

DAMP : Damage Associated Molecular Patterns

EDTA : EthylèneDiamineTétraAcétique

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

EPO : Erythropoïétine

Fb : Fibrinogène

FC : Fréquence cardiaque

FR : Fréquence respiratoire

GB : Globule Blanc

GH : Growth Hormone

GTA : Glutaraldéhyde

Hb : Hémoglobine

HDL : Hight Density Lipoprotein

Hp : Haptoglobine

IFN α : Interféron α

IFN γ : Interféron γ

Ig : Immunoglobuline

IL-1 : Interleukine 1

IL-6 : Interleukine 6

IPI : Infecté Persistant Immunotolérant

LBP : Lipopolysaccharide Bindind Protein

LDA : Left Abomasal Displacement

LPS : Lipopolysaccharide de Surface

NEC : Noté d'état corporelle

NEFA : Non Esterified Fatty Acid

NFS : Numération Formule Sanguine

PAMP : Pathogen Associated Molecular Patterns

PDF : Prduit de dégradation du fibrinogène et de la fibrine

PI3 : Parainfluenza de type 3

PMN : PolyMorphonuclear Neutrophils

PPA : Protéine de phase aigüe

RPA : Réponse de phase aigüe

RPT : Réticulo-péritonite traumatique

RSV : Respiratory Syncitial Virus

SAA : Sérum Amyloïde A

Se : Sensibilité

Sp : Spécificité

SRID : Single Radial ImmunoDiffusion

TCMH : Teneur Corpusculaire en Hémoglobine

TNFα : Tumor Necrosis Factor α

TR : Température rectale

VGM : Volume Globulaire Moyen

VPM : Volume Plaquettaire Moyen

INTRODUCTION

L'examen clinique seul est bien souvent insuffisant pour poser un diagnostic chez un animal malade, en particulier lorsque les signes cliniques sont frustes. En effet, cet examen manque de sensibilité et de spécificité. De nombreuses hypothèses sont alors possibles et d'autres outils d'explorations doivent être utilisés pour les hiérarchiser.

Ainsi, la médecine vétérinaire a fait une place de plus en plus grande aux examens complémentaires. Les analyseurs (hormonaux, biochimie, numération formule sanguine, ionogramme, etc…) sont devenus outils courants des cliniques vétérinaires depuis plusieurs années, ainsi que les échographes et les appareils de radiologie. Les tests rapides (ex : snap test) ont séduit les praticiens du fait de leur gain de temps et de leur facilité d'utilisation, notamment en pratique canine.

Malgré tout, il existe des situations pour lesquelles le doute persiste. Ceci est particulièrement vrai en pratique rurale, où le vétérinaire est régulièrement appelé pour des vaches « qui bricolent », et pour lesquelles il est difficile de déterminer l'origine du problème, d'autant plus que la réalisation d'examens complémentaires reste limitée et décalée dans le temps.

Déterminer la présence ou non d'un état inflammatoire permettrait d'affiner les hypothèses diagnostiques, pourtant faire cette simple dichotomie n'est pas toujours évidente pour le vétérinaire de terrain. Le développement de tests rapides à réaliser au chevet du patient (test au glutaraldéhyde) ou en clinique (Smartstrip haptoglobine) apporte une aide non négligeable au praticien vétérinaire dans ce sens.

Le travail de recherche présenté ici vise à déterminer les valeurs prédictives de différents tests évaluant un état inflammatoire chez les bovins adultes, dans le but de servir d'aide au diagnostic dans le cadre de consultations sur le terrain. Nous nous intéresserons en particulier aux protéines de la phase aigüe que sont l'haptoglobine, la SAA, et le fibrinogène, aux valeurs de la numération formule sanguine ainsi qu'au test au glutaraldéhyde.

Après un bref rappel sur l'inflammation et ses marqueurs, nous nous intéresserons aux variations de ces derniers en conditions physiologiques et pathologiques chez les bovins. Cette étape bibliographique nous permettra de sélectionner les marqueurs d'intérêt dans le cadre de la détection d'un état inflammatoire, travail préliminaire à notre partie expérimentale. En effet, dans une deuxième partie expérimentale, nous visualiserons l'évolution conjointe des différents marqueurs, puis nous déterminerons leur sensibilité et spécificité respectives dans le cadre de la détection d'un état inflammatoire chez les bovins adultes.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE :

Les marqueurs sanguins de l'inflammation : nature, variation et méthodes de détection.

Dans cette partie, nous commencerons par un bref rappel sur l'inflammation avant de détailler les marqueurs sanguins cellulaires et protéiques à notre disposition dans le cadre de la détection d'un état inflammatoire. L'évolution de ces marqueurs en condition physiologique et pathologique sera ensuite abordée.

A. L'inflammation chez les bovins

Après un bref rappel sur le rôle du processus inflammatoire, nous parlerons du mécanisme général de la réaction inflammatoire et ses médiateurs associés.

1) Généralités

L'inflammation est la première ligne de défense du système immunitaire inné pour lutter contre une altération tissulaire. Cette dernière peut être d'origine traumatique, infectieuse (bactérie, virus), allergique, chimique, néoplasique ou encore induite par le stress [1]. Quelle que soit son origine, on retrouve une perturbation de l'homéostasie, facteur déclencheur de l'inflammation. L'homéostasie correspond à la capacité d'un organisme à maintenir l'équilibre de son milieu intérieur (ex : glycémie, température) en face de contraintes externes. En cas de perturbation de l'homéostasie, l'inflammation s'initie afin d'aider l'organisme à retrouver l'équilibre de son milieu intérieur, elle s'arrête lorsque l'homéostasie est restaurée et les lésions résolues.

Tout commence par un mécanisme de reconnaissance de protéines particulières libérées en cas de mort cellulaire, ces protéines sont appelées PAMPs pour Pathogenes Associated Molecular Patters ou DAMPs pour Damages Associated Molecular Patters. Les PAMPs et DAMPs correspondent à des signaux d'alertes d'origine exogène pour les PAMPs (virus, bactéries ; ex : Lipopolysaccharide (LPS), Acide Ribonucléique (ARN) viraux) ou endogènes pour les DAMPs (produits par les cellules en souffrance ; ex : héparine sulfate).

Une réponse inflammatoire locale se met d'abord en place, cette réponse est aigüe et immédiate et fait intervenir le système immunitaire inné. Sa finalité est d'agir localement afin de limiter l'impact des agresseurs et d'empêcher leur propagation à l'organisme. Cependant en cas de dépassement de cette première ligne de défense, d'autres mécanismes s'enclenchent et la réponse immunitaire s'étend à tout l'organisme.

Malgré son manque de spécificité initiale, la réaction inflammatoire aigüe est bénéfique car elle permet une défense rapide de l'organisme. Cependant, lors d'échec de la réponse inflammatoire aigüe à éliminer l'agent agresseur, l'installation d'une inflammation chronique se caractérisant par un remodelage tissulaire important peut entrainer des effets délétères pour l'individu [2].

2) *Mécanisme général et médiateurs inflammatoires*

L'inflammation est un processus complexe dont le mécanisme général est détaillé ci-dessous. Ce dernier s'opère sous le contrôle des médiateurs de l'inflammation, véritables chefs d'orchestre de la réaction inflammatoire, dont nous parlerons ensuite.

a) Mécanisme général

Il existe au niveau des épithéliums des cellules sentinelles, majoritairement macrophages et monocytes, dont le rôle est la défense immédiate de l'organisme en cas d'agression. La reconnaissance par ces cellules sentinelles de PAMPs et DAMPs mène à la synthèse de médiateurs inflammatoires comme les cytokines, les chimiokines, les amines vasoactives, les eicosanoïdes. Ceux-ci sont à l'origine d'une cascade inflammatoire schématisée dans la Figure 1 [3, 4].

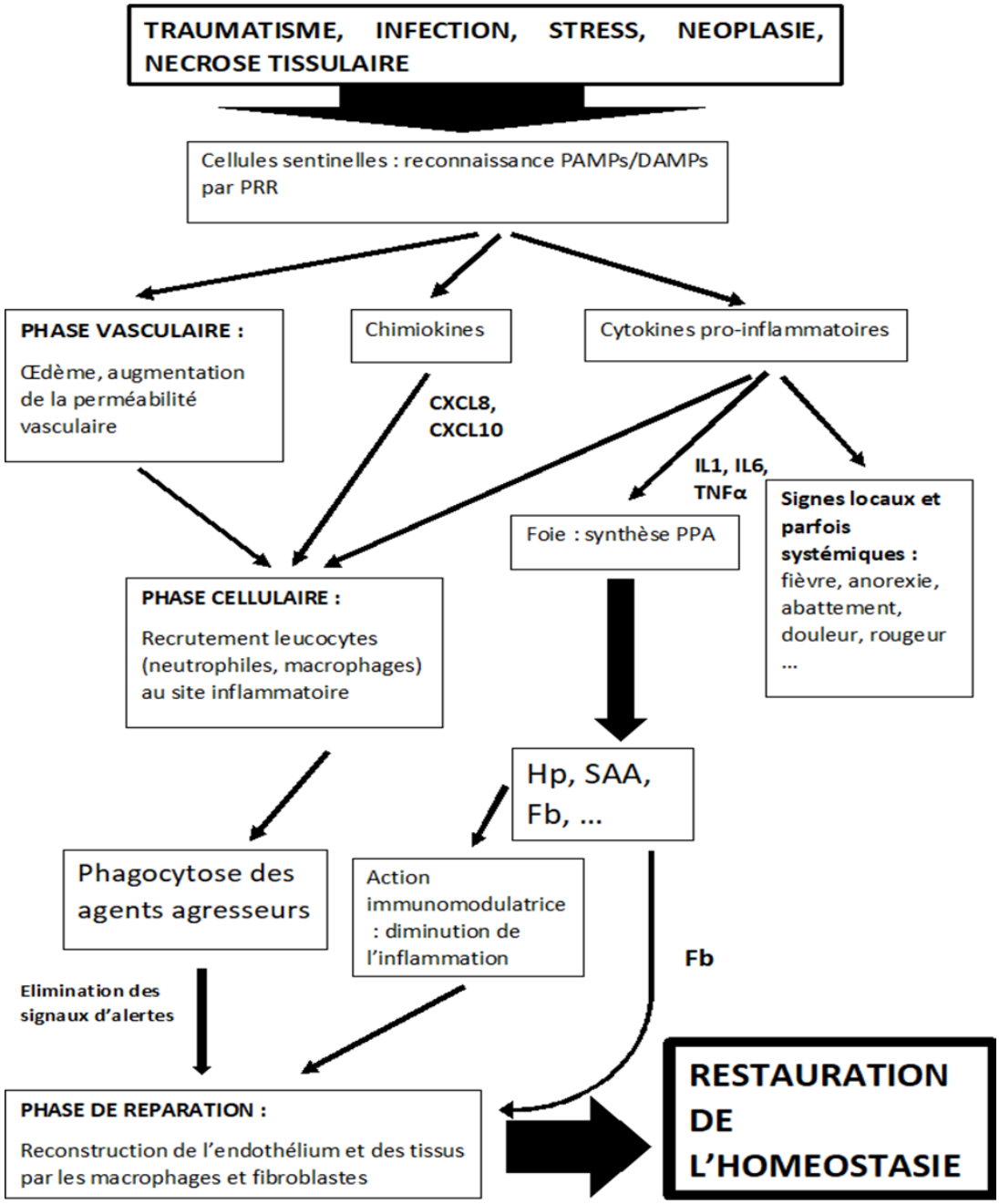


Figure 1 : Mécanisme de l'inflammation et phases de la réaction inflammatoire aigüe. Fb : fibrinogène, Hp : haptoglobine, SAA : Sérum Amyloïde A. D'après [5].

L'ensemble de ce processus, appelé réaction de phase aigüe (RPA), se caractérise par des changements comportementaux, biochimiques, et par des modifications de la synthèse protéique avec augmentation de certaines protéines : les protéines de la phase aigüe (PPA).

Lors d'inflammation aigüe, on observe classiquement trois phases [2]:

- **La phase vasculaire :** elle comprend des modifications de la microcirculation locale telles qu'une augmentation de la perméabilité vasculaire, une vasodilatation ou encore une augmentation du débit sanguin. Ces changements permettent l'arrivée et l'extravasion de protéines et neutrophiles dans les tissus lésés. Ils sont détectables macroscopiquement et regroupés sous le terme des « signes cardinaux de Celsius », présents au nombre de 4 (chaleur, douleur, œdème, rougeur).
- **La phase cellulaire** : sous l'action de cytokines pro-inflammatoire, on retrouve une mobilisation cellulaire massive de neutrophiles au site lésionnel afin d'éliminer les agents pathogènes et/ou les tissus lésés. En effet, les neutrophiles possèdent des granules primaires et secondaires contenant des agents bactéricides (défensine, ...) et des enzymes lysosomiales (nucléase, …). Une fois sur place, la liaison des neutrophiles avec les PAMPs et DAMPs a pour conséquences : (1) la libération des substances contenues dans ces granules afin d'éliminer les agents agresseurs, (2) la synthèse de nouvelles cytokines stimulant l'arrivée de nouveaux neutrophiles.
- **La phase de réparation** : elle suit la disparition des agresseurs par phagocytose, lyse, etc… et permet la reconstruction des tissus sous l'action d'autres cellules telles les macrophages et les fibroblastes. Lors de cette phase on a une modulation de l'activité des cytokines, avec augmentation de la synthèse des cytokines anti-inflammatoires.

En cas d'échec de l'inflammation aigüe à éliminer l'agent agresseur, le processus inflammatoire perdure et acquière de nouvelles caractéristiques. Les neutrophiles infiltrés dans les tissus sont peu-à-peu remplacés par les macrophages et, en cas d'infection, l'immunité adaptative se met en place avec arrivée des lymphocytes T dans les tissus. Enfin, en cas de persistance de l'agent agresseur malgré l'action combinée des cellules immunitaires, ou lors d'auto-entretien de l'inflammation par l'organisme, un statut inflammatoire chronique s'installe [2].

b) Médiateurs de l'inflammation

Parmi les médiateurs de l'inflammation, les cytokines et chimiokines sont les protéines clés dans l'initiation, le maintien et l'arrêt du processus inflammatoire. D'autres médiateurs, comme les glucocorticoïdes, peuvent également intervenir.

i. Les cytokines

Les cytokines sont des protéines de faible poids moléculaire, qui interviennent dans la communication intercellulaire au niveau local ou systémique.

On distingue les cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires dont les cibles et actions diffèrent. Synthétisées au cours de la phase aigüe de l'inflammation après reconnaissance des signaux d'alertes (PAMPs/ DAMPs), les cytokines pro-inflammatoires assurent le recrutement des cellules phagocytaires et molécules effectrices (Protéines de Phase Aigüe : PPA) au site inflammatoire. Les principales cytokines pro-inflammatoires sont au nombre de trois : l'interleukine 1 (IL-1), l'interleukine 6 (IL-6) et la cachectine ou facteur de

nécrose tumorale α (Tumour Necrosis Factor α = TNFα). Elles agissent à distance sur le foie, le système nerveux central, la moëlle osseuse et localement (vaisseaux, cellules). Leurs différentes cibles sont représentées sur la Figure 2. Elles sont responsables des signes cliniques généraux observés lors d'inflammation que sont la fièvre, la dysorexie et l'abattement.

Des études expérimentales chez les bovins ont mis en évidence leur augmentation lors d'épisodes infectieux (mammites, réticulo-péritonite traumatique (RPT), maladies respiratoires), physiologique (vêlage) ou lors de désordres métaboliques [6–8].

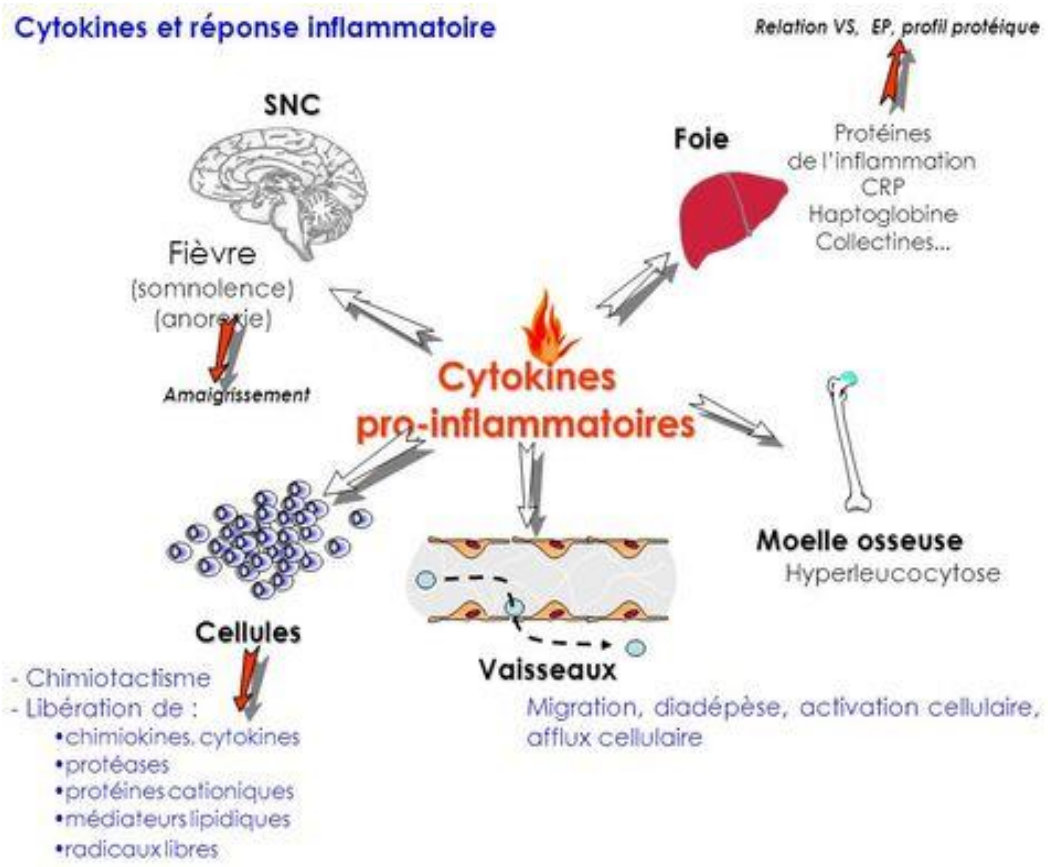


Figure 2: Les différentes cibles des cytokines pro-inflammatoires, et les résultats de leurs actions. Schéma d'après [9].

ii. Les chimiokines

Les chimiokines sont des cytokines impliquées dans la migration cellulaire par chimiotactisme. Certaines sont pro inflammatoires, comme CXCL8 et CXCL10, et sont sécrétées par les cellules sentinelles après stimulation par les signaux de danger (PAMPs et DAMPs). Elles forment alors un gradient qui dirigent la migration des leucocytes vers le site de l'inflammation.

iii. Les glucocorticoïdes

La stimulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire par les cytokines pro-inflammatoire (notamment IL-6) conduit à la synthèse d'ACTH (Adreno CorticoTropic Hormone) puis à celle du cortisol.

Le cortisol possède une action pro-inflammatoire en stimulant la synthèse des protéines de la phase aigüe de l'inflammation [10]. Il en est de même pour certains glucocorticoïdes de synthèse, comme la dexaméthasone, dont une augmentation de la concentration sanguine est à l'origine d'une augmentation de la synthèse d'haptoglobine et de céruloplasmine [11].

D'un autre côté, les glucocorticoïdes ont une action anti-inflammatoire. Lors de la phase vasculaire, ils diminuent la vasodilatation et la perméabilité vasculaire. Ils réduisent la phagocytose et diminuent le chimiotactisme des leucocytes au cours de la phase cellulaire, et, lors de la phase de réparation, ils diminuent la prolifération des fibroblastes On leur attribue également une action immunomodulatrice par inhibition de la synthèse d'l'IL-1, d'IL-6 et de TNF-α par les macrophages et neutrophiles [4].

Ces deux actions, bien qu'à première vue contradictoires, sont complémentaires. Les glucocorticoïdes, dont le cortisol, diminuent l'inflammation en agissant sur les trois étapes décrites précédemment et en modulant la synthèse de cytokines. Les PPA, comme l'haptoglobine, ont des actions de protection de l'organisme vis-à-vis du processus inflammatoire et participent à la restauration de l'homéostasie.

3) *L'inflammation chronique*

Si les mécanismes inflammatoires de la phase aigüe ne parviennent pas à éliminer les agents agresseurs, des stimuli inflammatoires persistent dans l'organisme et maintiennent l'inflammation : on passe alors à la chronicité. L'organisme cherche ici à limiter la progression des agents nocifs, mais contrairement à la phase aigüe, l'élimination n'est plus la priorité.

L'inflammation chronique peut aussi être primaire, c'est le cas lors de diabète de type 2 ou de maladie cardiovasculaire chez l'homme [2]. Les mécanismes ne sont pour le moment que partiellement compris, mais l'inflammation s'installerait lors de dysfonctionnements tissulaires entrainant la perturbation de diverses fonctions physiologiques, et de l'homéostasie ; mais l'inflammation ne serait pas directement liée à la fonction de défense de l'organisme ou de réparation tissulaire.

Le passage à la chronicité se caractérise par de nombreux remodelages tissulaires sous l'influence des macrophages et d'autres cellules de réparations tissulaires tels les fibroblastes. Ces remodelages peuvent se présenter sous formes fibrineuse, purulente (abcès) ou encore granulomateuse pour lesquelles l'agent est isolé mais non détruit, autorisant le maintien d'un foyer inflammatoire chronique.

Concernant les analyses hématologiques, l'inflammation chronique peut engendrer une anémie inflammatoire modérée normocytaire et normochrome (ou microcytaire et hypochrome dans 50% des cas), inconstante, chez plusieurs espèces animales dont les bovins, et chez l'homme [12]. Cette anémie est due à la rétention de fer dans les macrophages, auquel s'ajoute son utilisation par les bactéries. Les PPA peuvent être également augmentées, mais les valeurs sont plus basses que lors de cas aigus. Certaines d'entre elles, comme le SAA et l'Hp seraient des marqueurs intéressants pour évaluer le passage à la chronicité et distinguer ainsi les deux types d'inflammation, car comme nous le verrons plus loin, elles diminuent rapidement lors de passage à la chronicité [13].

B. Les modifications sanguines lors d'inflammation

Lors de la cascade inflammatoire généralisée, les cytokines pro-inflammatoires initient la « réponse de phase aigüe » visible cliniquement par un épisode de fièvre associée à des variations hématologiques et à une modification des protéines sériques.

1) *Paramètres hématologiques cellulaires*

Parmi les cellules sanguines, on retrouve celles appartenant à la lignée blanche, et celle de la lignée rouge. Les cellules sanguines, et en particulier celles de la lignée blanche, participent activement au processus inflammatoire. La lignée rouge en revanche est peu informative quant à la présence d'une inflammation.

a) Lignée blanche (leucocytes)

Composés des granulocytes (neutrophiles, éosinophiles et basophiles), des monocytes et des lymphocytes, les globules blancs (ou leucocytes) jouent un rôle essentiel dans la défense immunitaire.

i. Les granulocytes

Les granulocytes sont produits au niveau de la moëlle osseuse lors de la granulopoïèse sous l'influence de plusieurs cytokines, dont l'IL-6. Parmi les granulocytes on retrouve les neutrophiles qui constituent la population la plus importante, les éosinophiles et les basophiles [14].

Au niveau de la moelle osseuse, la production des granulocytes est conceptualisée en trois étapes, qui sont la multiplication des précurseurs (myéloblastes qui évoluent en myélocytes), suivi de leur maturation et de leur stockage. Au cours de la multiplication, les myélocytes acquièrent les granulations spécifiques à chaque lignée, puis le noyau se segmente progressivement au cours de la maturation.

- Les neutrophiles

A la fin de l'étape de maturation au cours de laquelle ils acquièrent leur activité anti-microbienne, les neutrophiles matures (neutrophiles segmentés) sont prêts à être relargués dans la circulation sanguine.

On différencie un pool de neutrophiles circulant et un pool marginal, attaché à l'endothélium vasculaire. Lors d'un processus inflammatoire, les neutrophiles circulants sont mobilisés sur le site, tandis qu'on observe une démargination des neutrophiles attachés à l'endothélium, qui pourront ensuite rejoindre le site d'inflammation.

Une fois sur place, les neutrophiles assurent la phagocytose des agents infectieux et des débris cellulaires ; leurs granules sont composés d'agents bactéricides (cathepsine G, défensines, …) et d'enzymes lysosomiales (nucléase, élastase, etc.) permettant la destruction des cellules cibles sous l'influence des cytokines pro-inflammatoires.

- Les éosinophiles

Issus de la même cellule précurseur que les neutrophiles et basophiles, les éosinophiles matures sont répartis au niveau des tissus, notamment au niveau du tractus digestif, du tractus respiratoire et de la peau. Ils interviennent dans la réaction immunitaire lors d'infestation parasitaire et d'allergies, ou en cas de chronicité. Ces cellules possèdent une activité cytotoxique contre une grande variété d'helminthes, de bactéries, de protozoaires et de champignons [15].

- Les basophiles

Présents en faible nombre, ils peuvent intervenir en relarguant des médiateurs inflammatoires comme l'histamine et l'héparine lors de réactions d'hypersensibilité. Leur variation peu marquée en fait des marqueurs peu sensibles de l'inflammation.

ii. Les monocytes et macrophages

Les macrophages sont différenciés à partir des monocytes, eux-mêmes dérivés de la moelle osseuse.

Les monocytes présents dans les tissus initient le processus inflammatoire, activés par la reconnaissance de PAMPs et DAMPs, en synthétisant des cytokines pro-inflammatoires. De nouveaux monocytes sont alors recrutés puis se différencient en macrophages M1 sous l'influence des cytokines. Une fois dans les tissus, ces macrophages sont capables de phagocytose envers les agents infectieux et débris cellulaires, et interviennent dans l'initiation de l'immunité adaptative en stimulant la prolifération de lymphocytes Th-1 [14].

A la fin du processus inflammatoire, sous l'action des cytokines anti-inflammatoires, ils participent au remodelage tissulaire, stimulent la néovascularisation et initient la fibrose au niveau des tissus lésés [15].

L'étude des monocytes ne présente que peu d'intérêt chez les bovins car ils sont peu spécifiques d'une maladie et varient peu en cas d'inflammation [16].

iii. Les lymphocytes

Cette lignée se différencie des autres dès le compartiment des cellules progénitrices. On trouve dans ce compartiment la cellule « progéniteur lymphoïde commun », qui se différencie très tôt en lymphocytes pré B et pré T. Ces cellules lymphoïdes pré B et pré T subissent ensuite un temps de multiplication et de prédifférenciation, puis quittent les organes hématopoïétiques sous forme de lymphocytes immatures, non immuno-compétents. Ces derniers rejoignent les organes lymphoïdes primaires et secondaires où ils subiront une maturation et une différenciation. Les organes lymphoïdes primaires sont la moelle osseuse (qui assure la production des lymphocytes B et T, et la maturation des lymphocytes B) et le thymus (qui assure la maturation des lymphocytes T). A la sortie des organes lymphoïdes primaires, les lymphocytes sont immunocompétents. Les organes lymphoïdes secondaires assurent la différenciation des lymphocytes à la suite d'une stimulation antigénique. C'est dans ces organes qu'on obtiendra les effecteurs de la réponse immunitaire (Lymphocyte T cytotoxique ou LTc, lymphocytes T helper ou LTh) et les cellules mémoires (lymphocytes B ou T mémoire) [14].

Les lymphocytes B produisent des anticorps permettant la reconnaissance des antigènes ; les lymphocytes T ont une action cytotoxique et immunomodulatrice.

b) Lignée rouge

Les érythrocytes sont produits lors de l'érythropoïèse sous l'action d'une hormone : l'érythropoïétine (EPO) dont la synthèse s'effectue majoritairement au niveau rénal. Ils ne subissent que peu de variation lors d'inflammation. On peut néanmoins évoquer la présence d'une légère anémie par carence en fer lors d'inflammation chronique, rapportée chez de nombreuses espèces, dont les bovins [12].

c) Plaquettes

Les plaquettes entrent en jeu lors de saignements et permettent l'activation de la cascade de la coagulation, ainsi que la formation du clou plaquettaire. Lors de processus inflammatoire, la stimulation de la thrombopoïèse par l'IL-6 [17] peut mener à une thrombocytose chez l'homme ou l'animal [18]. Cependant tous les mécanismes ne sont pas encore connus et l'intérêt du comptage plaquettaire comme marqueur de l'inflammation reste discuté, il semblerait que cette thrombocytose ne soit pas systématique et pourrait être plus ou moins marquée selon la cause à l'origine de l'inflammation [16].

Parmi les cellules sanguines, il s'avère que les neutrophiles, et dans un second temps les lymphocytes, sont de bons marqueurs de l'inflammation car ils présentent des modifications précoces ou systématiques et d'ampleur suffisantes pour être significatives. Les cellules de la lignée rouge restent relativement stables et ne présentent pas d'intérêt en tant que marqueurs d'un processus inflammatoire.

2) *Les protéines de l'inflammation*

Protéines et globulines représentent la quasi-totalité des protéines sériques. Parmi les globulines il existe un groupe particulier de protéines, nommé PPA, dont l'évolution est particulièrement marquée lors de processus inflammatoire et dont nous allons décrire les caractéristiques.

a) Albumine et globulines

L'albumine et les globulines constituent les protéines sériques, couramment appelées protéines totales (PT). Principalement synthétisées par le foie (exclusivement pour l'albumine), les protéines sériques interviennent dans le maintien de la pression osmotique, l'équilibre acido-basique, l'intégrité cellulaire, la défense immunitaire, la coagulation, le transport sanguin [19].

Parmi les globulines, on distingue différents types : les α1-globulines, α2-globulines, β1 et β2 globulines et γ-globulines [20]. Il est possible de différencier les fractions protéiques et leurs proportions respectives par électrophorèse des protéines, technique qui repose sur la migration différentielle des protéines chargées au travers des pores d'un gel lorsqu'elles sont soumises à un champ électrique. Le protéinogramme ainsi obtenu est représenté sur la Figure 3 page suivante, avec en abscisse les différents types de globulines et en ordonné le taux respectif de chaque fraction. La proportion majoritaire de l'albumine en tant que protéine sérique est bien représentée sur cette figure.

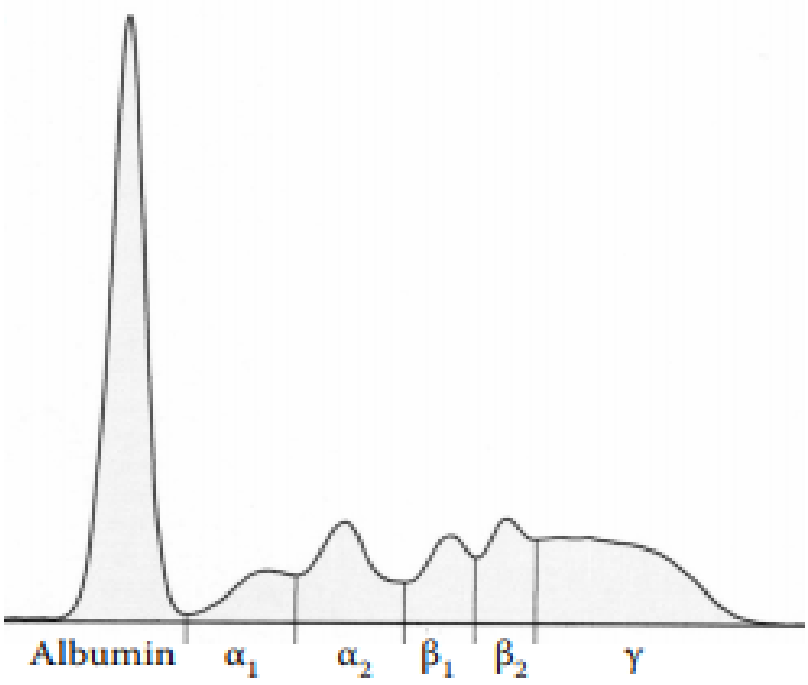


Figure 3: Profil de migration électrophorétique des protéines sériques de bovin sain, d'après [20].

On différencie bien les différentes fractions protéiques sur la Figure 3. L'albumine, qui représente la part la plus importante des protéines sériques, présente un pic plus important que les globulines.

Les α-globulines et β-globulines varient lors d'inflammation. Les PPA comme l'haptoglobine ou la céruléoplasmine (α-globulines) et le fibrinogène, la transferrine ou encore la protéine C réactive (CRP) (β-globulines) sont considérées comme des protéines majeures de phase aigüe. Le groupe des γ-globulines correspond aux immunoglobulines : IgG,IgA,IgM,IgD,IgE ; leur augmentation fait suite à la reconnaissance d'antigènes par les cellules du système immunitaire adaptatif tels les lymphocytes B.

Une variation du protéinogramme témoigne donc d'un changement de synthèse protéique. Les différentes anomalies rencontrées sont évoquées dans le Tableau I page suivante, ainsi que les maladies auxquelles elles peuvent être liées. En règle générale, une augmentation conjointe des groupes α et β sont la conséquence d'une inflammation, qui peut être tout aussi bien aigüe que chronique. La visualisation d'un pic pour certaines γ-globulines oriente plutôt vers un processus néoplasique, tandis qu'une augmentation conjointe de toutes les immunoglobulines oriente vers un processus inflammatoire.

Tableau I: Variation du protéinogramme et quelques maladies associées, d'après [20].

Fraction protéique	Variation	Pathologie/ maladie associée
Albumine	Augmentation	Déshydratation
	Diminution	Maladie hépatique, hépatite chronique, cirrhose Malnutrition chronique Maladie gastro-intestinale, entéropathie avec perte de protéines, parasitisme **Inflammation aigüe**
. **α1-globulines :** α1-glycoprotéine acide	**Augmentation**	**Inflammation active**
	Diminution	Malnutrition, insuffisance hépatique
. α2-globulines : Haptoglobine, céruléoplasmine	**Augmentation**	**Maladies inflammatoires**, infections Syndrome néphrotique
	Diminution	Anémie hémolytique
.**β-globulines :** CRP, fibrinogène, transferrine	**Augmentation**	**Maladies inflammatoires**, infections Hépatite aigüe, cirrhose Syndrome néphrotique Hypercholestérolémie Anémie ferriprive
	Diminution	Malnutrition Insuffisance hépatique
. **γ-globulines :** Immunoglobulines (IgA,IgG,IgE,IgD,IgM)	**Augmentation**	Monoclonal : myélome, leucémie, lymphosarcome, lymphome Polyclonal : **inflammation chronique**, infections sévères, désordre à médiation immune
	Diminution	Sérum fœtal ou pré-colostral Infections récurrentes, déficit immunitaire Maladies héréditaires à déficit immunitaire

En gras les modifications rencontrées lors d'un processus inflammatoire aigu ou chronique.

b) Les protéines de la phase aigüe (PPA)

Ces protéines voient leurs concentrations augmentées en cas d'inflammation et diffèrent selon l'espèce étudiée. Elles interviennent lors du processus inflammatoire en prévenant les dommages sur l'organisme.

Les PPA sont séparées en deux grands groupes : celles dont la concentration diminue en cas d'inflammation, qu'on appelle PPA négatives et qui comprennent l'albumine et la transferrine ; et celles dont la concentration augmente en cas d'inflammation, qu'on appelle les PPA positives, ou plus simplement PPA.

i. Définition et classification

Les PPA sont des protéines présentes en concentration très faible, voire indétectables dans l'organisme en conditions physiologiques, mais dont la concentration est fortement augmentée en cas de réponse de phase aigüe.

La synthèse des PPA est réalisée par le foie et certains tissus périphériques comme le tissu mammaire [21]. Elle est régulée par des médiateurs, dont les quatre principaux sont l'IL-6, l'IL-1, les glucocorticoïdes et les facteurs de croissance (GH) [6].

A cette séparation en deux groupes s'ajoute une classification plus fréquemment utilisée, en quatre groupes. Selon leur cinétique en cas d'inflammation et leur sensibilité à répondre à un épisode inflammatoire, les PPA sont classées en « PPA majeures », « PPA modérées », « PPA mineures » ou «PPA négatives ». Les caractéristiques de chacun de ces groupes sont décrites dans la Tableau II.

Tableau II: Caractéristiques cinétique des quatre groupes de PPA et évolution de leur concentration au cours d'un processus inflammatoire. Tableau d'après [22].

	Evolution en cas d'inflammation (concentration)	Temps de réponse	Evolution lors de la guérison
PPA majeures	X 100-1000	Rapide, pic à 24-48h	Diminution rapide
PPA modérées	X5-10	Plus lent, 2-3 jours	Diminution plus lente
PPA mineures	X1.5-2		
PPA négatives	Diminuent	Rapide	

ii. Variations inter-spécifiques

Toutes les espèces ne présentent pas les mêmes PPA, dans le Tableau III ci-dessous est synthétisé pour chaque espèce les PPA associées et le groupe auxquelles elles appartiennent.

Tableau III: Classement des PPA répondant à un stimulus inflammatoire chez plusieurs espèces animales [23].

Nom de la protéine de phase aigu (PPA)	Nom de la/des cytokine(s) stimulant la synthèse de cette PPA	PPA majeure chez ces espèces	PPA modérée chez ces espèces	PPA mineures chez ces espèces	PPA négative chez ces espèces
Sérum Amyloïde A	IL-6 TNFα	Chat, chien, cheval, **BOVIN**, cochon, homme	Lapin		
Haptoglobine	IL-6 (**IL-6 et TNFα chez les bovins**)	**BOVIN**	Chat, cheval, cochon	Chien	
A1-glycoprotéine acide	IL-1 TNFα	Chat	**BOVIN**, chien		
Protéine C-Réactive (CRP)	IL-1 TNFα	Chien, cochon, homme	Porc		
Fibrinogène	IL-6	Lapin	**BOVIN**		
Albumine					Chat, chien, cheval, **BOVIN**, cochon, homme

On s'aperçoit que la CRP qui est une PPA majeure chez le chien et l'homme, présente des variations très faibles chez la vache. En revanche, certaines protéines comme la SAA sont des marqueurs de choix quel que soit l'espèce.

iii. Les PPA des bovins et leurs rôles au cours du processus inflammatoire

Intéressons-nous désormais aux rôles des différentes PPA au cours de l'inflammation, et en particulier aux PPA d'intérêts dans l'espèce bovine évoquées dans le Tableau III.

Les principales fonctions des PPA sont de défendre l'organisme d'éventuels dommages engendrés par les agents infectieux ou cellules lésées, d'aider à restaurer l'homéostasie et de participer à la régulation de l'inflammation [23]. Chez les bovins, l'haptoglobine (Hp), le Sérum Amyloïde A (SAA), le fibrinogène (Fb) et l'α1-glycoprotéine acide (AGP) ont été étudié comme PPA positive d'intérêt, ainsi que l'albumine (Alb) comme PPA négative. Parmi ces dernières, les PPA majeures se trouvent être l'haptoglobine et la SAA [4, 24]

- Le sérum Amyloïde A (ou SAA)

Le SAA est une protéine appartenant à la famille des apolipoprotéines produite sous l'influence de deux cytokines : IL-6 et TNFα. Elle existe sous différentes isoformes, dont les trois principales sont les isoformes 1 et 2 synthétisées par le foie sous l'influence de stimuli inflammatoires, et l'isoforme 3, synthétisée par des tissus extra-hépatique, comme le tissu mammaire en cas de mammites chez les bovins [21]. L'isoforme 3 (SAA3) participerait au mécanisme de défense local contre les bactéries Gram+ et Gram – [25].

Ses fonctions n'ont pas encore été toutes élucidés, mais l'on sait déjà que le SAA possède des activités immunomodulatrices en inhibant l'inflammation, qu'il est capable de transporter le cholestérol libre du site inflammatoire au foie, et qu'il a une activité de chimiotaxisme pour les monocytes, les granulocytes et les lymphocyte T. C'est une PPA majeure chez de nombreuses espèces, et un des deux principaux marqueurs de l'inflammation chez les bovins, avec l'haptoglobine.

- L'haptoglobine ou Hp

Deuxième PPA majeure des bovins, l'haptoglobine est constituée de deux chaines α et deux chaines β reliées par des ponts disulfures.

Tout comme la SAA, ses voies d'actions sont multiples, mais son principal intérêt réside dans la formation d'un complexe haptoglobine-hémoglobine (Hp-Hb) avec l'hémoglobine libre, prévenant ainsi des dommages oxydatifs de l'hémoglobine et de sa toxicité à l'échelle moléculaire et organique (rein). Cette liaison a un double bénéfice puisqu'elle permet également de diminuer la disponibilité en fer pour les bactéries, limitant son utilisation pour la croissance bactérienne [5]. Des rôles supplémentaires ont été mis en évidence chez d'autres espèces : stimulation de l'angiogenèse, effet anti-inflammatoire et activité de protéine chaperonne [24]. Ils n'ont pas été étudié à notre connaissance chez les bovins.

- Fibrinogène

Le fibrinogène (Fb) est une β-globuline plasmatique constituée par trois chaines polypeptidique reliées par des ponts disulfures et une glycoprotéine.

C'est un précurseur de la fibrine dans la cascade de la coagulation, mais aussi une PPA modérée. Elle intervient dans la réparation des tissus (formation de fibrine), sert de matrice pour la migration des cellules de l'inflammation, et prolongerait l'activité des neutrophiles [26]. Elle est étudiée depuis de nombreuses années en tant que marqueurs de l'inflammation chez les bovins [27, 28]

- A1 glycoprotéine acide ou AGP

Aussi appelé orosomucoïde, l'AGP est une α1 globuline synthétisée principalement par les hépatocytes. Elle fait partie des PPA modérées chez les bovins.

En plus d'être l'une des principales protéines de transport plasmatique, elle possède une activité immunomodulatrice et anti-inflammatoire via une action directe sur les neutrophiles et monocytes. Elle inhibe leur dégranulation et diminue le chimiotactisme vis-à-vis de ces cellules, et stimule la synthèse de cytokines pro inflammatoire [24].

- Protéine de liaison au liposaccharide (LBP)

Etudiée depuis peu, cette protéine est synthétisée uniquement lors d'infection bactérienne. Selon sa concentration elle possède une activité anti ou pro-inflammatoire. Elle peut se lier avec le LPS bactérien et le présenter aux CD14 (Cluster de différenciation : glycoprotéines membranaires des cellules immunitaires agissant comme récepteur, molécule d'adhésion ,enzymes etc…), stimulant par 1000 leur activité pro-inflammatoire [24]. Une étude a suivi l'évolution de cette PPA chez les bovins, les animaux étant infectés par inoculation intratrachéale de *M. hemolytica*. Il semblerait que son évolution soit similaire à celle de l'haptoglobine, hormis qu'elle possède un délai d'action plus rapide : elle augmenterait dès les 6h post infection, avec un pic de sa concentration visible en 24h, contre 48h pour l'haptoglobine [29].

- L'albumine

Protéine plasmatique majoritaire, l'albumine est synthétisée uniquement par le foie.

Lors d'inflammation, la priorité est donnée à la synthèse des PPA, au détriment des autres protéines. Ainsi les acides aminés utilisés pour la production de ces PPA par le foie sont indisponibles pour la production l'albumine. On observe donc une diminution de sa concentration sérique [4].

Ces protéines permettent donc de protéger l'organisme face aux conséquences délétères de l'inflammation et participent au retour à l'homéostasie.

3) *Cinétique des marqueurs*

Parmi les différents acteurs de l'inflammation présentés jusqu'ici, nous retiendrons qu'il existe des acteurs cellulaires et protéiques. Tandis que certains de ces paramètres n'évoluent que très peu lors d'inflammation chez les bovins, d'autres en revanche voit leur concentration/ nombre augmenter ou diminuer fortement. Le terme de marqueurs de l'inflammation concerne les paramètres particulièrement étudiés du fait de leur variation rapide, importante et systématique dès la mise en place du processus inflammatoire. La cinétique des marqueurs cellulaires sanguins et des PPA est explicitée ici.

a) Cinétique des cellules sanguines

À la suite de la détection des signaux d'alertes par les macrophages, le recrutement des neutrophiles s'initie dans les heures qui suivent le début de l'inflammation par leur démargination ainsi que leur synthèse au niveau de la moëlle osseuse.

Contrairement à d'autres espèces, les bovins possèdent peu de neutrophiles « de réserve » (ratio neutrophiles/lymphocytes autour de 0,5 contre 1 chez le cheval et 2 chez le chien) [14].

De plus, la mobilisation et synthèse des neutrophiles au niveau de la moelle osseuse est relativement longue dans cette espèce, il n'est donc pas rare de voir une neutropénie initiale transitoire (24-48h) par captation des neutrophiles circulant sur le foyer inflammatoire, avec une diminution du ratio N/L lors de cas aigu et sévère [14].

Suite à cette phase de neutropénie transitoire, une neutrophilie (maximum 20 000- 30 000 neutrophiles/µL) avec virage à gauche s'installe généralement dans les 3 à 5 jours. Par convention, la granulopoïèse est représentée schématiquement de gauche à droite, avec à gauche les cellules souches multipotentes et à droite les neutrophiles matures. Un virage à gauche signifie la présence de jeunes neutrophiles immatures situés « à gauche » des neutrophiles sur cette représentation. Au frottis sanguin, on retrouve ces neutrophiles immatures (band, métamyélocytes), voire toxiques, témoins de l'importante activité hématopoïétique de la moelle en réponse à l'inflammation aigüe [14]. L'aspect microscopique de ces neutrophiles au frottis sanguin est représenté dans la Figure 4.

Si la neutropénie persiste au-delà de 7 jours, le pronostic est mauvais car cela traduit une incapacité de la moelle osseuse à répondre à l'infection (dépassement de la moelle osseuse) [14].

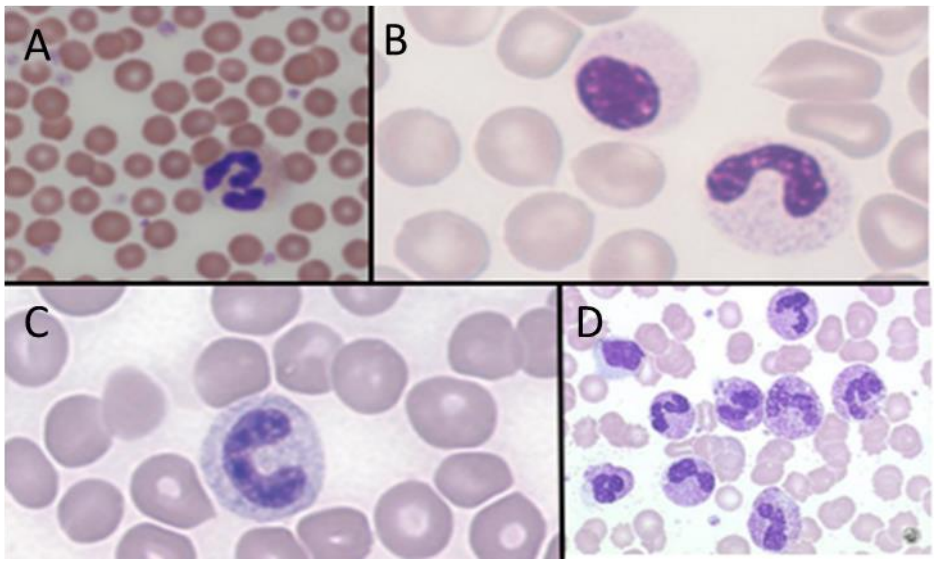


Figure 4: Aspect des neutrophiles au frottis sanguin.
A : neutrophile de bovin d'aspect normal avec un noyau plurilobé. B : deux neutrophiles immatures chez un chien : un band neutrophile en bas et un myélocyte en haut. Les noyaux ne sont pas segmentés. C et D : Neutrophiles avec des signes de toxicité : un band neutrophile chez un chien(C) et des neutrophiles matures toxiques chez un homme à droite(D). On reconnait les signes de toxicité par la présence de granulations basophiles dans le cytoplasme de ces cellules. [14]

Quelques heures après les neutrophiles, c'est au tour des monocytes d'être recrutés et de participer sous forme de macrophages à la phagocytose [2].

En cas d'échec des neutrophiles et macrophages à supprimer l'agent agresseur , l'immunité adaptative entre en jeu avec l'arrivée des lymphocytes Th1 et Th2 spécifiques au bout de quelques semaines [2].

Lors d'inflammation aigüe et sévère, il n'est donc pas rare d'observer chez les bovins une neutropénie transitoire, suivi d'une neutrophilie plus ou moins associée à une élévation des

monocytes. Au bout de quelques jours, la présence d'une leucocytose lymphocytaire témoigne de la persistance de l'inflammation et de la mise en place de l'immunité adaptative.

La sévérité de l'inflammation est un facteur important dans l'apparition d'une neutrophilie. Dans une étude, 8 vaches laitières ont été infectées expérimentalement par une suspension d'*E.coli* intramammaire, puis l'observation des neutrophiles au microscope après coloration a été réalisée et les cellules ont été classées selon leur stade de maturation. Les animaux ont été classés en 2 groupes : ceux dont la réponse à l'infection était « modérée » (n=4) et ceux pour lesquels elle était « sévère » (n=4). Les animaux avec des signes cliniques sévères de mammite ont montré une neutropénie suivie d'une neutrophilie marquée, accompagnée d'un virage à gauche témoignant de l'activité intense de la moelle osseuse pour synthétiser des neutrophiles. Dans l'exemple ici, la neutropénie a perduré jusqu'à 10 jours post infection avant que le nombre de neutrophiles ne ré-augmente (Figure 5). Dans le challenge modéré (signes cliniques peu sévère), l'augmentation des neutrophiles est restée peu marquée.

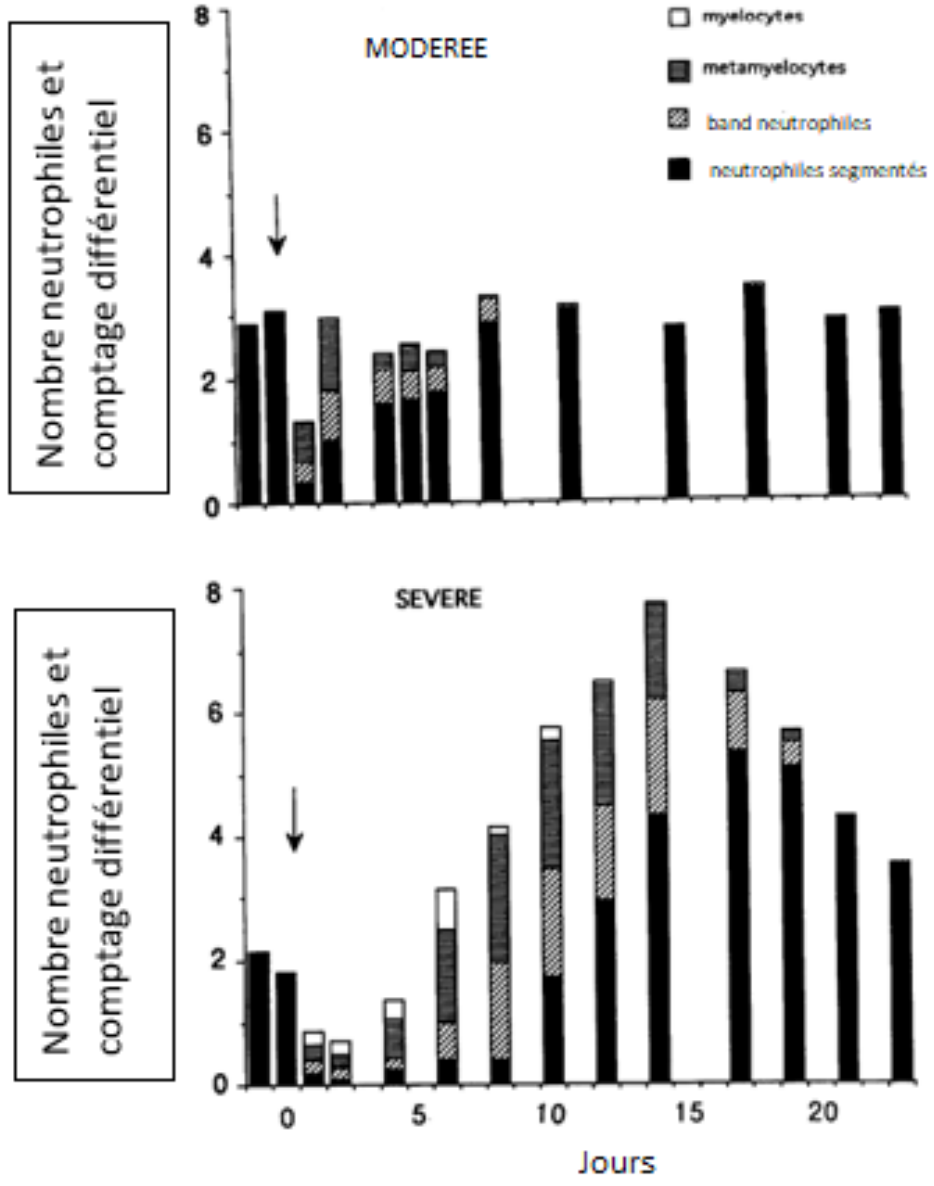


Figure 5: Nombre de neutrophiles (10^3/µL) et comptage différentiel à la suite d'une induction expérimentale de mammites à Escherichia coli chez 8 vaches laitières.
La flèche indique le moment de l'induction [30].

Cette réponse variable dans son intensité, associée au temps de réponse de la moelle osseuse pour initier la granulopoïèse et à la possible neutropénie en début d'inflammation font du comptage leucocytaire seul un outil diagnostic considéré comme peu sensible dans la détection d'un processus inflammatoire peu sévère. Cela met en évidence l'importance de la recherche d'autres marqueurs plus sensibles de l'inflammation, telles les protéines de la phase aigüe (PPA) que nous allons maintenant évoquer.

b) Cinétique des protéines de la phase aigüe de l'inflammation

Quelques expériences nous permettent de comprendre l'intérêt de l'étude des PPA comme marqueurs de l'inflammation.

L'induction de mammites par inoculation de 150 cfu d'*E.coli* intramammaire chez 6 vaches a entrainé une augmentation dans les 12h de la SAA et de l'Hp, avec un pic atteint entre 2 et 3 jours post-induction (Figure 6). La réponse de ces deux protéines face à l'infection était rapide, avec un retour aux concentrations basales dans les 7 jours suivant le challenge.

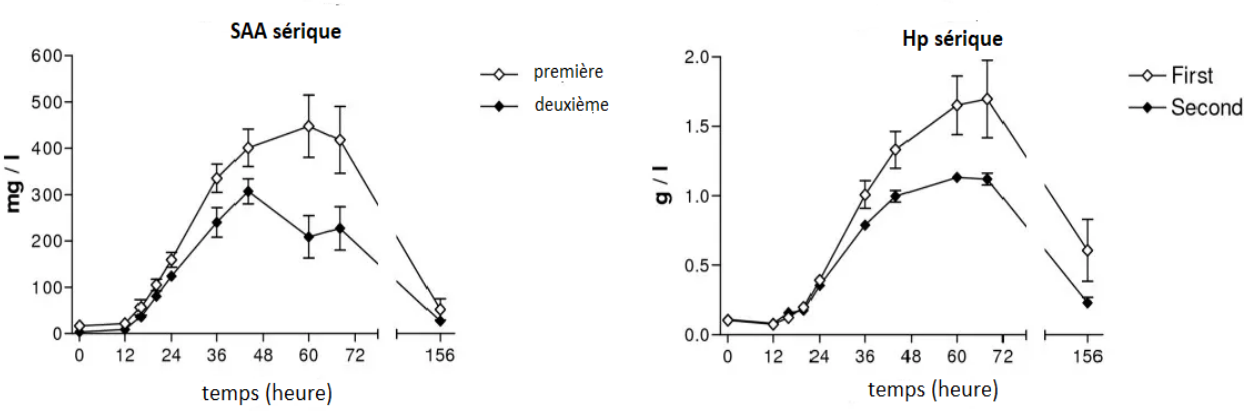


Figure 6: Concentration en SAA et Hp sériques après 2 challenges consécutifs à E.coli intra-mammaire, réalisés à 2 semaines d'intervalle.
Les points représentent les moyennes obtenues pour 6 vaches, les barres d'erreur l'écart-type standart [31].

Ces résultats s'accordent avec ceux d'Hirvonen et al. lors d'une étude réalisée dix ans plus tôt [32]. La cinétique des concentrations en haptoglobine, fibrinogène et trois autres protéines de phase aigüe suite à l'injection d'essence de térébenthine sur 4 veaux montraient des résultats comparables (Figure 7 page suivante) [33].

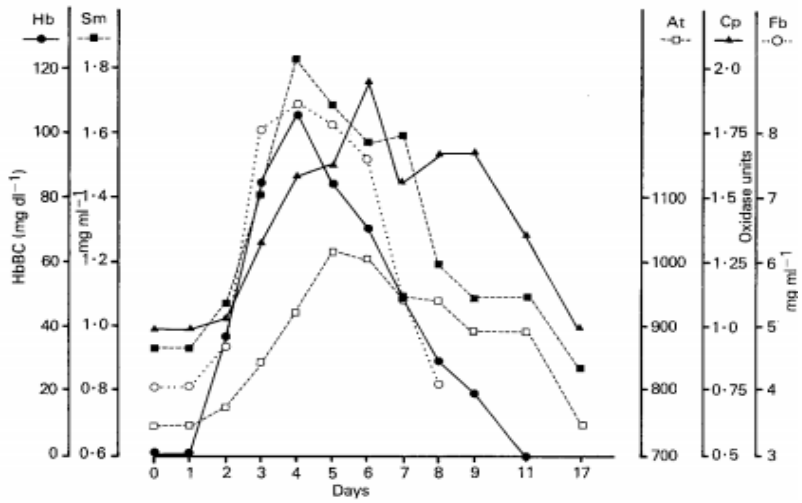


Figure 7: Valeur de cinq PPA chez des veaux ayant reçu une injection d'essence de térébenthine. : --◊-- AT, a1 antitrypsine ; ---▲Cp, céruléoplasmine ; --○-- Fb, fibrinogène ; ● Hp, haptoglobine ; ▪ Sm, séromucoïde sérique. Chaque point correspond à la valeur moyenne obtenue pour plusieurs échantillons sur quatre veaux [33].

Les résultats tirés des études précédentes nous montrent les cinétiques suivantes :

- La SAA augmente dans les 12 à 24h suivant le début du processus inflammatoire, atteint un pic vers 48h et diminue progressivement, jusqu'à un retour dans les valeurs usuelles dans la semaine suivant la fin de l'inflammation.
- L'haptoglobine augmente un peu plus tardivement, autour de 24h généralement, puis diminue dans la semaine suivant l'inflammation.
- Le fibrinogène qui est une PPA modérée chez les bovins possède une cinétique plus lente : il atteint un pic entre 48 et 72h et sa concentration reste élevée plus longtemps que les deux autres PPA (autour de 15 jours après la fin de l'inflammation).
- L'AGP présente la même cinétique que le fibrinogène.

Ces cinétiques peuvent varier en fonction de la sévérité de l'inflammation, de sa durée et de l'élément déclencheur [24, 31].

La Figure 8 synthétise la cinétique des marqueurs au cours d'un processus inflammatoire. Les délais de réponse peuvent différer de ceux décrit ici en fonction de la sévérité de l'inflammation et de sa résolution ou non (passage à la chronicité).

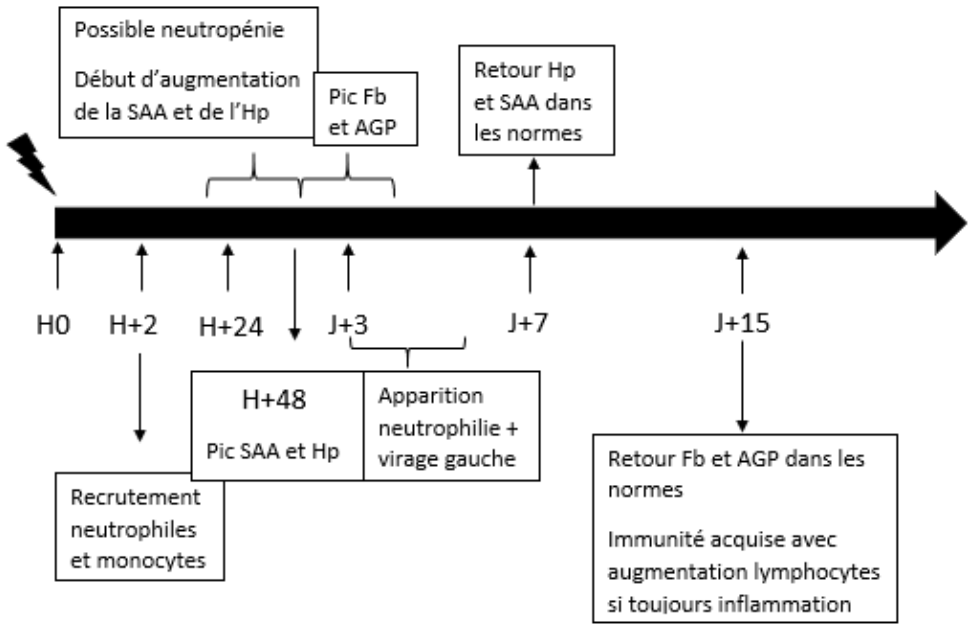


Figure 8: Cinétique des différents marqueurs depuis le début d'une inflammation.

L'inflammation est donc une réaction du système immunitaire inné pour lutter contre la propagation et les dommages engendrés par un agent agresseur ou lors de traumatisme. La présence de marqueurs de l'inflammation permet de mettre en évidence le statut inflammatoire de l'individu. La cinétique de ces marqueurs en fait des outils intéressants dans la détection d'une inflammation.

C. Marqueurs de l'inflammation chez les bovins : valeurs usuelles, variations physiologiques et pathologiques.

Les marqueurs de l'inflammation chez les bovins regroupent les cellules sanguines et PPA dont les variations sont importantes en cas de processus inflammatoire, c'est-à-dire : les neutrophiles, le ratio N/L, l'haptoglobine, le sérum amyloïde A et le fibrinogène. Afin d'objectiver la réponse de ces marqueurs en cas d'inflammation, il est nécessaire de connaitre à la fois leurs valeurs basales ainsi que leurs variations en situation physiologique. C'est ce que nous étudierons dans un premier temps, avant de prêter attention à leurs variations lors de situations pathologiques non inflammatoire, puis inflammatoire.

1) Valeurs usuelles

Les valeurs usuelles des paramètres hématologiques et des protéines de phase aigüe sont exposées dans les paragraphes suivants.

a) Paramètres hématologiques

La Numération Formule Sanguine (NFS) et le frottis sanguin sont deux examens complémentaires dont les valeurs usuelles et la morphologie des cellules varient en condition physiologique.

i. La Numération Formule Sanguine (NFS)

Dans le Tableau IV sont représentées les valeurs usuelles des paramètres hématologiques chez les bovins, définies lors d'une étude récente de 2018 [34] sur 156 bovins (50% allaitant, 50% laitier), et comparées ici avec les valeurs de Schalm éditées en 1965, et obtenues à partir de 62 bovins, encore largement utilisées comme valeurs de référence. Dans l'étude de 2018, les animaux ont été considérés comme sains après exclusion d'anomalies à l'examen clinique, dans la prise de commémoratifs et après analyse urinaire. Les études ont, bien entendu été réalisées sur des appareils différents.

Tableau IV: Valeurs et intervalles de référence de la NFS pour deux études : une de 2018 [34] et une de 1965 [14].

Numération formule sanguine			
Formule érythrocytaire			
Paramètres	**Intervalle de référence de 2018 (moyenne)**	**Ancien intervalle de référence (1965)** [14]	
Numération érythrocytaire (x10^6/µL)	4.8-7.6 (6.2)	4.9-7.5	
Taux d'hémoglobine (g/dL)	8.2-13 (10.5)	8.4-12	
Hématocrite (%)	22-36 (30)	21-30	
VGM (fL)	41.2-58.7 (50.2)	36-50	
TCMH (pg)	14.3-19.6 (17)	14-19	
CCMH (g/L)	324-358 (344)	380-430	
Numération réticulocytaire (x10^9/L)	0-6.8 (2.7)	0	
Formule leucocytaire			
Paramètre (nombre/µL)	**Intervalle de référence (moyenne)**	**Pourcentage de la population leucocytaire (%) [1]**	**Ancien intervalle de référence (1965)** [14]
Numération leucocytaire	4400-10800 (7200)		5100-13300
Neutrophiles	800-5000 (2700)	15-45	600-4000
Eosinophiles	100-2100 (700)	0-20	0-2400
Basophiles	0-100 (100)	0-2	0-200
Monocytes	300-1200 (200)	2-7	25-840
Lymphocytes	1800-4900 (3100)	45-75	2500-7500
Ratio neutrophiles/ lymphocytes [1]	0.40-2.34 (1.17)		ND
Autres			
Numération thrombocytaire	193.000-637.000 (315 000)		100.000-800.000

VGM : Volume globulaire moyen ; CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ; TCMH : Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine ; VPM : Volume plaquettaire.

[1] : valeurs obtenus d'après [35]

Les valeurs sont très proches pour les deux études, nous prendrons comme valeurs de référence celles de l'étude la plus récente (2018) car un plus grand nombre d'animaux a été prélevé.

ii. Frottis sanguin

Le frottis sanguin permet l'examen et le comptage des éléments figurés du sang, ainsi que la détection d'anomalies morphologiques cellulaires. C'est un examen rapide, peu coûteux et facilement réalisable en pratique car il ne nécessite comme matériel que deux lames, un microscope, et un kit de coloration [15]. Des cellules de bovins telles qu'elles sont observables au frottis sanguin sont représentées Figure 9.

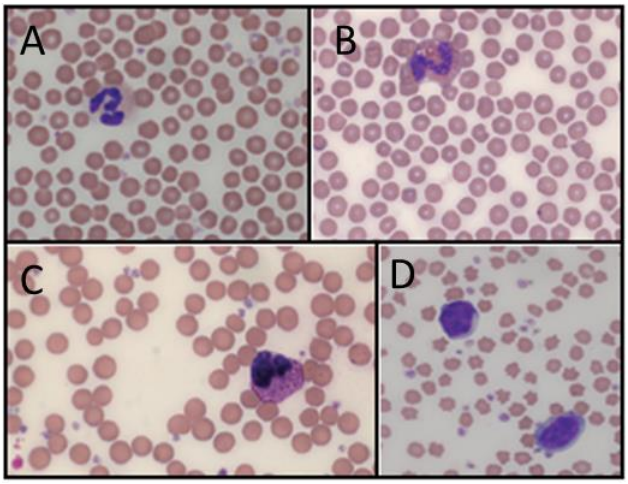


Figure 9: Cellules bovines observables au frottis sanguin.
A : un neutrophile, B : un éosinophile, C : un basophile et D : deux lymphocytes. Coloration de Wright. Image d'après [14]

C'est un examen de choix lors d'anomalie de l'hémogramme, car il permet d'affiner certaines hypothèses diagnostiques, lors d'anémie ou de neutrophilie par exemple. La Figure 10 page suivante est un arbre dichotomique portant sur l'interprétation d'un frottis en cas de neutrophilie. Le frottis est ici un examen complémentaire permettant de définir le type de neutrophilie auquel on est confronté. Les différents types de neutrophilie seront abordés plus en détail par la suite.

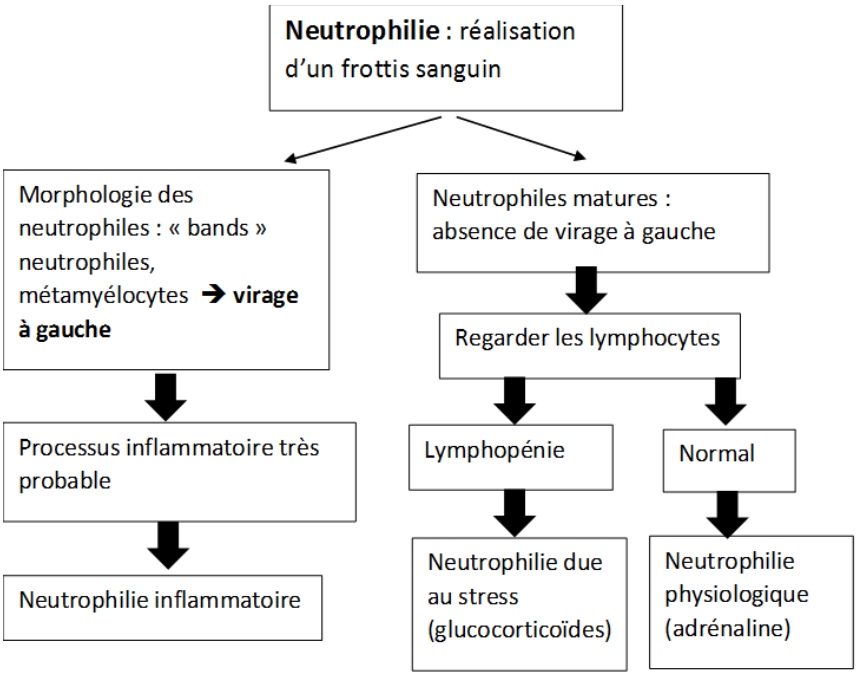


Figure 10 : Diagramme d'interprétation d'un frottis sanguin en cas de neutrophilie. D'après [14]

b) Les protéines de la phase aigüe de l'inflammation

Parmi les protéines sériques, nous allons parler de l'albumine et des globulines, auxquelles les PPA appartiennent.

Le tableau V présente les intervalles de référence des différentes globulines et de l'albumine, valeurs déterminées par électrophorèse.

Tableau V: Intervalle de référence des protéines sériques, d'après [36].

Fraction protéique	Moyenne (± écart type)	Centile 2.5	Centile 97.5
Protéines totales	67.80± 10.88	52.00	87.00
Albumine	31.60± 4.39	22.70	38.85
α1-globulines	5.80± 2.24	2.30	11.00
α2 globulines	5.90± 1.57	3.18	9.00
α-globulines	11.70± 3.81	5.48	20.00
β-globulines	7.40± 1.76	4.5	12.00
γ-globulines	16.40± 4.25	8.90	24.73

Valeurs obtenues sur 111 vaches en bonne santé servant de groupe de référence. Les moyennes et l'écart type associé sont dans la première colonne, les centiles à 2.5 et 97.5 % sont représentés ensuite, traduisant les valeurs de l'intervalle de référence à 95%.

Parmi les protéines sériques, nous nous intéresserons particulièrement à l'haptoglobine, au sérum amyloïde A, au fibrinogène, et à l'α1-glycoprotéine acide.

Les deux premières sont des PPA majeures, tandis que le fibrinogène est une PPA modérée dont le dosage peut être réalisé assez facilement, ce qui fait de lui un marqueur utilisable en pratique courante.

Enfin l'AGP, qui est également une PPA modérée, peut être dosée grâce à l'existence de kit commercial type Snaptest.

Pour ces quatre PPA, il n'existe aucune valeur de référence clairement décrite chez les bovins, les résultats varient selon les auteurs. Une partie est répertoriée dans le Tableau VI :

Tableau VI: Concentration des quatre PPA étudiées chez des bovins sains, selon différentes études.

Paramètres	*Unité*	*Seuil/ valeur*	*Nombre d'animaux*	*Population*	*Méthode de détermination*	*Référence*
Haptoglobine	mg/L	<300	10	Génisses en bonne santé de 6 mois,prélevées chaque semaine pendant 1 an	Hp binding capacity	Chan et al. 2004 [37]
	mg/L	100	NR	NR	NR	Panndorf et al. 1967 [38]
	mg/L	200	50	Bovins de race Holstein, mâle et femelle.	Colorimétrie (kit commmercial)	Nazifi et al. 2008 [39]
	mg/L	< 140	20	Bovins laitiers, mâle et femelle entre 3 mois et 2 ans	ELISA	Nazifi et al. 2009 [40]
	mg/L	0.36 ± 0.59	158	Toutes races et âges, mâles et femelles	ELISA	Mcnair et al 1997 [41]
	mg/L	80 +- 20	134	Toutes races, adultes	ELISA	Wolfger et al. 2015 [42]
Sérum Amyloide A	mg/L	< 25	10	Génisses en bonne santé de 6 mois,prélevées chaque semaine pendant 1 an	ELISA	Chan et al. 2004 [37]
	mg/L	23.9 ± 0.56	20	Bovins femelles entre 4 et 7 ans, 3 à 9 semaines post partum	Kit ELISA (Tridelta)	El-Deeb 2017 [43]
	mg/L	0-80	134	Toutes races, à l'engraissement	Kit ELISA (Tridelta)	Wolfger et al. 2015 [42]
	mg/L	8.8	82	Différentes races et âge	ELISA indirect	Haradagoda et al. 1999 [13]
	mg/L	4.49 +- 0.57	20	Différentes race et âges	ELISA (Tridelta)	Nazifi et al. 2009 [44]
A1 glycoprotéine acide	mg/L	200-450	82	Différentes races et âge	SRID	Haradagoda et al. 1999 [13]
	mg/L	283.2 +-82.3	152	Bonvins de race Holstein, entre 1 et 12 ans	SRID	Tamura et al. 1989 [45]
Fibrinogène	mg/dL	200-500	NR	Bovins adultes	NR	Smith 2009 [46]
Fibrinogène	Mg/dL	300-700	NR	Bovins adultes	NR	Weiss et Wardrop 2011 [14]
Albumine	g/dL	3-3.6	NR	Bovins adultes		Smith 2009 [46]

NR : résultats non rapportés ; SRID : Single Radial ImmunoDiffusion.

Les résultats répertoriés dans ce tableau montrent de grandes disparités, notamment en ce qui concerne l'haptoglobine (0.36-300 mg/L) et la SAA (0-80 mg/L).

Ces différences s'expliquent par la variabilité des méthodes d'analyse utilisées [41], la diversité des groupes d'animaux étudiés et, dans la plupart des cas, l'utilisation de l'examen clinique ou pas comme test de référence pour déterminer le groupe d'animaux sains.

En ce qui concerne l'haptoglobine, les auteurs s'accordent à dire qu'en dessous de 100 mg/L, la présence d'un processus inflammatoire est très peu probable. En revanche, lorsque la valeur dépasse les 150mg/L, il convient de rechercher une cause à l'origine d'une inflammation [47].

- Chez des animaux sains, on retiendra que l'haptoglobine doit être inférieure à **100mg/L**.

Pour la SAA, une valeur inférieure à 25mg/L indique l'absence d'une inflammation aigüe. Toutefois, des valeurs plus élevées peuvent être obtenues chez des animaux en bonne santé. Une étude portant sur 158 animaux indique que 97.5% des animaux sains ont une SAA <60mg/L, y compris en péri-partum [47].

- Chez des animaux sains, on retiendra que la SAA doit être inférieur à **25mg/L,** mais qu'une augmentation jusqu'à **60mg/L** n'est pas toujours le reflet d'une inflammation.
- Pour l'α1 glycoprotéine acide, les valeurs usuelles sont comprises entre **200 et 450 mg/L**.
- Pour le fibrinogène, les valeurs usuelles sont comprises entre **300 et 700 mg/dL**
- Pour l'albumine, les valeurs usuelles sont comprises entre **3 et 3.6 g/dL**.

Etant donné les différences entre les valeurs basales obtenues, il semblerait judicieux lors d'augmentation modérée des PPA (200-400 mg/L d'Hp, 80-120 mg/L de SAA) de déterminer également les concentrations chez des animaux cliniquement sains et soumis aux mêmes conditions d'élevage, afin de comparer les résultats. En effet, beaucoup de facteurs peuvent modifier de façon discrète les concentrations en PPA, sans qu'une inflammation ne soit présente.

Les PPA augmentent de façon significative dans les phases aigües de l'inflammation. C'est pourquoi il est possible que les concentrations soient dans les valeurs usuelles bien qu'une inflammation chronique est présente ; dans ce cas d'autres analyses doivent être mises en place pour la mettre en évidence.

2) *Variations physiologiques*

Certains marqueurs de l'inflammation peuvent voir leurs valeurs modifiées en fonction de paramètres physiologiques comme l'âge, le sexe, le statut physiologique des animaux, etc… Il est important de connaitre l'influence de ces paramètres sur les marqueurs afin de pouvoir juger de la présence d'un processus inflammatoire lors de leur variation.

a) Age.

Quarante veaux ont été prélevés 7 fois sur une période de 84 jours (de la naissance à J+84, prélèvements à 24-48h puis à J+14, J+28, J+42, J+56 et J+84) afin d'évaluer l'évolution de la numération formule sanguine au cours des premiers mois de vie [48]. Sous l'effet de la libération de cortisol au vêlage, la proportion de neutrophiles chez les veaux nouveau-nés est de plus de 90%. Une autre étude montre en parallèle une augmentation de la SAA et de l'AGP, avec un pic de la SAA atteignant 113mg/L 1 semaine post partum (contre 60mg/L le jour du vêlage). En revanche aucune variation de l'Hp n'est observée sur cette même période [49]. Suite à l'ingestion de colostrum les concentrations en globulines du veau sont augmentées [48]. Le fibrinogène, lui, est bas (160 ±130 mg/dL) voir indétectable chez les veaux nouveau-nés.

Dès la première semaine post-partum, on observe une rapide augmentation du nombre de lymphocytes, une diminution progressive des concentrations en SAA et AGP, une augmentation du fibrinogène [14] ainsi qu'une augmentation de l'albumine associée à une diminution puis stabilisation des globulines, protéines totales, leucocytes et neutrophiles jusqu'à atteindre les valeurs des bovins adultes à l'âge d'environ deux mois et demi [48].

Une étude portant sur plus de 6000 bovins séparés par classes d'âge et par races a montré une diminution significative des leucocytes avec l'âge. Plus précisément, il a été mis en évidence une diminution des lymphocytes et monocytes, associée à une augmentation discrète des neutrophiles jusqu'à l'âge de 4 ans, suivi d'une stabilisation des valeurs. Dans le Tableau VII sont représentés les résultats concernant la race Jersiaise, mais cette tendance est généralisable aux 17 autres races étudiées [50]. Les protéines totales et les globulines ont, elles, tendance à augmenter, sans toutefois dépasser les valeurs usuelles, avec une moyenne variant de 80 à 83 g/L entre primipares et multipares [51].

Tableau VII: Valeurs leucocytaires par classe d'âge chez des vaches Jersiaise.

Age	N	Leucocytes	Neutrophiles segmentés	Band neutrophiles	L	M	E	B
1-6m	16	8.8 ± 2.5	3.0±1.8	<0.1	4.7±1.3	0.7±0.4	0.5±0.2	<0.1
6-12m	10	7.8±1.8	0.8±0.5	0	6.3±1.5	0.6±0.2	<0.1	0
1-2a	14	9.0±2.5	2.4±1.4	0	5.9±1.6	0.4±0.2	0.5±0.4	<0.1
2-3a	31	9.4±1.8	2.2±0.9	<0.1	5.3±1.2	0.5±0.2	1.3±1.0	<0.1
3-4a	28	7.7±1.9	1.9±1.0	0	4.6±1.1	0.3±0.2	0.9±0.7	<0.1
4-6a	29	7.5±1.1	1.8±0.7	<0.1	4.0±0.9	0.5±0.2	1.2±0.7	<0.1
>6a	21	7.7±2.5	1.8±0.9	<0.1	4.3±2.1	0.4±0.2	1.3±0.7	<0.1

L : lymphocytes ; M : monocytes ; E : éosinophiles ; B : basophiles.

Concernant l'haptoglobine, aucune variation liée à l'âge n'est rapportée chez des animaux adultes [39].

b) Sexe et race

Une étude portant sur 1032 taurillons d'environ 7 mois, de race Angus, Romosinuano, Brahman et des animaux croisés entre ces trois races s'est intéressée à l'effet sexe et race sur l'haptoglobine, le fibrinogène et la céruléoplasmine [52]. Les résultats démontraient l'absence d'effet sexe sur les concentrations en haptoglobine et fibrinogène, résultats confirmés par d'autres études incluant également la SAA et l'AGP [45, 53].

L'effet race n'a pas été observé dans cette même étude [52], hormis lors de moment particulièrement stressant comme le sevrage. Concernant la NFS, le sexe et la race entrainent donc peu de variations de la numération formule sanguine. On retrouve une numération érythrocytaire plus élevée chez les vaches allaitantes par rapport aux vaches laitières, et chez les mâles par rapport aux femelles [14, 34]. Cependant, l'effet du sexe reste incertain car une autre étude a montré des résultats opposés [54].

Les variations liées au sexe et la race ne représentent donc que peu d'intérêt et nous ne nous en préoccuperons pas par la suite.

c) Stress et excitation

Lors d'induction expérimentale d'un stress par injection de cortisol [55] ou sous l'effet de stress physique ou émotionnel (transport [53, 56], sevrage [57], manipulation [58], chaleur [59], sol glissant [60]), on observe des modifications de la lignée blanche avec notamment un « leucogramme de stress » [14], ainsi qu'une augmentation des PPA.

Le « leucogramme de stress » se caractérise par une neutrophilie accompagnée d'une lymphopénie vraie (et quelquefois d'une éosinopénie et monocytose) [14] qui peuvent persister jusqu'à 72h après l'arrêt du stimulus [56]. Contrairement à de nombreuses espèces, la leucocytose n'est pas toujours observée en raison du faible ratio neutrophiles/lymphocytes observé chez les ruminants.

Au cours d'un épisode de stress très ponctuel (excitation) ou d'exercice, une leucocytose dite « physiologique » apparait par démarginalisation des neutrophiles sous l'effet de l'adrénaline. Cette leucocytose s'accompagne d'une érythrocytose et thrombocytose ayant pour origine une splénocontraction [15]. De très courte durée, elle disparait quelques heures après l'arrêt du stimulus, contrairement à celle induite par les glucocorticoïdes.

Dans les deux cas, on n'observe pas de neutrophiles immatures au frottis sanguin, contrairement à ce que l'on pourrait observer lors de neutrophilie d'origine inflammatoire (Tableau VIII).

Tableau VIII: Les différentes neutrophilies et NF et frottis associés, d'après [15]

Type de Neutrophilie	Nombre de lymphocytes	Cellules immatures
Physiologique (adrénaline)	Normal à augmenté	Absence
Stress (glucocorticoïdes)	Diminué	Absence à rares
Inflammation	Souvent diminué	Souvent présentes

La réponse des PPA est plus aléatoire et présente des variabilités individuelles, notamment en ce qui concerne l'haptoglobine, qui n'est pas toujours augmentée selon les individus [53, 60]. Parmi les hypothèses avancées, les auteurs citent un manque de sensibilité de l'haptoglobine, un spectre de cytokine incomplet pour stimuler sa synthèse lors de stress, ou bien une cinétique différente et plus longue par rapport à la SAA [53]. Il semble que ce soit la SAA qui présente les plus fortes variations lors d'un stress, l'augmentation de l'haptoglobine étant importante mais inconstante et celle du fibrinogène de faible amplitude.

d) Statut physiologique

La plupart des changements liés au statut physiologique s'observent au moment du part.

Une étude de 2006 réalisée sur 6 mois et incluant 158 vaches de race Holstein a permis de déterminer les variations de l'Hp et de la SAA au cours du péripartum [47]. Ces vaches ont été séparées en 2 groupes selon les résultats de l'examen clinique, leur commémoratif, et les données de production (baisse de lait, nombre de cellules, …). Lors d'anomalies (antécédents pathologiques, cellules, baisse de production laitière, examen clinique anormal, etc…), la vache était classée dans le groupe malade, dans le cas contraire elle se trouvait dans le groupe sain.
Sous l'action du cortisol fœtal qui augmente en fin de gestation, les auteurs ont noté une augmentation physiologique de la SAA et de l'Hp au cours de la première semaine suivant le vêlage, et ce pour les animaux malades comme pour les animaux sains (Figure 11). Un leucogramme de stress dans les jours précédant le vêlage est décrit, avec un nombre de

neutrophiles passant de 2.3x10^9/L à 3.5x10^9/L [61], suivi d'une rapide diminution par migration dans les tissus mammaires et l'utérus en post-partum [61–63].

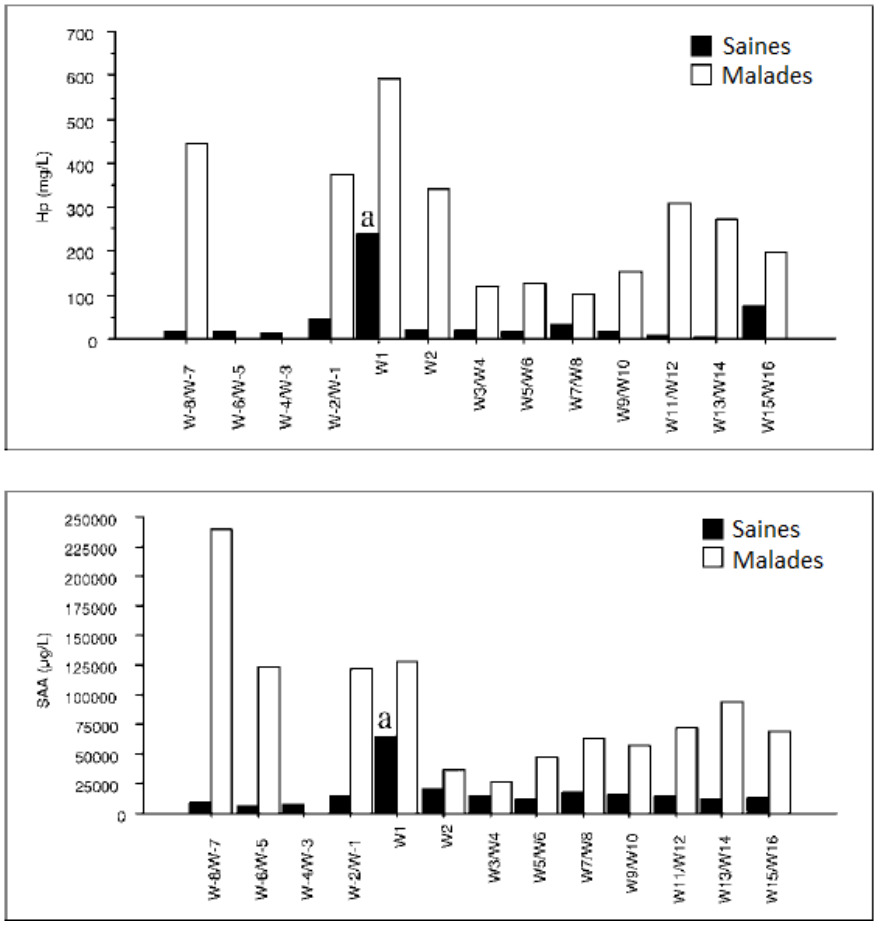


Figure 11: Variations de la concentration moyenne en Hp (en haut) et SAA (en bas) pendant le péripartum, chez 158 vaches Holstein.
Histogramme des valeurs obtenues de 7-8 semaines ante-partum à 15-16 semaines post partum. Les barres marquées d'un a représentent la semaine post-partum. En abscisse sont représentées les semaines pré et post-partum [47]

Il a été décrit une altération des fonctions des neutrophiles lors du part [61, 64] : diminution de leur capacité phagocytaire, augmentation de leur activité de réparation des tissus. Ces modifications induisent une immunodépression transitoire, qui, associée à un déficit énergétique, favorise l'incidence de métrites, de mammites, etc. [7, 64–66]. Cependant, en absence de maladies sous-jacentes, les concentrations en PPA et le nombre de neutrophiles reviennent à la normale une semaine post vêlage ; il s'agit donc d'un phénomène transitoire.

Ainsi des concentrations > 150 mg/L pour l'Hp, et > 60 mg/L pour la SAA sont considérées comme augmentées en post partum. En-dessous de ce seuil et jusqu'à une semaine postpartum, ces valeurs sont physiologiques. Lors de la détermination d'un état inflammatoire pathologique dans la semaine suivant le part, il convient donc d'augmenter les seuils de détection classiquement utilisés.

Comme lors d'épisode de stress, l'augmentation de l'haptoglobine et de la SAA n'est pas observable chez tous les individus : ici 15 animaux sur les 158 n'ont présenté aucune variation d'Hp ou de SAA.

Concernant les autres PPA, l'albumine diminue au moment du part, puis augmente progressivement entre une [67] et deux [68] semaines post partum. Ces observations, à

l'inverse de celles pour les autres PPA, concordent avec son rôle de PPA négative décrit en première partie.

e) Variations iatrogènes

- Corticostéroïde

Ces variations sont, la plupart du temps, liées à l'administration de médicament comme par exemple l'injection de corticostéroïdes ou à un stress ponctuel (manipulation) qui induit un « leucogramme de stress » chez les bovins, réponse similaire à celles observées chez de nombreuses espèces [69].

- Vaccination

Une augmentation de la concentration en Hp, SAA, Fb et une diminution de la concentration en Alb ont été observées à la suite d'injection vaccinale [70]. Cependant la réponse à la vaccination n'est pas stéréotypée et diffère selon le vaccin utilisé et sa valence [70, 71]. Elle est assez bien corrélée aux signes cliniques que sont l'hyperthermie et l'abattement parfois observés en réactions post-vaccinales. Les auteurs attribuent ces modifications à l'adjuvant contenu dans le vaccin, qui stimulerait plus ou moins la réponse inflammatoire non spécifique. Les modifications des PPA sont visibles rapidement, entre 12 et 24h post injection pour le fibrinogène et l'haptoglobine, avec un pic autour de 4 jours, puis diminuent pour revenir aux valeurs usuelles dans les dix jours suivants. Il est donc important de se renseigner sur la réalisation d'un acte vaccinal lors du dosage des PPA chez un bovin.

- Choc anaphylactique

Certaines substances, comme la pénicilline, peuvent induire un choc anaphylactique à l'origine d'une neutropénie par redistribution des neutrophiles vers les tissus (poumons essentiellement) ainsi qu'une augmentation de l'hématocrite lié à une hypotension et une splénocontraction [72].

3) *Variations pathologiques d'origine non inflammatoire*

Des situations non inflammatoires peuvent aussi entrainer des modifications de certains marqueurs et sont donc à prendre en compte lorsque l'on cherche à observer les variations des marqueurs.

a) Déshydratation

Lors de déshydratation, l'hémoconcentration entraine une hyperalbuminémie, une hyperfibrinogénémie au-delà de 700mg/dL [73], tandis qu'une réhydratation rapide à l'effet inverse. Les autres PPA (haptoglobine, SAA) ayant une concentration basale très faible, les modifications induites par une déshydration restent quasi imperceptibles.

L'examen clinique permet de faire la distinction entre une hyperprotéinémie vraie ou relative (c'est-à-dire due à la déshydration). Dans ce dernier cas, on pourra identifier comme signes cliniques une énophtalmie, une persistance du pli de peau et des muqueuses sèches [14], dont l'importance permettront de grader la déshydratation.

Une expérience de restriction hydrique et alimentaire imposée à des bovins pendant 24h a entrainé une augmentation faible (autour de 160 mg/L) mais constante de l'Hp pendant deux semaines [74]. Le stress et la libération de toxines par mort des bactéries ruminales lié au jeûne en seraient responsables.

b) Atteinte rénale

C'est au niveau des fibroblastes péritubulaires du rein qu'est synthétisée en priorité l'érythropoïétine (EPO) chez l'adulte [14]. Une atteinte rénale comme une tumeur ou une insuffisance rénale chronique peut modifier la synthèse d'EPO, et par voie de conséquence, l'hématopoïèse, soit en la stimulant (cas d'une tumeur), soit en la diminuant par défaut d'EPO (cas d'une insuffisance rénale chronique). Bien que les signes cliniques de lésions rénales soient tardifs (60% de la fonction rénale doit être atteinte), on détecte alors respectivement une anémie non régénérative, normochrome et normocytaire beaucoup plus marquée que dans le cas d'une anémie inflammatoire [15] .

c) Atteinte hépatique

L'insuffisance hépatique peut être à l'origine d'une hypoalbuminémie. Le foie étant l'unique lieu de synthèse de l'albumine, en cas d'insuffisance hépatique sévère sans atteinte de la fonction rénale, on observe donc une hypoalbuminémie. En cas d'hépatopathie chronique, elle peut s'accompagner d'une hyperglobulinémie modérée, et donc d'une diminution du rapport albumine/globuline [75].

d) Maladie congénitale

- BLAD : Bovine Leucocytes Adhesion Deficiency

Le défaut d'adhérence des leucocytes chez les bovins (Bovine Leucocytes Adhesion Deficiency ; BLAD) était une maladie héréditaire autosomale récessive des vaches Prim-Holstein résultant en une expression défectueuse des β2-intégrines des leucocytes, n'existant désormais plus en France. Ceci entraine un défaut de l'activité des neutrophiles et une immunodéficience primaire, prédisposant les animaux atteints à des surinfections secondaires. Une neutrophilie persistante marquée, sans anomalie morphologique visible est présente. Il n'est pas rare d'avoir des valeurs au-delà de 60.000 neutrophiles/µL, soit plus de 10 fois les valeurs usuelles. Elles s'accompagnent parfois d'une monocytose [76].

- Amyloïdose A

L'amyloïdose-A est une maladie rare (2.9% des motifs de saisies des reins à l'abattoir entre 1979 et 1980, à Dublin [77]) affectant davantage les bovins âgés. Elle serait secondaire à un épisode inflammatoire chronique, comme une mammite ou une arthrite ; cependant l'étiologie reste encore en partie inconnue. Malgré le rôle de la synthèse de SAA dans l'initiation de l'amyloïdose, aucune corrélation n'a été démontrée entre une hausse de la concentration en SAA sérique et l'amyloïdose, que ce soit chez l'homme ou chez les bovins [78].

e) Affections gastro-intestinales

En cas de déplacement de caillette à gauche et déplacement de caillette à droite, la concentration en Hp et SAA est augmentée comparée à des animaux sains, que ce soit dans le sang ou dans le liquide péritonéal. Cependant, cette augmentation, ainsi que celle du fibrinogène, reste très discrète en l'absence de complication et dépasse rarement les seuils critiques témoignant d'une inflammation [79, 80]. L'endotoxémie n'est pas fréquemment identifiée lors de déplacement de caillette, à gauche ou à droite, avec torsion [81], ce qui peut expliquer que les valeurs restent dans la normale.

4) *Variations en cas de processus inflammatoire*

Les variations des marqueurs lors de processus inflammatoire sont beaucoup plus marquées qu'en condition non inflammatoire. On retrouve les processus inflammatoires d'origine infectieux et non-infectieux.

a) Variations associées à un contexte inflammatoire infectieux

La réponse des marqueurs face aux infections des différents appareils est explorée ici.

i. Infections gastro-intestinales

- Diarrhée néonatale

Chez des veaux, en cas de diarrhée, on observe une augmentation de la SAA et de l'Hp (mais pas du fibrinogène). Celle-ci est d'autant plus importante que les signes cliniques sont marqués [82], et que la diarrhée est d'origine bactérienne par rapport aux diarrhées d'origine virale [83]. Certains agents infectieux, comme *Eimeria*, ne semble provoquer qu'une faible réponse de phase aigüe. Peu d'études portent sur les cas de diarrhée d'animaux adultes, mais on peut supposer une augmentation des PPA due à l'inflammation intestinale lors de diarrhée d'origine bactérienne comme la salmonellose.

- Acidose ruminale

L'induction expérimentale d'une acidose ruminale aigüe par ingestion d'oligofructose (17g/kg) chez des génisses a entrainé une très forte augmentation de la concentration en SAA (multipliée par 300) et de l'Hp (multiplié par 1000) dans les 12h suivant l'ingestion, avec un pic à 48h. Ces changements s'accompagnaient de signes de fourbure le lendemain de l'induction [84]. Concernant le fibrinogène, l'augmentation était plus tardive (48h) et moins prononcée (x2). Des changements similaires ont été observés lors d'acidose subaigüe, avec une amplitude plus faible des concentrations en Hp et SAA (entre x 1.8 et 5 et entre x 2.8-5 respectivement)[85].

Ces changements sont le résultat de plusieurs facteurs pro-inflammatoires : l'abaissement du pH ruminal par modification de la flore microbienne du rumen provoque la libération des PAMPs à l'origine d'une ruminite. Cette inflammation de la paroi ruminale favorise la libération d'histamine et de composés de la paroi bactérienne, et entraine une augmentation de la perméabilité du rumen. Le passage d'endotoxines du rumen vers la circulation sanguine est alors possible et est à l'origine d'une endotoxémie.

- Réticulo-péritonite traumatique

La réticulite traumatique (RPT) est une affection fréquente qui affecte des bovins de tout âge et race, et est due à la présence d'un corps étranger (souvent métallique) dans la paroi du réseau. Sous l'effet des contractions, ce corps étranger peut venir perforer la paroi du réseau et se déplacer en direction du foie ou du péricarde. Il entraine alors une péritonite et/ou péricardite. L'inflammation est, au départ, uniquement liée au traumatisme créé par l'effraction de la paroi du réseau mais, par inoculation de germes, elle est rapidement entretenue par l'infection bactérienne. L'évolution des marqueurs de l'inflammation a été particulièrement bien étudié dans le cas de RPT [86–88] :

Sur 97 animaux présentés pour chirurgie abdominale (péritonites, césarienne, déplacement de caillette, laparotomie exploratrice), les concentrations en haptoglobine et fibrinogène ont été déterminées en pré-opératoire (Tableau IX page suivante).

Tableau IX: Moyennes pré-opératoire ± l'écart type standard de l'haptoglobine et du fibrinogène chez 97 vaches divisées en 4 groupes selon le diagnostic clinique ou l'acte réalisé [79].

Paramètres	RPT n=11	Laparotomie exploratrice n=9	Césarienne n=10	Déplacement de caillette n=67
Fibrinogène (mg/dL)	1160 ± 100	620 ± 50	630 ± 50	620 ± 20
Rapport fibrinogène/PT	8.6 ± 0.8	14.4 ± 1.1	12.2 ± 0.6	13.4 ± 0.5
Haptoglobine (mg/L)	1070 ± 90	140 ± 80	70 ± 40	150 ± 30

RPT : réticulopéritonite traumatique.

Dans cette étude, les concentrations en fibrinogène et haptoglobine sont significativement plus élevées pour le groupe RPT, les valeurs étant égales à 1.5 et 10 fois le seuil limite supérieur, respectivement.
Le fibrinogène serait, selon plusieurs études, un bon outil diagnostic dans le cas de RPT chez les bovins car il augmenterait dans 70% des cas [86] : la valeur de 622mg/dL de fibrinogène et 7.22g/dL de protéines totales sont des seuils qui présentent une Se de 88% et une Sp de 86% pour différencier une RPT d'autres affections intestinales, diagnostic confirmé par laparotomie dans cette étude [87]. En plus du fibrinogène, une leucocytose neutrophilique, avec un nombre de neutrophiles au-delà de 3350 neutrophiles/µL était l'anomalie hématologique la plus fréquemment observée (90% des animaux présentaient une leucocytose) [86]. Cependant, les modifications de la NF ne sont pas systématiques car seulement 42% des bovins atteints de RPT présentaient un comptage leucocytaire en dehors des valeurs usuelles, expliquant la faible spécificité. Les modifications dépendent à la fois de la réaction inflammatoire de l'organisme et de la gravité des lésions.

Le diagnostic de péritonite chronique ou localisée est plus délicat car les valeurs de SAA et Hp ne sont que peu augmentées, seul le fibrinogène reste dans les valeurs hautes [88]. La réalisation d'une paracentèse, laparotomie exploratrice, ou échographie peuvent dans ce cas aider au diagnostic.

ii. Infections respiratoires

Chez les bovins, et plus particulièrement chez les jeunes veaux et veaux de boucherie, les affections respiratoires font partie des maladies les plus courantes nécessitant l'appel du vétérinaire ; elles ont en général une forte morbidité et peuvent rapidement engendrer une perte de production importante. Parmi les agents infectieux, on retrouve des virus (RS, PI3) et des bactéries (*Manheimia hemolytica, Pasteurella multocida, Mycoplasma bovis* pour les plus courantes) qui peuvent être à l'origine de surinfections.

Le suivi des concentrations en SAA et Hp suite à l'induction expérimentale de RS chez des veaux âgés de 7 à 14 jours permet d'évaluer la réponse de phase aigüe au cours du temps [89]. Dès le 3^{e} jour post-inoculation, la SAA a augmenté jusqu'à atteindre un pic entre 5 et 8 jours. Les valeurs détectées (60-80 mg/L) ont été entre 5 à 7 fois supérieures à celles obtenues chez les animaux sains, tandis que les valeurs de l'haptoglobine ont été multipliées par 500 (8000-10 000 mg/L). Cette augmentation s'accompagne de l'apparition des signes cliniques avec de l'hyperthermie, du jetage, une augmentation des bruits respiratoires et la présence de bruits surajoutés. Il ressort que l'infection virale entraine une réponse de phase aigüe similaire à

celle observée lors d'infection respiratoire bactérienne, ce que confirment certains auteurs [90]. Cependant cette observation n'est pas partagée par tous, certains affirmant qu'au contraire l'haptoglobine ne répond que lors d'infections bactériennes [91], et non virales. A l'augmentation des PPA s'ajoute une leucocytose neutrophilique, marquant la présence d'un état inflammatoire [92].

La concentration en haptoglobine, SAA, fibrinogène et AGP serait positivement corrélée à la sévérité de la maladie et aux lésions pulmonaires détectées à l'autopsie. La présence d'infection mixte prolongerait la durée de la réponse de phase aigüe [90, 91].

Ces PPA sont également de bons marqueurs pronostics de la maladie [93, 94], et restent élevées même lors d'épisodes chroniques [95]. En cas de chronicité, une augmentation des γ-globulines, des protéines totales et une diminution de l'albumine s'ajoutent à l'élévation de la SAA et de l'Hp.

Une méta-analyse réalisée sur 17 études portant sur l'infection naturelle de bovins par des pathogènes à tropisme respiratoire montre que l'Hp serait un meilleur outil diagnostic que la SAA et le Fb pour mettre en évidence une atteinte respiratoire. Cependant les biais liés à la méthode diagnostique et aux nombre d'individus étudiés sont importants, et les auteurs se sont trouvés dans l'impossibilité de déterminer les valeurs diagnostics de chaque PPA à partir des 17 études, car les différences concernant les tests de références, les méthodes d'analyse, et les animaux utilisés entre les études étaient trop importantes [96].

iii. Infections de l'appareil reproducteur

Comme évoqué plus haut, le post partum est une période clé dans le développement de pathologies de l'appareil reproducteur chez la vache. En condition physiologique, l'utérus est stérile 7 jours après le part. Or chez 10% à 50% des vaches on recense la présence importante de bactéries intra-utérines passé ce délai [97, 98]. Cela pourrait être lié à l'association entre modifications hormonales et métaboliques au moment du part induisant une immunodépression consécutive à l'altération de la fonction des neutrophiles. Cela favorise également la survenue de rétentions placentaires et d'autres affections utérines [99, 100]. Parmi les affections utérines les plus fréquentes, on cite les métrites, les endométrites, les cervicites et les rétentions placentaires, dont les incidences respectives sont de 10-20%, 10-30% , 15-40% et 3-39% [98, 99]. Dans la majorité des cas, ces affections sont concomitantes (ex : les rétentions placentaires favorisent l'apparition de métrites). Les bactéries les plus fréquemment isolées sont *E.coli et Trueperella pyogenes*.

Lors d'affection génitale, il a été démontré une augmentation des PPA (AGP,Hp, SAA) au-delà d'une semaine post partum. Cette augmentation est associée à une augmentation des cytokines pro inflammatoires [101], et semble directement liée à l'importance de la contamination bactérienne [97], et à sa durée. Les animaux atteints présentent une leucocytose neutrophilique modérée mais significative, qui disparait en cas de traitement anti-bactérien, preuve du rôle des bactéries dans l'induction de la réponse inflammatoire [63]. L'inflammation doit être suffisamment sévère pour avoir des répercussions sur la synthèse des PPA, suggérant qu'une atteinte localisée à l'utérus ne pourrait pas, à elle seule, stimuler la synthèse de PPA [101].

Certains auteurs proposent également un mécanisme inverse selon lequel une inflammation excessive serait un facteur de risque de survenue d'affection génitale. En effet, en condition

physiologique, l'inflammation de l'utérus liée au passage du veau lors du vêlage est contrôlée par le système immunitaire inné et les bactéries sont éliminées dans les jours suivant le vêlage. Or, il semblerait qu'en cas d'inflammation excessive ou prolongée (mauvaise réponse du système immunitaire), l'incidence des endométrites et autres infections utérines augmenterait. Ce mécanisme est schématisé dans la Figure 12.

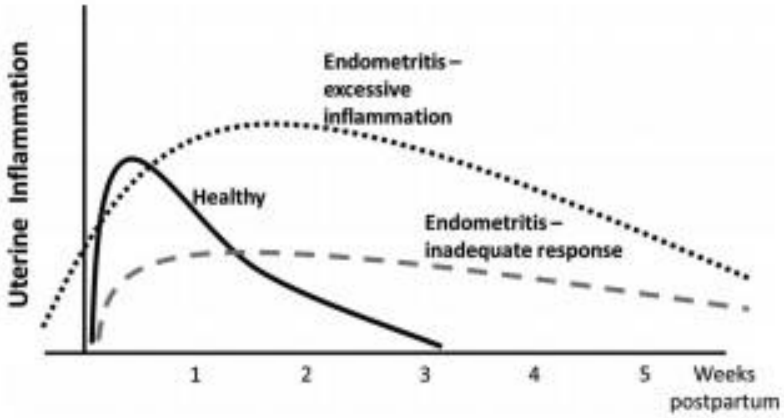


Figure 12: Représentation schématique conceptuelle de la réponse inflammatoire et immunitaire chez des vaches laitières en période postpartum.
L'inflammation « excessive » fait référence à une inflammation suffisamment sévère ou prolongée pour altérer plutôt qu'améliorer les performances reproductives. La réponse « inadaptée » fait référence à l'échec du système immunitaire à détruire les pathogènes utérins dans les 3 semaines suivant le part [102].

Certains auteurs affirment qu'une mesure précoce de l'haptoglobine (avant le part ou dans la semaine suivant le part) permettrait d'évaluer le risque de développement d'infection génitale, et ce avant l'apparition de tout signe clinique. Ainsi, un bovin pour lequel la concentration en Hp serait supérieure à 1g/L à J+3 post partum aurait 6,7 fois plus de chance (Se : 50%, Sp : 87%) de développer une métrite qu'un animal dont la valeur serait sous ce seuil [103], ou qu'une valeur > 800 mg/L durant la semaine suivant le part serait un facteur de risque au développement d'endométrite clinique, subclinique ou de métrite [104].

iv. Pathologies systémiques

- BVD

La BVD (Bovine Viral Diarrhea) est une maladie virale présente en France et dont l'éradication est un des grands enjeux actuels avec mise en place récemment du plan BVD 2020, permettant le dépistage du cheptel dès le plus jeune âge.

Les signes cliniques lors d'infection par le virus BVD sont variés, depuis les infections subcliniques (70%-90% des animaux infectés) aux infections aigües transitoires, en passant par la maladie des muqueuses développée par les animaux IPI (Infectés Permanents Immunotolérants).

L'infection transitoire expérimentale de veaux naïfs par le virus de la BVD a été suivie d'une augmentation des concentrations en Hp, SAA et fibrinogène, cependant, cette augmentation est restée discrète [105, 106]. Elle a été détectée autour de 7-9 jours, durée qui concorde avec celle d'apparition des signes cliniques. L'augmentation en IFN-α, cytokine présente lors d'infection virale, a précédé de quelques jours celle des PPA et diminue rapidement. En revanche, lors d'infections mixtes, comme lors de surinfection bactérienne sur des animaux

déjà séropositifs, la concentration en IFN- α est restée élevée plus longtemps, signifiant que la présence de bactéries pourrait stimuler le pouvoir infectieux du virus, et vice-versa. La durée et la sévérité de l'inflammation et des signes cliniques ont augmenté également [90].

Lors d'infection naturelle par contact avec un animal viropositif, une réponse de phase aigüe a été observée (synthèse d'IL1, IL6 et TNF-α), mais cette réponse n'a souvent pas été assez sévère pour engendrer la synthèse de PPA [107]. Cependant les auteurs ont observé une leucopénie et une altération de la fonction immunitaire et inflammatoire, avec une diminution du nombre de neutrophiles, de lymphocytes T et B, de thrombocytes et de certaines cytokines (IL-1, TNFα), ainsi qu'une altération de l'activité bactéricide et cytotoxique des neutrophiles. Ces changements ont entrainé une immunodépression favorisant le développement d'infections concomitantes.

L'infection par le virus de type 2 peut provoquer un syndrome hémorragique fatal dû à une thrombocytopénie [46]. Au niveau de la moëlle osseuse, le virus agirait à la fois en perturbant la myélopoïèse et en altérant les mégacaryocytes [14]. En effet, il a été rapporté la présence d'Ag BVD dans des mégacaryocytes en phase de nécrose [108]. Bien que les mécanismes restent en partie incompris, ceux-ci seraient à l'origine de la neutropénie et de la thrombocytopénie observées. De plus, l'infiltration des tissus lymphoïdes provoquerait leur destruction, à l'origine de la lymphopénie.

La maladie des muqueuses touche les animaux entre 6 mois et 2 ans. Les signes cliniques associés sont de la diarrhée, une érosion des muqueuses, un abattement important, une perte d'état. Le développement ou l'aggravation de maladies concomitantes est fréquent, le virus entrainant une immunodépression. Chez les animaux atteints, on identifie une neutropénie et thrombocytopénie parfois sévères, associées à une diarrhée profuse lors des formes aigües [46]. Lors de forme plus chronique, on observe une anémie ainsi qu'une neutropénie et thrombocytopénie modérée, en accord avec les mécanismes expliqués précédemment. Quelle que soit la vitesse d'évolution de la maladie des muqueuses, elle conduit à la mort de l'animal par affaiblissement.

- Leucose bovine enzootique

La leucose bovine enzootique est une maladie virale chronique causée par un rétrovirus : le BLV (Bovine Leukemia Virus). C'est une maladie éradiquée en France métropolitaine mais encore présente mondialement, en particulier en Amérique du Nord où elle est responsable d'une baisse des performances zootechniques chez les animaux atteints.

Environ 30% des animaux infectés par le virus présentent une leucocytose lymphocytaire chronique par prolifération des lymphocytes B. Il n'est pas rare de trouver des valeurs dépassant 33x10^9 GB/L [109], soit plus du triple des valeurs usuelles, ainsi qu'un ratio neutrophiles/lymphocytes fortement diminué (autour de 0.2) chez les animaux en phase clinique.

A ce jour, une seule étude s'est intéressée à déterminer les PPA chez des bovins séropositifs pour la leucose bovine. La présence du virus est associée à une augmentation significative de l'Hp et du Fb même sur des animaux ne présentant aucun symptôme [110].

Chez 3 à 4% des animaux infectés, le développement d'un lymphosarcome B est observé [14]. Il s'accompagne cliniquement d'une augmentation des nœuds lymphatiques périphériques,

d'une anorexie, d'un amaigrissement et des dysfonctionnement de certaines fonctions vitales, en fonction du lieu de développement de la tumeur (les principaux étant l'atrium droit, l'utérus et la moëlle épinière [46]). Il n'existe aucun traitement curatif. Chez les chiens, l'augmentation de certaines PPA est observée lors de néoplasie des nœuds lymphatiques (leucémie, lymphome). Il reste encore à savoir si ces changements évoluent sur la durée, mais la connaissance du statut de l'animal vis-à-vis de la leucose peut être intéressant en cas d'augmentation de l'Hp dans un élevage non indemne.

v. Affections locomotrices

La présence de lésions podales entraine une augmentation des trois PPA que sont l'Hp, la SAA et le fibrinogène, tandis qu'elle a peu d'influence sur l'hémogramme [111]. De grandes diversités dans la réponse de phase aigüe sont observées selon le type de lésions (Tableau X).

Malgré des valeurs de Hp augmentées dans l'étude de Ilievska et al. [112], ces différences ne sont pas significatives ce qui peut être expliqué par le faible nombre d'animaux inclus dans les différents groupes. Concernant la SAA, l'augmentation est significative seulement pour les ulcères de la sole et les cas de fourbure, confirmant les résultats d'autres études [113] qui montrent une forte réponse de phase aigüe en cas d'ulcère de la sole.

Des différences existent entre des processus aseptiques (fourbure), mixtes (ulcère de la sole) ou purement infectieux (dermatite digitée), la synthèse des PPA étant plus importante en cas de fourbure et ulcère de la sole qu'en cas de dermatite digitée. Bien que cela n'ait pas été décrit, ces différences pourraient être liées à la douleur provoquée par ces lésions. En effet, des lésions peu sévères comme une érosion des talons ou un décollement de la ligne blanche n'entraine pas de variations des PPA, contrairement aux lésions douloureuses citées précédemment. Cependant, de grandes disparités entre les individus sont rapportées, certains animaux avec des lésions graves ne présentent pas ou peu de réponse de phase aigüe.

Enfin, en cas d'arthrite septique ou d'abcès sur le site d'amputation, l'augmentation des PPA est plus marquée, avec des concentrations dépassant 1000 mg/L pour le Fb et 2000 mg/dL pour l'Hp [114].

Tableau X: Valeurs des PPA pour diverses atteintes podales. Les résultats sont exprimés en moyenne ± l'écart type standard.

Paramètres	***Ulcère de sole (n=10)***	***Décollement de la ligne blanche (n=5)***	***Fourbure (n=13)***	***Dermatite digitée (n=15)***	***Erosion de la corne (n=7)***	***Limace (panaris interdigité) n= 60***
Choix du groupe control	Animaux ne présentant aucune anomalie lors de l'examen clinique					Animaux ne présentant aucune anomalie lors de l'examen clinique, absence de boiterie, absence de lésions podales après parage.
Hp mg/L	590 ± 80	250 ± 30	590 ±	370 ± 30	290 ± 20	2150 ± 250
	Groupe contrôle n = 14 220 ± 10					**Groupe contrôle** n = 42 160 ± 30
SAA mg/L	590 ± 52.39 (111.3 ± 5 9.51)	95.6 ± 13.61 (111.3 ± 5 9.51)	442.76 ± 76.98 (111.3 ± 5 9.51)	281.26 ± 29.44 (111.3 ± 5 9.51)	195.28± 8.95 (111.3 ± 5 9.51)	308.05 ± 38.65
	Groupe contrôle n = 14 111.35 ± 9.51					**Groupe contrôle** n = 42 330 ± 61.3
Albumine g/L	**NR**					35.91 ± 0.36
						Groupe control n=42 37.79 ± 0.38
Référence	[112]					[115]

vi. Infections de l'appareil cardio vasculaire

Les maladies infectieuses de l'appareil cardiovasculaire chez les bovins sont relativement peu fréquentes, mais certainement sous diagnostiquées. Par ordre de fréquence, on retrouve les endocardites bactériennes, les myocardites et les péricardites [116].

- Endocardite

Les endocardites, le plus souvent valvulaires, sont majoritairement d'origine bactérienne, et secondaire à la dissémination sanguine de bactéries depuis un foyer infectieux (mammites, péricardites, métrites) jusqu'au cœur. Une augmentation des PPA y est fréquemment associée [117]

- Péricardite

Les péricardites sont souvent d'origine traumatique dans un premier temps (liées à un corps étranger vulnérant d'origine ruminale) mais le développement d'une infection secondaire est fréquemment observé.

Les signes cliniques sont peu sensibles et peu spécifiques : la présence d'un souffle, de turgescence des jugulaires, d'œdème ventral, d'une tachycardie traduisant une atteinte cardiaque sont tardifs chez les animaux atteints [118].

Les modifications hématologiques témoignent très souvent d'une inflammation d'origine infectieuse plutôt chronique, comme une leucocytose neutrophilique. Certains auteurs [119] rapportent la présence d'une leucopénie dans 75% des cas, mais qui reste associée à une neutrophilie, et confirment le manque de sensibilité et de spécificité des signes cliniques pour diagnostiquer une maladie cardiaque et l'intérêt du recours à l'examen échographique pour le confirmer.

Le recours à d'autres mesures, comme la concentration en haptoglobine, Fb et SAA permet d'affiner le diagnostic. Une augmentation de ces PPA lors de RPT et d'endocardites a déjà été décrite [88, 120]. Les autres modifications fréquemment associées sont une hypoalbuminémie, une hypergammaglobulinémie, et une hyperfibrinogénémie (>700mg/dL) [120], ainsi qu'un temps de coagulation diminué lors de la réalisation du test au glutaraldéhyde.

Globalement, l'apparition tardive des signes cliniques et le manque de sensibilité des analyses hématologiques mènent à un sous diagnostic ou à un diagnostic tardif des péricardites de la part des vétérinaires.

vii. Infections mammaires

La réponse inflammatoire lors de mammites a été particulièrement bien étudiée chez les vaches, compte tenu des pertes économiques engendrées par les animaux atteints.

- Réponse systémique

Qu'elle soit clinique ou subclinique, une mammite résulte en une inflammation du tissu mammaire, le plus souvent suite à une infection bactérienne. Les modifications observées lors des analyses sanguines sont le reflet de cette inflammation :une leucocytose neutrophilique, une lymphopénie et une hyperglobulinémie sont observées, sans différences notables entre les mammites cliniques et subcliniques [121]. Selon les études une augmentation entre 30 et 55% du nombre de leucocytes circulants avec inversion de formule est décrite [122, 123],

tandis que le fibrinogène augmente. Il peut représenter jusqu'à 20% des globulines totales en cas de mammite (contre 13% chez des animaux sains) [121]

Ces modifications sont le résultat d'une inflammation du tissu mammaire liée à la présence de bactéries. En cas de mammites aigüe à *E. coli* ou *S. uberis* (les plus fréquemment isolés lors de mammites aigües), l'inflammation sévère locale associée à la toxémie, par passage des toxines bactériennes dans la circulation sanguine, engendre une leucopénie par épuisement des neutrophiles et une augmentation de la SAA et de l'Hp sérique [124]. Un phénomène d'immunisation semble se mettre en place lors d'une première infection, rendant les infections suivantes moins sévères et permettant une réponse plus rapide de l'organisme [31]. On observe alors une réponse de phase aigüe de plus faible amplitude.

Pour différencier des mammites à Gram – et Gram + , le comptage sanguin des neutrophiles segmentés, des monocytes et de l'hémoglobine serait un bon outil diagnostique; les mammites à Gram – présentant des valeurs inférieures pour ces trois paramètres que celles à Gram + [125]. Cependant, aucune valeur seuil ne permettrait la discrimination entre les deux étiologies.

- Réponse mammaire

A la production hépatique de ces deux protéines s'ajoute une production par le tissu mammaire, de la SAA essentiellement, qui n'est pas notée en cas d'inflammation extra-mammaire [21]. Selon les études, la concentration en SAA dans le lait en cas de mammites peut être jusqu'à 5 fois supérieure à sa concentration sérique. La synthèse locale n'est pas seule à l'origine de cette augmentation. L'inflammation de la mamelle entraine une augmentation de la perméabilité vasculaire et s'accompagne du passage des PPA sanguines vers le tissu mammaire, participant ainsi à l'augmentation de leur concentration dans le lait.

L'augmentation de la concentration en PPA lors de mammite est intéressante dans le cadre de diagnostic précoce ou pour diagnostiquer des mammites subcliniques, mais cette affirmation est discutée entre les auteurs. Le dosage de la SAA semble présenter plus davantage que celui de l'haptoglobine en ce sens : sa concentration dans le lait serait corrélée au nombre de cellules, elle présenterait moins de variations individuelles et une meilleure efficacité diagnostique (sensibilité et spécificité)[8]. En revanche, l'intérêt des PPA lors d'épisodes chroniques est encore discuté car les résultats présentent de grandes variabilités individuelles.

v. Infections hépatiques

Une cirrhose, des abcès hépatiques, de la fibrose (due au parasitisme) ou encore une hépatite bactérienne peuvent engendrer des lésions du parenchyme hépatique à l'origine d'une hypoalbuminémie par défaut de synthèse, et d'une hyperfibrinogénémie, notamment dans le cas d'abcès [126]. D'autres modifications hématologiques associées à l'atteinte hépatique peuvent être observées, notamment une neutrophilie en cas d'abcès ou d'hépatite bactérienne ou une éosinophilie en cas de parasitisme (inconstante).

En règle générale, les PPA ne sont pas modifiées [127] car la phase aigüe de l'inflammation est rarement identifiée. En effet, il s'agit souvent de lésions mises en évidence à l'abattoir ou lors d'autopsie, c'est-à-dire bien après la phase aigüe de l'inflammation.

vi. Parasitisme

Une augmentation des PPA a été observé lors d'infection par des rickettsie [128], lors de parasitisme gastro-intestinal [129], de parasitisme pulmonaire [130] et de parasitisme hépatique.

- Parasitisme gastro-intestinal et pulmonaire

En règle générale, l'augmentation des PPA reste discrète lors d'infection parasitaire naturelles, voire inexistante en cas de parasitisme subclinique [131]. Cependant, la présence de lésions tissulaire peut être à l'origine d'une inflammation sévère et par conséquent d'une réponse de phase aigüe avec augmentation des marqueurs de l'inflammation. Dans le cas de parasitisme pulmonaire par *D. viviparus*, les lésions du parenchyme peuvent être suffisamment importantes pour induire la synthèse de PPA. Une augmentation est observée lorsque les larves restent un certain temps dans le parenchyme pulmonaire.

- Hémoparasitisme

Par ailleurs, l'infection par certains parasites comme *T. annulata* (absent en France métropolitaine) provoque de fortes réponse de phase aigüe, avec des concentration d'Hp, de la SAA et du Fb pouvant être multiplié entre 3 et 100 selon la PPA [132]. Certains stades du cycle se déroulent dans les lymphocytes (schizontes) et les érythrocytes (piroplasmes) [14], engendrant une anémie macrocytaire et hypochrome sévère, associée à une lymphopénie, neutropénie et éosinopénie chez les animaux infectés. La sévérité de l'anémie est directement lié à la parasitémie [133] ; la phagocytose des érythrocytes et leur lyse par les piroplasmes est une des principales hypothèses avancées pour expliquer l'anémie [134]. Les lésions tissulaires induites lors de l'infection sont à l'origine de l'augmentation de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-1,TNFa). Il existerait une cinétique typique des PPA pour ce parasite, qui évoluent en fonction des stades parasitaires [133]. Des valeurs aussi élevées s'expliquent par la sévérité des lésions : on observe des hémorragies, une nécrose de l'abomasum, du foie, des reins, de la moëlle osseuse, des intestins et des poumons à l'origine d'une inflammation généralisée et du relargage de cytokines pro-inflammatoires. Les auteurs relèvent de grandes variabilités individuelles quant à la cinétique et au profil de la réponse de phase aigüe en cas de parasitisme, ainsi qu'à la présence d'une éosinophilie.

b) Variations associées à un contexte inflammatoire non infectieux

Il existe quelques inflammations que l'on classe comme non infectieuses. Elles ont comme origine un processus exogène (traumatisme) ou endogène (néoplasie, maladies métaboliques). Une infection secondaire est souvent responsable de l'entretien de l'inflammation, voire de son aggravation.

i. Cétose et lipidose hépatique

Chez l'homme, l'altération du métabolisme lipidique, une augmentation de la concentration en Acide Gras Non Estérifié (AGNE) sanguine et la présence d'un stress oxydatif sont des facteurs contribuant à une inflammation systémique et au développement secondaire de maladies [135].

- Cétose

Lors de cétose chez la vache, les concentrations circulantes en AGNE et βOH (β-hydroxybutyrate) augmentent et s'accompagnent d'une augmentation de la concentration de plusieurs cytokines, dont certaines sont pro-inflammatoires : IFN-γ, IL-1, IL-6 et TNF-α [43].

L'augmentation des acides gras libres dans le sang conduit également à l'apparition d'un stress oxydatif [136].

Ainsi, chez les bovins comme chez l'homme, il en résulte une augmentation plus ou moins marquée de certaines PPA et la présence d'une neutrophilie [16, 137]. L'haptoglobine est la PPA qui présente la plus forte augmentation, jusqu'à vingt fois sa concentration basale, tandis que celle de la SAA, de la céruléoplasmine et de l'AGP augmentent de façon plus discrète [43]. En revanche, le fibrinogène est peu modifié, ce qui n'est pas surprenant car il est considéré comme une PPA modérée chez les bovins, ses variations sont donc moindres en cas d'inflammation. Les corrélations positives observées entre les marqueurs de cétose d'un côté, les PPA et les cytokines pro-inflammatoires de l'autre prouvent l'existence d'un lien entre la cétose et un état inflammatoire.

L'augmentation de certaines cytokines pourrait même précéder les signes cliniques [138] et servir d'aide au diagnostic précoce de cétose chez la vache en péripartum. Cependant, étant donné la multitude de facteurs impactant la synthèse de PPA sur cette période (vêlage, transition alimentaire, infection de l'appareil génital, mammite, etc…), cela semble manquer de spécificité en pratique.

- Lipidose hépatique

Une autre maladie du péripartum proche de la cétose est la lipidose hépatique. Une concentration élevée en SAA et Hp est visible durant deux semaines post partum en cas de lipidose hépatique [139], contre une semaine chez des vaches saines [47].

Les hypothèses avancées pour expliquer le lien entre lipidose et réponse de phase aigüe sont les suivantes : d'une part, la libération d'acide gras libres par le tissu adipeux lors de déficit énergétique s'accompagnerait de la synthèse de TNF-α, cytokine pro-inflammatoire. D'autre part, une origine alimentaire est envisagée. En effet, l'apport d'une nourriture trop concentrée lors du tarissement entraine une augmentation de la concentration sanguine en endotoxines par abaissement du pH ruminal à l'origine d'une acidose ruminale aigüe. Une fois dans la circulation sanguine, ces endotoxines atteignent le foie où elles sont éliminées par des macrophages (cellules de Kupffer). Avec l'élimination des endotoxines, les cellules de Kupffer synthétisent des cytokines, dont le TNF-α, stimulant ainsi la synthèse de SAA et Hp.

En relation avec les deux pathologies présentées précédemment, il a été démontré qu'une augmentation du cortisol circulant, associée à un déficit énergétique physiologique, et des micro-lésions tissulaires liées au part, entrainent une perturbation du métabolisme lipidique et sont à l'origine d'un processus inflammatoire peu sévère, auto-résolutif en l'absence de complication. L'intensité de la synthèse des PPA semble directement liée à la sévérité du déficit énergétique [140].

ii. Néoplasie

Des études épidémiologiques chez l'homme suggèrent que 25% des cancers serait associés à une inflammation ou infection chronique [141], et chez le chien et le chat, il a été mis en évidence une réponse de phase aigüe en cas de cancer, en particulier lors de tumeur de lymphatique (lymphome, leucémie, myélome).

Les médiateurs inflammatoires libérés lors d'inflammation chronique engendreraient des dommages de l'ADN (Acide DésoxyriboNucléique) au niveau des gènes anti-oncogènes codant pour des protéines intervenant dans la réparation de l'ADN, les point de contrôle mitotiques, et l'induction de l'apoptose. Par ce biais, ces médiateurs favoriseraient l'apparition et le développement de cancers.

Un exemple en médecine vétérinaire est le développement de fibrosarcome chez le chat à la suite de la réaction inflammatoire provoquée par la vaccination.

La combinaison de deux processus est à l'origine de la synthèse de PPA en cas de néoplasie :

- D'un côté, l'IL-6 qui est la principale cytokine stimulant la synthèse de PPA, intervient aussi dans la maturation des lymphocytes B et dans la pathogénie des tumeurs lymphatiques.
- De l'autre, la réaction inflammatoire péri-tumorale est à l'origine de la synthèse de cytokine pro inflammatoires par les macrophages, conduisant également à l'augmentation des PPA.

Chez les bovins, les tumeurs sont peu fréquentes. Néanmoins, on identifie une anémie et une thrombocytopénie dans le cas de tumeurs vésicales dues à l'ingestion de fougère aigle, ou une lymphocytose dans le cadre de lymphome induit par la BLV.

Un leucogramme de stress est rapporté dans plusieurs études chez la vache [142–144], suggérant un stress physiologique induit lors de tumeur papillomateuse notamment. Des bovins adultes atteints du papillomavirus ont présenté un profil de cytokine pro-inflammatoire [143], cependant peu d'études sont disponibles concernant les autres tumeurs rencontrés chez les bovins.

iii. Traumatisme

Une réponse de phase aigüe a été démontrée lors de castration en l'absence d'anesthésique et d'analgésique [145]. Celle-ci s'accompagne d'une augmentation du cortisol sérique, orientant vers une réponse stress-dépendante.

Comme chez le chat et le cheval, l'acte de chirurgie s'accompagne d'une réponse inflammatoire avec une augmentation discrète de l'Hp (de l'ordre de 100 à 200 mg/dL) jusqu'à 2-3 jours post chirurgie, mais elle n'est pas systématiquement observée. Une augmentation plus longue et accompagnée d'une augmentation du Fb oriente vers la présence de complication chirurgicale (injection, péritonite par exemple) [79].

Les chirurgies réalisées sur des animaux en bonne santé, comme les césariennes dues à une disproportion foeto-pelvienne, n'entrainent pas d'augmentation de l'haptoglobine ; en revanche, en cas de torsion utérine, une augmentation des PPA est observée car il existe des lésions tissulaires suite à l'ischémie [146]. Ces chirurgies sont des traumatismes « maitrisés », avec une contamination bactérienne minime et/ou prise en charge par une antibiothérapie. L'inflammation est ici moins sévère que lors de traumatismes non maitrisés et intervient surtout dans la restauration tissulaire.

L'augmentation de l'Hp en cas de traumatisme important avec hématome permettrait de prévenir les dommages oxydatifs liés à la libération de l'hémoglobine par formation d'un complexe HpHb.

Nous avons évoqué jusque-là les mécanismes de l'inflammation, choisi les marqueurs d'intérêts et étudié leurs variations physiologiques ainsi que dans le cas de situations à la fois inflammatoires et non-inflammatoires. Nous allons maintenant nous intéresser aux méthodes de détection d'un état inflammatoire et à leur sensibilité et spécificité relevées dans la littérature.

D. Démarche diagnostique des états inflammatoires

Cette démarche peut se diviser en 2 étapes : l'examen clinique classique et les examens complémentaires.

1) *Signes inflammatoire détectés/recherchés lors de l'examen clinique*

La réponse de phase aigüe s'initie avec la synthèse de cytokines pro inflammatoires dans les heures ou les jours qui suivent l'élément déclencheur (traumatisme, infection, etc…). Ces cytokines, et en particulier l'IL-6, sont à l'origine de signes cliniques, parfois généraux et toujours locaux, reflétant le processus inflammatoire en cours.

a) Signes généraux

Les signes provoqués sont une dysorexie et un abattement, suivis d'une diminution de la motilité ruminale et intestinale. Une tachycardie et une tachypnée, en lien la douleur, peuvent aussi être mises en évidence et précèdent souvent les autres symptômes lors d'un processus aigu (endotoxémie par exemple). Une hyperthermie (>39.5°C) qui est souvent transitoire (3-4 jours) peut également être présente si l'ampleur de l'inflammation est suffisamment importante.

Ces signes généraux sont plus ou moins marqués selon l'origine de l'inflammation (infectieuse, signes plus marqués) et son extension, ainsi que la douleur associée.

b) Signes locaux

Des signes cliniques plus localisés permettent d'orienter notre diagnostic et d'émettre des hypothèses quant à l'origine de l'inflammation. On pourra ainsi identifier une mamelle œdématiée et indurée en cas de mammites, un écoulement vulvaire purulent en cas de métrite, une auscultation cardiaque étouffée et des œdèmes de l'auge en cas de péricardite ou encore un gonflement de l'articulation en cas d'arthrite.

Un examen clinique complet est donc primordial dans la détermination de l'origine de l'inflammation et des signes généraux. Dans le Tableau XI sont représentées les valeurs prédictives de l'examen clinique pour diagnostiquer une atteinte de l'appareil respiratoire.

Tableau XI: Valeurs diagnostiques de l'examen clinique et de l'examen des lésions après abattage pour diagnostiquer une atteinte de l'appareil respiratoire (cas de BPIE).

Distinction	***Seuil choisi***	***Sensibilité***	***Spécificité***	***Référence***
Atteint de BPIE via examen clinique	NR	61.8%	62.8%	[147]
Atteint de BPIE via lésions pulmonaires à l'autopsie		77.4%	89.7%	

BPIE : Broncho-Pneumonie Infectieuse Enzootique.

2) *Examens complémentaires réalisables au chevet du patient*

De par les variations liées au processus inflammatoire, à l'animal examiné et au vétérinaire qui le réalise, l'examen clinique seul peut s'avérer insuffisant pour émettre un diagnostic, soulignant l'importance des examens complémentaires. Les tests suivants sont des examens complémentaires réalisables chez les bovins pour identifier ou confirmer un processus inflammatoire.

a) Le test au glutaraldéhyde

Le principe du test est d'abord évoqué, avant de décrire les sensibilités et spécificités de ce test.

i. Principe

Le principe de ce test est simple : il repose sur la liaison entre le glutaraldéhyde (GLT) et les acides aminés de certaines globulines qui sont le fibrinogène et les immunoglobulines [148]. Plus concrètement, le groupement aldéhyde du GLT se lie aux groupements aminés libres du fibrinogène et des immunoglobulines, entrainant la coagulation du sang. Le temps de coagulation est inversement proportionnel au fibrinogène et aux immunoglobulines dans le sang : plus ce temps est court et plus la concentration en ces deux globulines est élevée. Le fibrinogène est un marqueur de l'inflammation aigüe, tandis que les immunoglobulines augmentent en cas d'inflammation plus chronique. Une diminution du temps de coagulation témoigne donc d'un processus inflammatoire.

Lors de la suspicion d'un processus inflammatoire au cours de l'examen clinique, le recours au test au glutaraldéhyde permet d'écarter ou non l'hypothèse d'une inflammation. L'avantage de ce test est qu'il est rapide, peu onéreux, et réalisable sur le terrain au chevet de l'animal car il ne nécessite qu'un tube EDTA contenant le réactif [149, 150].

Les critères d'interprétation du test sont présentés dans le Tableau XII :

Tableau XII: Critère d'interprétation du test au GGT. [151]

Catégorie	Temps de coagulation	Interprétation	Processus inflammatoire
1	≤3 minutes	Forte augmentation de la concentration en fibrinogène et/ou immunoglobulines	Sévère
2	>3 et≤6 minutes	Augmentation modérée de la concentration en fibrinogène et/ou immunoglobuline	Modéré
3	>6 et ≤ 15 minutes	Faible augmentation de la concentration en fibrinogène et/ou immunoglobuline	Discret
4	> 15 minutes	Pas d'augmentation de la concentration en fibrinogène et/ou immunoglobulines	Non détectable

Cependant, une bonne conservation du réactif est nécessaire, car celui-ci s'altère à la lumière ou lors de fortes températures (voiture en été par exemple) ; il est conseillé de fabriquer le réactif juste avant de l'utiliser [152], ce qui est un inconvénient en pratique rurale .

ii. Sensibilité et spécificité

Chez les bovins, un test considéré positif a été mis en évidence lors de mammites, d'ulcères de la sole, de péritonites, d'hépatites, d'abcès sous-cutanés, d'endométrites, d'endotoxémies, d'arthrites, de bronchopneumonies et de péricardites, avec des temps de coagulation d'autant plus bas que le processus inflammatoire est sévère. Le test est très sensible pour les affections qui présentent en général une forte hyperfibrinogénémie, comme les RPT : un temps de coagulation inférieur à la normale est observé dans plus de 90% des cas de péricardite et 70% des cas de péritonite, il permet de différencier une insuffisance cardiaque droite d'origine inflammatoire et non-inflammatoire [118]. Dans le Tableau XIII sont décrites les valeurs diagnostiques du test et ses sensibilités et spécificités, définies lors d'études sur des animaux avec un examen clinique normal, et d'autres présentant diverses maladies inflammatoires.

Tableau XIII: Valeurs diagnostiques du test au glutaraldéhyde dans plusieurs cas cliniques.

	Nombre d'animaux	***Test de référence***	***Valeur seuil***	***Se***	***Sp***	***Ref***
Maladies inflammatoires diverses	296 état inflammatoire, 134 état non-inflammatoire	Examen clinique	3 mn	40.9%	97.4%	[153]
			6mn	66%	79.7%	
Diverses inflammations	119 inflammation légère, 57 inflammation sévère	Examen clinique, score de boiterie	3 mn	35.1%	94.1%	[151]

Se : Sensibilité ; Sp : Spécificité

Ce test présente des limites : certains résultats peuvent être faussés car il est dépendant de la sévérité, du moment d'apparition, de la localisation, et du type d'inflammation. Un processus inflammatoire peu sévère ou débutant ne sera pas détecté, le passage d'un test négatif à un test positif prenant environ 7 jours en cas d'inflammation [150]. Pour rappel, le fibrinogène est une PPA modérée chez les bovins, son augmentation est donc assez faible en cas d'inflammation et n'est perceptible qu'au bout de 3-4 jours ; tandis que les globulines n'augmentent que bien après. Or les signes cliniques lors d'inflammation subaigüe à aigüe sont antérieurs à 7 jours et précèdent donc un test positif. Le recours à d'autres outils diagnostics comme l'échographie ou le dosage d'autres PPA peut être intéressant.

La présence de faux positifs chez des animaux âgés et/ou en péripartum est fréquente. En effet, on a une augmentation physiologique du fibrinogène et des globulines avec l'âge et lors du part, abaissant le temps de coagulation. La valeur prédictive positive du test n'est donc pas très élevée. Un manque de données concernant l'influence de ces variations physiologiques est certain, limitant son utilisation en pratique. Dans tous les cas, l'interprétation du test doit se faire au regard des résultats de l'examen clinique.

Enfin, ce test a également été utilisé pour la détection du transfert d'immunité passive chez les veaux et les poulains, un temps de coagulation inférieur à 5 mn témoigne d'un bon transfert d'immunité [154]. Cependant son intérêt est actuellement remis en question car des réactions croisées avec le fibrinogène ont été observées - les animaux présentant une augmentation du fibrinogène due à un processus inflammatoire étaient catégorisés « par erreur » comme ayant eu un bon transfert d'immunité passive.

3) *Examens réalisables au cabinet*

Plusieurs tests sont réalisables au cabinet après rapatriement des prélèvements, notamment la numération formule sanguine et le dosage des PPA (fibrinogène, haptoglobine, SAA et AGP) grâce aux kits rapides.

a) NF/ frottis sanguin (aspect des cellules)

Les variations physiologiques et inflammatoires de la NF ont été évoquées précédemment. Nous retiendrons prioritairement qu'une neutropénie associée à la présence de neutrophiles immatures ou toxiques au frottis sanguin est un signe d'inflammation sévère suraigüe à aigüe, tandis qu'une neutrophilie est observée lors d'inflammation plus modérée, ou dans un second temps après une neutropénie. Cependant, les modifications de la NF manquent de sensibilité et de spécificité dans ce qui est d'identifier un processus inflammatoire, comme nous le montrent les résultats du Tableau XIV.

Tableau XIV: Valeurs diagnostiques de la NF.

Distinction		***Nombre d'animaux***	***Test de référence***	***Seuil***	***Se***	***Sp***	***Référence***
Inflammation chronique/ aigüe	GB	Aigue : 31 Chronique : 50	Examen clinique, durée d'évolution et hypothèse diagnostique	NR	35%	64%	[13]
	PMN				71%	30%	
	BN				42%	72%	

GB : Globules blancs, PMN : polynucléaires neutrophiles ; BN : band neutrophiles (neutrophiles immatures). Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; NR : Non réalisé.

Les résultats montrent que les neutrophiles sont plus sensibles que les globules blancs et les band neutrophiles pour différencier un état inflammatoire aigüe et chronique.

b) Dosage du fibrinogène

Plusieurs méthodes de dosage du fibrinogène existent, nous les exposerons avant de parler des valeurs diagnostiques de cette protéine.

i. Principe

Plusieurs méthodes de dosage du fibrinogène plasmatique existent, nous évoquerons les trois suivantes :

- Analyse turbimétrique, méthode décrite par Becker et al. (1984) [155] :

L'échantillon est mélangé avec une enzyme (la batroxobine), ce qui entraine la formation de fibrine et modifie sa turbidité. La réaction chimique est telle qu'il existe une corrélation linéaire entre la turbidité de l'échantillon à 334nm et sa concentration en fibrinogène. Après

étalonnage, la lecture de la turbidité permet donc de déterminer la concentration en fibrinogène, pour des valeurs allant entre 80 et 700mg/dL. En cas de dépassement de ces valeurs, une dilution est nécessaire. C'est une technique très utilisée aujourd'hui en laboratoire car elle est automatisable.

- Technique de Clauss [156] :

Cette méthode est basée sur le temps de formation d'un caillot de thrombine. Elle mesure le temps de formation d'un caillot sur plasma citraté avec excès de thrombine. Ce temps est proportionnel à la quantité de fibrinogène fonctionnel de l'échantillon.

- Technique de précipitation à la chaleur [157]:

Le fibrinogène précipite au-dessus de 56°C. La détermination des protéines plasmatiques avant, et après passage à la chaleur permet d'obtenir la concentration en fibrinogène : [Fb]= [PT] avant chauffage -[PT] après chauffage, avec PT qui est la concentration en protéines totales. Les concentrations peuvent se lire grâce au réfractomètre, c'est donc une méthode rapide et peu coûteuse, mais peu précise.

La méthode de Millar [158], utilisée plus loin dans notre partie expérimentale, s'appuie sur ce principe de précipitation du fibrinogène à 56°C. Cette méthode est la suivante :

Du sang prélevé sur EDTA est réparti dans un tube à hématocrite. Après centrifugation pendant 5-10 minutes à 2000 g, le tube est laissé trois minutes au bain-marie à 56-58°C. Puis la hauteur du précipité formé (Figure 13) est mesurée sur le tube à hématocrite à la loupe binoculaire.

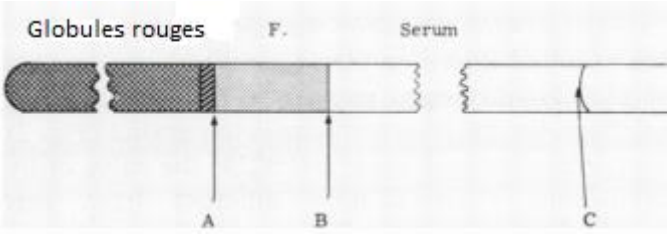


Figure 13: Représentation du tube à hématocrite après précipitation à la chaleur et centrifugation. F : fibrinogène ; A : limite globule rouge/ fibrinogène ; B : limite fibrinogène/sérum ; C : ménisque du sérum. [158]

Une échelle permet de convertir cette hauteur en concentration (g/L). La réalisation de plusieurs mesures est conseillée afin d'obtenir une valeur moyenne de la concentration en fibrinogène. Cette méthode présente une bonne corrélation avec la méthode de référence de Ratnoff et Menzie [159]

- Kit pour la détermination du fibrinogène :

Il s'agit de tests rapides basés sur le principe ELISA sandwich permettant d'obtenir une concentration en fibrinogène par colorimétrie.

ii. *Sensibilité et spécificité*

Le Tableau XV synthétise les données bibliographiques obtenues pour les sensibilités et spécificités du fibrinogène.

Tableau XV: Valeurs diagnostiques du fibrinogène dans la détection de certaines pathologies.

Distinction	***Nombre d'animaux***	***Détermination des individus atteints/ test de référence***	***Valeur seuil (mg/dL)***	***Se***	***Sp***	***Référence***
Theileriose tropicale	50 infectées, 20 saines	Observation des parasites au microscope après coloration	400	40%	100%	[133]
RPT	93 atteintes de RPT, 65 atteintes d'autres maladies gastro-intestinales	Laparotomie exploratrice ou intervention chirurgicale	691	81%	72%	[87]

Se : Sensibilité ; Sp : Spécificité.

Le nombre d'études présentant les valeurs diagnostiques est faible. Le seuil choisi est assez différent entre ces deux études, ce qui peut être expliqué par la différence entre les individus inclus dans les groupes témoins de chacune, et il reste inférieur au seuil supérieur des valeurs usuelles (700 mg/dL). Les spécificités sont relativement bonnes, tandis que la sensibilité est très moyenne dans la détection de theileriose tropicale.

c) Dosage du SAA

Comme pour le fibrinogène, les différentes méthodes de dosage sont évoquées avant d'évaluer les valeurs diagnostiques de la SAA.

i. *Principe*

La difficulté dans le dosage réside dans le fait que la SAA est très peu hydrosoluble : 90% de la SAA circulante est associée aux HDL (Hight Density Lipoprotein), une étape d'isolement et de purification est nécessaire avant tout dosage.

Horadagoda et *al*. [160] ont mis en place en 1993 un protocole de dosage de la SAA basé sur le principe ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Après purification de la protéine bovine par chromatographie et filtration sur gel, ils ont élaboré un sérum étalon calibré. Puis utilisant le fait que la SAA humaine réagit de façon croisée et spécifique avec la SAA bovine, ils ont développé un ELISA indirect avec un anti-sérum lapin anti-SAA humaine et des IgG de singe anti-lapin conjuguées à l'HRP (horseradish peroxydase). La limite de détection de cette méthode est de 3mg/L.

Depuis 2000, il existe sur le marché des tests ELISA directs et indirects multi-espèces, validés chez les bovins (ex : Tridelta Development Limited, Greystones, Ireland). Ils sont utilisables sur le sérum, le plasma et le lait, et présentent un seuil de détection bas (autour de 3mg/L selon les tests). C'est la méthode la plus utilisée actuellement.

ii. Sensibilité et spécificité

Dans le Tableau XVI suivant les valeurs diagnostiques de la SAA sont représentées dans divers cas cliniques.

Tableau XVI: Valeurs diagnostiques de la SAA dans la détection de certaines pathologies

Distinction	***Nombre d'animaux***	***Test de référence***	**Valeur seuil (mg/L)**	**Se**	**Sp**	**Ref**
Inflammation chronique/ aigüe	31 inflammation aigue, 50 inflammation chronique	Examen clinique, durée d'évolution et hypothèse diagnostique		100%	46%	[13, 161]
Mammites peu sévères et modérées (valeurs pour le lait)	16 mammites peu sévères, 13 mammites moyennement sévère, 16 saines	Lait modifié pour le groupe peu sévère, quartier œdématié, chaud et douloureux pour le groupe modéré. Examen clinique et de la mamelle normal pour les saines	9.6 (0.55)	83% (93%)	90% (100%)	[8]
Theileiriose tropicale	50 infectées, 2 saines	Observation des parasites au microscope après coloration	5.68	84%	100%	[133]
Maladies cardiaques	77 atteintes, 20 saines	Auscultation cardiaque	4.74	58.44 %	80%	[40]

Se : Sensibilité ; Sp : Spécificité

Même si le SAA présente une sensibilité moyenne dans le cas de certaines affections (maladies cardiaques), elle reste très spécifique dans une grande diversité de cas.

d) Haptoglobine

Les méthodes de dosages sont d'abord présentées avant de discuter des valeurs diagnostiques et du seuil de détection de cette protéine.

i. Principe

Nous allons évoquer ici les méthodes les plus couramment utilisées :

- Méthode spectrophotométrique [162]:

Elle repose sur l'analyse spectrophotométrique de l'absorbance du complexe Hp-Hb, que l'on compare à l'absorbance de l'Hb seule. Cette méthode est peu rapide, et la sensibilité est relativement faible (40 mg Hp/L).

- Mesure de l'activité péroxidasique de l'Hb.

Le principe est le suivant : l'activité péroxydasique de l'hémoglobine ou de ses dérivés (méthémoglobine ou cyanméthémoglobine) est conservée en milieu acide par la formation du complexe Hp-Hb. La concentration de l'échantillon en Hp est donc proportionnelle à l'activité péroxidasique d'une solution acide de concentration connue en Hb de concentration. Les résultats sont exprimés en mg HbBC/100mL, c'est-à-dire en quantité d'Hb liée par l'Hp pour 100 mL de sérum, sachant que 1g/L = 29mg HbBC.
Cette méthode décrite par Makimura et Suzuki en 1982 [163] reste largement utilisée, des modifications y ont été apportées afin de pouvoir l'automatiser.
En raison de la présence d'hémoglobine libre dans le sérum prélevé, l'hémolyse influence les valeurs obtenues lors de mesure de l'Hp par cette méthode. Il faut donc faire attention lors du prélèvement et lors de la manipulation des échantillons quand on utilise cette méthode de dosage, sous risque d'obtenir des résultats faussés.

- Kit ELISA

Actuellement, de nombreux kits ELISA existent pour le dosage de l'Hp bovine. Les avantages sont un seuil de détection bas, et l'hémolyse de l'échantillon n'affecte pas les résultats. En revanche leur prix est assez élevé, ce qui peut poser un problème pour une utilisation en pratique rurale. La comparaison entre les résultats obtenus par mesure de l'activité péroxidasique de l'Hb (HbBC) et ceux obtenus par un kit ELISA montre une bonne corrélation entre ces deux méthodes, hormis un manque de sensibilité de l'HbBC pour de faibles concentrations en haptoglobine. Celle-ci peut donc être utilisée lorsque le problème de prix des kits ELISA se pose [164].

ii. Sensibilité et spécificité

Le Tableau XVII synthétise les données concernant les valeurs diagnostiques de l'haptoglobine dans diverses situations.

Tableau XVII: Valeurs diagnostiques de l'haptoglobine dans la détection de certaines pathologies.

Distinction	***Nombre d'animaux***	***Test de référence***	***Seuil (mg/L)***	***Se***	***Sp***	***Ref***
Inflammation chronique/ aigüe	31 inflammation aigue, 50 inflammation chronique	Examen clinique, durée d'évolution et hypothèse diagnostique	NR	68%	76%	[13, 161]
Mammites peu sévères à modérées (valeurs pour le lait)	16 mammites peu sévères, 13 mammites moyennement sévère, 16 saines	Lait modifié pour le groupe peu sévère, quartier œdématié, chaud et douloureux pour le groupe modéré. Examen clinique et de la mamelle normal pour les saines	50 (20)	82% (86%)	94% (100%)	[8]
Theileriose tropicale	50 infectées, 20 saines	Visualisation des parasites au microscope après coloration	160	76%	100%	[133]
Métrites	44 atteintes de métrites, 23 saines	Examen clinique, scoring concernant l'écoulement vaginal	1000	50%	87%	[103]
Atteintes cardiaques	77 atteintes, 20 saines	Auscultation cardiaque	140	22.8%	100%	[40]

Se : Sensibilité ; Sp : Spécificité. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux résultats pour le lait.

Les seuils choisis sont très variables selon les études, ils vont de 50 à 1000 mg/L. Un seuil de 1000mg/L parait très haut compte tenu de ce que nous avons observé précédemment. On s'aperçoit que pour un seuil si élevé, la sensibilité est faible. Les valeurs diagnostiques semblent dépendantes des affections testées dans les études car, pour un seuil 10 fois plus bas en haptoglobine, la sensibilité du test n'est que 22,8% dans le cas d'atteintes cardiaques.

e) A1 acide glycoprotéique

Les méthodes de dosage de l'AGP sont évoquées suivies des valeurs diagnostiques de cette protéine.

i. Principe

Tamura et *al*. [45] ont mis au point en 1989 une méthode de dosage de l'AGP sur le principe de l'immunodiffusion radiale simple (technique de Mancini), après production du solution étalonnée et d'anticorps polyclonaux chez le lapin. Elle est utilisable pour des concentrations comprises entre 50 et 1500 mg/L.

ii. Sensibilité et spécificité

Le tableau XVIII présente les valeurs diagnostiques de l'AGP calculées lors d'une étude de 2001.

Tableau XVIII: Valeurs diagnostiques de l'AGP dans la détection de certaines pathologies

Distinction	***Nombre d'animaux***	***Test de référence***	***Valeur seuil (mg/L)***	***Se***	***Sp***	***Référence***
Mammites peu sévères à modérées	16 mammites peu sévères, 13 mammite modérée, 16 saines	Lait modifié pour le groupe peu sévère, quartier œdématié, chaud et douloureux pour le groupe modéré. Examen clinique et de la mamelle normal pour les saines	500	62%	91%	[8]

Se : Sensibilité ; Sp : Spécificité

Beaucoup moins étudiée que les autres PPA, à notre connaissance, une seule étude s'est intéressée, aux valeurs diagnostiques de l'AGP. Il semble que sa spécificité soit bonne en cas de mammites, mais moins que les autres PPA citées plus haut.

PARTIE EXPERIMENTALE

Cette première partie bibliographique nous a permis de faire un rappel sur le rôle de l'inflammation dans la défense de l'organisme et la complexité et complémentarité des différents acteurs intervenant tout au long du processus inflammatoire. Parmi ces acteurs, certains semblent être de bons marqueurs d'un état inflammatoire de par leur faible variation en situation physiologique et non inflammatoire, tandis qu'à l'inverse ils présentent de fortes variations en cas d'inflammation.

Ce sont ces marqueurs, en particulier les neutrophiles et PPA, qui possèdent un réel intérêt en médecine vétérinaire bovine. En effet, les examens cliniques s'avèrent parfois non conclusifs, avec des animaux qui ne présentent que des signes cliniques frustes lors de la visite. Dans ce cas, la possibilité de recourir à ces marqueurs est une aide diagnostique supplémentaire.

La question de la praticabilité des examens se pose néanmoins. Certains paramètres peuvent être mesurés directement en clinique, c'est le cas des neutrophiles (NFS) ou du fibrinogène. L'idéal serait un test utilisable au chevet du patient. Le test au glutaraldéhyde, développé il y a quelques dizaines d'années, pourrait répondre à cette attente bien que les conditions de conservation et d'utilisation du test restent problématiques pour son utilisation en pratique rurale. Le développement récent de tests rapides comme le Smartstrip haptoglobine du laboratoire Bio-x Diagnostics autorise une lecture rapide et simple de la concentration en haptoglobine sanguine et permet de définir rapidement le statut inflammatoire de l'animal.

Cependant, entre le nombre de paramètres à étudier et la diversité des tests à utiliser, il est parfois difficile de savoir quels marqueurs et tests prioriser les uns par rapport aux autres. Il est donc nécessaire pour s'aider dans cette démarche d'établir les performances de chacun des outils dont nous disposons. Le choix des méthodes de mesure est aussi à prendre en compte : les méthodes de mesure à notre disposition se valent-elles, sont-elles interchangeables ? L'analyse conjointe de tous les marqueurs, réalisée par analyse factorielle des données mixtes, permet une vision globale de leurs variations et aide à l'interprétation des mesures.

Nous avons mesuré la réponse de bovins malades à différents tests de dosage de l'inflammation. Ces bovins ont été vus au cours d'une visite ou à leur arrivée dans le service d'hospitalisation et une NFS, un dosage d'haptoglobine et de fibrinogène et un test au glutaraldéhyde ont été réalisés pour chacun d'entre eux. Puis nous avons confronté les résultats avec les données apportées par l'examen clinique et les hypothèses avancées. Enfin, un pool d'animaux sans aucun signe clinique apparent a été prélevé en tant que groupe témoin « sain ».

Il s'agit donc ici de déterminer quels sont les « meilleurs » tests pour détecter un état inflammatoire chez des bovins adultes en l'absence de signes cliniques permettant d'établir avec certitude un diagnostic.

L'objectif de l'étude expérimentale présentée ici est dans un premier temps de recueillir des données quantitatives et qualitatives sur deux groupes d'animaux au statut inflammatoire supposé différent : un groupe de bovins « sains » et un groupe de bovins « suspects », afin de comparer les données entre ces deux groupes. L'évolution des variables les unes par rapport aux autres a été observée dans le but de choisir plusieurs marqueurs de l'inflammation et de déterminer pour chacun son intérêt diagnostique chez les bovins adultes. Ceci nous permettra de choisir les tests les mieux adaptés à la détection d'un état inflammatoire en cas de signes cliniques peu spécifiques, comme cela peut être le cas en consultation.

A. Matériel et méthodes

La partie expérimentale a préalablement reçu un avis favorable du comité d'éthique de VetAgro Sup (n°2008 du 20/02/2020).

1) *Population d'étude et critère d'inclusion*

L'étude a été réalisée entre septembre 2019 et juin 2020. Deux types d'animaux ont été inclus dans l'étude :

- Des animaux « suspects » :

Bovin de plus d'un an, présenté en consultation à l'unité clinique rurale de l'Arbresle (UCRA, clientèle vétérinaire rurale de Vetagrosup) ou lors de l'admission au service d'hospitalisation des animaux de rentes de Vetagrosup (SHAR). Pour être inclus dans l'étude, les bovins devaient présenter un examen clinique anormal, sans qu'aucun diagnostic de certitude n'ait pu être posé par le vétérinaire à l'issu de l'examen clinique et du recueil des commémoratifs.

- Des animaux apparemment sains :

Bovin de plus d'un an, sélectionné aléatoirement dans un élevage parmi les vaches en lactation lors d'une visite de suivi de reproduction réalisée au sein de l'UCRA.

2) *Collecte des données*

Avant l'inclusion des animaux dans l'étude, le vétérinaire traitant présentait oralement et par écrit le projet de recherche à l'éleveur de façon à obtenir son consentement éclairé.

a) Feuille de renseignements (Annexe 1)

Pour chaque bovin, une fiche de renseignements, disponible en Annexe 1, comprenant l'anamnèse, les commémoratifs et les observations faites au cours de l'examen clinique a été complétée par le vétérinaire traitant.

b) Prélèvements et analyses

Pour chaque animal, 4 prélèvements sanguins ont été effectués au niveau de la veine coccygienne, et répartis de la façon suivante :

- Un tube EDTA pour la numération formule.
- Deux tubes citratés pour la mesure du fibrinogène (par les méthodes de Millar [158] au laboratoire de pathologie du bétail et de Clauss [156] au laboratoire de biochimie)
- Un tube sec pour le SmartStrips™ haptoglobine (Biox Diagnostics, Belgique), réalisé au laboratoire de pathologie du bétail selon les recommandations du fabricant, et le stockage de deux aliquots de sérum au congélateur.

Un fois réalisés, les prélèvements ont été rapportés à l'école vétérinaire dans les 4 h.

Lorsque cela était possible, le test au glutaraldéhyde a été réalisé sur place par le vétérinaire traitant. Dans le cas contraire, il a été effectué au laboratoire de pathologie du bétail après rapatriement des prélèvements.

Une fois les dosages et tests réalisés au laboratoire, deux aliquots de sérum ont été congelés pour chaque bovin à -20°C, en vue d'une éventuelle utilisation ultérieure.

3) *Synthèse de la fiche d'examen clinique (Annexe 1):*

Cette fiche remplie pour chaque individu de l'étude rassemblait les données générales du bovin, les commémoratifs et traitements déjà réalisés, les résultats de l'examen clinique complet et les hypothèses diagnostiques.

a) Données générales :

Ont été recueillis pour chaque animal les données suivantes :

- Race
- Sexe
- Age
- Parité
- Stade de lactation
- Stade de gestation

Parmi les variables correspondant à l'âge et au statut physiologique de ces animaux, certaines données manquantes ont été complétées selon les valeurs les plus probables. Ainsi lorsque l'âge était connu, on attribuait la valeur *âge + 2* à la parité pour les vaches laitières, et *âge + 3* à la parité pour les vaches allaitantes quand le nombre de parité n'était pas renseigné.

b) Commémoratifs et traitements réalisés :

Ont été également recueillies les données suivantes :

- Durée d'évolution des symptômes.
- Traitements antibiotiques réalisés (trait_ant_ATB)
- Traitements anti-inflammatoire réalisés (trait_ant_AI)

La durée d'évolution des symptômes était très variable, et exprimée en heures. Pour le groupe d'animaux sains, cette durée a été attribuée arbitrairement à 720 heures, ce qui correspond à 30 jours. Nous avons estimé qu'au bout de 30 jours les marqueurs de l'inflammation aigüe sont fortement diminués et correspondent à un statut non inflammatoire.

c) Constantes vitales :

Les constantes vitales suivantes ont été relevées pour chaque bovin :

- Note d'état corporelle (NEC), sur une échelle de 1 à 5.
- La température rectale (TR)
- La fréquence cardiaque (FC)
- La fréquence respiratoire (FR)

d) Traitement des anomalies à l'examen clinique :

D'après la feuille de renseignement, plusieurs points étaient à explorer pour chaque appareil (ex : pour l'appareil digestif étaient relevées la fréquence ruminale, l'aspect des bouses, la présence d'un tinckle, etc..). Une variable synthétisant les résultats de chaque appareil a été ajoutée, sous la forme « anom_app_x » avec comme modalité « oui », « non, ou « NA ». Cette variable supplémentaire a permis de synthétiser les résultats pour chaque appareil et faciliter l'analyse statistique.

L'appétit n'a pas été intégré dans « anom_app_digestif », mais a été gardé comme tel car comme vu précédemment, une dysorexie ou anorexie peut être présente en cas d'inflammation.

4) *Mesures réalisées et protocoles*

Les mesures ont été réalisées sur place (cas du test au glutaraldéhyde), ou au laboratoire une fois les échantillons rapatriés.

- Mesure des βOH

Les mesures ont été réalisées à partir du sang frais, ou sur sérum après décongélation lorsque cela n'avait pas été réalisé le jour de la visite. Pour la lecture des résultats, l'appareil Optium Xceed (Abbott, France) a été utilisé. Les résultats sont exprimés en mmol/L. La mesure des βOH a été systématiquement réalisée afin de détecter un état de cétose qui, comme vu auparavant, peut engendrer un statut inflammatoire positif.

- Test au glutaraldéhyde

Le test a été réalisé directement en ferme ou au laboratoire de pathologie du bétail lors d'impossibilité de la part du vétérinaire traitant de le réaliser sur place.

Le protocole suivi était celui décrit par Metzner et al. en 2007 [150], brièvement :
1 ml de sang prélevé sur tube EDTA est mélangé avec 1 ml de réactif (50ml de glutaraldéhyde 25%, 1g d'EDTA, 9g de NaCl dans 1000ml d'eau distillée) dans un tube et retourné délicatement une dizaine de fois. Le temps de formation du caillot était ensuite déterminé en plaçant le tube horizontalement toutes les minutes.
La valeur 1 a été attribuée à un résultat inférieur à 1 mn, et la valeur 16 pour un temps dépassant les 15 mn, ce qui n'a pas été observé en pratique.

- Numération formule sanguine (NFS) et comptage manuel

La numération sanguine a été réalisée à partir d'un prélèvement sur tube EDTA par l'analyseur MS4s (MELET SCHLOESING Laboratoires, France), selon le protocole indiqué par le fabricant.

Pour chaque animal, un frottis sanguin avec coloration rapide au RAL 555 (Labro, France) a été fait au laboratoire du service de pathologie du bétail ainsi qu'un comptage manuel différentiel de 100 globules blancs, réalisé par une technicienne expérimentée. L'appréciation morphologique des cellules a été faite en même temps.

Les résultats inclus dans la suite de l'analyse étaient ceux les plus susceptibles de varier en fonction de l'état inflammatoire des bovins, à savoir :

- Nombres de leucocytes totaux (%)
- Nombre de neutrophiles évalué par l'analyseur (%)
- Nombre de neutrophiles évalué par comptage manuel (%)
- Ratio neutrophiles / lymphocytes suite aux comptages par l'analyseur et aux comptages manuels.

Les résultats exprimés en pourcentage de GB par le MS4 et lors du comptage manuel ont été transformés sur Excel et exprimés en nombrex10^3/mm^3 selon la formule suivante : ***Nombre (N/L)= % de N/L × nombre GB .*** Le ratio neutrophile/lymphocyte a aussi été déterminé sur Excel d'après les résultats de l'analyseur.

- Dosage du fibrinogène

Le fibrinogène a été dosé à partir des échantillons prélevés sur tube citraté selon deux méthodes :

- Méthode de précipitation à la chaleur décrite par Millar en 1971 [158], au laboratoire de pathologie du bétail (voir D. *3)* b) *ii*).
- Méthode chronométrique de Clauss au laboratoire de biochimie (voir D. *3)* b) *ii*).

- Dosage de l'haptoglobine

Le dosage de l'haptoglobine a été réalisé sur sérum (après centrifugation à 724 G pendant 10min) grâce au test rapide SmartStrips™ commercialisé par BioX Diagnostics (Rochefort, Belgique), selon les recommandations du fabricant. Ce test rapide est un test ELISA dont le résultat est lu par colorimétrie à l'aide d'une application smartphone, comme présenté sur la Figure 14.

Figure 14: Lecture du résultat du test BIO K 328 - QuantELISA Haptoglobine bovine / Sandwich grâce à l'application ***Smarstrip*** *à télécharger sur smartphone.*
L'appareil photo reconnait le QR code puis détecte les colorations prises par le test, compare l'absorbance entre la bande témoin et la bande correspondant au résultat et exprime les résultats en µg/mL d'haptoglobine. Image d'après https://www.biox.com/fr/accueil/.

Le résultat est exprimé en µg/mL. La limite supérieure de quantification du dispositif est de 1000µg/mL (soit 1000mg/L), ainsi, lorsque le résultat indiqué était >1000 µg/mL, la valeur d'haptoglobine a été arbitrairement fixée à 1000.

5) *Analyse statistique*

a) Plan d'analyse

Un premier travail a consisté en la description des animaux inclus dans l'étude et leurs caractéristiques générales.

Une fois ce travail réalisé, la distribution des résultats (boxplots) des analyses selon les groupes a été observée afin d'évaluer les différences entre les individus sains et suspects.

Les méthodes de dosage du fibrinogène et celles de comptage du ratio N/L et des neutrophiles ont ensuite été comparées par régression de Passing et Bablok afin d'évaluer leur interchangeabilité, ainsi que la concordance entre les méthodes.

Après un tri des variables, l'analyse 2 à 2 des corrélations entre les différentes variables par calculs du coefficient de corrélation « tau » de Kendall a été faite dans le but de détecter ou d'infirmer la présence d'une corrélation entre deux variables données.

Une dernière étape a reposé sur la visualisation de l'ensemble des données (quantitatives et qualitatives) par Analyse Factorielle des Données Mixtes (AFDM). Un travail préliminaire de gestion des données manquantes est nécessaire avant de commencer l'analyse factorielle, celui-ci a été réalisé à partir du package missMDA de R (modalités et résultats en Annexe 2). Réalisée sur R, cette étape nous a permis de décrire l'évolution des variables les unes par rapport aux autres et de déterminer celles pouvant servir de marqueurs de l'inflammation.

A partir des résultats obtenus par l'AFDM, l'intérêt diagnostique des marqueurs jugés intéressants a été évalué.

b) Statistique descriptive

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées sur R Studio.

i. Description des distributions des biomarqueurs dans chaque groupe :

La distribution des valeurs de plusieurs variables (le fibrinogène, l'haptoglobine, le nombre de neutrophiles, le ratio N/L et le temps du test au glutaraldéhyde) a été représentée à l'aide de deux boxplots, un pour les individus du groupe sain, et un autre pour ceux du groupe suspect.

La normalité des distributions a été évaluée à l'aide du test de Shapiro-Wilk après représentation graphique du diagramme quantile-quantile (Q-Qplot). Lorsque la p-value du test de Shapiro-Wilk était inférieure à 0.05, l'hypothèse de normalité des distributions a été rejetée et les distributions dans chacun des groupes « sains » et « suspect » étaient comparées à l'aide du test non paramétrique de la somme des rangs de Wilcoxon. Dans le cas contraire, nous avons considéré que les distributions étaient normales et les moyennes de chaque groupes ont été comparées à l'aide du test paramétrique de Student qui a l'avantage de fournir des intervalles de confiance autour de chaque moyenne.

Concernant la méthode de Millar, lorsque, à l'issue de la centrifugation des tubes à micro-hématocrite (après la phase de précipitation à la chaleur), l'intégralité du tube restait « précipité », la valeur de fibrinogène a été arbitrairement fixée à 9.8g/L, correspondant à la limite supérieure de quantification.

ii. Comparaison des 2 méthodes de dosage du fibrinogène et du comptage des neutrophiles et ratio N/L

- Description de la régression linéaire de Passing et Bablock

Pour comparer les méthodes, la méthode de régression linéaire de Passing et Bablok a été utilisée [165]. Cette régression est adaptée à la comparaison de 2 méthodes de dosage analytique (ou mesure) et a pour avantage d'être peu influencée par la présence de valeurs extrêmes. Elle permet de bien voir l'adéquation entre deux résultats et donc la possibilité d'utiliser les deux méthodes de dosage de façon interchangeable. L'interchangeabilité est acceptée si la droite de corrélation obtenue est proche de la droite y = x avec le coefficient directeur proche de 1 (1 compris dans l'intervalle de confiance à 95%) et l'ordonnée à l'origine proche de 0 (0 compris dans l'intervalle de confiance à 95%). La régression de Passing et Bablok permet aussi le calcul d'un coefficient de corrélation de Pearson, interprétable seulement en cas de distribution ellipsoïde du nuage de points sur le graphique de

représentation des résultats selon les deux méthodes analytiques (*i.e.* méthode 2 =f(méthode 1)).

Les graphiques de Bland et Altman ont été également réalisés [166]. Ils sont complémentaires à la régression de Passing et Bablok. Cette représentation permet en particulier de démontrer une absence de concordance entre deux méthodes d'analyse et de visualiser l'évolution de la concordance lorsque les valeurs mesurées par chaque méthode augmentent ou diminuent.

- Dosage du fibrinogène :

Les deux méthodes de dosage du fibrinogène, c'est-à-dire la méthode de Millar et celle de Clauss, ont été comparées statistiquement afin d'évaluer leur interchangeabilité. Ces deux méthodes fournissent un résultat en g/L. En cas de réalisation multiple d'un même dosage (cas du fibrinogène Millar), la valeur moyenne entre les différents résultats a été prise en compte dans l'analyse.

- Comptage des neutrophiles et du ratio N/L :

Les deux méthodes comparées sont le comptage réalisé par l'analyseur MS4, et le comptage manuel après coloration, réalisé par une technicienne expérimentée du laboratoire. Les deux variables « nombre de neutrophiles » et « ratio N/L » ont été traitées séparément.

iii. Corrélation entre les différents paramètres inflammatoires

La corrélation 2 à 2 entre chaque paramètre a été évaluée par calcul des coefficients de corrélation de Kendall, qui sont utilisables mêmes lorsque les distributions ne sont pas normales. Le Tableau XIX permet l'interprétation des résultats.

Tableau XIX: Interprétation du coefficient de corrélations de Kendall.

Valeur de tau [compris dans l'intervalle]	[-1 ;- 0.5] ou [0.5 ;1]	[-0.5 ;- 0.3] ou [0.5 ; 0.3]	[-0.3 ;- 0.1] ou [0.1 ;0.3]	[-0.1 ; 0.1]
Corrélation	Forte	Modérée	Faible	Nulle

c) Relations entre les variables : analyse factorielle

Les relations entre les variables ont été évaluées par la méthode d'Analyse Factorielle des Données Mixtes (AFDM, package FactoMineR et factoextra de R). Cette méthode d'analyse permet l'observation simultanée de données quantitatives et qualitatives et décrit l'association des variables les unes par rapport aux autres, afin de mettre en avant des similitudes entre variables et entre individus. Il s'agit en fait d'une méthode mixte entre celle de l'Analyse en composante principale (ACP pour analyser des données quantitatives) et celle de l'Analyse de correspondance multiple (ACM pour analyser des données qualitatives). Néanmoins, ce type d'analyse ne peut pas être réalisé lors de la présence de données manquantes. Etant donné le nombre important d'individus présentant au moins une donnée manquante pour au moins une des variables étudiées, l'exclusion pure et simple de l'ensemble des individus présentant au moins une donnée manquante aurait conduit à l'exclusion de la quasi-totalité des animaux de l'étude. Ainsi, il a été nécessaire de réaliser une imputation des données manquantes, tout en évaluant l'impact potentiel de cette imputation sur les résultats de l'analyse factorielle. Cette imputation a été réalisée grâce au package missMDA de R [167], les explications concernant l'utilisation et l'interprétation de ce package sont en Annexe 2.

Dans un premier temps, les variables ont été normalisées (centrées et réduites) pour équilibrer l'influence de chacune (chaque variable aura un impact similaire sur la variabilité globale des données). Cette étape était indispensable dans notre cas, car chacun des paramètres biochimiques évalués était exprimé dans une unité différente avec des gammes de variations très importantes d'une méthode à l'autre. Le nombre de dimensions à conserver a été déterminé graphiquement après observation de l'éboulis des valeurs propres.

On a pu ensuite estimer la contribution des différentes variables sur chaque dimension, ce qui nous a permis de visualiser la corrélation entre les variables. Concernant les variables quantitatives, l'interface PCAShiny du package FactoMineR a été utilisé. L'interface PCAShiny ouvre une page HTML depuis R permettant de réaliser une ACP (Analyse en Composante Principale) en ajoutant ou retirant des variables de façon interactive. Il est donc possible de visualiser directement sur la page Web les modifications engendrées par l'ajout ou le retrait de variables, le poids des variables sur les dimensions ou encore le rôle des individus. On obtient ainsi la projection sur le cercle des corrélations des différentes variables choisies, permettant un aperçu rapide de leur distribution, et de leur variation les unes par rapport aux autres, selon le principe de l'ACP. Il en a été de même pour les variables qualitatives selon le principe de l'ACM. La visualisation de toutes les variables en même temps est également possible, mais peut être difficilement lisible dans le cas d'un nombre important de variables.

Enfin, l'AFDM nous a permis de représenter les individus sur les dimensions souhaitées (en général les deux premières) et l'on a pu visualiser la proximité des individus à l'aide des valeurs prises par chacune des variables.

B. Résultats

1) Statistiques descriptives

Nous avons pu inclure 29 bovins dans le groupe « suspect » et 10 dans le groupe « sain ». Parmi ces bovins, on a recensé en grande majorité des femelles (38 animaux, 97%), avec une prédominance des races laitières (n= 31) sur les races allaitantes (n= 8), dont 19 Holsteins, 12 montbéliardes, 5 charolaises, 2 limousines et une race « autre ». Le groupe « sain » était composé uniquement de vaches de race Holstein.

L'âge moyen des individus était de 6 ans (de 1 à 16 ans), les stades de gestation étaient compris entre 0 et 7 mois, et pour les laitières, le stade de lactation moyen était de 2.8 mois (de 0 à 8.5 mois).

Les motifs d'appel du vétérinaire pour les animaux du groupe « suspect » étaient variés : décubitus, anorexie, amaigrissement, abattement, boiterie, vache qui « bricole », arrêt de rumination. Pour 2 animaux le motif d'appel était la présence d'une plaie. Pour plusieurs d'entre eux, le motif d'appel comprenait plusieurs des éléments cités ci-dessus (anorexie + abattement par exemple).

2) Comparaison de plusieurs variables quantitatives entre les deux groupes.

La comparaison des valeurs obtenues entre les individus des groupes sain et suspect a été réalisée afin d'évaluer l'intérêt de certaines variables dans la discrimination d'un état inflammatoire pathologique.

Avant toute visualisation et interprétation des résultats, il est nécessaire de rappeler que les animaux du groupe d'individu « suspect » n'avaient pas tous développé une inflammation. En

effet, parmi le groupe suspect, divers troubles étaient présents, certains relevant d'un état inflammatoire et d'autres non. Il n'est donc pas étonnant d'observer chez certains individus du groupe « suspect », des valeurs similaires à celles déterminées pour les individus du groupe « sain » pour une variable donnée.

a) Observation globale

i. Comparaison du fibrinogène selon le groupe d'individus

- Distribution des valeurs de fibrinogène dans chaque groupe

Les boxplots des dosages du fibrinogène par la méthode de Millar sont représentés dans la Figure 15, et ceux par la méthode de Clauss dans la Figure 16. Pour chaque méthode, les groupes sain et suspect ont été séparés. Les caractéristiques des individus avec des valeurs anormales sont recensées dans le Tableau XXIV.

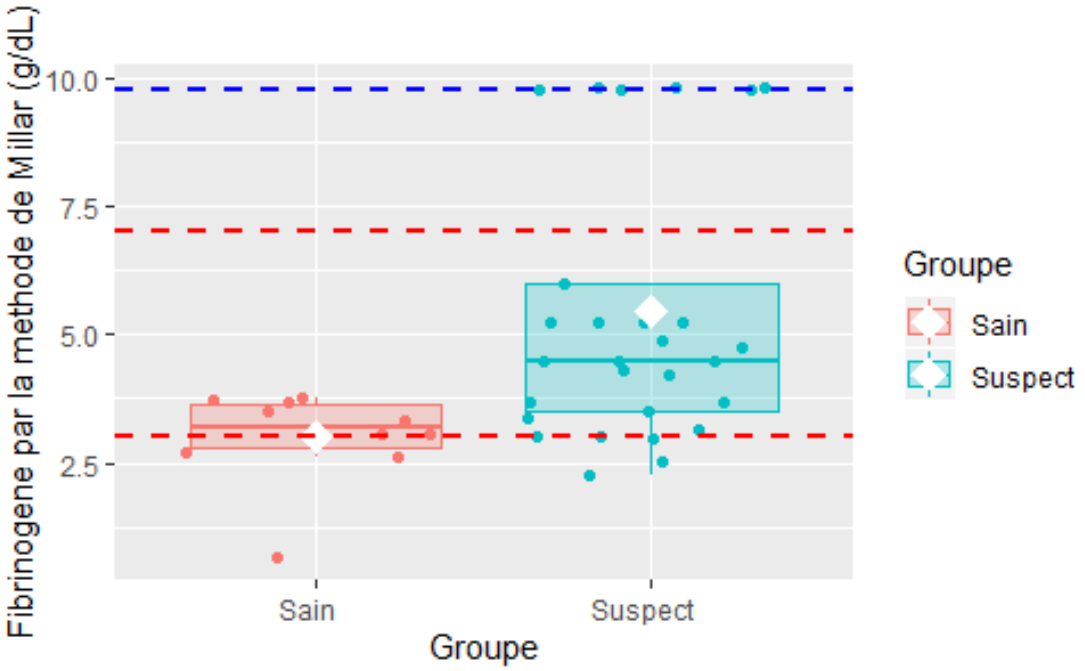


Figure 15: Boxplots (médiane et quartiles) des résultats du fibrinogène dosés par la méthode de Millar selon le groupe d'appartenance.
Les points représentent les valeurs observées et ont été dispersés artificiellement pour éviter la superposition. Les lignes horizontales en pointillé rouge représentent les bornes des valeurs usuelles (3-7 g/L) [14], celle en pointillé bleu la limite de quantification supérieure du test (9.8 g/L). Les losanges blancs correspondent à la moyenne de chaque groupe.

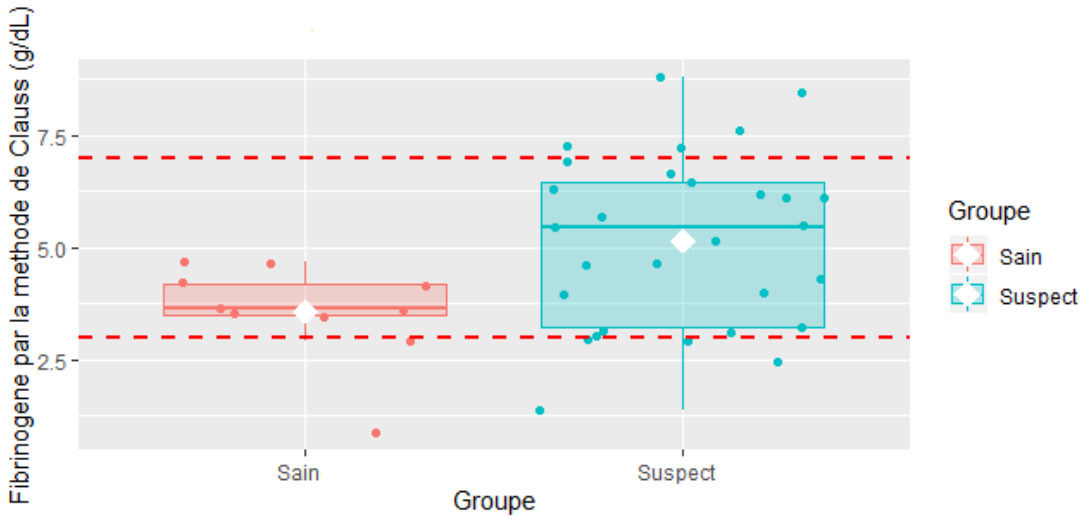


Figure 16: Boxplot (médiane et quartiles) des résultats du fibrinogène dosé par la méthode de Clauss selon le groupe d'appartenance.

Les lignes horizontales en pointillé rouge représentent les valeurs usuelles (3-7 g/L) [14]. Les losanges blancs correspondent à la moyenne de chaque groupe.

D'après les boxplots, la répartition des valeurs du groupe suspect est d'une grande amplitude, tandis que pour le groupe sain, les valeurs restent relativement proches de la moyenne (hormis la présence d'un « outlier » avec une valeur beaucoup plus faible, correspondant à l'individu 38). Pour les individus du groupe « sain », les valeurs étaient proches de la limite basse des valeurs usuelles, tandis que pour le groupe « suspect », il existait des individus (6 par la méthode Millar, 5 par la méthode Clauss) dont les valeurs étaient au-delà de la limite haute des valeurs usuelles (valeurs > 700mg/dL). Seuls trois individus montraient une concentration en fibrinogène élevée avec les deux méthodes.

- Caractéristiques des individus présentant des valeurs anormales

Regardons pour chaque méthode les caractéristiques des individus présentant des valeurs anormalement basses ou élevées :

Les tableaux XX et XXI page suivante recensent les individus avec des valeurs anormalement hautes (respectivement anormalement basses) en fibrinogène et l'hypothèse diagnostique hautement probable portée lors de la visite, ainsi que la ou les remarque(s) associée(s) au laboratoire.

Les trois individus pour lesquels le fibrinogène était augmenté avec les 2 méthodes d'analyse sont ceux suspectés d'avoir un corps étranger ou une infection d'origine bactérienne. Pour les six autres, il était augmenté seulement avec une des 2 méthodes. Cependant, dans ce dernier groupe, la valeur incluse dans les valeurs usuelles était toutefois bien plus élevée que celle de la moyenne du groupe chez 4 des 6 individus. Hormis pour les individus 13 et le 22, les résultats des deux méthodes étaient bien corrélés chez ces animaux.

Tableau XX: Caractéristiques des individus avec des valeurs anormalement hautes en fibrinogène.

Individus	***Concentration en fibrinogène g/L***		***Remarque***	***Hypothèse diagnostique hautement probable***	***Durée évolution***
	Millar	Clauss			
1	**9.8 ***	**8.45**	Pris en masse Tube citraté non rempli	Traumatisme	24h
2	**9.8**	6.1	Tube citraté non rempli	Cystite/ pyélonéphrite	96h
6	**9.8 ***	**7.25**	Pris en masse	Corps étranger	<24h
7	**9.8**	6.45	/	Arthrite septique + ténosynovite ®	15j
11	**9.8 ***	6.17	Pris en masse	RPT avec péricardite ®	21j
13	3	**8.77**	/	Corps étranger Acidose	3j
17	**9.8**	6.30	/	Mammite	?
22	4.5	**7.2**	/	Abcès pied	15j
27	**9.8***	**7.61**	Pris en masse	Corps étranger	3j

Les astérisques représentent pour le fibrinogène Millar un plasma pris en masse. ® est placé après l'hypothèse diagnostique lorsque celle-ci a été confirmé par la suite.

Tableau XXI : Caractéristiques des individus présentant des valeurs anormalement basses en Fb.

Individu	***Concentration en fibrinogène g/L***		***Remarque***	***Hypothèse diagnostique hautement probable***	***Durée d'évolution***
	Millar	Clauss			
5	3	**1.38**	/	Lésion ligamentaire grasset	7j
9	**2.25**	**2.45**	/	RPT/ CE	21j
18	4.20	**2.96**	Boite	?	?
26	**2.5**	**2.91**	Diarrhée	?	?

RPT : réticulopéritonite. CE : Corps étranger.

Les individus avec des valeurs en dessous du seuil limite de 3 g/L étaient peu nombreux, et les concentrations en fibrinogène étaient relativement proche du seuil limite inférieur.

ii. Comparaison de l'haptoglobine sérique selon le groupe

- Distribution des valeurs obtenues dans chaque groupe

La Figure 17 représente de la même manière la concentration en haptoglobine obtenue sur sérum entre les deux groupes.

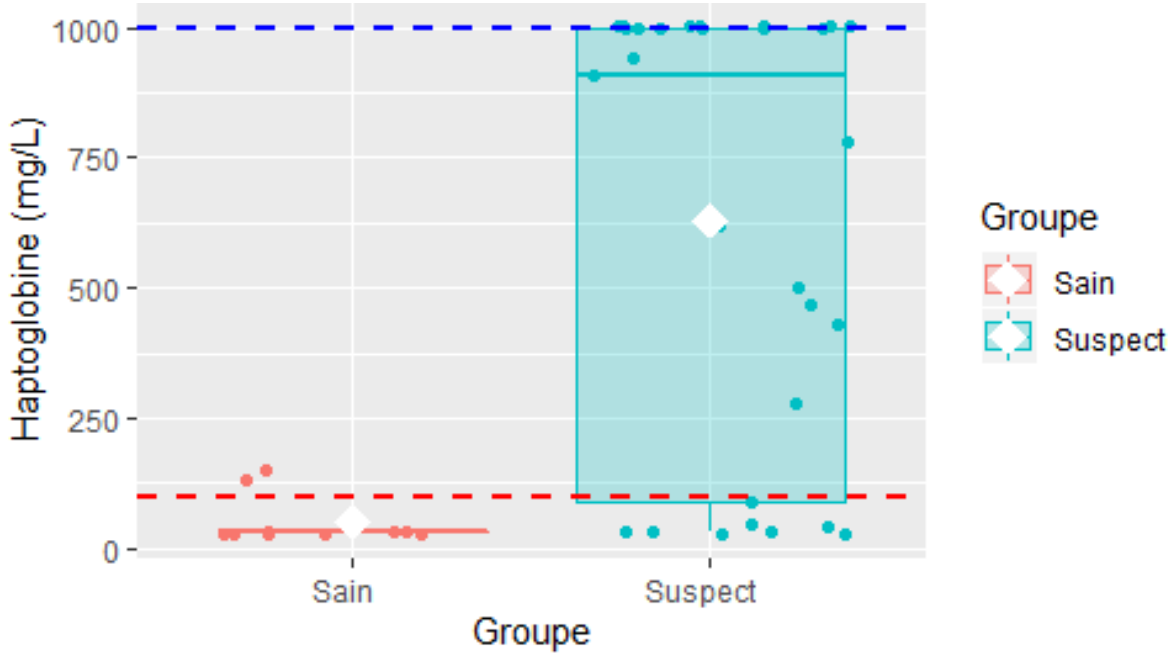


Figure 17: Boxplots (médiane et quartiles) des valeurs d'haptoglobine dosées sur sérum selon le groupe. La ligne horizontale en pointillé rouge représente le seuil au-dessus duquel on estime la présence d'un état inflammatoire (100 mg/L) [38]. Celle en pointillé bleu est la limite de quantification supérieure, égale à 1000mg/L. Les losanges blancs correspondent à la moyenne de chaque groupe.

Les valeurs prises par l'haptoglobine semblent présenter un caractère binaire : soit très basses (cas du groupe sain, et de quelques suspects), soit très hautes. Peu de valeurs se trouvaient dans l'intervalle entre les deux extrêmes. Pour le groupe « suspect », 21 individus sur 29 présentaient une concentration en haptoglobine sérique supérieure au seuil de 100mg/L, seuil de détection d'un processus inflammatoire aigu. Treize individus présentaient une concentration au-delà de 1000mg/L, limite de quantification supérieure du test. Parmi le groupe suspect, quelques individus présentaient des valeurs en haptoglobine dans les normes et seulement deux individus du groupe sain avaient des concentrations juste au-delà du seuil de 100 mg/L (concentration à 150 et 130 mg/L).

- Caractéristiques des individus présentant des valeurs anormales

Les concentrations très hautes (au-delà de 1000 mg/L) ont été obtenues pour des bovins avec des signes cliniques amenant aux hypothèses diagnostiques décrites dans le Tableau XXII :

Tableau XXII: Hypothèses diagnostiques et durée d'évolution des symptômes des individus avec une concentration en haptoglobine sérique > 1000mg/L.

Individu	Hypothèse diagnostique hautement probable	Remarque	Durée d'évolution
1	Traumatisme		12h
2	Néphrite/ cystite		4j
6	Corps étranger/ RPT		1j
8	Corps étranger/ RPT		?
10	Déplacement de caillette à droite		?
13	Corps étranger/ RPT		3 j
15	Cétose + fièvre de lait		1j
17	Mammite colibacillaire		?
20	Mammite, péritonite	Césarienne 10j plus tôt	10j
21	Péricardite		?
27	Corps étranger/ RPT		3j
28	Abcès épaule		?
29	?	Hyperthermie 39.6°C	?

RPT : Réticulopéritonite traumatique.

La durée d'évolution des symptômes était relativement courte pour ces individus (de 12h à 4j), hormis pour le numéro 20. Cet animal présentait une mammite, une péritonite était également suspectée à la suite de l'examen clinique.

iii. Comparaison du nombre de neutrophile et du ratio N/L selon le groupe

- Distribution des valeurs obtenues dans chaque groupe

Dans les Figures 18 et 19 sont représentés les boxplots du nombre de neutrophiles et du ratio N/L obtenus par comptage MS4, selon le groupe.

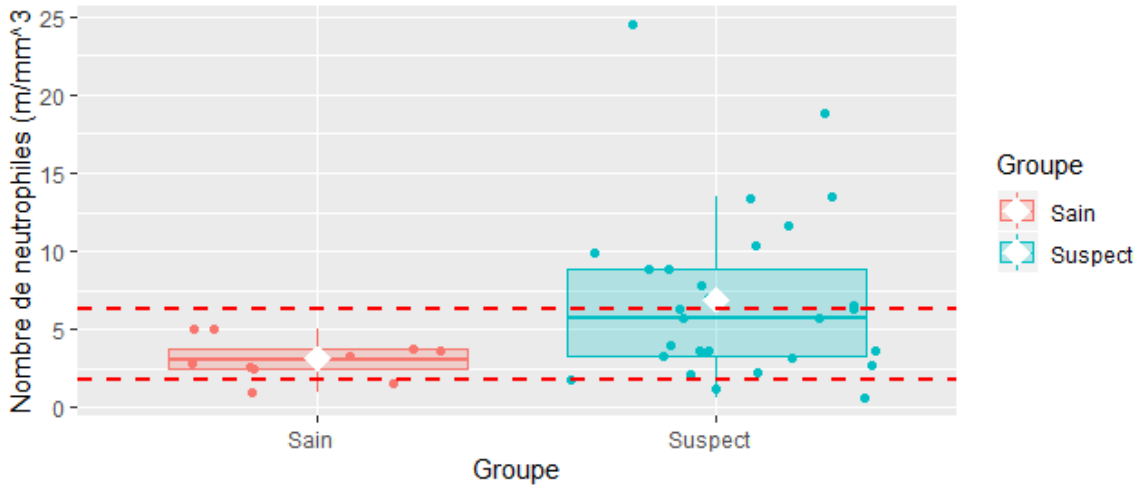


Figure 18: Boxplots (médiane et quartiles) du nombre de neutrophilex10^3/mm^3 obtenu par l'analyseur MS4, selon le groupe d'appartenance.
Les lignes horizontales en pointillé rouge représentent les valeurs usuelles (1.8-6.3x10^3/mm^3) [34].
Les losanges blancs correspondent à la moyenne de chaque groupe.

Les moyennes visibles sur les boxplots (losanges blancs) semblent relativement proches entre les deux groupes. On observe que les valeurs du groupe « sain » étaient dans les limites de l'intervalle de référence. En revanche, pour 9 individus du groupe « suspect », le nombre de neutrophiles était supérieur à 6.3x10^3/mm^3, et l'on observe 2 individus dont les valeurs étaient très élevées (individus 11 et 16).

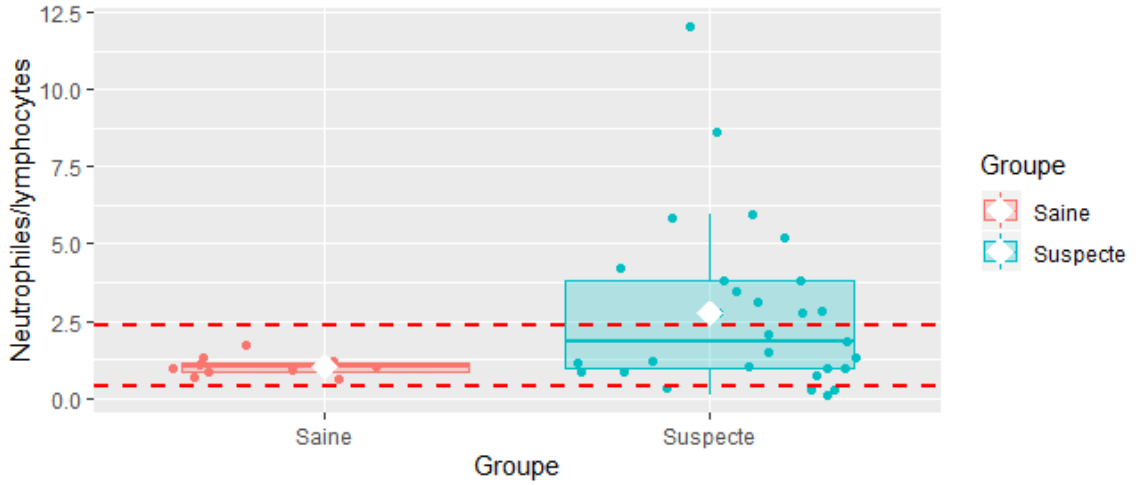


Figure 19: Boxplots (médiane et quartiles) du ratio neutrophiles/lymphocytes obtenu par l'analyseur MS4, selon le groupe d'appartenance.
Les lignes horizontales en pointillé rouge représentent les valeurs usuelles (0.4-2.34) [34]. Les losanges blancs correspondent à la moyenne de chaque groupe.

Les valeurs du ratio des individus du groupe « sain » restaient comprises dans l'intervalle de référence de 0.4-2.34, tandis que pour 12 individus du groupe suspect, elles étaient supérieures. Parmi ces 12 individus, seulement 6 possédaient un ratio N/L fortement augmenté (au-delà de 3.75), il s'agissait des individus 11,12,14,15,16 et 20.

iv. Test du temps au glutaraldéhyde selon les groupes

- Distribution des valeurs obtenues dans chaque groupe

Les résultats du test au glutaraldéhyde sont très dispersés dans les deux groupes et aucune tendance générale ne se dessine d'après les graphiques (figure 20). Les moyennes semblent identiques. Pour 28 individus, le temps du test au glutaraldéhyde était anormalement bas (<3mn), y compris dans le groupe « sain » (n= 7).

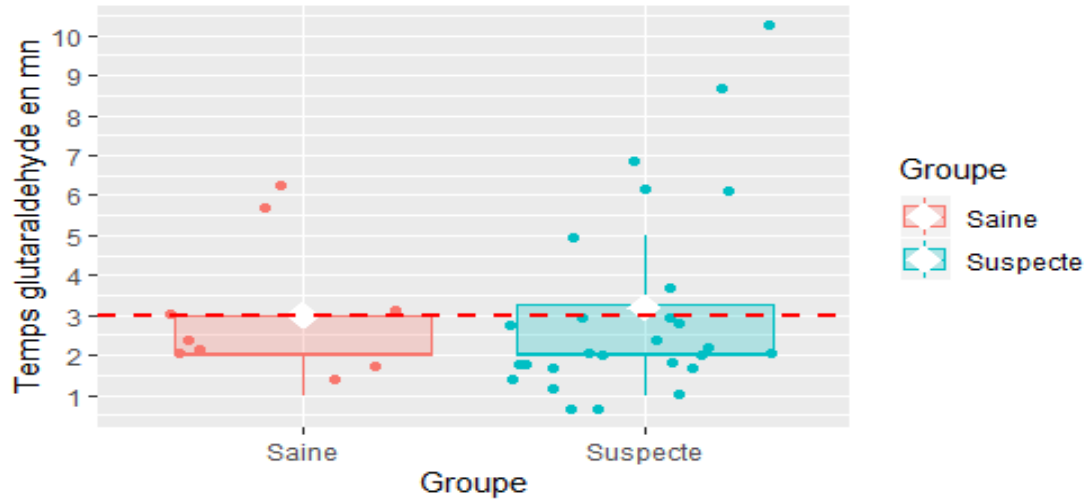


Figure 20: Boxplots (médiane et quartiles) du temps de coagulation du test au glutaraldéhyde selon le groupe d'appartenance.
La ligne horizontale en pointillé rouge représente le seuil de référence caractérisant une forte augmentation en fibrinogène ou en immunoglobulines lorsque les valeurs se trouvent en dessous, il est estimé à 3 mn [150]. Les losanges blancs correspondent à la moyenne de chaque groupe.

v. *Bilan des caractéristiques des individus avec des valeurs anormales aux différents tests*

Le Tableau XXIII récapitule le nombre d'individus sortant des valeurs usuelles pour chaque paramètre étudié et pour chaque groupe d'appartenance.

Tableau XXIII: Nombre d'individus en dehors de valeurs usuelles pour les différents paramètres étudiés, selon le groupe d'appartenance.

Groupe	Millar > 7g/L	Clauss >7g/L	Haptoglobine >100 mg/L (>1000mg/L)	Neutrophiles MS4 >6.3x10^3 /mm^3	Ratio N/L >2.34	GLT <3mn
Suspect (n=29)	6	5	21 (13)	9	12	28
Sain (n=10)	0	0	2 (0)	0	0	7

GLT : temps du test au glutaraldéhyde.

Hormis pour le test au glutaraldéhyde, les valeurs anormales correspondaient à des individus appartenant au groupe suspect, bien que ce ne soient pas toujours les mêmes individus qui présentaient des résultats anormaux.

b) Comparaison des moyennes de chacune des méthodes selon chaque groupe

Dans le Tableau XXIV, les moyennes des résultats sont comparées entre les groupes sain et suspect à l'aide d'un test de Student ou de Wilcoxon, et ce pour chaque variable :

Tableau XXIV: Comparaison des distributions de chaque biomarqueur entre les vaches saines et suspectes.

Méthode	***Médiane [quartiles]***		***P value du test utilisé***	***Moyenne [intervalle de confiance à 95%]***		***Conclusion***
	Saines	Suspectes		Saines	Suspectes	
Fibrinogène Clauss	3.63 [0.9 ; 4.70]	5.47 [1.38 ; 8.77]	0.0036 #	3.58 g/L [2.80 – 3.36]	5.15 g/L [4.43-5.88]	Différence significative entre les deux moyennes
Fibrinogène Millar	3.21 [2.8 ; 3.65]	4.5 [3.5 ; 6.00]	0.004 ¤	NR	NR	
Haptoglobine sérum	30 [30 ; 150]	910 [89 ; 1000]	0.00028 ¤	NR	NR	
Neutrophile MS4	3.06 [2.52 ; 3.69]	5.72 [3.30 ; 8.88]	0.028 ¤	NR	NR	
Ratio neutrophiles/ lymphocytes MS4	1.01 [0.86 ; 1.14]	1.83 [0.94 ; 3.79]	0.07 ¤	NR	NR	On ne peut pas conclure à une différence significative entre les deux moyennes
Test au glutaraldéhyde	2 [1 ; 3]	2 [2 ; 3.250]	0.91 ¤	NR	NR	

Les médianes et quartiles sont présentés pour chacun des biomarqueurs. Un test de Student identifié par le symbole # (respectivement un test de Mann Whitney Wilcoxon, identifié par ¤) a été réalisé lorsque l'hypothèse de normalité du test de Shapiro Wilk n'était pas rejetée (respectivement lorsque l'hypothèse de normalité était rejetée). Les moyennes et leurs intervalles de confiance à 95% n'ont été calculés que pour les distributions considérées comme normales.

Les tests statistiques ont confirmé l'hypothèse d'une différence significative des moyennes entre les deux groupes pour le fibrinogène, l'haptoglobine et les neutrophiles. En revanche, pour le ratio N/L et le test au glutaraldéhyde, une différence significative de moyenne entre les deux groupes n'a pas été démontrée, bien que pour le ratio N/L, la p-value ait été proche de 0.05, valeur permettant d'accepter l'hypothèse d'une différence de moyenne.

3) *Comparaison des méthodes de dosage du fibrinogène, des neutrophiles et du ratio N/L*

Une représentation graphique des valeurs a été réalisée avant d'étudier la concordance des méthodes.

a) Représentation générale et concordance des méthodes

Les méthodes de dosage à comparer (Fb Clauss et Fb Millar d'un côté, comptage MS4 et manuel de l'autre) ont été réalisées en parallèle sur les 39 échantillons. La distribution des points sont représentés dans les figures suivantes (Figure 21, 22 et 23).

- Cas du fibrinogène

La méthode de dosage de Clauss a donné deux résultats au-delà des valeurs usuelles alors qu'ils étaient normaux pour les mêmes individus avec la méthode de Millar. À l'inverse, 4 individus ont présenté des concentrations supérieures à 7 g/L avec la méthode de Millar, tandis qu'elles étaient dans les normes avec la méthode de Clauss.

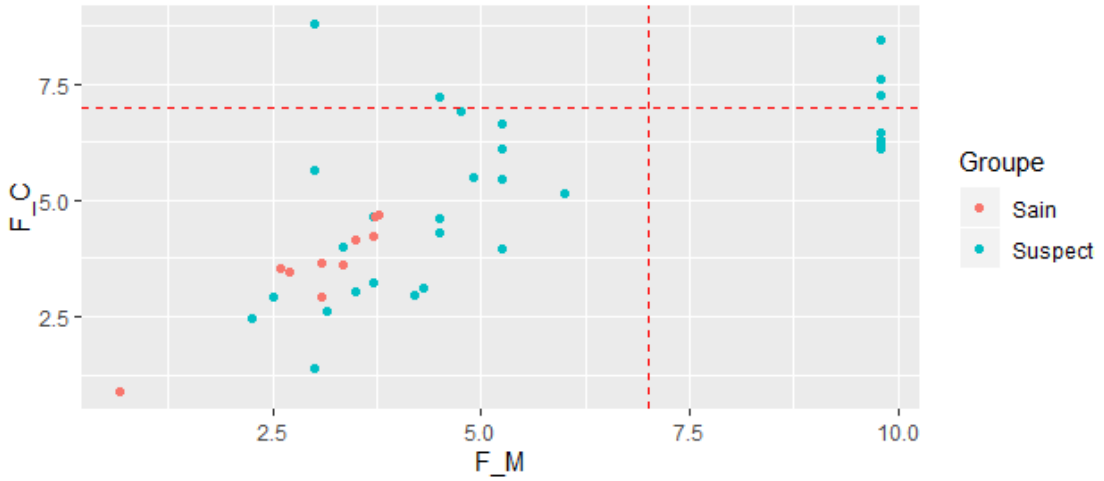


Figure 21: Représentation graphique du dosage du fibrinogène par la méthode de Clauss en fonction de celle de Millar.
Les valeurs représentées tout à droite du graphique correspondent à une précipitation en masse du fibrinogène par la méthode de Millar, auxquelles la concentration de 9.8 g/L a été attribuée. Les lignes en pointillé rouges marquent le seuil supérieur des valeurs usuelles (7 g/L).

Les moyennes étaient très proches pour les deux méthodes, mais l'on s'aperçoit en regardant les médianes (Tableau XXV) que la distribution a différé fortement entre les deux méthodes : les valeurs étaient symétriquement distribuées autour de la moyenne pour la méthode de Clauss, tandis qu'elles étaient plutôt inférieures à la moyenne pour la méthode de Millar. La présence de 6 données censurées (plasma coagulé en masse après chauffage) est venue augmenter cette moyenne (Tableau XXV page suivante).

Tableau XXV: Caractéristiques statistiques des deux méthodes de dosage du fibrinogène

	Minimum	1er quartile	Médiane	Moyenne	2e quartile	Maximum
Millar	0.670	3.112	3.775	4.840	5.250	9.8
Clauss	0.900	3.345	4.610	4.751	6.135	8.770

La concordance entre les deux méthodes est évaluée dans le Tableau XXVI. Ce tableau permet de mettre en évidence la corrélation entre les méthodes pour la détection de valeurs anormales (au-delà du seuil supérieur des valeurs usuelles). Pour 33 individus sur 39 (84,7% des valeurs), les deux méthodes coïncidaient dans le classement des valeurs (30 dans les valeurs usuelles, 3 au-delà des valeurs usuelles).

Tableau XXVI: Comparaison des deux méthodes vis-à-vis des résultats du dosage pour le fibrinogène.

	Clauss -	**Clauss +**
Millar -	30 (77%)	2 (5.1%)
Millar +	4 (10,2%)	3 (7.7%)

Un + signifie que les valeurs sont au-dessus du seuil limite supérieur de 7 g/L, un – signifie que les valeurs sont sous ce seuil.

- Cas du comptage des neutrophiles : manuel VS MS4

Comme pour le fibrinogène, les méthodes de comptage des neutrophiles par l'analyseur et par comptage manuel ont été comparées.

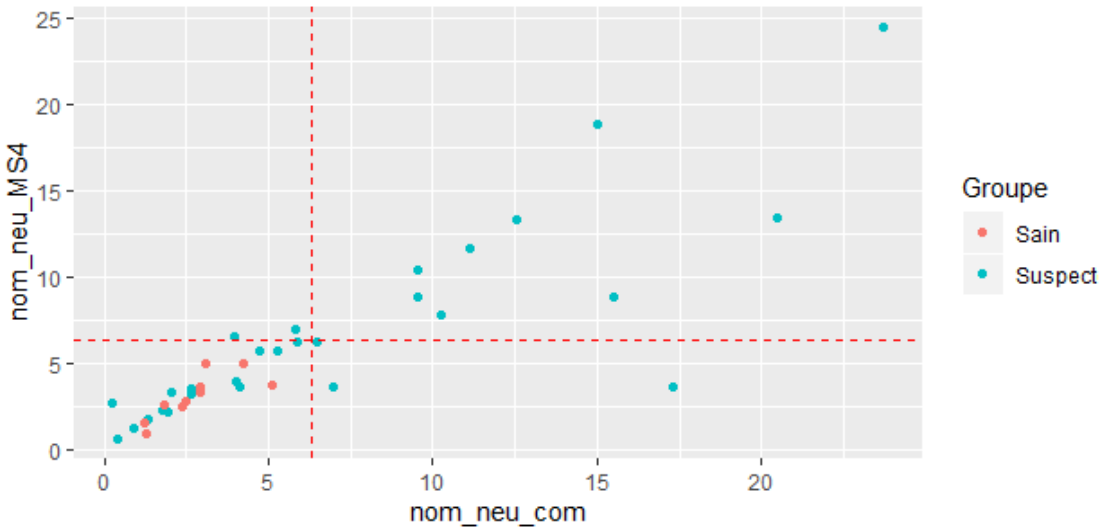


Figure 22: Représentation graphique du nombre de neutrophiles par comptage manuel et par l'analyseur.
Les lignes en pointillé rouges marquent le seuil supérieur des valeurs usuelles (6.3 x 10^3/mm^3).

Le comptage manuel a donné 3 valeurs au-dessus du seuil alors que ces valeurs étaient normales suite au comptage par l'analyseur. Inversement, 2 valeurs étaient au-delà du seuil lors du comptage par l'analyseur mais normales avec le comptage manuel, cependant ces valeurs étaient très proches du seuil fixé d'après le graphique. Une seule valeur reste très contradictoire sur ce graphique.

Les moyennes et médianes étaient relativement proches entre les deux méthodes de comptage, de même que les autres paramètres du tableau XXVII.

Tableau XXVII: Valeurs statistiques descriptives des méthodes de comptage des neutrophiles

	Minimum	1er quartile	Médiane	Moyenne	2e quartile	Maximum
Analyseur	0.664	2.76	3.71	5.94	7.4	24.44
Manuel	0.27	2.12	4.077	6.15	8.88	23.71

La concordance des méthodes était de 87, 1% des valeurs classées à l'identique (tableau XXVIII) :

Tableau XXVIII: Comparaison des deux méthodes vis-à-vis des résultats du comptage des neutrophiles.

	Manuel -	**Manuel +**
MS4 -	25 (64.1%)	3 (7.7%)
MS4 +	2 (5.2%)	9 (23%)

Un + signifie que les valeurs sont au-dessus de seuil limite supérieur de 6.3x10^3/mm^3, un – signifie que les valeurs sont sous ce seuil.

- Cas du ratio N/L

Pour le ratio N/L : l'analyseur donnait un ratio au-delà du seuil supérieur de 2.34 et un ratio au comptage manuel dans les normes pour quatre individus. À l'inverse, pour deux individus les valeurs dépassaient 2.34 avec le comptage manuel et étaient dans les normes avec l'analyseur (figure 23).

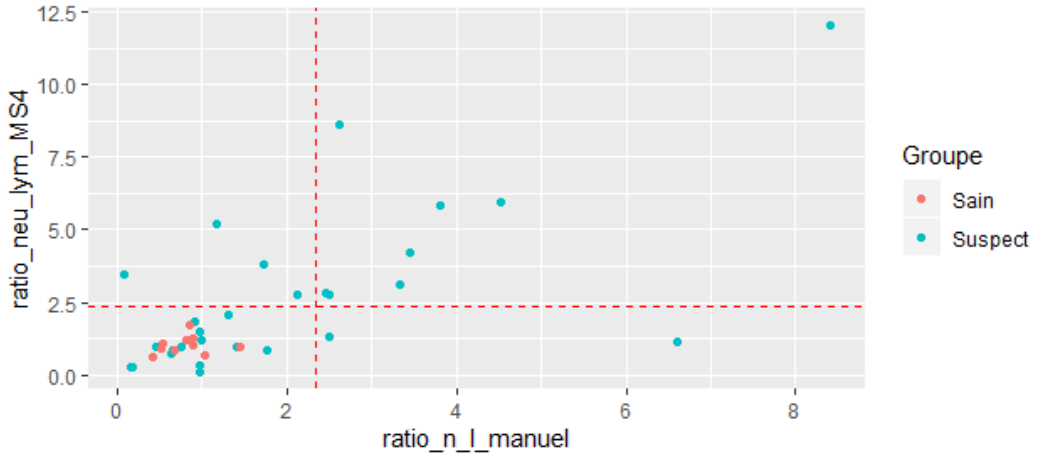


Figure 23: Représentation graphique des résultats du ratio N/L obtenus par l'analyseur en fonction de ceux obtenus par comptage manuel.
Les lignes en pointillé rouge représentent le seuil supérieur de 2.34 pour le ratio N/L.

Les caractéristiques statistiques de ces deux méthodes sont décrites dans le Tableau XXIX. Les valeurs lors du comptage manuel étaient plus basses, et plus regroupées autour de la moyenne que celles du MS4.

Tableau XXIX: Valeurs statistiques descriptives des méthodes de comptage du ratio N/L.

	Minimum	1er quartile	Médiane	Moyenne	3e quartile	Maximum
Analyseur	0.110	0.875	1.210	2.308	2.970	12.030
Manuel	0.0843	0.695	0.9896	1.7248	2.3667	8.400

Les méthodes étaient concordantes pour 84,7% des analyses (Tableau XXX) :

Tableau XXX: Comparaison des deux méthodes vis-à-vis des résultats du comptage pour le ratio N/L.

	Manuel -	**Manuel +**
MS4 -	25 (64,1%)	2 (5.1%)
MS4 +	4 (10.2%)	8 (20.6%)

Un + signifie que les valeurs sont au-dessus de seuil limite supérieur de 2.34, un – signifie que les valeurs sont sous ce seuil.

b) Etude de l'interchangeabilité des méthodes

La normalité de la différence « méthode Millar-Méthode Clauss » pour le fibrinogène et « comptage analyseur- comptage manuel » pour les neutrophiles et le ratio N/L a été étudiée. Les résultats du test de Shapiro Wilk (p-value = 0.033 pour le fibrinogène et p-value = 3.26x10^-8 et 3.33x10^.5 pour le comptage des neutrophiles et du ratio N/L, respectivement) ont permis de rejeter l'hypothèse de normalité de la distribution pour le fibrinogène et de l'accepter pour le comptage.

L'hypothèse de normalité étant rejetée pour le fibrinogène, les graphiques de Bland et Altman et la régression de Passing et Bablok n'étaient à priori pas interprétables. Ils l'étaient au contraire pour les résultats du comptage (graphiques en Annexe 3).

Le Tableau XXXI fait une synthèse des résultats obtenus après réalisation des tests de normalité et des graphiques.

Tableau XXXI: Résultats des analyses statistiques de comparaison des méthodes.

Méthodes comparées		**Millar-Clauss**	**Analyseur-manuel**	
Effectifs		39	39	
			Ratio N/L	Neutrophiles
Distribution de la différence et test de normalité	Représentation graphique	Eloigné de la normalité	Proche normalité	
	Test utilisé	**Shipiro-Wilk**		
	p-value	0.033	3.33x10^-5	3.26x10^-8
	Conclusion	Hypothèse de distribution normale non retenue	Hypothèse de distribution normale retenue	
Corrélation linéaire	Méthode statistique	**Régression de Passing et Bablok**		
	Equation courbe	Clauss = 0.87 x Millar + 0.57	Manuel = 1.44 x analyseur -0.12	Manuel= 1.01 x analyseur -0.41
	IC 95% Coeff dir	[0.6, 1.4]	[1.12,2.14]	[0.94, 1.30]
	IC 95% Ordonnée à l'origine	[-1.10,1.58]	[-0.77, 0.10]	[-0.24, 1.42]
	Coefficient de corrélation de Pearson	0.682	0.704	0.855
	Conclusion	Absence de biais	Biais proportionnel	Absence de biais
	Méthode statistique	**Graphique de Bland et Altman**		
	Conclusion	Moins bonne interchangeabilité des méthodes quand les valeurs augmentent.		

La régression de Passing et Bablok nous a permis d'obtenir la droite de régression linéaire et le coefficient de Pearson associé. Ces résultats montraient l'interchangeabilité des méthodes pour le fibrinogène et les neutrophiles (0 dans l'intervalle de confiance de l'ordonnée à l'origine, 1 dans celui du coefficient directeur, d'après le Tableau ci-dessus). En revanche, il existe un biais proportionnel pour le ratio N/L entre les deux méthodes (1 n'est pas dans l'intervalle de confiance du coefficient directeur).

Ainsi, l'analyse des résultats a montré une assez bonne concordance des méthodes pour discriminer les individus selon deux groupes « valeurs dans les normes » ou « valeurs hors normes ».

Afin de simplifier les analyses, et grâce à la bonne interchangeabilité des méthodes de dosage et comptage, nous avons choisi de ne garder qu'une des deux méthodes de dosage pour chaque paramètre dans l'analyse ultérieure. Le fibrinogène par la méthode de Clauss a été choisi, car contrairement à la méthode de Millar, celle-ci est automatisable et il n'existe pas de valeurs censurées (liées à une coagulation en masse du plasma dans la méthode de Millar). Le comptage réalisé par l'analyseur a de même été privilégié car il est automatisé et moins fastidieux à réaliser pour le vétérinaire praticien.

4) *Evolution 2 à 2 des variables quantitatives*

La visualisation des corrélations entre les variables prises deux à deux est une source d'information importante quant aux liens possibles entre les différentes variables quantitatives. Le Tableau XXXII résume les coefficients tau de Kendall entre chacune des variables prises 2 à 2.

Tableau XXXII: Valeur du coefficient de Kendall pour les variables prises 2 à 2.

Fb Clauss	*GLT*	*Hp sérum*	*Age*	*Durée évolution*	*TR*	*βOH*	*Lymphocytes MS4*	*Neutrophiles MS4*	*Ratio N/L*
Fb Clauss	**-0.33**	**0.49**	0.034	**-0.33**	0.09	-0.10	0.08	0.28	0.12
	GLT	-0.23	**-0.32**	-0.09	0.054	**0.32**	0.09	0.16	0.15
		Hp sérum	-0.05	**-0.5**	0.05	-0.19	0.004	**0.34**	0.22
			Age	0.07	-0.08	-0.27	**-0.30**	-0.13	0.13
				Durée évolution	0.11	0.06	-0.025	-0.26	-0.12
					TR	0.016	-0.16	-0.003	0.08
						βOH	0.008	-0.08	-0.07
							Lymphocytes MS4	0.04	**-0.42**
								Neutrophiles MS4	**0.54**
									Ratio N/L

Fb : fibrinogène ; Hp : haptoglobine, TR : température rectale, GLT : test au glutaraldéhyde. Sont en violet les coefficients traduisant une forte corrélation (d'après la définition faite plus haut), en marron ceux traduisant une corrélation modérée. Le fibrinogène Millar, l'haptoglobine sang, le nombre de neutrophiles et lymphocytes obtenu par comptage manuel, la fréquence respiratoire et cardiaque, la parité et stade de lactation et gestation ont été supprimées pour une question de lisibilité.

Une corrélation forte a été mise en évidence entre la concentration en haptoglobine sérique et la durée d'évolution des symptômes, ces deux variables étant anti-corrélées (coefficient négatif). Il en est de même entre le taux de neutrophiles et le ratio N/L.

Une corrélation positive modérée a été calculée entre l'haptoglobine, le Fb Clauss et le taux de neutrophiles. Elle était négative entre les lymphocytes et l'âge (variation contraire), ainsi qu'entre le fibrinogène et, à la fois, le GLT et la durée d'évolution.

5) *Corrélation entre les variables : Analyse Factorielle des Données Mixtes*

Les informations concernant certaines variables manquent à notre jeu de données, il a donc été nécessaire d'étudier les caractéristiques des animaux avec des données manquantes puis de remplacer et d'attribuer des valeurs à ces données avant de réaliser les analyses statistiques.

a) Gestion des données manquantes

Etudier les caractéristiques de nos individus pour lesquels des données étaient manquantes était nécessaire afin de déterminer si, pour un groupe d'animaux donné présentant les mêmes caractéristiques, le nombre de données manquantes était plus important que pour le groupe d'animaux ne présentant pas ces caractéristiques. Si cela était le cas, il fallait en tenir compte dans l'interprétation des résultats car cela pouvait constituer un biais supplémentaire (ex : on peut imaginer ne pas avoir la température rectale de tous les jeunes car dangereux à réaliser. Dans ce cas, un groupe particulier représenté par les animaux jeunes possède à lui seul la totalité des valeurs manquantes de la variable température.)

Une comparaison entre le groupe d'animaux suspects possédant au moins une donnée manquante (N=23) et le groupe des animaux sans données manquantes (N= 6) a donc été faite pour chaque variable. Un test de khi 2 pour les variables qualitatives (respectivement un test de Wilcoxon pour les quantitatives) a été réalisé afin de voir si les deux groupes présentaient les mêmes proportions dans les différentes modalités d'une variable (respectivement si les médianes étaient proches entre les 2 groupes). Les résultats de ces tests sont reportés dans le Tableau XXXIII.

Tableau XXXIII : Résumé des données manquantes de certaines variables et caractéristiques des individus associés.

Variable	Nombre de données manquantes	P-value
Age	3	0.77[a]
Parité	1	0.93[a]
Stade de lactation	2	0.31[a]
Stade de gestation	3	0.51[a]
Durée d'évolution	10	0.95[a]
Fréquence cardiaque	7	0.95[a]
Fréquence respiratoire	10	0.10[a]
Anomalie appareil circulatoire	3	1 ®
Anomalie appareil urinaire	13	1 ®
Anomalie appareil génital	1	0.31 ®
Anomalie appareil locomoteur	2	0.8 ®
Neutrophiles manuel	1	0.89[a]
Lymphocytes manuel	1	0.13[a]
Haptoglobine sang	20	0.35[a]
Temps de test glutaraldéhyde	2	0.82[a]

La réalisation d'un test du Khi-2 est représenté par le signe ®, celle d'un test de Wilcoxon par le signe[a]

La p-value obtenue est supérieure à 0.05 pour toutes les variables. Aucune différence significative entre les groupes étudiés, individus avec et sans données manquantes, n'a été mise en évidence. Ainsi, nous considérerons que la présence de données manquantes est aléatoirement distribuée et indépendante des autres variables étudiées.

Le remplacement des données manquantes a ensuite été réalisé grâce au package missMDA évoqué plus haut. Les résultats de l'imputation représentés en Annexe 2 nous ont invité à ne pas utiliser l'haptoglobine sang, la fréquence respiratoire, la fréquence cardiaque et la durée d'évolution dans la suite de nos analyses. En effet, pour ces variables les nuages de points étaient trop dispersés.

Un tri dans les variables quantitatives a donc été réalisé et les variables suivantes ont été supprimées :

- **la durée d'évolution, l'haptoglobine sang et la fréquence respiratoire et cardiaque** : d'après les résultats obtenus grâce aux packages missMDA ci-dessus, le nombre trop important de données manquantes ne permet pas d'utiliser ces variables de façon optimale.
- **le stade de lactation :** nous avons choisi d'éliminer ce paramètre car il ne concerne qu'une partie des individus inclus dans l'étude (femelles laitières) et qu'il était, la plupart du temps, redondant avec le stade de gestation.
- **le fibrinogène Millar :** les résultats du fibrinogène donnés par la méthode de Clauss (biochimie) ont été conservés contrairement à ceux donnés par la méthode de Millar car ils présentent moins d'erreurs liés au protocole (précipitation en masse du fibrinogène dans le cas de la méthode de Millar), notamment sans donnée maximale.

De plus, nous avons montré plus haut une bonne interchangeabilité des méthodes, nous autorisant à ne conserver qu'une des deux variables.

- **la parité :** nous l'avons éliminé des variables quantitatives car elle possède les mêmes variations que l'âge, auquel elle est étroitement corrélée.
- **le nombre de lymphocytes et neutrophiles obtenus par comptage manuel :** l'intérêt de notre étude est l'applicabilité des tests diagnostiques en clinique «courante ». Dans ce contexte, la réalisation du comptage manuel des neutrophiles et lymphocytes semblait moins probable ; nous avons estimé suffisant de ne garder que les résultats obtenus par le MS4, avec lesquels la convergence était bonne.

Concernant les variables qualitatives, il a été choisi de toutes les conserver.

b) Détermination du nombre de valeurs propres

Le graphique présentant l'éboulis des valeurs propres est présenté en Annexe 4. Ce graphique représente le pourcentage total de la contribution des variables pour chaque dimension. Après visualisation de la contribution des variables sur les différentes dimensions, nous avons choisi de ne garder que les deux premières, qui expliquent 36,3% de la variabilité (cela reste toutefois assez faible).

c) Graphique des variables quantitatives

Le cercle des corrélations des variables quantitatives conservées de notre jeu de données est représenté sur la Figure 25.

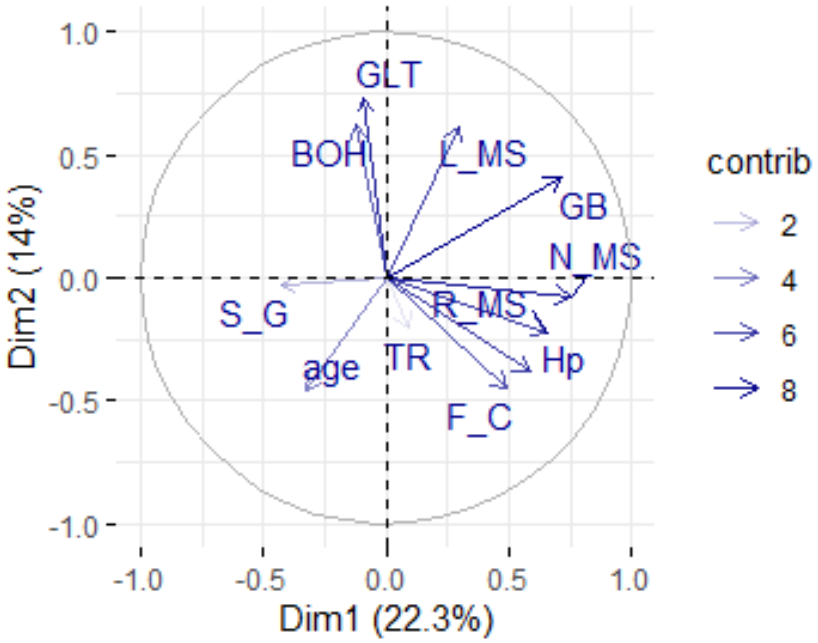


Figure 24: Cercle de corrélation des variables quantitatives, la couleur de chaque variable varie selon sa contribution sur les deux premières dimensions.
GLT : test au glutaraldéhyde, L_MS : comptage lymphocytes MS4, TR : température rectale, S_G : stade de gestation, F_C : fibrinogène Clauss, R_MS : ratio N/L au MS4, GB : globule blanc, N_MS : comptage neutrophiles MS4, Hp : haptoglobine.

La figure 24 permet de voir que plusieurs variables ont évolué ensemble :

- L'haptoglobine sérum, le nombre de neutrophiles MS4, le fibrinogène Clauss et le ratio N/L forment un premier groupe.
- Le temps du test au glutaraldéhyde, les βOH auxquels on peut rajouter le nombre de lymphocytes forment un second groupe, représenté sur la dimension 2 presque exclusivement.
- Un troisième comprend l'âge et le stade de gestation, bien que ces variables semblent plus indépendantes 2 à 2 que les variables précédentes.

Lors d'ACP, on considère que des variables perpendiculaires sont indépendantes. Sur notre graphique, cela se traduit par l'indépendance relative des groupes 1 et 2, sans relation forte entre les variables appartenant à ces deux groupes.

Le nombre de GB se trouve entre le nombre de lymphocytes et de neutrophiles.

D'après la Figure 24, le nombre de lymphocytes MS4 et celui de GB évoluent en sens inverse du stage de gestation et de l'âge.

Le stade de gestation et la température ne sont pas bien représentés sur ces axes.

d) Graphique des variables qualitatives

Les résultats de l'AFDM se fondent uniquement sur les variables qualitatives, ce que l'on peut assimiler aux résultats d'une ACM à la différence près que les variables quantitatives interviennent dans la détermination des axes et des contributions. Les résultats de l'analyse sont représentés en figure 25.

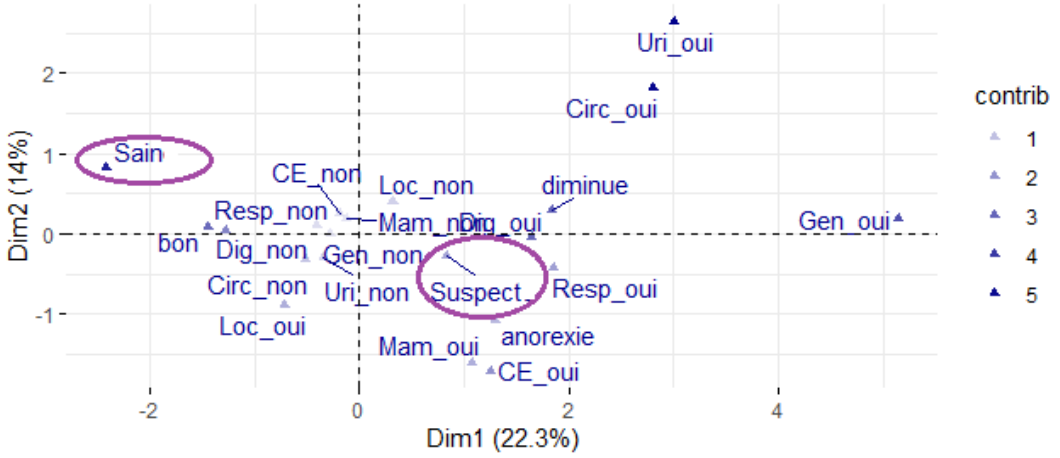


Figure 25: Résultats de l'AFMD où ne sont représentées que les variables qualitatives, selon les dimensions 1 et 2.
La couleur des triangles plaçant les modalités évolue en fonction de la contribution des variables. Sont entourées en violet les modalités de la variable « Groupe », c'est-à-dire les animaux sains et suspects. CE : corps étranger, Mam : mamelle, Loc : appareil locomoteur, TR : température rectale, Resp : appareil respiratoire, S_G : stade de gestation, Uri : appareil urinaire, F_C : fibrinogène Clauss, Circ : appareil circulatoire, Dig : appareil digestif, R_MS : ratio N/L au MS4, GB : globule blanc, Ap : appétit, N_MS : comptage neutrophiles MS4, Gen : appareil génital, Hp : haptoglobine. Les modalités « oui » ou « non » sont associées à chaque variable en fonction de la présence ou de l'absence d'une anomalie.

On remarque deux grandes tendances concernant la disposition des variables qualitatives sur le graphique : à gauche se trouvent les modalités traduisant l'absence d'anomalies lors de l'examen clinique, ainsi que la modalité appétit « bon » et les individus du groupe « sain ». À droite se retrouvent au contraire les modalités rapportant des anomalies lors de l'examen clinique, un appétit diminué ou une anorexie, et le groupe « suspect ».

Les variables sont essentiellement distribuées sur le premier axe (dimension 1), tandis que sur l'axe 2 les contributions restent faibles. Sur l'axe 1, hormis quelques exceptions (« appétit bon », « gen_oui», groupe « saine »), la majorité des modalités restent proches de 0. Sur l'axe 2, seule Uri_oui (présence d'une anomalie de l'appareil urinaire) et Circ-oui (présence d'une anomalie de l'appareil circulatoire) sont bien représentées.

L'étude de la dimension 3 ne nous a pas apporté d'informations supplémentaires.

e) Graphique de toutes les variables

Les résultats de l'AFDM avec toutes les variables sont représentés Figure 26 sur les deux premières dimensions, ce qui permet d'observer la contribution de chaque variable sur ces deux dimensions. En cas de contribution négative, c'est la valeur absolue qui est représentée sur ce graphique.

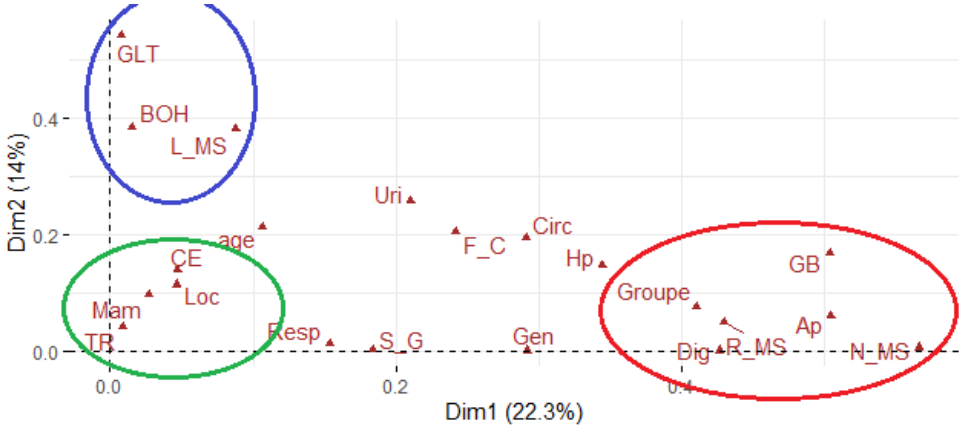


Figure 26: Plan factoriel (dimensions 1 et 2) de l'analyse factorielle réalisée sur l'ensemble des variables. En rouge les variables particulièrement bien représentées sur la 1ère dimension, en bleu celles sur la 2e. En vert, les variables moins bien représentées sur ces deux dimensions. GLT : test au glutaraldéhyde, L_MS : comptage lymphocytes MS4, CE : corps étranger, Mam : mamelle, Loc : appareil locomoteur, TR : température rectale, Resp : appareil respiratoire, S_G : stade de gestation, Uri : appareil urinaire, F_C : fibrinogène Clauss, Circ : appareil circulatoire, Dig : appareil digestif, R_MS : ratio N/L au MS4, GB : globule blanc, Ap : appétit, N_MS : comptage neutrophiles MS4, Gen : appareil génital, Hp : haptoglobine.

La dimension 1 est définie essentiellement par le nombre de neutrophiles, de globules blancs, l'haptoglobine sérum, l'appétit, les anomalies de l'appareil digestif, le ratio N/L et le groupe d'appartenance ; tandis que sur la dimension 2 on note le temps du test au glutaraldéhyde, les βOH et le nombre de lymphocytes. On s'aperçoit que de nombreuses variables n'ont contribué que faiblement à ces deux dimensions, elles sont représentées au milieu du graphique et relativement éloignées des deux axes. C'est le cas en particulier pour les variables qualitatives (anomalies à l'examen clinique), dont la contribution sur les deux axes est faible ainsi que pour la température rectale.

f) Graphique des individus

Les individus ont été placés sur un graphique similaire à celui des variables qualitatives, obtenu par AFDM. Selon leur groupe d'appartenance, ils ont été colorés en rose ou en bleu (Figure 27).

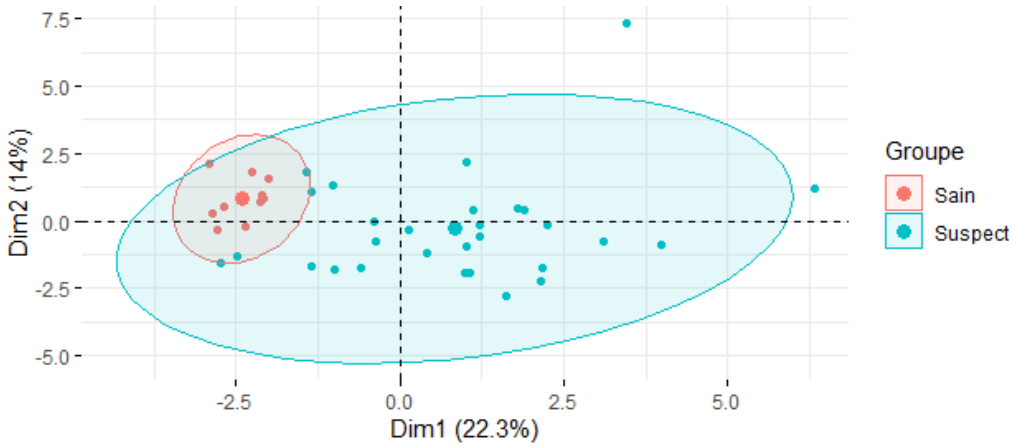


Figure 27: Graphique des individus, coloriés selon le groupe. Les ellipses de confiance à 95% sont représentées pour chaque groupe, ainsi que le point moyen des individus (plus gros point).

Le groupe « sain » est regroupé dans le cadran supérieur gauche, tandis que le groupe « suspect » est plus dispersé, mais 45% des individus le composant sont dans la partie inférieure droite du graphique.

Les variables qualitatives ont ensuite été superposées au graphique précédent, afin d'évaluer la position des individus par rapport aux anomalies rencontrées lors de l'examen clinique (Figure 28). Les variables caractérisant une anomalie à l'examen clinique sont regroupées dans le même cadran que la majorité des « suspectes », tandis que celles traduisant d'une absence d'anomalie sont à gauche avec les animaux « sains ».

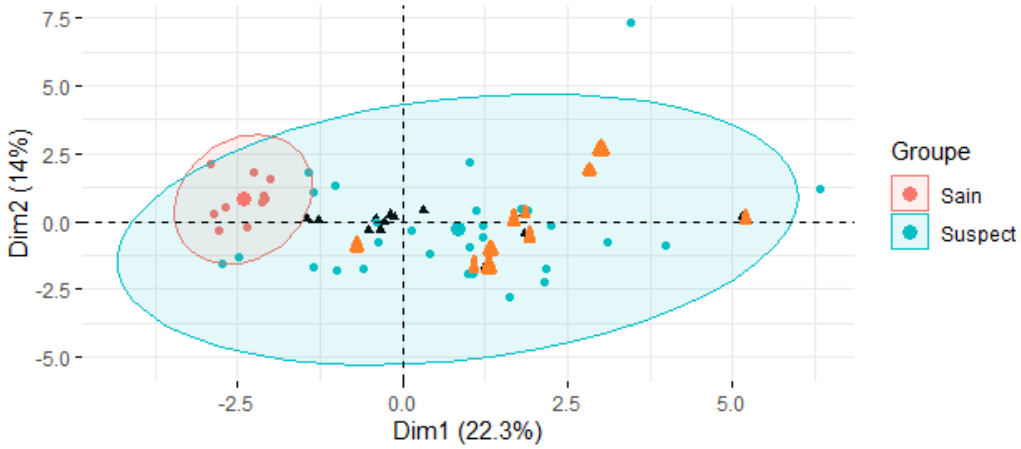


Figure 28: Superposition du graphique des individus et des variables qualitatives sur les deux premières dimensions.
Les ellipses de confiance à 95% des deux groupes sont représentées. Les triangles orange correspondent aux modalités témoignant d'anomalies lors de l'examen clinique, les triangles noirs celles témoignant d'une absence d'anomalies à l'examen clinique.

Le Tableau XXXIV synthétise les résultats des graphiques obtenus pour les variables qualitatives et quantitatives, et les apparie selon leur projection sur les 4 cadrans.

Tableau XXXIV: Résultat de l'AFDM sur les variables qualitatives et quantitatives.

		Cadran	
		Gauche	Droit
Cadran	Supérieur	**Saine** Appétit : **Bon** Anomalies appareil respiratoire, digestif, CE, mamelle : **Non*** Temps glutaraldéhyde βOH	Anomalie appareil circulatoire, digestif, urinaire, génital : **Oui** Appétit **: diminué** Anomalie appareil locomoteur : **Non** Nombre lymphocytes MS4 GB
	Inférieur	Anomalie appareil circulatoire, génital, urinaire : **Non *** Anomalie appareil locomoteur : **Oui *** Stade de gestation Age	**Suspecte** Appétit : **anorexie** Anomalie corps étranger, appareil respiratoire, mamelle : **Oui** Nombre neutrophile MS4 Ratio N/L Fibrinogène Clauss Haptoglobine sérum TR *

Selon leur projection sur le graphique et le cercle des corrélations, les variables sont regroupées dans un cadran : supérieur gauche, inférieur gauche, supérieur droit et inférieur droit.
En rouge sont représentées les variables témoignant d'une anomalie, en bleu celles ne témoignant pas d'une anomalie. Les deux groupes d'individus sont en noir. Les astérisques sont présents lorsque la variable n'est que peu représentée sur les dimensions (proche du centre).

6) *Intérêt diagnostique de nos marqueurs dans la détection d'un état inflammatoire.*

Dans la suite du paragraphe sont décrites les proportions d'individus identifiés comme positifs ou négatifs dans chacun des deux groupes de l'étude (sain ou suspect). Les seuils de positivité identifiés dans la partie bibliographique ont été utilisés pour classifier les individus en « positif » ou « négatif » à chacune des méthodes (Tableau XXXV).

Tableau XXXV: Performances diagnostiques des marqueurs choisis et de la variable température.

Méthode diagnostique	Seuil choisi	Sain n= 10 (%)	Suspect n=29 (%)
Haptoglobine sérum (Snaptest)	>100 mg/L	2/10 (2)	21/29 (72.4)
Ratio N/L (MS4)	2.34	0/10 (0)	13/29 (44,8)
Taux de neutrophiles (MS4)	>6.3x10^9/mm^3	0/10 (0)	12/29 (41,4)
Fibrinogène (méthode de Clauss)	>7 g/L	0/10 (0)	5/29 (17.2)
Température rectale	39.5°C	0/10 (0)	1/29 (3,4)

Est représenté le nombre d'individus présentant des valeurs au-delà du seuil choisi, et ce pour chaque groupe d'animaux.

Pour le groupe sain, les valeurs étaient dans les valeurs usuelles pour toutes les variables, hormis pour deux individus concernant l'haptoglobine. Pour le groupe suspect, la proportion d'individus « anormaux » détectée était particulièrement importante pour l'haptoglobine, suivi du ratio N/L, du taux de neutrophiles du fibrinogène et de la température rectale.

C. Discussion

L'étude conjointe des différents paramètres devait permettre de sélectionner les examens complémentaires intéressants dans la détection d'un état inflammatoire, et d'éliminer ceux qui, au contraire, n'étaient que peu sensibles ou peu spécifiques dans ce cadre-là. Cette étude avait pour objectif de fournir au praticien une méthode de sélection du test le plus pertinent pour détecter la présence d'un état inflammatoire en cas de signes cliniques non spécifiques. Nous avons inclus dans notre étude des paramètres de l'examen clinique ainsi que des examens complémentaires en incluant 29 bovins dans un groupe suspect, vus par les confrères ou hospitalisés pour un trouble de santé, et 10 bovins d'un groupe sain, prélevés et examinés au cours de visites de suivi.

1) *Comparaison des variables entre les deux groupes et interchangeabilité des méthodes*

Les intervalles de référence choisis pour chacune des variables suivantes (fibrinogène, haptoglobine, neutrophile, ratio N/L, GLT) ont été définis à partir de notre analyse bibliographique, car le nombre insuffisant d'individus dans le groupe « sain » (n=10) ne nous a pas permis de déterminer un intervalle de référence expérimental.

De plus, l'examen clinique est un test de référence imparfait, il n'a donc pas pu être exclu que certains de nos individus sains aient souffert d'aucun processus inflammatoire discret ou débutant.

a) Le fibrinogène

i. Comparaison entre les groupes

La comparaison des moyennes des dosages du fibrinogène entre les deux groupes sain et suspect ainsi que la distribution des valeurs (Figure 15 et 16) ont permis de noter une différence significative entre les groupes, le groupe suspect possédant pour les deux méthodes de dosage (Millar et Clauss) une moyenne supérieure à celle du groupe sain.

L'ensemble des valeurs du groupe sain (de 0.9 à 4.70g/L pour Clauss et de 0.67 à 3.77 g/L pour Millar) étaient toutes dans la limite basse de l'intervalle de référence (3-7g/L), et ce pour les deux méthodes. Elles étaient également inférieures à celles déterminées expérimentalement pour des groupes témoins d'autres études, des groupes témoins définis par des bovins sans aucune anomalie à l'examen clinique, que ce soit pour la méthode de Millar (où les valeurs variaient entre 5.5 et 6.5 g/L, n=12 [168]) ou de Clauss (en moyenne 5.5g/L [84]). L'hypothèse d'une erreur liée au protocole a été écartée car les valeurs étaient proches avec les deux méthodes. Une hypofibrinogénémie d'origine hépatique n'était pas envisagée car elle n'est observée que chez les bovins en insuffisance hépatique sévère tandis que les bovins de l'étude ne présentaient aucune anomalie lors de l'examen clinique. Une source potentielle de sous-estimation de la fibrinogénémie (en particulier par la méthode de Clauss) pourrait être la présence de substances telles les PDF (Produits de Dégradation du Fibrinogène et de la Fibrine) dans le sang [169]. Néanmoins, la présence de PDF en quantité suffisante pour diminuer les valeurs de fibrinogénémie chez l'ensemble des bovins sains inclus dans l'étude nous semble peu crédible.

Concernant le groupe suspect, 80% (24/29 avec la méthode de Clauss) à 83% (23/29 avec la méthode de Millar) des individus qui le composaient présentaient des valeurs de fibrinogénémie incluses dans l'intervalle de référence de la littérature, *i.e.* considérées comme « normales ». Le fibrinogène est une PPA modérée et sa concentration devient très élevée seulement dans de rares cas, en particulier lors de processus inflammatoire généralisé sévère comme les RPT [27]. Seule une faible proportion d'individus au-dessus des valeurs usuelles est donc attendue, même chez des individus cliniquement suspects qui peuvent être à des stades nuls à modérés d'inflammation. Néanmoins même avec une très forte proportion d'individus aux valeurs normales, les moyennes du groupe suspect, obtenues avec chacune des deux méthodes de dosage, étaient significativement supérieures à celles du groupe sain. Cette différence peut être expliquée par la présence d'un nombre important de bovins suspects ayant des valeurs de fibrinogénémie appartenant à la moitié supérieure de l'intervalle de référence du fibrinogène sanguin, alors que tous les individus sains appartiennent à la moitié inférieure de cet intervalle de référence (ainsi 11 individus suspects ont un fibrinogène compris entre 5 et 7g/L selon la méthode de Clauss (cf. figure 16) et 5 selon la méthode de Millar (cf. figure 15), alors qu'aucun individu sain n'a de fibrinogénémie >5g/L). Le seuil supérieur de 7g/L défini dans la littérature semble donc anormalement haut à la lumière de nos résultats, un abaissement du seuil supérieur haut des valeurs usuelles, autour de 5 g/L de Fb, semble envisageable.

Enfin, pour les individus suspects qui présentaient des concentrations en fibrinogène basses (< 7 g/L), les hypothèses diagnostiques et remarques associées à l'examen clinique nous ont montré que ces animaux pouvaient rentrer dans une catégorie à statut inflammatoire « négatif » (ex : cétose, fièvre de lait). Cela a été décrit lors de maladies gastro-intestinales [87], d'infection parasitaire faible à modérée [133] ou d'atteinte de l'appareil respiratoire [96]. Seul l'individu 9 (Fb Millar= 2.25 g/L ; Fb Clauss = 2.45g/L, hypothèse corps étranger) pose question, car dans ce cas la concentration en fibrinogène aurait dû être plus élevée. Trois hypothèses sont à envisager concernant cet individu : soit l'hypothèse de corps étranger est à rejeter, soit la durée d'évolution est trop élevée et la concentration en fibrinogène est redevenue normale, soit le fibrinogène n'est pas augmenté, ce qui est parfois le cas dans les RPT [86], notamment quand le corps étranger n'a pas traversé la paroi réticulo-ruminale.

ii. Comparaison des méthodes de dosage Millar et Clauss

Les tests utilisés tendent à confirmer l'interchangeabilité des méthodes, avec pour relation l'équation y=0.87*x +0.57 (y= méthode de Clauss et x= méthode de Millar).

Ces résultats sont similaires à ceux d'une étude [170] comparant ces deux méthodes chez 87 chevaux, et pour laquelle le coefficient de corrélation entre les deux méthodes est égal 0.921 avec un coefficient directeur de la droite de régression égal à 0.7 (contre 0.87 ici). Dans notre cas, le coefficient de corrélation de Pearson est plus faible (0.682), ce qui peut s'expliquer par un nombre moins important de mesures (39 au total).

Par ailleurs, l'observation du graphique dosage méthode Clauss=f(dosage méthode Millar) (Figure 21) nous invite à nous montrer prudents quant à l'interchangeabilité des méthodes lors de concentrations élevées en fibrinogène. En cas de concentration élevée en fibrinogène, la méthode de Millar semble donner des résultats plus élevés que la méthode de Clauss, ce qui a déjà été rapporté dans une autre étude [170]. En effet, les coefficient directeur (0.87) et l'ordonnée à l'origine (0.57) obtenus ici témoignent d'une sous-estimation de la méthode de Clauss par rapport à celle de Millar, pour des valeurs de fibrinogène Millar supérieures à 4.38g/L. de plus valeurs censurées par Millar, non ?

Une des explications possibles est que les deux méthodes ne mesurent pas exactement la même chose : celle de Millar mesure la quantité totale de protéine coagulant à 56°C (quasi exclusivement le fibrinogène), tandis que celle de Clauss mesure le fibrinogène « actif fonctionnel », c'est-à-dire la protéine coagulable. Or de nombreuses substances peuvent interférer dans le processus de coagulation faussant les résultats du test de Millar.

En particulier, Millar et al. [158] ont démontré que chez l'homme, des valeurs anormalement élevées pouvaient être obtenues en cas de fortes concentrations (> 1000 µg/ml) en PDF, car ceux-ci précipitent avec le fibrinogène. Toutefois, de telles concentrations en PDF restent rares chez l'homme. A l'inverse, la présence de PDF, même en faible quantité, est à l'origine d'une sous-estimation du fibrinogène chez le chien [169] lors de dosage par la méthode de Clauss. Le dosage des PDF n'a pas été réalisé dans notre étude, et nous n'avons pas connaissance de la fréquence de telles substances chez les bovins.

Même si les hautes valeurs obtenues par la méthode de Clauss sont, en moyenne, inférieures à celles obtenues par la méthode de Millar, la concordance des deux méthodes lorsqu'il s'agit de classer les résultats en tant que « valeurs dans les normes » ([3-7 g/L]), ou « valeurs au-delà des normes » (>7g/L) était bonne avec 33/39 individus classés d'une même façon. Pour seulement 6 individus, les résultats divergeaient, avec 4 fois sur 6 une valeur plus importante par le dosage de Millar que par celui de Clauss.

Ces deux méthodes présentaient donc une bonne concordance, même si l'interchangeabilité en cas de valeurs élevées en fibrinogène reste à étudier. Celle de Millar à l'avantage d'être peu coûteuse tandis que celle de Clauss est automatisable. Le choix de la méthode revient au praticien vétérinaire, les deux étant interchangeables.

b) Cas de l'haptoglobine

Le caractère binaire des valeurs prises par l'haptoglobine (<30 mg/L ou >1000mg/L) dans le cadre de notre étude est en accord avec les données bibliographiques selon laquelle cette PPA

possède une concentration basale très faible chez des animaux sains, qui est multipliée rapidement par 10, 100 voir 1000 lors de réponse de phase aigüe de l'inflammation [31].

La moyenne du groupe sain (52 mg/L) était en dessous du seuil de 100mg/L censé caractériser la présence d'un état inflammatoire, et s'approchait de celles obtenues chez les groupes contrôles d'autres études [171]. Seuls deux individus du groupe sain (n°39 et 35) montraient un résultat supérieur à ce seuil (130 et 150 mg/L respectivement). Aucune anomalie n'a été relevée chez ces 2 bovins, et aucun autre résultat n'a été anormal. Ces valeurs restaient finalement faibles, et pouvaient signifier la présence d'une légère inflammation, le début ou la fin d'un processus inflammatoire, ou bien une variabilité de la méthode de dosage. Pour ces 2 individus, nous pourrions conseiller de suivre l'évolution de l'Hp pour déterminer sa cinétique et éventuellement intervenir précocement.

Alors qu'une concentration haute en haptoglobine a été décrite au cours de la semaine post-partum [172], la seule vache saine incluse dans notre étude prélevée dans cette période (individu 38, prélevé 3 jours post-partum) présentait un taux d'Hp <30mg/L.

Pour le groupe suspect, les valeurs variaient entre 30 mg/L et plus de 1000 mg/L. Des concentrations aussi élevées en haptoglobine (>1000 mg/L) ont déjà été observée dans le cadre de péritonite et péricardite aigüe [88], de mammites et métrites sévères [173], d'infection respiratoire expérimentale [94], d'affection podale type panaris interdigité [174] ou de cétose [43], elles ne semblaient donc pas incohérentes avec l'hypothèse diagnostique émise pour chacun de ces individus.

Les individus avec une faible concentration en haptoglobine (<30 mg/L) étaient présentés pour des affections non inflammatoires (hypocalcémie en milieu de lactation) ou des affections évoluant depuis plus de 8 jours. Il est à noter que certains avaient reçu des anti-inflammatoires le jour ou la veille du prélèvement. Cependant l'action des AINS sur la concentration en haptoglobine reste inconnue chez les bovins, et une étude réalisée sur les moutons ne montre pas de lien entre l'utilisation d'AINS et la diminution de la concentration sérique en haptoglobine [175].

Pour 4 de ces individus suspects à taux d'Hp <30mg/L, le manque d'informations ne nous a pas permis d'avancer une hypothèse quant aux motifs expliquant ces concentrations basses en haptoglobine.

c) Cas des neutrophiles et du ratio N/L

Le nombre de neutrophiles du groupe « suspect » était attendu au-dessus des valeurs obtenues pour le groupe « sain », mais c'est surtout le ratio N/L dont il était attendu qu'il s'élève systématiquement chez les individus du groupe suspect.

i. Comparaison entre les groupes

La moyenne du nombre de neutrophiles et du ratio N/L du groupe suspect était supérieure à celle du groupe sain et se trouvait au-dessus de la limite des valeurs usuelles hautes. Cette différence était significative pour le nombre de neutrophile (p-value= 0.028), mais rien ne nous a permis de conclure à la différence entre ces deux moyennes pour le ratio N/L (p-value= 0.07). L'utilisation du comptage neutrophilique pour discriminer la présence d'un état inflammatoire a déjà été étudiée. Cette variable n'est ni très sensible ni très spécifique [13] . En effet, le nombre de neutrophiles reste en général dans les valeurs usuelles lors d'inflammation modérée [133]. Toutefois, dans des cas d'inflammation très sévères, le

recrutement et l'utilisation des neutrophiles au niveau du site inflammatoire peuvent entrainer une neutropénie ; tandis qu'une neutrophilie est fréquemment observée en cas d'inflammation diffuse sévère, comme lors de RPT [86]. Le comptage des neutrophiles semble donc moins discriminant pour détecter la présence d'un processus inflammatoire. Chez les bovins, la maturation des neutrophiles est plus longue que chez les autres espèces, le comptage neutrophilique présente donc moins d'intérêt dans la détection précoce d'une inflammation que les PPA qui, elles, augmentent de façon rapide et importante. De plus, le stress lié au transport pour les animaux prélevés à l'arrivée au service d'hospitalisation des animaux de rentes de VetAgro Sup peut être à l'origine d'une neutrophilie non inflammatoire, du moins pour ces individus, et si la NF était réalisée précocement après leur arrivée [55].

Le ratio N/L permet de s'affranchir de la variation liée au nombre de globules blancs pour ne garder que la proportion relative entre les 2 principales cellules de la lignée blanche : les neutrophiles et les lymphocytes. Un ratio élevé témoigne d'une neutrophilie ou d'une lymphopénie. S'il est <0.5, on est face soit à une neutropénie soit à une lymphocytose dont les causes sont à déterminer. Bien que moins significativement associé à l'état de maladie des animaux testés, le ratio N/L est à analyser conjointement avec le nombre de neutrophile et lymphocytes pour détecter la présence d'un processus inflammatoire.

Dans notre étude, 2 individus (11 et 16) présentaient une neutrophilie très marquée (>15x10^3/mm^3), le ratio N/L était augmenté dans les 2 cas. Ces animaux présentaient un processus inflammatoire chronique (suspicion de corps étranger avec péritonite et boiterie + abcès, respectivement). L'individu 11 avait reçu une injection de glucocorticoïdes (Diurizone®) la veille du prélèvement, ce qui peut également contribuer à la neutrophilie observée [69].

L'individu 25 présentait une neutropénie à 0.66x10^3/mm^3, cependant les résultats de l'examen clinique et des autres analyses (dont haptoglobine et fibrinogène) ne présentaient aucune anomalie. L'hypothèse d'une neutropénie lié à un processus inflammatoire très sévère ne pouvait être exclue pour ce bovin, l'augmentation en fibrinogène et haptoglobine s'observant 24 à 48h après le début du stimulus inflammatoire [33], après l'apparition de la neutropénie.

ii. Comparaison des méthodes de comptage

Concernant le ratio N/L et le nombre de neutrophiles, les deux méthodes de comptage utilisées étaient le comptage par l'analyseur MS4 et le comptage manuel sur frottis après coloration, par une technicienne expérimentée du service de Pathologie du bétail.

Les droites de régression obtenues par régression de Passing et Bablok étaient Manuel = 1.44 x analyseur -0.12 pour le ratio N/L, et Manuel = 1.01 x analyseur – 0.41 pour le nombre de neutrophiles.

L'analyse des intervalles de confiance autour de l'ordonnée à l'origine et du coefficient directeur a montré qu'il existait un biais systématique entre les deux méthodes pour le ratio, avec une surestimation des valeurs de l'analyseur comparé à celles du comptage manuel. Une étude portant sur la comparaison entre les résultats donnés par l'analyseur et ceux du comptage manuel chez des chiens et chats avait donné des résultats contraires, avec un taux de neutrophiles significativement moins élevé et un taux de lymphocytes similaire lors de comptages effectués par l'analyseur (soit un ratio N/L moins élevé également) [176]. Dans cette même étude, les différences étaient d'autant plus marquées que les valeurs étaient

anormalement basses ou élevées, le retrait des valeurs extrêmes entrainant une meilleure corrélation entre les deux méthodes, ce qui n'a pas été montré ici.

Pour ce qui est de la concordance des méthodes pour discriminer « valeurs normales » et « valeurs anormales », les résultats étaient en faveur d'une bonne similitude des méthodes. Les méthodes concordaient pour le ratio N/L dans 84,7% des cas. Les résultats différaient pour seulement 6 individus (dont 4 ayant des valeurs hors normes par comptage avec l'analyseur).

Pour le comptage des neutrophiles, la concordance était de 87,1%, ce qui est proche de celle du ratio N/L.

d) Cas du test au glutaraldéhyde

Les résultats du test au glutaraldéhyde se sont avérés peu discriminatoires entre les deux groupes, avec une moyenne proche de 3 mn quel que soit le type d'individu.

Les temps de coagulation du groupe sain ont été très inférieurs à ceux attendus. En effet, Metzner *et al*. évoquent un temps supérieur à 15mn pour le groupe contrôle (= absence d'inflammation) [150]. Ce temps de coagulation est directement lié à la concentration en fibrinogène et/ou immunoglobines sanguines, plus cette concentration augmente et plus le temps de coagulation est faible. Or pour le groupe sain de notre étude, les concentrations en fibrinogène étaient dans les valeurs usuelles. Celles en immunoglobulines n'étaient pas disponibles ici, mais l'ensemble des autres analyses réalisées sur ces individus nous permettent de penser qu'elles étaient également dans les normes et que le statut inflammatoire de ces individus était nul. Or, un temps de 3mn témoigne d'un processus inflammatoire sévère, ce qui est donc incompatible avec nos résultats. De ce fait, l'interprétation des résultats pour le groupe suspect n'est pas pertinente, la fiabilité des résultats devenant douteuse.

Un temps de coagulation anormalement bas peut s'observer dans certaines conditions de conservation du réactif, comme lors de conservation à température ambiante [152]. C'est pour cela qu'il est préconisé de fabriquer le réactif juste avant son utilisation. Les résultats anormalement bas obtenus peuvent être attribués à un défaut de conservation du réactif (conservation au réfrigérateur, mais pendant un temps relativement long), ou à une erreur dans sa fabrication [150].

2) *Comparaison des différentes méthodes d'appréciation d'un évènement inflammatoire.*

a) Corrélation des variables prises 2 à 2

Certaines variables, comme la durée d'évolution, n'ont pas pu être analysées par AFDM car le nombre de données manquantes était trop important. Un test de corrélation de Kendall a donc été réalisé afin de visualiser les corrélations entre les variables prises 2 à 2.

Les deux plus fortes corrélations rencontrées sont celles entre l'haptoglobine et la durée d'évolution d'un côté (tau= -0.5), et le ratio N/L et le taux de neutrophiles de l'autre (tau= 0.54).

L'haptoglobine est une PPA positive majeure chez les bovins, et il est largement décrit une augmentation rapide de sa concentration en cas d'inflammation, augmentation peu durable dans le temps [171]. Les résultats obtenus ici sont donc conformes, et lorsque la durée d'évolution augmente, l'haptoglobine diminue (ou inversement). Cependant, une durée

d'évolution de 30 jours avait été fixé arbitrairement aux animaux du groupe sain, créant un biais dans les résultats. La concentration en fibrinogène, qui est une PPA modérée chez les bovins, augmente, puis diminue plus lentement que celle de l'haptoglobine en cas d'inflammation (voir Figure 8), ce qui est en accord avec le tau de Kendall plus faible (-0.33) que nous avons retrouvé ici.

Le taux de neutrophiles et le ratio N/L sont étroitement reliés entre eux, car le ratio est calculé à partir des nombres de neutrophiles et de lymphocytes. Il n'est donc pas étonnant d'avoir obtenu une bonne corrélation entre ces variables, corrélation qui est positive entre le ratio N/L et le taux de neutrophiles, et qui est négative avec le nombre de lymphocytes.

Une corrélation modérée existait entre le fibrinogène, l'haptoglobine et le nombre de neutrophiles, corrélation confirmée par les résultats de l'AFDM. Une corrélation modérée était attendue entre ces variables car la cinétique des PPA diffère entre elles et diffèrent de celle de la numération formule.

b) Résultats de l'AFDM

i. Résultats sur les variables

Combiner les résultats de l'AFDM des variables quantitatives et qualitatives, nous a permis d'arriver aux hypothèses suivantes (Figure 25) :

- La dimension 1 est associée à une anomalie de l'examen clinique et des analyses sanguines, la droite du graphique signifiant la présence d'anomalies et donc la présence d'un état inflammatoire, tandis qu'à gauche on retrouve les individus sains.
- La dimension 2 est liée au groupe 2 (βOH, temps du test au glutaraldéhyde surtout).
- La dimension 3 principalement associée aux anomalies génitales n'explique que 11% de nos variations et nous n'en parlerons pas

La Figure 24 qui représente les résultats de l'AFDM sur les variables quantitatives nous a montré que l'haptoglobine, le fibrinogène, les neutrophiles et le ratio N/L évoluaient dans le même sens et déterminaient les individus présentant une inflammation. Le signe clinique associé le plus évocateur d'un état inflammatoire était l'appétit, qui était relativement sensible car diminué chez la grande majorité des animaux suspects. Les autres signes cliniques étaient peu sensibles.

Au cours de la phase aigüe de l'inflammation, la synthèse d'IL-6, d'IL-1 et de TNFα entraine l'augmentation des PPA (dont l'haptoglobine et le fibrinogène) et l'apparition de signes cliniques tels que l'anorexie, l'hyperthermie et l'abattement quand la manifestation inflammatoire est forte [2]. Identifier ensemble ces différentes modalités est donc cohérent avec les données bibliographiques existantes.

Bien que la modalité « anomalie de l'appareil génital » soit très bien représentée sur l'axe 1, elle ne concernait qu'un individu qui présentait également des signes cliniques fortement compatibles avec une péricardite. Or, tandis qu'une infection de l'appareil reproducteur seul peut ne pas engendrer d'inflammation si elle reste localisée [97], la présence d'une péricardite est généralement à l'origine d'une élévation importante des marqueurs de l'inflammation [177]. La présence concomitante de ces 2 affections chez l'unique individu présentant une anomalie de l'appareil génital permet d'expliquer la position très à droite (très inflammé) de la modalité « anomalie de l'appareil génital » sur le graphique. Les autres anomalies de l'examen clinique étaient, elles, moins bien représentées sur les axes. Enfin, parmi les

individus qui présentaient une « anomalie de l'appareil respiratoire », aucun ne présentaient des signes de bronchopneumonie ou pneumonie aigüe, maladies qui entrainent une forte augmentation des marqueurs de l'inflammation. Les signes respiratoires qui ont été observés étaient dus à des affections chroniques. Ceci permet d'expliquer pourquoi cette modalité n'était que faiblement représentée à droite sur la dimension 1 (zone « état inflammatoire »).

La température rectale évoluait avec les PPA et les neutrophiles, cependant, elle contribuait très peu aux dimensions 1 et 2 dans notre analyse. La comparaison de la température rectale entre les deux groupes d'individus ne montrait aucune différence significative de moyenne entre les animaux sains et suspects (boxplots visibles en Annexe 5), et seulement 1 valeur sur 39 se trouvait au-delà de la limite haute de 39.5°C traduisant une hyperthermie. La présence d'une hyperthermie est à la fois dépendante de l'étiologie de l'inflammation, et du temps écoulé entre le début de l'inflammation et la prise de température [178]. Ainsi, une infection expérimentale par *E.coli* est à l'origine d'une phase d'hyperthermie très fugace, avec un pic 10h post-infection et un retour aux valeurs usuelles en 24h, tandis que l'impact sur la production laitière est perceptible durant 9 jours [179]. L'hyperthermie est donc un paramètre inconstant et peu sensible en ce qui concerne la détection d'un état inflammatoire.

A gauche et opposé aux modalités représentant un état inflammatoire, celles représentant les individus sains sont identifiées. Cependant, les modalités qui représentent les différents appareils ne contribuaient que très peu au choix des axes (peu de poids). Cela signifie que l'absence d'anomalie à chacun des appareils considérés séparément n'apporte que très peu d'information sur la présence ou non d'un état inflammatoire. Cela souligne l'importance de réaliser un examen complet de l'ensemble des appareils, même si la présence d'un état inflammatoire n'est pas toujours détectable à l'examen clinique, et les signes cliniques associés tardifs, frustes ou peu spécifiques. Leur mise en évidence est aussi liée à l'expérience du vétérinaire. L'ensemble de ces facteurs pris en compte peut expliquer le manque de sensibilité et spécificité de l'examen clinique pour diagnostiquer une affection inflammatoire en absence d'examens complémentaires [147]. De plus, dans la récupération de nos données, de nombreuses informations manquaient concernant les anomalies de l'examen clinique, ce qui a pu influencer la distribution des variables sur les axes.

Les variables quantitatives « βOH » et « temps au glutaraldéhyde » étaient toutes les deux dans le cadran supérieur gauche. Ces deux variables étaient associées quasi exclusivement à la dimension 2 qui ne semble pas liée à la présence ou non d'un état inflammatoire. Parmi nos 39 bovins, seule 1 vache présentait une cétose clinique (cétonémie au-delà de la normale : 2.2mmol/L, individu 4), nombre insuffisant pour démontrer une quelconque relation entre cétonémie clinique et inflammation pourtant évoqué dans la littérature [43].

Le nombre de leucocytes était placé de façon intermédiaire entre les lymphocytes et les neutrophiles, qui étaient projetés perpendiculairement. Cette projection perpendiculaire rappelle que les variations des nombres de neutrophiles et de lymphocytes sont indépendantes (même si les pourcentages sont dépendants). Ainsi, une neutrophilie peut ne pas entrainer de modification des lymphocytes. Si elle est très marquée, on observera parfois une leucopénie discrète [16]. Les GB, dont le nombre est approximativement la somme neutrophiles + lymphocytes, augmentent à la fois avec les lymphocytes et les neutrophiles, voilà pourquoi ils sont intermédiaires entre ces deux variables.

Pour finir, dans le cadran inférieur gauche, les variables quantitatives correspondant au statut physiologique comme l'âge et le stage de gestation étaient projetées, bien que ces deux variables ne soient pas directement corrélées. Ces deux variables étaient diamétralement opposées au nombre de GB et de lymphocytes. Même en présence de bovins avec des inflammations sévères non liées à l'âge (et donc des augmentations du nombre de leucocytes non liées à l'âge), une fois « ajustée » sur l'ensemble des variables de l'étude, l'analyse a identifié un lien négatif entre l'âge et le nombre de leucocytes et lymphocytes. Cette observation confirme les données bibliographiques qui décrivent une diminution du nombre de leucocytes et lymphocytes avec l'âge [16, 50].

Peu de vaches ont été prélevées autour du part, ainsi la relation décrite entre les leucocytes et la période du vêlage (neutropénie, leucocytose [180]) n'a pas été mise en évidence ici. De plus, les valeurs des GB et lymphocytes que nous avons obtenu étaient probablement plus influencées par les pathologies sous-jacentes des bovins de notre étude, que par le stade de gestation ce qui ne nous permet pas d'évaluer le lien entre le stade de gestation et les différents marqueurs inflammatoires.

Nous retiendrons donc seulement que l'âge et le stade de gestation ne sont pas liés à un état inflammatoire, et que le nombre de lymphocytes et globules blancs est anti-corrélé avec l'âge, relation par ailleurs bien décrite dans la littérature.

ii. Résultats sur les individus

La Figure 27 présentée plus haut et qui représente les individus selon les dimensions 1 et 2 nous a permis de bien examiner la tendance générale qui était la présence de 2 groupes définis selon leur statut inflammatoire. L'individu 4 se retrouvait très éloigné des autres, il s'agissait du seul bovin pour lequel les βOH étaient fortement augmentés (2,2mmol/L), il présentait également une leucocytose lymphocytaire marquée, et une concentration en haptoglobine élevée. Pour ce bovin, un diagnostic de cétose a été établi, et bien qu'il ne s'agisse pas d'une affection inflammatoire à proprement parler, une augmentation des PPA et de certaines cytokines pro-inflammatoires a déjà été observée lors de cétonémie [138]. Les individus 1 et 11, situés très à droite, présentaient eux une neutrophilie importante.

Les individus du groupe « sain » (en rose) étaient relativement proches sur le graphique, tandis que ceux du groupe « suspect » étaient plus dispersés. Cette dispersion s'explique par la diversité des statuts inflammatoire de ce dernier groupe, allant de très peu à fortement inflammé. L'ellipse de confiance à 95% du groupe sain était relativement petite et témoignait de la proximité des individus de ce groupe. La proximité était d'autant plus forte qu'il s'agissait d'animaux d'une même race et provenant d'un même élevage. On s'aperçoit que l'ellipse de confiance du groupe suspect était beaucoup plus étendue et incluait le groupe sain. Cela n'est pas étonnant car quelques individus du groupe suspect ne présentaient aucun résultat évocateur d'une inflammation et se retrouvaient donc proches des individus sains sur le plan factoriel, élargissant l'ellipse vers la gauche du graphique.

3) Intérêt diagnostique de nos marqueurs dans la détection d'un état inflammatoire

Les résultats du Tableau XXXV ont montré une bonne discrimination entre les groupes pour les différents marqueurs. Cependant, certains des seuils supérieurs retenus ne semblaient pas

en adéquation avec nos résultats, notamment en ce qui concernait l'haptoglobine et le fibrinogène, le premier étant trop sensible et le second peu spécifique.

Ainsi, nous avons proposé un autre seuil de positivité permettant d'obtenir une meilleure classification des individus du groupe « sain » et « suspect », représentée dans le Tableau XXXVI.

Tableau XXXVI: Pouvoir diagnostic des différents marqueurs après adaptation des seuils. Le fibrinogène a été abaissé à 5 g/L et l'haptoglobine remontée à 150 mg/L.

Méthode diagnostique	Nouveau seuil choisi	Sain n= 10 (%)	Suspect n=29 (%)
Haptoglobine sérum (Snaptest)	>150 mg/L	0/10 (0)	21/29 (72.4)
Fibrinogène (méthode de Clauss)	>5 g/L	0/10 (0)	16/29 (55.2)
Ratio N/L (MS4)	2.34	0/10 (0)	13/29 (44,8)
Taux de neutrophiles (MS4)	>6.3x10^3/mm^3	0/10 (0)	12/29 (41,4)
Température rectale	39.5°C	0/10 (0)	1/29 (3,4)

On observe avec ces nouveaux seuils une meilleure spécificité des tests, surtout en ce qui concerne le fibrinogène.

Pour le groupe sain, le statut inflammatoire des individus est défini comme « nul » après remplissage de la feuille de renseignements et examen clinique complet. Pour ces individus, les valeurs déterminées pour nos différents marqueurs sont toutes dans les « nouvelles » valeurs usuelles proposées, ce qui confirme le statut non-inflammé de ces individus.

En revanche, pour le groupe suspect, le statut inflammatoire de chaque bovin est à priori inconnu. Dans certains cas, la présence d'une inflammation a été déterminée à l'examen clinique (mammite, plaie, ténosynovite, …), mais pas pour d'autres individus. Si l'on compare les résultats obtenus pour nos différents marqueurs avec les nouveaux seuils, on s'aperçoit que l'augmentation de l'haptoglobine sérum est l'anomalie la plus fréquemment rencontrée (72,4% des cas), suivie par l'augmentation du fibrinogène (55,2%), du ratio N/L (44,8%) et du taux de neutrophiles (41.4%). En revanche, une hyperthermie n'est observée que sur 1 animal du groupe suspect, et celle-ci était peu marquée (39.5°C).

Il semble d'après ces résultats que l'haptoglobine soit le marqueur le plus sensible ici pour détecter un état inflammatoire, ce qui confirme les données de plusieurs études [20, 44, 96].

Concernant le fibrinogène, il est étonnant de n'observer que si peu d'individus en dehors des valeurs usuelles avant abaissement du seuil. En effet, même il s'agit d'une PPA modérée, elle augmente fréquemment chez les bovins, notamment en cas de RPT. Cependant, nous avions déjà évoqué que le seuil de 7g/L, décrit dans la littérature comme valeur limite haute pour le fibrinogène, semblait anormalement élevé vis-à-vis de nos résultats. Un abaissement de ce seuil à 5g/L serait plus en accord avec nos résultats et augmenterait la sensibilité du fibrinogène pour la détection d'un processus inflammatoire. Le pourcentage de vaches du groupe « suspect » positives serait de 55,2% contre 17.2% (voir Tableau XXXV et XXXVI). Dans certaines études, le seuil a d'ailleurs été abaissé à 4.2 et 5g/L pour une sensibilité de 0.8 et 0.57, respectivement [96].

Les neutrophiles et le ratio N/L sont de bons marqueurs de l'inflammation, bien que leur augmentation soit inconstante et moins fréquemment observée que celle de l'haptoglobine. En revanche, la température rectale, qui est très souvent prise en compte par le vétérinaire lors de la recherche d'une inflammation au cours de l'examen clinique, est très peu sensible.

Etant donné l'absence de diagnostic de certitude pour la plupart des individus présentés, il est impossible de les classer et d'essayer d'émettre des hypothèses concernant l'évolution des marqueurs en fonction des troubles présentés. Bien que difficile à réaliser, un travail supplémentaire portant sur un plus grand nombre d'individus, avec établissement d'un diagnostic final permettrait d'effectuer ce travail de synthèse.

La représentation de l'évolution des variables grâce à l'AFDM nous a permis de juger de la pertinence de l'étude de certaines variables pour détecter un état inflammatoire. En effet, tandis que certaines n'évoluaient que très peu, d'autres présentaient en revanche des modifications importantes de leurs valeurs en cas d'inflammation. Ces dernières semblent de bons marqueurs de l'inflammation chez les bovins adultes, ce sont : l'haptoglobine sérum, le fibrinogène Clauss, le taux de neutrophiles et le ratio N/L. L'haptoglobine a l'avantage d'être plus spécifique que les autres variables car elle ne dépend ni de l'âge, ni du sexe et ni de la présence d'autres molécules sanguines comme cela est le cas pour les trois autres marqueurs.

En l'absence de méthode de référence à sensibilité et spécificité parfaite pour détecter la présence ou non d'un état inflammatoire, il était initialement prévu d'estimer les sensibilités et spécificités de chacune des méthodes de diagnostic à l'aide de modèle à classes latentes. En effet, ces modèles permettent, à partir des résultats croisés de plusieurs tests appliqués à deux populations de prévalence différentes, d'estimer les sensibilités et spécificités des tests diagnostiques même en l'absence de diagnostic de certitude [181]. Néanmoins, en raison des contraintes sanitaires liées à la pandémie de COVID 19, trop peu d'animaux ont pu être inclus dans l'étude pour implémenter ce type de modèle. Lorsque peu d'animaux sont inclus, ces modèles ajustés par inférence bayésienne permettent théoriquement d'intégrer les informations pertinentes de la littérature scientifique à propos des sensibilités et des spécificités évaluées via la spécification de lois à priori informatives. Néanmoins, la variabilité des protocoles utilisés dans la littérature et le manque de consistance des sensibilités et spécificités de chaque méthode, d'une étude à l'autre, ont également rendu cette approche difficilement réalisable. Le recrutement d'un plus grand nombre d'individus sera donc essentiel à la poursuite de ce travail.

CONCLUSION

L'inflammation est un mécanisme de défense de l'organisme face à des agents agresseurs exogènes ou endogènes. Bien étudiée et observée chez les bovins dans le cadre d'infections expérimentales bactériennes et virales, le processus inflammatoire est parfois beaucoup plus discret. Le manque de sensibilité de l'examen clinique face à des signes cliniques frustres nécessite le recours à des examens complémentaires dont certains tendent à mettre en évidence une inflammation. Ceux-ci sont peu nombreux chez les bovins, excepté la numération formule sanguine qui est facilement réalisable en clinique mais peut s'avérer insuffisante. Depuis plusieurs années, on observe un intérêt grandissant pour de nouveaux marqueurs sanguins, nommés protéines de phase aigüe (PPA), dont la concentration augmente fortement en cas d'inflammation.

A notre connaissance, à ce jour aucune étude n'a cherché à évaluer l'intérêt de ces différents marqueurs dans la détection d'un état inflammatoire chez des bovins adultes présentant des signes cliniques frustres et pour lesquels aucun diagnostic de certitude n'a été posé.

Via la méthode d'AFDM, nous avons cherché à visualiser le lien entre plusieurs variables cliniques, hématologiques et dosage des PPA, chez des animaux sains et des animaux susceptibles de présenter un statut inflammatoire positif. Les résultats obtenus ont souligné le peu de sensibilité de l'examen clinique « basique », en particulier le manque de précision de la prise de température rectale. Une bonne corrélation a été estimée entre la méthode de dosage du fibrinogène de Millar et celle de Clauss (méthode automatisable), et entre le comptage manuel et celui réalisé par l'analyseur pour la numération formule. L'interchangeabilité des méthodes est donc envisageable mais doit encore être confirmée sur un nombre plus important de mesures pour prendre en compte toutes les plages de valeurs.

L'haptoglobine, le taux de neutrophiles, le ratio N/L et le fibrinogène se sont avérés des marqueurs intéressants qui augmentent en cas d'inflammation. Cette augmentation a été liée par l'analyse à la présence d'anomalies à l'examen clinique, en particulier une anorexie ou une dysorexie. Nos résultats nous invitent à baisser le seuil limite supérieur du fibrinogène à 5g/L (contre 7g/L dans la littérature) afin de mieux discriminer les individus inflammés et non inflammés. Pour l'haptoglobine, un seuil augmenté à 150 mg/L permettrait d'englober les individus sains de notre étude, sans toutefois inclure les individus inflammés.

En l'absence de Gold Standard permettant de déterminer avec certitude le statut inflammatoire des bovins inclus dans l'étude, nous n'avons pas pu déterminer les performances diagnostiques des méthodes évaluées mais nous avons pu décrire les résultats de façon comparative. Cette étude donne donc des pistes pour aider les vétérinaires à choisir la ou les méthodes diagnostiques qui correspondent à leurs objectifs cliniques sur le terrain. L'analyse de ces données par des modèles à classes latentes pourrait permettre d'évaluer les sensibilités et spécificités réelles de ces méthodes mais nécessiterait l'inclusion d'un plus grand nombre d'animaux.

BIBLIOGRAPHIE

1. Gabay C, Kushner I (1999) Acute-phase proteins and other systemic response to inflammation. N Engl J Med 340:448–454

2. Medzhitov R (2008) Origin and physiological roles of inflammation. Nature 454:428–435. https://doi.org/10.1038/nature07201

3. Gruys E, Toussaint MJM, Niewold TA, Koopmans SJ (2005) Acute phase reaction and acute phase proteins. J Zhejiang Univ Sci 6B:1045–1056. https://doi.org/10.1631/jzus.2005.B1045

4. Tothova C, Nagy O, Kovac G (2014) Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants: A review. Veterinární Medicína 59:163–180. https://doi.org/10.17221/7478-VETMED

5. Murata H, Shimada N, Yoshioka M (2004) Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. Vet J 168:28–40. https://doi.org/10.1016/S1090-0233(03)00119-9

6. Satu P (2002) Hirvonen J. and al. (2002). Hirvonen's thesis on acute phase protein in dairy cattle. Université d'Helsinki, 80p. Helsinki

7. Crookenden MA, Heiser A, Murray A, et al (2016) Parturition in dairy cows temporarily alters the expression of genes in circulating neutrophils. J Dairy Sci 99:6470–6483. https://doi.org/10.3168/jds.2015-10877

8. Eckersall PD, Young FJ, McComb C, et al (2001) Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. Vet Rec 148:35–41. https://doi.org/10.1136/vr.148.2.35

9. PRIN L Réponse inflammatoire. https://slideplayer.fr/slide/1315451/. Accessed 25 Oct 2020

10. Ceciliani F, Giordano A, Spagnolo V (2002) The Systemic Reaction During Inflammation: The Acute-Phase Proteins. Protein Pept Lett 9:211–223. https://doi.org/10.2174/0929866023408779

11. Higuchi H, Katoh N, Miyamoto, et al (1994) Dexamethasone-induced haptoglobin release by calf liver parenchymal cells. Am J Vet Res 55:1080–1085

12. Rivera S, Ganz T (2009) Animal Models of Anemia of Inflammation. Semin Hematol 46:351–357. https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2009.06.003

13. Horadagoda NU, Knox KMG, Gibbs HA, et al (1999) Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. Vet Rec 144:437–441. https://doi.org/10.1136/vr.144.16.437

14. Weiss DJ, Wardrop KJ (2011) Schalm's Veterinary Hematology, 6th ed. John Wiley & Sons

15. Jones ML, Allison RW (2007) Evaluation of the Ruminant Complete Blood Cell Count. Vet Clin North Am Food Anim Pract 23:377–402. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.07.002

16. Roland L, Drillich M, Iwersen M (2014) Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. J Vet Diagn Invest 26:592–598. https://doi.org/10.1177/1040638714546490

17. Kaser A, Brandacher G, Steurer W, et al (2001) Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis through thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. Blood 98:2720–2725. https://doi.org/10.1182/blood.V98.9.2720

18. Hammer AS (1991) Thrombocytosis in dogs and cats: A retrospective study. Comp Haematol Int 1:181–186. https://doi.org/10.1007/BF00235367

19. Kaneko JJ (1994) Serum Proteins and the Dysproteinemias. In: CLINICAL BIOCHEMISTRY OF DOMESTIC ANIMALS, 5th ed. Academic Press, pp 117–135

20. Tothova C, Nagy O, Kovac G (2016) Serum proteins and their diagnostic utility in veterinary medicine: a review. Veterinární Medicína 61:475–496. https://doi.org/10.17221/19/2016-VETMED

21. Nielsen BH, Jacobsen S, Andersen PH, et al (2004) Acute phase protein concentrations in serum and milk from healthy cows, cows with clinical mastitis and cows with extramammary inflammatory conditions. Vet Rec 154:361–365. https://doi.org/10.1136/vr.154.12.361

22. Eckersall PD, Bell R (2010) Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. Vet J 185:23–27. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.04.009

23. Petersen HH, Nielsen JP, Heegaard PMH (2004) Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. Vet Res 35:163–187. https://doi.org/10.1051/vetres:2004002

24. Ceciliani F, Ceron JJ, Eckersall PD, Sauerwein H (2012) Acute phase proteins in ruminants. J Proteomics 75:4207–4231. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.04.004

25. Jacobsen S, Niewold T, Kornalijnslijper E, et al (2005) Kinetics of local and systemic isoform of serum amyloid A in bovine mastitic milk. Vet Immunol Immunopathol 104:21–31. https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2004.09.031

26. Rubel C, Fernández GC, Dran G, et al (2001) Fibrinogen Promotes Neutrophil Activation and Delays Apoptosis. J Immunol 166:2002–2010. https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.3.2002

27. McSherry BJ, Horney FD, deGroot JJ (1970) Plasma Fibrinogen Levels in Normal and Sick Cows. Can J Comp Med 34:191–197

28. Hirsch VM, Townsend HGG (1982) Peritoneal Fluid Analysis in the Diagnosis of Abdominal Disorders in Cattle: A Retrospective Study. Can Vet J 23:348–354

29. Schroedl W, Fuerll B, Reinhold P, et al (2001) A novel acute phase marker in cattle: lipopolysaccharide binding protein (LBP). J Endotoxin Res 7:49–52. https://doi.org/10.1177/09680519010070010801

30. Heyneman R, Burvenich C (1992) Kinetics and Characteristics of Bovine Neutrophil Alkaline Phosphatase During Acute Escherichia coli Mastitis. J Dairy Sci 75:1826–1834. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77941-7

31. Suojala L, Orro T, Järvinen H, et al (2008) Acute phase response in two consecutive experimentally induced E. coli intramammary infections in dairy cows. Acta Vet Scand 50:1–10. https://doi.org/10.1186/1751-0147-50-18

32. Hirvonen J (1999) Acute Phase Response in Dairy Cows with Experimentally Induced Escherichia coli Mastitis. Acta Vet Scand 35–46

33. Conner JG, Eckersall PD, Wiseman A, et al (1988) Bovine acute phase response following turpentine injection. Res Vet Sci 44:82–88. https://doi.org/10.1016/0034-5288(88)90018-5

34. Herman N, Trumel C, Geffré A, et al (2018) Hematology reference intervals for adult cows in France using the Sysmex XT-2000iV analyzer. J Vet Diagn Invest 30:678–687. https://doi.org/10.1177/1040638718790310

35. George JW, Snipes J, Lane VM (2010) Comparison of bovine hematology reference intervals from 1957 to 2006. Vet Clin Pathol 39:138–148. https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2009.00208.x

36. Alberghina D, Giannetto C, Vazzana I, et al (2011) Reference Intervals for Total Protein Concentration, Serum Protein Fractions, and Albumin/Globulin Ratios in Clinically Healthy Dairy Cows. J Vet Diagn Invest 23:111–114. https://doi.org/10.1177/104063871102300119

37. Chan JP-W, Chu CC, Fung HP, et al (2004) Serum Haptoglobin Concentration in Cattle. J Vet Med Sci 66:43–46. https://doi.org/10.1292/jvms.66.43

38. Panndorf H, Richter H, Dittrich B (1976) Plasma haptoglobin level in cattle under pathological conditions. Arch Exp Veterinarmed 30:193–202

39. Nazifi S, Rezakhani A, Koohimoghadam M, et al (2008) Evaluation of serum haptoglobin in clinically healthy cattle and cattle with inflammatory diseases in Shiraz, a tropical area in southern Iran. Bulg J Vet Med 11:95–102

40. Nazifi S, Rezakhani A, Moaddeli A, et al (2009) Study on diagnostic values of haptoglobin and serum amyloid A concentration in bovine heart diseases. Comp Clin Pathol 18:47–51. https://doi.org/10.1007/s00580-008-0753-z

41. Mcnair J, Kennedy DG, Bryson DG, et al (1997) Evaluation of a competitive immunoassay for the detection of bovine haptoglobin. Res Vet Sci 63:145–149. https://doi.org/10.1016/S0034-5288(97)90008-4

42. Wolfger B, Schwartzkopf-Genswein KS, Barkema HW, et al (2015) Feeding behavior as an early predictor of bovine respiratory disease in North American feedlot systems. J Anim Sci 93:377–385. https://doi.org/10.2527/jas.2013-8030

43. El-Deeb WM (2017) Biomarkers of ketosis in dairy cows at postparturient period: acute phase proteins and pro-inflammatory cytokines. Vet Arh 87:431–440. https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.160126c

44. Nazifi S, Ansari-Lari M, Asadi-Fardaqi J, Rezaei M (2009) The use of receiver operating characteristic (ROC) analysis to assess the diagnostic value of serum amyloid A, haptoglobin and fibrinogen in traumatic reticuloperitonitis in cattle. Vet J 182:315–319. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.07.002

45. Tamura K, Yatsu T, Itoh H, Motoi Y (1989) Isolation, Characterization, and Quantitative Measurement of Serum α1 Acid Glycoprotein in Cattle. Jpn J Vet Sci 51:987–994. https://doi.org/10.1292/jvms1939.51.987

46. Smith BP (2009) Large animal internal medecine. In: Large animal internal medecine, Fourth. Elsevier

47. Humblet M-F, Guyot H, Boudry B, et al (2006) Relationship between haptoglobin, serum amyloid A, and clinical status in a survey of dairy herds during a 6-month period. Vet Clin Pathol 35:188–193. https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00112.x

48. Mohri M, Sharifi K, Eidi S (2007) Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: Age related changes and comparison with blood composition in adults. Res Vet Sci 83:30–39. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2006.10.017

49. Orro T, Jacobsen S, LePage J-P, et al (2008) Temporal changes in serum concentrations of acute phase proteins in newborn dairy calves. Vet J 176:182–187. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.02.010

50. Lorenz RJ, Straub O c, Donelly WJC, et al (1978) Bovine Hematology1. Zentralblatt Für Veterinärmedizin Reihe B 25:245–256. https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1978.tb01182.x

51. Cozzi G, Ravarotto L, Gottardo F, et al (2011) Short communication: Reference values for blood parameters in Holstein dairy cows: Effects of parity, stage of lactation, and season of production. J Dairy Sci 94:3895–3901. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3687

52. Qiu X, Arthington JD, Riley DG, et al (2007) Genetic effects on acute phase protein response to the stresses of weaning and transportation in beef calves,. J Anim Sci 85:2367–2374. https://doi.org/10.2527/jas.2006-843

53. Arthington JD, Eicher SD, Kunkle WE, Martin FG (2003) Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves. J Anim Sci 81:1120–1125. https://doi.org/10.2527/2003.8151120x

54. Mirzadeh K, Tabatabaei S (2010) Comparative study of hematological parameters according stains, age, sex, physiological statues and season in iranien cattle. J. Anim. Vet. Adv. 2123–2127

55. Wegner TN, Schuh JD, Nelson FE, Stott GH (1976) Effect of stress on blood leucocyte and milk somatic cell counts in dairy cows. J Dairy Sci 59:949–956. https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(76)84303-2

56. Engen NKV, Coetzee JF (2018) Effects of transportation on cattle health and production: a review. Anim Health Res Rev 19:142–154. https://doi.org/10.1017/S1466252318000075

57. Lynch E, Earley B, McGee M, Doyle S (2010) Effect of abrupt weaning at housing on leukocyte distribution, functional activity of neutrophils, and acute phase protein response of beef calves. BMC Vet Res 6:39. https://doi.org/10.1186/1746-6148-6-39

58. Lomborg SR, Nielsen LR, Heegaard PMH, Jacobsen S (2008) Acute phase proteins in cattle after exposure to complex stress. Vet Res Commun 32:575–582. https://doi.org/10.1007/s11259-008-9057-7

59. Mazzullo G, Rifici C, Caccamo G, et al (2014) Effect of Different Environmental Conditions on Some Haematological Parameters in Cow. Ann Anim Sci 14:947–954. https://doi.org/10.2478/aoas-2014-0049

60. Alsemgeest SPM, Lambooy IE, Wierenga HK, et al (1995) Influence of physical stress on the plasma concentration of serum amyloid-a (SAA) and haptoglobin (HP) in calves. Vet Q 17:9–12. https://doi.org/10.1080/01652176.1995.9694521

61. Saad AM, Concha C, Åström G (1989) Alterations in Neutrophil Phagocytosis and Lymphocyte Blastogenesis in Dairy Cows Around Parturition. J Vet Med Ser B 36:337–345. https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1989.tb00612.x

62. Kehrli ME, Nonnecke BJ, Roth JA (1989) Alterations in bovine neutrophil function during the periparturient period. Am J Vet Res 207-214.

63. Heidarpour M, Mohri M, Fallah-Rad AH, et al (2014) Hematological changes before and after treatment in dairy cows with clinical and subclinical endometritis. Comp Clin Pathol 23:97–101. https://doi.org/10.1007/s00580-012-1576-5

64. Burton JL, Madsen SA, Chang L-C, et al (2005) Gene expression signatures in neutrophils exposed to glucocorticoids: A new paradigm to help explain "neutrophil dysfunction" in parturient dairy cows. Vet Immunol Immunopathol 105:197–219. https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2005.02.012

65. Heiser A, McCarthy A, Wedlock N, et al (2015) Grazing dairy cows had decreased interferon-γ, tumor necrosis factor, and interleukin-17, and increased expression of interleukin-10 during the first week after calving. J Dairy Sci 98:937–946. https://doi.org/10.3168/jds.2014-8494

66. Goff JP, Horst RL (1997) Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. J Dairy Sci 80:1260–1268. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76055-7

67. Coroian CO, Miresan V, Coroian A, et al (2017) Biochemical and Haematological Blood Parameters at Different Stages of Lactation in Cows. Bull Univ Agric Sci Vet Med Cluj-Napoca Anim Sci Biotechnol 74:31. https://doi.org/10.15835/buasvmcn-asb:12283

68. Rowlands GJ, Manston R, Stark AJ, et al (1980) Changes in albumin, globulin, glucose and cholesterol concentrations in the blood of dairy cows in late pregnancy and early lactation and relationships with subsequent fertility. J Agric Sci 94:517–527. https://doi.org/10.1017/S0021859600028501

69. Jacobs RM, Horney B, Beiner L (1981) Cutaneous response to PHA-M and hematological changes in corticosteroid treated cows. Can J Comp Med 45:384–387

70. Arthington JD, Cooke RF, Maddock TD, et al (2013) Effects of vaccination on the acute-phase protein response and measures of performance in growing beef calves. J Anim Sci 91:1831–1837. https://doi.org/10.2527/jas.2012-5724

71. Stokka GL, Edwards AJ, Spire MF, et al (1994) Inflammatory response to clostridial vaccines in feedlot cattle. J Am Vet Med Assoc 204:415–419

72. Wells PW, Eyre P, Lumsden JH (1973) Hematological and Pathological Changes in Acute Systemic Anaphylaxis in Calves: Effects of Pharmacological Agents. Can J Comp Med 37:119–129

73. Habibu B, Dzenda T, Ayo JO, et al (2018) Haematological changes and plasma fluid dynamics in livestock during thermal stress, and response to mitigative measures. Livest Sci 214:189–201. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.05.023

74. Marques RS, Cooke RF, Francisco CL, Bohnert DW (2012) Effects of twenty-four hour transport or twenty-four hour feed and water deprivation on physiologic and performance responses of feeder cattle1. J Anim Sci 90:5040–5046. https://doi.org/10.2527/jas.2012-5425

75. Tennant BC (1997) Hepatic Function. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 5th ed. Elsevier, pp 327–352

76. Nagahata H (2004) Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency (BLAD): A Review. J Vet Med Sci 66:1475–1482. https://doi.org/10.1292/jvms.66.1475

77. Ml M, J H (1983) Abattoir survey of bovine kidney disease. Vet Rec 113:55–57. https://doi.org/10.1136/vr.113.3.55

78. Takahashi E, Uzuka Y, Tanabe S, et al (2007) Serum Amyloid A and Haptoglobin Levels in Bovine Amyloidosis. J Vet Med Sci 69:321–323

79. Hirvonen J, Pyörälä S (1998) Acute-phase response in dairy cows with surgically-treated abdominal disorders. Vet J 155:53–61. https://doi.org/10.1016/S1090-0233(98)80036-1

80. Guzelbektes H, Sen I, Ok M, et al (2010) Serum Amyloid A and Haptoglobin Concentrations and Liver Fat Percentage in Lactating Dairy Cows with Abomasal Displacement. J Vet Intern Med 24:213–219. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0444.x

81. Wittek T, Fürll M, Constable PD (2004) Prevalence of Endotoxemia in Healthy Postparturient Dairy Cows and Cows with Abomasal Volvulus or Left Displaced Abomasum. J Vet Intern Med 18:574–580. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2004.tb02588.x

82. Hajimohammadi A, Nazifi S, Ansari-Lari M, et al (2013) Identifying relationships among acute phase proteins (haptoglobin, serum amyloid A, fibrinogen, ceruloplasmin) and clinical findings in dairy calf diarrhea. Comp Clin Pathol 22:227–232. https://doi.org/10.1007/s00580-011-1390-5

83. Balikci E, Al M (2014) Some serum acute phase proteins and immunoglobulins concentrations in calves with rotavirus, coronavirus, E. coli F5 and Eimeria species. Iran J Vet Res 15:397–401

84. Danscher AM, Thoefner MB, Heegaard PMH, et al (2011) Acute phase protein response during acute ruminal acidosis in cattle. Livest Sci 135:62–69. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.009

85. Plaizier JC, Krause DO, Gozho GN, McBride BW (2008) Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. Vet J 176:21–31. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.016

86. Braun U, Warislohner S, Torgerson P, et al (2018) Clinical and laboratory findings in 503 cattle with traumatic reticuloperitonitis. BMC Vet Res 14:66. https://doi.org/10.1186/s12917-018-1394-3

87. Jafarzadeh SR, Nowrouzian I, Khaki Z, et al (2004) The sensitivities and specificities of total plasma protein and plasma fibrinogen for the diagnosis of traumatic reticuloperitonitis in cattle. Prev Vet Med 65:1–7. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.07.004

88. Ansari-Lari M, Nazifi S, Rezaei M, Asadi-Fardaqi J (2008) Comparative study of plasma proteins including haptoglobin and serum amyloid A in different types of traumatic reticuloperitonitis in cattle. Comp Clin Pathol 17:245. https://doi.org/10.1007/s00580-008-0741-3

89. Heegaard PMH, Godson DL, Toussaint MJM, et al (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 77:151–159. https://doi.org/10.1016/S0165-2427(00)00226-9

90. Gånheim C, Hultén C, Carlsson U, et al (2003) The Acute Phase Response in Calves Experimentally Infected with Bovine Viral Diarrhoea Virus and/or Manheimia haemolytica. J Vet Med Ser B 50:183–190. https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.2003.00658.x

91. Nikunen S, Härtel H, Orro T, et al (2007) Association of bovine respiratory disease with clinical status and acute phase proteins in calves. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 30:143–151. https://doi.org/10.1016/j.cimid.2006.11.004

92. Adamu D (2013) Haematological and Biochemical Alterations in Calves Following Infection with Pasteurella multocida Type B: 2, Bacterial Lipopolysaccharide and Outer Membrane Protein Immunogens (OMP). Asian J Anim Vet Adv 8:806–813. https://doi.org/10.3923/ajava.2013.806.813

93. Tóthová C, Nagy O, Seidel H, Kováč G (2010) The effect of chronic respiratory diseases on acute phase proteins and selected blood parameters of protein metabolism in calves. Berl Münch Tierärztl Wschr 307–313. https://doi.org/10.2376/0005-9366-123-307

94. Godson DL, Campos M, Attah-Poku SK, et al (1996) Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. Vet Immunol Immunopathol 51:277–292. https://doi.org/10.1016/0165-2427(95)05520-7

95. Tóthová C, Nagy O, Kovác G (2013) The serum protein electrophoretic pattern and acute phase proteins concentrations in calves with chronic respiratory diseases. Acta Vet (Beogr) 63:473–486. https://doi.org/10.2298/AVB1306473T

96. Abdallah A, Hewson J, Francoz D, et al (2016) Systematic Review of the Diagnostic Accuracy of Haptoglobin, Serum Amyloid A, and Fibrinogen versus Clinical Reference Standards for the Diagnosis of Bovine Respiratory Disease. J Vet Intern Med 30:1356–1368. https://doi.org/10.1111/jvim.13975

97. Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft A, Dobson H (2001) Acute phase protein responses to uterine bacterial contamination in cattle after calving. Vet Rec 148:172–175. https://doi.org/10.1136/vr.148.6.172

98. Sheldon IM, Cronin J, Goetze L, et al (2009) Defining Postpartum Uterine Disease and the Mechanisms of Infection and Immunity in the Female Reproductive Tract in Cattle. Biol Reprod 81:1025–1032. https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.077370

99. LeBlanc SJ (2012) Interactions of Metabolism, Inflammation, and Reproductive Tract Health in the Postpartum Period in Dairy Cattle. Reprod Domest Anim 47:18–30. https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02109.x

100. Kimura K, Goff JP, Kehrli ME, Reinhardt TA (2002) Decreased Neutrophil Function as a Cause of Retained Placenta in Dairy Cattle. J Dairy Sci 85:544–550. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74107-6

101. Brodzki P, Kostro K, Brodzki A, et al (2015) Inflammatory cytokines and acute-phase proteins concentrations in the peripheral blood and uterus of cows that developed endometritis during early postpartum. Theriogenology 84:11–18. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.02.006

102. LeBlanc SJ (2014) Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows. Animal 8:54–63. https://doi.org/10.1017/S1751731114000524

103. Huzzey JM, Duffield TF, LeBlanc SJ, et al (2009) Short communication: Haptoglobin as an early indicator of metritis. J Dairy Sci 92:621–625. https://doi.org/10.3168/jds.2008-1526

104. Dubuc J, Duffield TF, Leslie KE, et al (2010) Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. J Dairy Sci 93:5764–5771. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3429

105. Alsaad KM, Al-Obaidi QT, Hassan SD (2012) Clinical, haematological and coagulation studies of bovine viral diarrhea in local Iraqi calves. Bulg J Vet Med 15:44–50

106. Müller-Doblies D, Arquint A, Schaller P, et al (2004) Innate Immune Responses of Calves during Transient Infection with a Noncytopathic Strain of Bovine Viral Diarrhea Virus. Clin Diagn Lab Immunol 11:302–312. https://doi.org/10.1128/CDLI.11.2.302-312.2004

107. Burciaga-Robles LO, Step DL, Krehbiel CR, et al (2010) Effects of exposure to calves persistently infected with bovine viral diarrhea virus type 1b and subsequent infection with Mannheima haemolytica on clinical signs and immune variables: Model for bovine respiratory disease via viral and bacterial interaction,. J Anim Sci 88:2166–2178. https://doi.org/10.2527/jas.2009-2005

108. Walz PH, Bell TG, Steficek BA, et al (1999) Experimental Model of Type II Bovine Viral Diarrhea Virus-Induced Thrombocytopenia in Neonatal Calves. J Vet Diagn Invest 11:505–514. https://doi.org/10.1177/104063879901100604

109. Sandev N, Zapryanova D, Stoycheva I, et al (2013) Investigation of some hematological and blood biochemical parameters in cattle spontaneously infected with bovine leukosis virus. Maced Vet Rev 107–110

110. TUTUNCU M, Albayrak M, Ozan H (2018) Acute Phase Response in Enzootic Bovine Leukosis. J Hell Vet Med Soc 68:155–159. https://doi.org/10.12681/jhvms.17924

111. Meimandi Parizi A, Khalafizadeh J (2006) Hematological study of lameness in cattle. Comp Clin Pathol 15:189–190. https://doi.org/10.1007/s00580-006-0626-2

112. Ilievska K, Atanasov B, Dovenski T, et al (2019) Acute Phase Proteins – As Indicators of Claw Diseases in Dairy Cattle. Maced Vet Rev 42:95–100. https://doi.org/10.2478/macvetrev-2019-0011

113. Kujala M, Orro T, Soveri T (2010) Serum acute phase proteins as a marker of inflammation in dairy cattle with hoof diseases. Vet Rec 166:240–241. https://doi.org/10.1136/vr.b4770

114. Jawor P, Steiner S, Stefaniak T, et al (2008) Determination of selected acute phase proteins during the treatment of limb diseases in dairy cows. Vet Med (Praha) 53:173–183

115. Kontturi M, Junni R, Kujala-Wirth M, et al (2019) Acute phase response and clinical manifestation in outbreaks of interdigital phlegmon in dairy herds. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 68:101375. https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101375

116. Buczinski S, Francoz D, Fecteau G, DiFruscia R (2010) A study of heart diseases without clinical signs of heart failure in 47 cattle. Can Vet J 51:1239

117. Nazifi S, Rezakhani A, Moaddeli A, et al (2009) Study on diagnostic values of haptoglobin and serum amyloid A concentration in bovine heart diseases. Comp Clin Pathol 18:47–51. https://doi.org/10.1007/s00580-008-0753-z

118. Braun U (2009) Traumatic pericarditis in cattle: Clinical, radiographic and ultrasonographic findings. Vet J 182:176–186. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.06.021

119. Alidadi N, Nadalian MGH, Baharloo F, et al (2011) Clinical and hematological findings in affected dairy cows with combined tricuspid and mural endocarditis. J Vet Res 66:187–276

120. Braun U, Lejeune B, Schweizer G, et al (2007) Clinical findings in 28 cattle with traumatic pericarditis. Vet Rec 161:558–563. https://doi.org/10.1136/vr.161.16.558

121. Singh R, Bhardwaj RK, Azad MS, Beigh SA (2014) Effect of mastitis on haemato-biochemical and plasma mineral profile in crossbred cattle. Indian J Anim Res 48:63. https://doi.org/10.5958/j.0976-0555.48.1.013

122. Atroshi F, Parantainen J, Sankari S, et al (1996) Changes in inflammation-related blood constituents of mastitic cows. Vet Res 27:125–132

123. Sarvesha K, SatyanarayanaM L, NarayanaswamyH D, et al (2017) Haemato-biochemical profile and milk leukocyte count in subclinical and clinical mastitis affected crossbred cattle. J Exp Biol Agric Sci 5:001–006. https://doi.org/10.18006/2017.5(1).001.006

124. Bleul U, Sacher K, Corti S, Braun U (2006) Clinical findings in 56 cows with toxic mastitis. Vet Rec 159:677–679. https://doi.org/10.1136/vr.159.20.677

125. Smith GW, Constable PD, Morin DE (2001) Ability of Hematologic and Serum Biochemical Variables to Differentiate Gram-Negative and Gram-Positive Mastitis in Dairy Cows. J Vet Intern Med 15:394–400. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2001.tb02335.x

126. Doré E, Fecteau G, Hélie P, Francoz D (2007) Liver Abscesses in Holstein Dairy Cattle: 18 Cases (1992–2003). J Vet Intern Med 21:853–856. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.tb03031.x

127. Tajik J, Nazifi S, Rostami A, Khajoei L (2013) Serum concentrations of haptoglobin and amyloid A in cattle with liver abscesses. Online J Vet Res 17:620–626

128. Coşkun A, DeriNbay EkiCi Ö, Güzelbekteş H, et al (2012) Acute Phase Proteins, Clinical, Hematological and Biochemical Parameters in Dairy Cows Naturally Infected with Anaplasma Marginale. Kafkas Univ Vet Fak Derg. https://doi.org/10.9775/kvfd.2011.5822

129. de Cezaro MC, Tvarijonaviciute A, Tecles F, et al (2016) Changes in biochemical analytes in calves infected by nematode parasites in field conditions. Vet Parasitol 219:1–6. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.01.018

130. Gånheim C, Höglund J, Waller KP (2004) Acute phase proteins in response to Dictyocaulus viviparus infection in calves. Acta Vet Scand 45:79. https://doi.org/10.1186/1751-0147-45-79

131. Sevimli FK, Kuş FS Acute-phase Proteins and Interleukin-6 (IL-6) in Cattle Infected with Subclinical Parasitic Infections. Acta Sci Vet 7

132. El-Deeb WM, Iacob OC (2012) Serum acute phase proteins in control and Theileria annulata infected water buffaloes (Bubalus bubalis). Vet Parasitol 190:12–18. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.06.019

133. Nazifi S, Razavi SM, Esmailnejad Z, Gheisari H (2009) Study on acute phase proteins (haptoglobin, serum amyloid A, fibrinogen, and ceruloplasmin) changes and their diagnostic values in bovine tropical theileriosis. Parasitol Res 105:41–46. https://doi.org/10.1007/s00436-009-1360-x

134. Omer OH, El-Malik KH, Mahmoud OM, et al (2002) Haematological profiles in pure bred cattle naturally infected with Theileria annulata in Saudi Arabia. Vet Parasitol 107:161–168. https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00094-8

135. Wood LG, Scott HA, Garg ML, Gibson PG (2009) Innate immune mechanisms linking non-esterified fatty acids and respiratory disease. Prog Lipid Res 48:27–43. https://doi.org/10.1016/j.plipres.2008.10.001

136. Kumar R, Sharma IJ, Rao MLV, Quadri MA (2001) Status of haemogram, plasma proteins, minerals and electrolytes during pregnancy, anorexia and sub-clinical ketosis in cows and buffaloes. Indian J Anim Sci 71:118–121

137. Cincovic RM, Belic B, Radojicic B, et al (2012) Influence of lipolysis and ketogenesis to metabolic and hematological parameters in dairy cows during periparturient period. Acta Vet (Beogr) 62:429–444. https://doi.org/10.2298/AVB1204429C

138. Zhang G, Hailemariam D, Dervishi E, et al (2016) Dairy cows affected by ketosis show alterations in innate immunity and lipid and carbohydrate metabolism during the dry off period and postpartum. Res Vet Sci 107:246–256. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.06.012

139. Ametaj BN, Bradford BJ, Bobe G, et al (2005) Strong relationships between mediators of the acute phase response and fatty liver in dairy cows. Can J Anim Sci 85:165–175. https://doi.org/10.4141/A04-043

140. Bossaert P, Trevisi E, Opsomer G, et al (2012) The association between indicators of inflammation and liver variables during the transition period in high-yielding dairy cows: An observational study. Vet J 192:222–225. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.06.004

141. Morrison WB (2012) Inflammation and Cancer: A Comparative View. J Vet Intern Med 26:18–31. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00836.x

142. Sutton RH, McLennan MW (1982) Hemangiosarcoma in a Cow. Vet Pathol 19:456–458. https://doi.org/10.1177/030098588201900413

143. Bassi PB, Araujo FF, Garcia GC, et al (2019) Haematological and immunophenotypic evaluation of peripheral blood cells of cattle naturally infected with bovine papillomavirus. Vet J 244:112–115. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.12.004

144. Palanivel KM, Surendar AP, Kanimozhi P (2017) Sero Biochemical Profile of Crossbred Calves Naturally Infected By Bovine Papilloma Virus. Int J Curr Microbiol Appl Sci 6:366–371. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.608.049

145. Earley B, Crowe MA (2002) Effects of ketoprofen alone or in combination with local anesthesia during the castration of bull calves on plasma cortisol, immunological, and inflammatory responses. J Anim Sci 80:1044–1052. https://doi.org/10.2527/2002.8041044x

146. Schönfelder A, Schrödl W, Krüger M, et al (2005) [The change of acute phase protein haptoglobin in cattle during spontaneous labor and Caesarean section with or without torsio uteri intrapartum]. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 118:240–246

147. White BJ, Renter DG (2009) Bayesian Estimation of the Performance of Using Clinical Observations and Harvest Lung Lesions for Diagnosing Bovine Respiratory Disease in Post-weaned Beef Calves. J Vet Diagn Invest 21:446–453. https://doi.org/10.1177/104063870902100405

148. Liberg P, Pehrson B, Sandholm M (1975) The value of the glutaraldehyde and formaldehyde tests in evaluation of the globulin level in bovine blood. Acta Vet Scand 16:236–243

149. Brink P, Wright J, Schumacher J (2005) An investigation of the GAT to distinguish between acute and chronic inflammatory disease in horses. Acta Vet Scand 46:69. https://doi.org/10.1186/1751-0147-46-69

150. Metzner M, Horber J, Rademacher G, Klee W (2007) Application of the Glutaraldehyde Test in Cattle. J Vet Med Ser A 54:449–454. https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2007.00939.x

151. Bernarski EE, Silva KG da, Nascimento LV, et al (2019) The glutaraldehyde test and its use in dairy cattle. Semina Ciênc Agrár 40:1891–1900. https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n5p1891

152. Mahin L, Chadli M, Marzou A, et al (2010) Differences in Coagulability of Three Glutaraldehyde Solutions in the Glutaraldehyde Test on Bovine Whole Blood. Zentralblatt Für Veterinärmedizin Reihe A 32:151–154. https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1985.tb01928.x

153. Doll K, Schillinger D, Klee W (2010) Der Glutaraldehyd-Test beim Rind - seine Brauchbarkeit für Diagnose und Prognose innerer Entzündungen. Zentralblatt Für Veterinärmedizin Reihe A 32:581–593. https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1985.tb01978.x

154. Lee S-H, Jaekal J, Bae C-S, et al (2008) Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Single Radial Immunodiffusion, and Indirect Methods for the Detection of Failure of Transfer of Passive Immunity in Dairy Calves. J Vet Intern Med 22:212–218. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.0013.x

155. Becker U, Bartl K, Wahlefeld AW (1984) A functional photometric assay for plasma fibrinogen. Thromb Res 35:475–484. https://doi.org/10.1016/0049-3848(84)90280-9

156. CLAUSS A (1957) Gennungsphysiologishe schnellmethode sur Bestimmung des Fibrinogens. Acta Haematol 17:237–246

157. Thrall MA, Weiser G, Allison R, Campbell T (2012) Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. John Wiley & Sons

158. Millar HR, Simpson JG, Stalker AL (1971) An evaluation of the heat precipitation method for plasma fibrinogen estimation. J Clin Pathol 24:827–830

159. Md C, Je B, Gp S (1981) Determination of plasma fibrinogen concentration in the horse. Am J Vet Res 42:100–104

160. Horadagoda A, Eckersall PD, Alsemgeest SPM, Gibbs HA (1993) Purification and quantitative measurement of bovine serum amyloid-A. Res Vet Sci 55:317–325. https://doi.org/10.1016/0034-5288(93)90101-K

161. Alsemgeest SPM, Kalsbeek HC, Wensing T, et al (1994) Concentrations of serum Amyloid-a (SAA) and haptoglobin (HP) as parameters of inflammatory diseases in cattle. Vet Q 16:21–23. https://doi.org/10.1080/01652176.1994.9694410

162. Elson EC (1974) Quantitative Determination of Serum Haptoglobin: A Simple and Rapid Method. Am J Clin Pathol 62:655–663. https://doi.org/10.1093/ajcp/62.5.655

163. Makimura S, Suzuki N (1982) Quantitative determination of bovine serum haptoglobin and its elevation in some inflammatory diseases. Jpn J Vet Sci 44:15–21. https://doi.org/10.1292/jvms1939.44.15

164. Cooke RF, Arthington JD (2013) Concentrations of haptoglobin in bovine plasma determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity. J Anim Physiol Anim Nutr 97:531–536. https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01298.x

165. Bilic-Zulle L (2011) Comparison of methods: Passing and Bablok regression. Biochem Medica Časopis Hrvat Druš Med Biokem HDMB 21:49–52. https://doi.org/10.11613/BM.2011.010

166. Giavarina D (2015) Understanding Bland Altman analysis. Biochem Medica 25:141–151. https://doi.org/10.11613/BM.2015.015

167. Josse J, Husson F (2016) missMDA: A Package for Handling Missing Values in Multivariate Data Analysis. J Stat Softw 70:1–31. https://doi.org/10.18637/jss.v070.i01

168. Jeremejeva J, Orro T, Waldmann A, Kask K (2012) Treatment of dairy cows with PGF2α or NSAID, in combination with antibiotics, in cases of postpartum uterine inflammation. Acta Vet Scand 54:45. https://doi.org/10.1186/1751-0147-54-45

169. Mischke R, Menzel D, Wolling H (2000) Comparison of Different Methods to Measure Fibrinogen Concentration in Canine Plasma with Respect to Their Sensitivity towards the Fibrinogen Degradation Products X, Y and D. Pathophysiol Haemost Thromb 30:131–138. https://doi.org/10.1159/000022535

170. Tamzali Y, Guelfi JF, Braun JP (2001) Plasma fibrinogen measurement in the horse: comparison of Millar's technique with a chronometric technique and theQBC -Vet Autoreader™. Res Vet Sci 71:213–217. https://doi.org/10.1053/rvsc.2001.0513

171. University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Clinic of ruminants, Komenského 73, Košice 04181, Slovakia, Mudroň P (2019) Haptoglobin concentrations in blood of dairy cows with inflammatory diseases. Anim Biol 21:61–64. https://doi.org/10.15407/animbiol21.03.061

172. Pohl A, Burfeind O, Heuwieser W (2015) The associations between postpartum serum haptoglobin concentration and metabolic status, calving difficulties, retained fetal membranes, and metritis. J Dairy Sci 98:4544–4551. https://doi.org/10.3168/jds.2014-9181

173. Skinner JG, Brown RA, Roberts L (1991) Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. Vet Rec 128:147–149. https://doi.org/10.1136/vr.128.7.147

174. Smith BI, Kauffold J, Sherman L (2010) Serum haptoglobin concentrations in dairy cattle with lameness due to claw disorders. Vet J 186:162–165. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.08.012

175. Paull DR, Lee C, Atkinson SJ, Fisher AD (2008) Effects of meloxicam or tolfenamic acid administration on the pain and stress responses of Merino lambs to mulesing. Aust Vet J 86:303–311. https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2008.00325.x

176. Papasouliotis K, Cue S, Crawford E, et al (2006) Comparison of white blood cell differential percentages determined by the in-house LaserCyte hematology analyzer and a manual method. Vet Clin Pathol 35:295–302. https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00134.x

177. Mohamed T (2010) Clinicopathological and ultrasonographic findings in 40 water buffaloes (Bubalus bubalis) with traumatic pericarditis. Vet Rec 167:819–824. https://doi.org/10.1136/vr.c3113

178. Ballou MA (2012) Growth and Development Symposium: Inflammation: Role in the etiology and pathophysiology of clinical mastitis in dairy cows. J Anim Sci 90:1466–1478. https://doi.org/10.2527/jas.2011-4663

179. Hoeben D, Burvenich C, Trevisi E, et al (2000) Role of endotoxin and TNF-α in the pathogenesis of experimentally induced coliform mastitis in periparturient cows. J Dairy Res 67:503–514. https://doi.org/10.1017/S0022029900004489

180. Nazifi S, Ahmadi MR, Gheisari HR (2008) Hematological changes of dairy cows in postpartum period and early pregnancy. Comp Clin Pathol 17:157–163. https://doi.org/10.1007/s00580-008-0730-6

181. Chikere CMU, Wilson K, Graziadio S, et al (2019) Diagnostic test evaluation methodology: A systematic review of methods employed to evaluate diagnostic tests in the absence of gold standard – An update. PLOS ONE 14:e0223832. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223832

ANNEXES

Annexe 1: Feuille de renseignements

Appareil respiratoire :

Courbe respiratoire : ☐ Costale ☐ Dyspnée ☐ Tirage costal
Rythme : ☐ régulier ☐irrégulier Toux : ☐ Absence ☐ Présence

Jetage nasal : ☐ Absent ☐ Unilatéral ☐bilatérale
☐ Séreux ☐ Purulent ☐ Modéré ☐ abondant

Appareil digestif :

Appétit/prise de boisson : ☐Bon ☐Diminué ☐Anorexie
Cavité buccale : ☐RAS ☐..... Pharynx : ☐RAS ☐..... Œsophage : ☐RAS ☐.....
Remplissage du rumen (noté de 1 à 3) :.....
Fréquence ruminale :..... /2 min Contractions : ☐complètes ☐ incomplètes
Percussion/tinkle : ☐ Absence ☐ présence d'un tinkle, localisation : .....
Paroi abdominale : ☐Souple ☐ Tendue
Borborygme intestinal : ☐ Présent ☐Absent

Fèces : Couleur : ..... Odeur : ..... Consistance :..... Quantité : .....

Test corps étranger : test au garrot : ☐Positif ☐négatif Percussion : ☐Positive ☐Négative

Palaption trans-rectale : .....

Appareil urogénital :
Miction : ☐ Normale ☐Pollakiurie ☐Dysurie ☐non observée
Urine : ☐Normale ☐Hématurie ☐Hémoglobinurie
Bandelette urinaire : .....
Vulve : ☐RAS ☐..... Vagin : ☐RAS ☐.....
Mucus vaginal : ☐Absent ☐Séreux ☐ Quelques flammèches de pus ☐Purulent

Mamelle :
Inspection/ Palpation : ☐ RAS
☐ Type de lésion : ..... Localisation : ..... Etendue : .....
Couleur et qualité du lait : ..... CMT : .....

Locomotion : ☐Normale ☐ Anormale : .....
Si Boiterie : Membre touché : ..... Localisation : ☐ musculaire ☐articulaire ☐pied

Autres remarques : .....
.....

Conclusion

Hypothèses diagnostiques initiales (par ordre de priorité) : .....
.....
.....

Traitement mis en place : .....
.....
.....

Annexe 2: Gestion des données manquantes

Pour la gestion des données manquantes, la fonction imputeFAMD du package missMDA [167], disponible sur R, a été utilisée.

Ce package, complémentaire de FactoMineR, permet de faire de l'imputation**,** c'est à dire de remplacer les données manquantes d'un tableau de données par des valeurs plausibles**.**

Le principe est de prédire ces valeurs plausibles à partir d'un modèle qui prend en compte à la fois les similarités entre les individus et entre les variables**.** Dans le cadre de notre étude, ce modèle repose sur l'Analyse Factorielle des Données Mixtes (AFDM) avec utilisation de la fonction imputeFAMD, car les variables de notre jeu de données sont mixtes (à la fois quantitatives et qualitatives).

L'avantage d'utiliser ce package est que les valeurs imputées n'ont aucun poids et n'interviennent pas par la suite dans les résultats de l'analyse factorielle. Un autre avantage est qu'il est ensuite possible de juger de la qualité de l'imputation effectuée, en visualisant l'incertitude liée aux prédictions. Pour cela, on utilise l'algorithme MIPCA pour les données quantitatives, et MIMCA pour les qualitatives, qui réalisent des imputations multiples du jeu de données, les comparent et génèrent des graphiques sur lesquels s'expriment la variabilité inter-imputation. La Figure 29 ci-dessous est un exemple de graphiques obtenus après imputation multiple de données quantitatives.

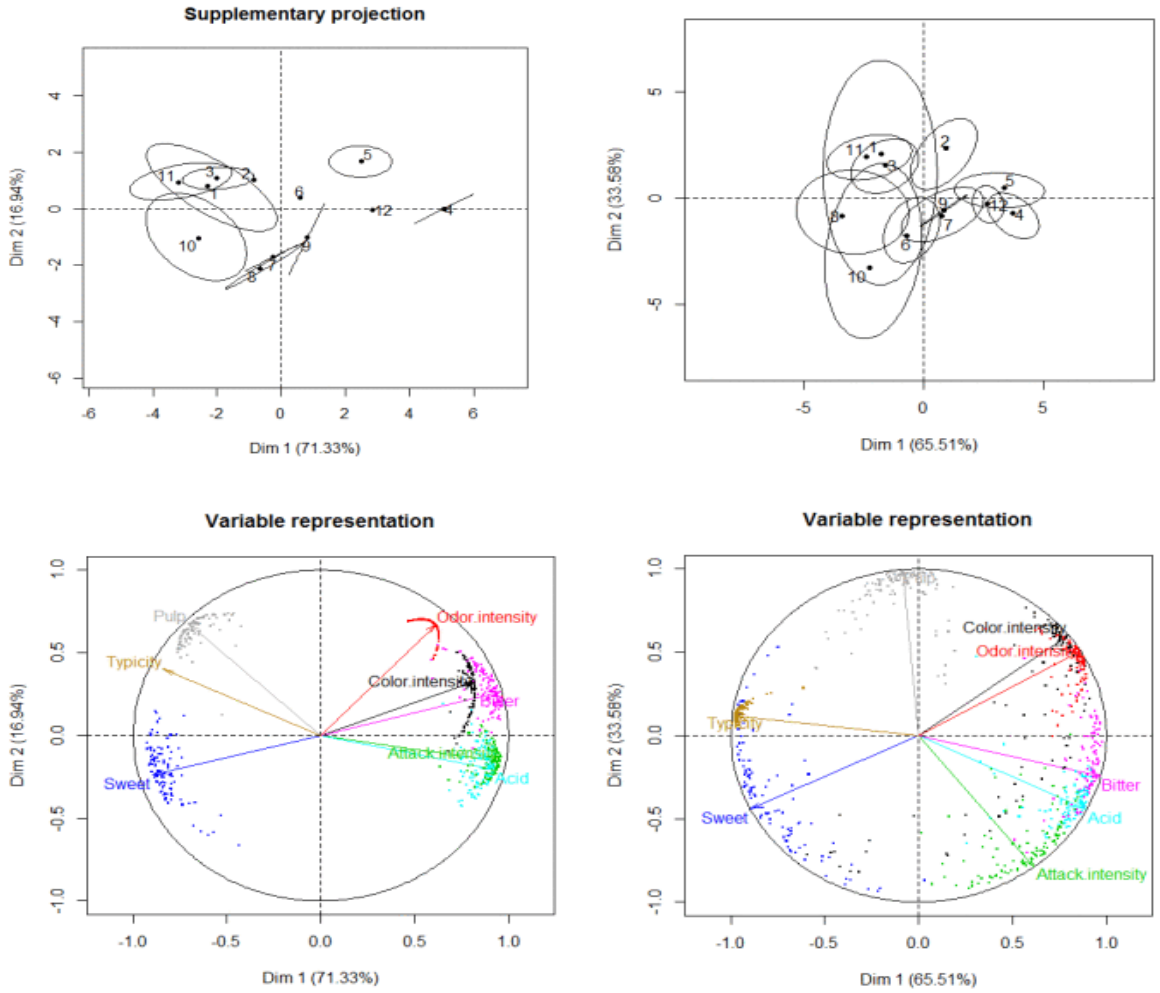


Figure 29 : Les ellipses (en haut) représentent l'incertitude pour les individus, les nuages de points (en bas) représentent celle pour les variables.
A gauche, les ellipses et nuages de points sont petits et ne se chevauchent pas, encourageant à réaliser les analyses sur les données imputées. A droite en revanche, l'analyse de ces données n'est pas recommandée, il existe trop de variabilité due à l'imputation.

Cette méthode d'imputation est valide lorsque les données sont manquantes de façon aléatoire et sans lien avec la structure des relations entre les variables et les individus. Par exemple, ce type d'imputation risquerait d'être biaisé, si, pour une raison ou pour une autre, l'âge des individus était manquant chez tous les jeunes, ou chez tous les jeunes ayant un taux de leucocytes élevé. Pour vérifier ce risque de biais, nous avons décrit au préalable les caractéristiques des individus présentant des données manquantes par rapport aux individus n'en présentant pas dans la partie résultats. Pour ce faire, nous avons comparé par un test du khi 2 les variables qualitatives (et par un test de Wilcoxon pour les quantitatives) les individus présentant des données manquantes pour une variable donnée, et ceux n'en présentant pas.

Résultats de missMDA pour notre jeu de données :

Le package missMDA de FactoMineR a été utilisé pour la gestion des données manquantes.

La Figure 30 nous permet de juger de la qualité de l'imputation réalisée sur les variables quantitatives grâce à la fonction impute.FAMD et MIPCA du package missMDA.

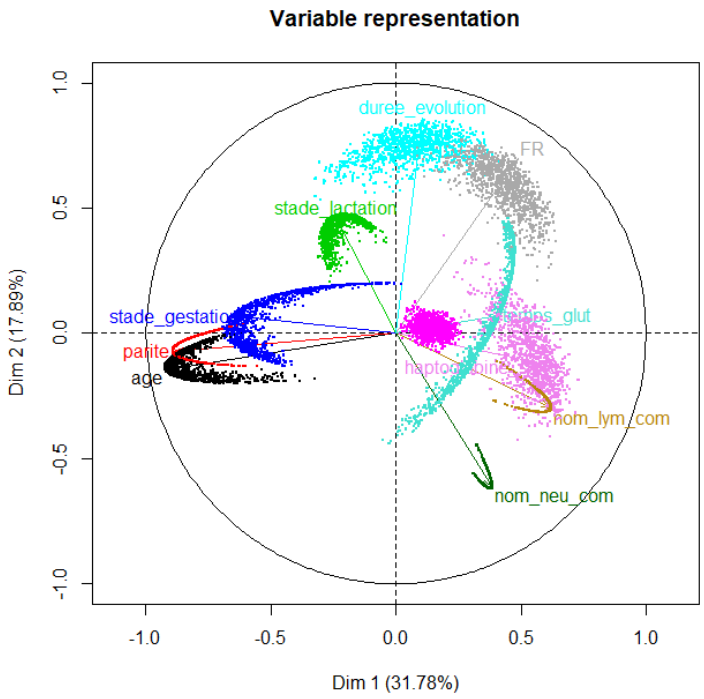


Figure 30: Représentation de la qualité de l'imputation réalisée grâce au package missMDA, ici pour les variables quantitatives.
En rose foncé sont représentées les valeurs obtenues pour la fréquence cardiaque.

La forme elliptique des points est un critère d'acceptabilité de l'imputation de la variable concernée, ainsi que l'absence de chevauchement entre plusieurs variables. D'après la figure ci-dessus, l'imputation était acceptable pour l'âge, la parité, le stade de gestation et de lactation, le temps au glutaraldéhyde et le nombre de lymphocyte et neutrophile au comptage manuel. En revanche, en ce qui concerne les variables suivantes : l'haptoglobine sang, la fréquence respiratoire, la fréquence cardiaque et la durée d'évolution, les nuages de points sont très dispersés et nous invitaient à ne pas utiliser ces données dans le reste de nos analyses.

Annexe 3: Etude de l'interchangeabilité des méthodes : régression de Passing et Bablok et graphiques de Bland et Altman

La corrélation linéaire a été testée en utilisant la régression de Passing et Bablok. Les graphiques de Bland et Altman ont permis d'appuyer les résultats de concordance par la méthode de régression de Passing et Bablok.

Les figures suivantes sont les représentations graphiques des analyses statistiques utilisées pour évaluer la concordance entre deux méthodes.

Les figures correspondants aux analyses de la régression de Passing et Bablok (Figures 31, 33 et 35) sur lesquelles on observe la droite de régression (bleu foncée), l'intervalle à 95% autour de cette droite (bleu clair), et la droite y=x en rouge, sont suivies des graphiques de Bland et Altman (Figure 32, 34 et 36), qui correspond à la différence entre les 2 méthodes en fonction de la moyenne entre les 2 méthodes.

Cas du fibrinogène

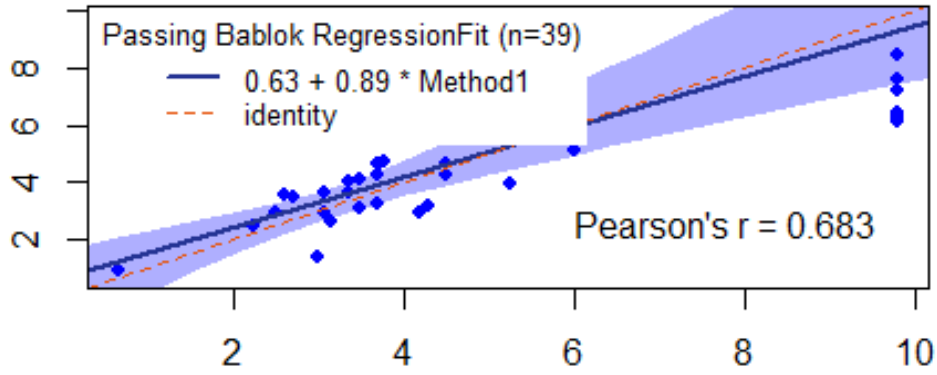


Figure 31: Régression de Passing et Bablok pour le dosage du fibrinogène.
En rouge, la droite x=y, en bleu clair, l'intervalle de confiance à 95% de la droite de régression linéaire « Clauss = 0.87 x Millar + 0.57 ».

Ce graphique nous permet d'obtenir la droite de régression entre les deux méthodes et de visualiser l'intervalle de confiance à 95% autour de cette droite.

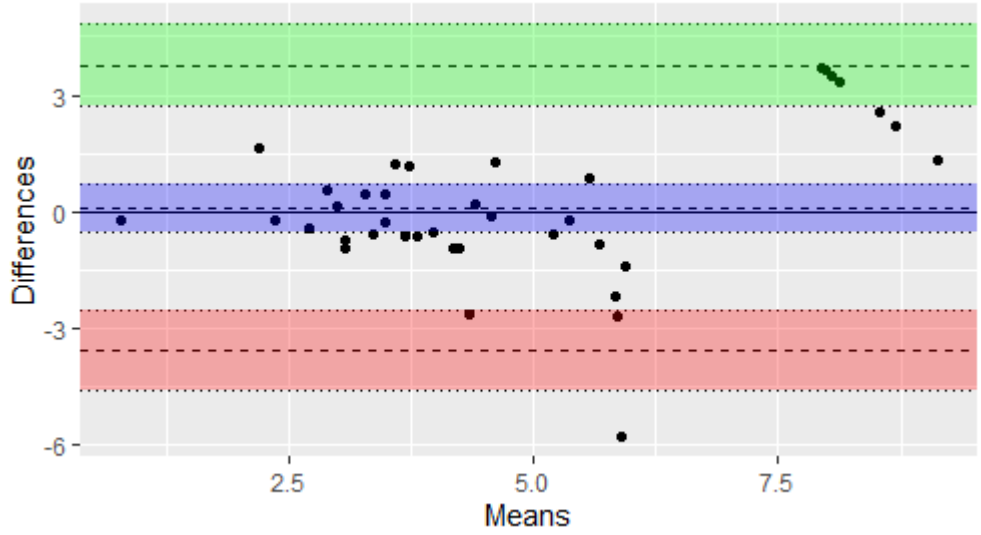


Figure 32: Graphique de Bland et Altman pour la comparaison de 2 méthodes de dosage du fibrinogène. La droite en pointillés noirs au centre représente le biais, c'est-à-dire la moyenne des écarts entre les 2 séries (0.098 ici). Les deux autres droites en pointillés représentent les limites d'agréments supérieure et inférieure. Ces limites sont définies par l'utilisateur et correspondent à l'erreur standard acceptée lors de la comparaison des méthodes. En bleu est représenté l'intervalle de confiance à 95% autour du biais, en vert et rouge, les intervalles de confiance à 95% autour des limites d'agréments supérieures et inférieures. Ces limites ne sont pas interprétables ici car la distribution de la différence des méthodes n'est pas normale.

Le graphique nous renseigne sur la moyenne des différences entre les deux méthodes, qui correspond au biais. Ici, le biais est de 0.098, cela signifie que la méthode de Clauss sous-estime en moyenne 0.098 fois celle de Millar. Cela est faible, cependant ce graphique n'est réellement interprétable qu'en cas de distribution normale des différences, ce qui n'est pas le cas ici.

Le manque de valeurs élevées, valeurs censurées pour le Fb de Millar, ne nous a pas permis de tester la concordance entre les deux méthodes lorsque la concentration en fibrinogène augmente.

Une comparaison avec un plus grand nombre de mesures, et en particulier avec des concentrations élevées en fibrinogène serait judicieuse afin de mieux apprécier l'interchangeabilité des méthodes.

Cas des neutrophiles

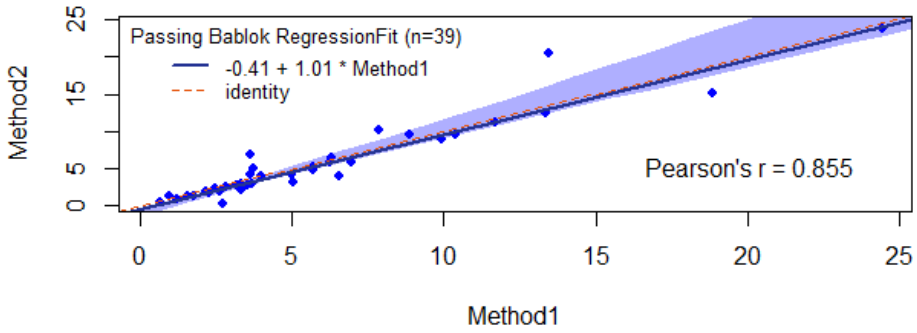


Figure 33: Régression de Passing et Bablok pour les neutrophiles.
En rouge, la droite x=y, en bleu clair, l'intervalle de confiance à 95% de la droite de régression linéaire « Manuel = 1.01 x analyseur - 0.41 » (droite bleu foncé).

On observe une bonne corrélation des méthodes, notamment lorsque les valeurs restent faibles.

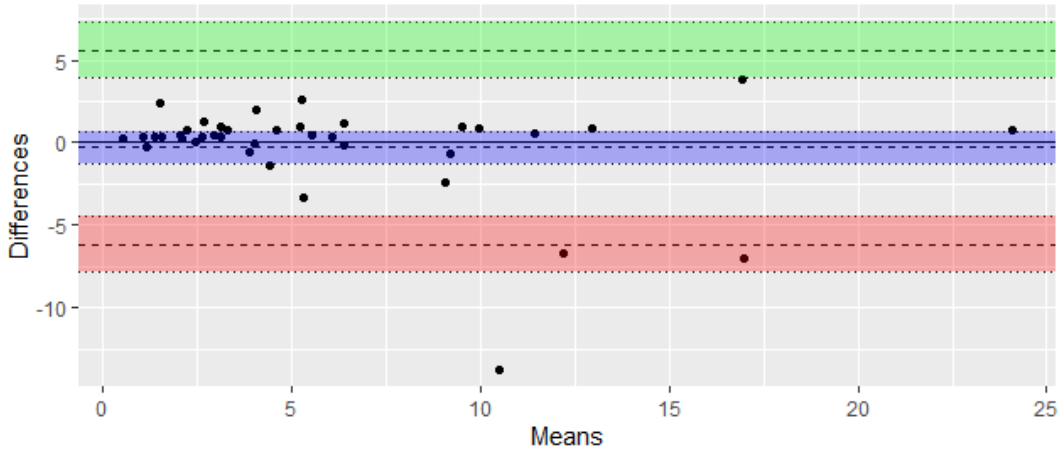


Figure 34: Graphique de Bland et Altman pour la comparaison de 2 méthodes de comptage des neutrophiles.
La droite en pointillés noirs au centre représente le biais, c'est-à-dire la moyenne des écarts entre les 2 séries. Les deux autres droites en pointillé représentent les limites d'agréments supérieure et inférieure. En bleu est représenté l'intervalle de confiance à 95% autour du biais, en vert et rouge, les intervalles de confiance à 95% autour des limites d'agréments supérieures et inférieures.

On voit une divergence des points lorsque le taux de neutrophiles augmente. Pour des valeurs faibles, les méthodes sont interchangeables.

Cas du ratio N/L

Les mêmes graphiques ont été réalisé pour le ratio N/L.

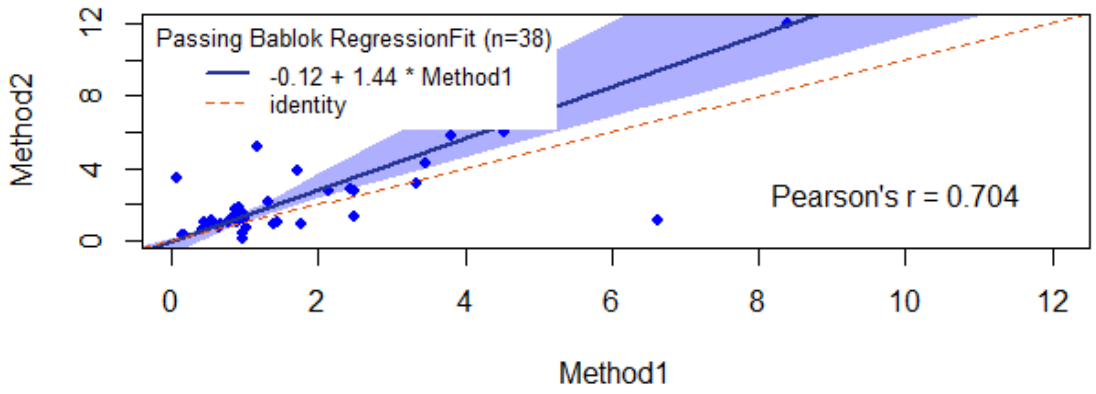


Figure 35: Régression de Passing et Bablok pour le ratio N/L.
En rouge, la droite x=y, en bleu clair, l'intervalle de confiance à 95% de la droite de régression linéaire « Manuel = 1.44 x analyseur - 0.12 » (droite bleu foncé).

Par rapport au graphique de Passing et Bablok du fibrinogène, on s'aperçoit qu'ici davantage de points se trouvent en dehors de l'intervalle de confiance à 95% de la droite de régression linéaire (intervalle bleu clair).

La transformation logarithmique des valeurs donne des résultats similaires.

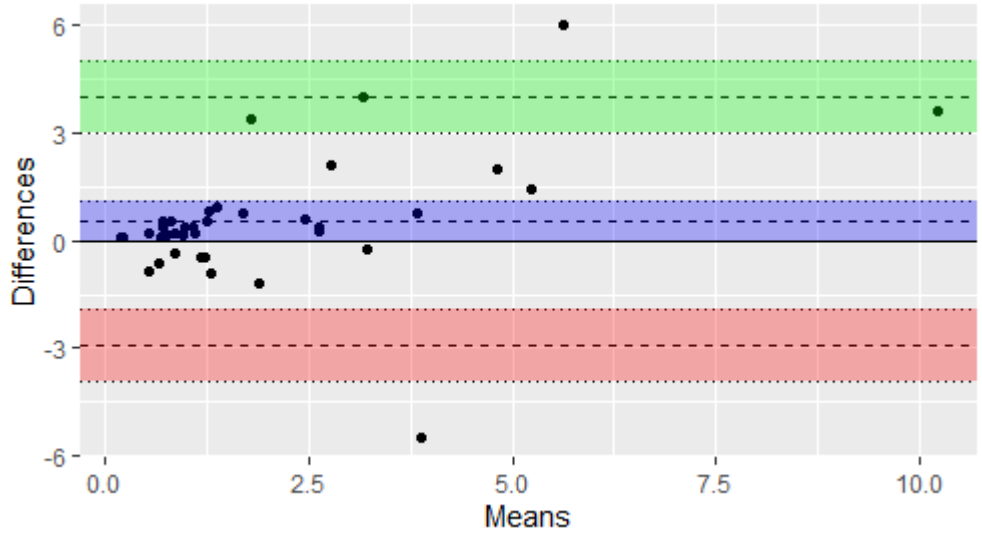
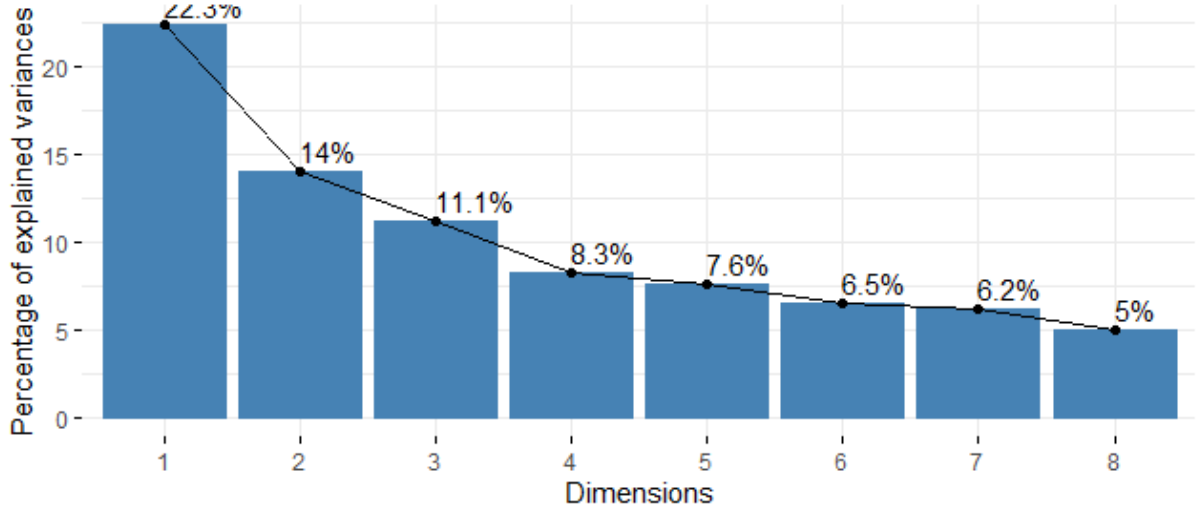


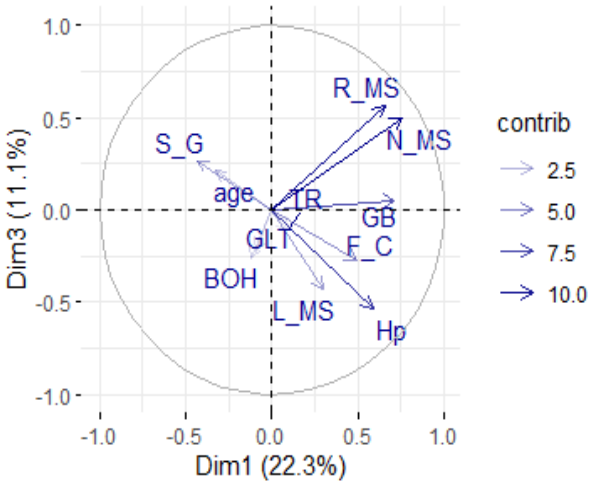
Figure 36: Graphique de Bland et Altman pour la comparaison de 2 méthodes de comptage du ratio N/L.
La droite en pointillés noirs au centre représente le biais, c'est-à-dire la moyenne des écarts entre les 2 séries (0.54 ici). Les deux autres droites en pointillé représentent les limites d'agréments supérieure et inférieure. En bleu est représenté l'intervalle de confiance à 95% autour du biais, en vert et rouge, les intervalles de confiance à 95% autour des limites d'agréments supérieures et inférieures.

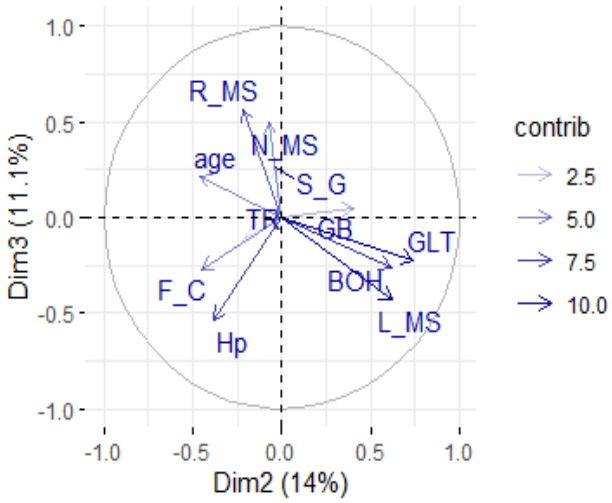
Comme dit précédemment, l'absence de normalité des distributions ne nous a pas permis d'interpréter les valeurs du graphique. Néanmoins la distribution des points semble montrer une moins bonne interchangeabilité des méthodes quand le ratio N/L augmente (points qui s'éloignent de la zone bleue).

Annexe 4: Eboulis des valeurs propres

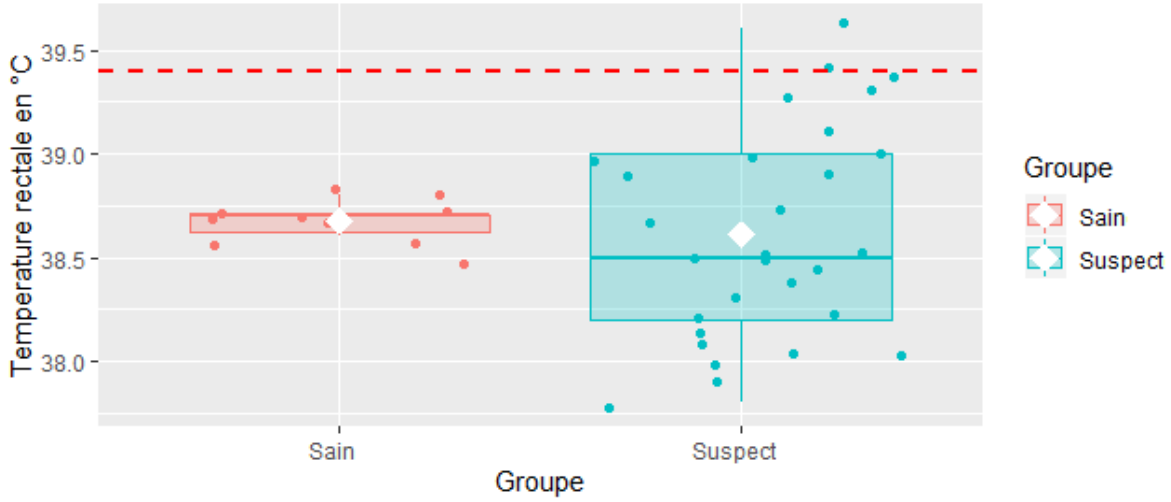


Annexe 5: Cercle de corrélation sur les axes 1-3 et 2-3





Annexe 6: Boxplot de la température rectale selon le groupe



Annexe 7: Tableau des individus et feuille de renseignements.

Individus	Race	Sexe	Age	Parité	SL	SG	Catégorie consult	DE (en h)	ATB	AI
1	charolais	M	2	0	0	0	UCRA	24	oui	oui
2	charolais	F	10	7	0	0	UCRA	120	non	non
3	montbeliard	F	6	4	6	4,5	UCRA	12	non	oui
4	holstein	F	2	1	0,03	0	UCRA	48	non	non
5	charolais	M	NA	0	0	0	UCRA	168	non	oui
6	montbeliard	F	6	4	4	1	UCRA	24	non	non
7	montbeliard	F	6	3	0	0	hopitaux	360	oui	oui
8	montbeliard	F	12	10	NA	0	UCRA	NA	oui	oui
9	holstein	F	6	3	0	0	UCRA	504	oui	NA
10	holstein	F	4	2	0,75	0	hopitaux	NA	oui	oui
11	autre	F	3	1	0	0	hopitaux	504	oui	oui
12	montbeliard	F	6	0	0	NA	UCRA	48	non	oui
13	montbeliard	F	4	1	0,5	0	UCRA	NA	non	non
14	holstein	F	7	5	0,8	0	hopitaux	240	oui	oui
15	montbeliard	F	NA	0	0	0	UCRA	24	non	oui
16	montbeliard	F	7	5	0	0	UCRA	336	oui	non
17	montbeliard	F	7	5	1	0	hopitaux	NA	NA	NA
18	montbeliard	F	12	8	0	7	hopitaux	NA	NA	NA
19	holstein	F	1	0	0	0	UCRA	2160	oui	oui
20	montbeliard	F	6	4	0,3	0	UCRA	240	NA	NA
21	holstein	F	4	2	5	3	UCRA	NA	non	non
22	charolais	F	9	6	0	4	hopitaux	504	oui	non
23	holstein	F	6	4	0	0	hopitaux	720	oui	oui
24	limousine	F	16	13	0	NA	hopitaux	NA	NA	NA
25	montbeliard	F	6	4	1	0	hopitaux	NA	NA	NA
26	holstein	F	2	1	0	2	UCRA	96	non	non
27	holstein	F	NA	NA	NA	NA	UCRA	72	NA	NA
28	charolais	F	7	4	0	0	hopitaux	NA	NA	NA
29	limousine	F	1	0	0	0	hopitaux	NA	NA	NA
30	holstein	F	4	2	6	1	repro	720	non	non
31	holstein	F	7	5	8	0	repro	720	non	non
32	holstein	F	4	2	2	0	repro	720	non	non
33	holstein	F	8	6	7	4,5	repro	720	non	non
34	holstein	F	9	7	8,5	5	repro	720	non	non
35	holstein	F	6	4	4,5	1	repro	720	non	non
36	holstein	F	6	4	3	0	repro	720	non	non
37	holstein	F	5	3	14	0	repro	720	non	non
38	holstein	F	3	1	0,13	0	repro	720	non	non
39	holstein	F	6	4	6	4	repro	720	non	non

SL : stade de lactation. SG : stade de gestation ; DE : durée d'évolution des symptômes ; ATB et AI : a reçu traitement antibiotique/ anti-inflammatoire ; Fb : fibrinogène

Individus	Anomalie appareil génital	Anomalie mamelle	Anomalie appareil locomoteur	Hypothèse diagnostique	Globules blancs	Lymphocytes MS4
1	non	non	oui	mixte	29,67	15,84378
2	non	non	non	mixte	7,99	3,85118
3	non	non	non	Non infectieux	18,05	7,7976
4	non	non	non	Non infectieux	36,86	32,91598
5	non	non	oui	Non infectieux	6,11	1,93687
6	non	oui	non	mixte	9,19	2,26993
7	non	non	oui	infectieux	14,64	6,03168
8	NA	non	non	infectieux	5,92	2,99552
9	non	non	oui	mixte	9,47	2,70842
10	non	non	non	Non infectieux	15,92	3,7412
11	oui	non	non	mixte	28,23	2,03256
12	non	non	oui	Non infectieux	8,54	1,4945
13	non	non	oui	mixte	14,8	10,6116
14	non	non	NA	mixte	16,29	2,24802
15	non	non	non	Non infectieux	8,22	1,26588
16	oui	non	non	infectieux	22,1	2,1879
17	non	oui	non	infectieux	3,88	0,77988
18	non	non	oui	NA	6,06	1,40592
19	non	non	non	infectieux	7,28	3,33424
20	non	oui	non	NA	12,55	1,7821
21	non	non	non	mixte	13,74	2,62434
22	non	non	oui	infectieux	6,85	2,62355
23	NA	non	non	infectieux	13,61	3,23918
24	NA	non	NA	NA	3,31	1,16181
25	non	non	non	NA	3,61	2,54505
26	non	non	non	NA	6,49	4,79611
27	non	non	non	mixte	9,35	1,8139
28	non	non	oui	infectieux	5,76	2,71872
29	non	non	non	NA	12,6	5,9346
30	non	non	non	NC	8,37	3,92553
31	non	non	oui	NC	4,01	1,73633
32	non	non	non	NC	8,28	3,95784
33	non	non	non	NC	8,63	3,11543
34	non	non	non	NC	6,29	2,48455
35	non	non	non	NC	9,79	3,74957
36	non	non	oui	NC	6,34	2,68182
37	non	non	non	NC	8,32	2,97024
38	non	non	non	NC	2,95	1,4337
39	non	non	non	NC	10,81	3,88079

Individus	Neutrophiles MS4	Lymphocytes comptage	Neutrophiles comptage	Ratio N/L MS4	Protéines totales
1	13,47018	39	20,4723	0,85	108
2	3,61947	37	4,1548	0,94	80
3	8,86255	13	15,523	1,14	78
4	3,61228	48	17,3242	0,11	72
5	3,54991	47	2,6273	1,83	74
6	6,25839	30	5,8816	2,76	98
7	7,84704	28	10,248	1,3	104
8	2,17856	51	1,9536	0,73	96
9	5,67253	38	4,735	2,09	94
10	11,68528	21	11,144	3,12	82
11	24,44718	10	23,7132	12,03	73
12	6,29398	22	6,4904	4,21	84
13	3,6408	48	6,956	0,34	86
14	13,37409	17	12,5433	5,95	68
15	6,55134	41	3,9456	5,18	72
16	18,8513	26	15,028	8,62	62
17	2,716	83	0,2716	3,48	64
18	3,96324	27	3,9996	2,82	68
19	3,30512	63	2,0384	0,99	82
20	10,3663	20	9,538	5,82	80
21	9,94776	NA	NA	3,79	80
22	3,17155	39	2,6715	1,21	74
23	8,88733	28	9,527	2,74	84
24	1,75099	42	1,3571	1,51	72
25	0,66424	74	0,3971	0,26	74
26	1,2331	81	0,9086	0,26	70
27	6,94705	36	5,797	3,83	108
28	2,25216	47	1,7856	0,83	84
29	5,7204	55	5,292	0,96	62
30	3,32289	52	2,9295	0,85	75
31	1,56791	58	1,203	0,9	82
32	2,484	68	2,4012	0,63	68
33	3,65912	42	2,9342	1,17	83
34	2,63551	54	1,8241	1,06	76
35	3,71041	36	5,0908	0,99	77
36	2,80228	44	2,4726	1,04	82
37	5,04192	43	3,0784	1,7	66
38	0,9794	42	1,2685	0,68	76
39	4,98341	44	4,2159	1,28	85

Individus	Fb Millar	Fb Clauss	Haptoglobine sang	Haptoglobine sérum	Temps glutaraldéhyde	Groupe
1	9,8	8,45	NA	1000	1	Suspecte
2	9,8	6,1	NA	1000	2	Suspecte
3	3,35	4	NA	30	7	Suspecte
4	4,5	4,61	NA	780	10	Suspecte
5	3	1,38	NA	42	9	Suspecte
6	9,8	7,25	NA	1000	2	Suspecte
7	9,8	6,45	NA	430	2	Suspecte
8	3	5,66	520	1000	2	Suspecte
9	2,25	2,45	310	470	2	Suspecte
10	5,25	6,64	590	1000	3	Suspecte
11	9,8	6,17	140	82	2	Suspecte
12	5,25	5,46	NA	940	4	Suspecte
13	3	8,77	NA	1000	2	Suspecte
14	4,5	4,29	300	910	3	Suspecte
15	4,9	5,5	820	1000	6	Suspecte
16	6	5,13	480	620	1	Suspecte
17	9,8	6,3	NA	1000	3	Suspecte
18	4,2	2,96	91	280	3	Suspecte
19	5,25	3,96	510	500	NA	Suspecte
20	4,75	6,92	850	1000	1	Suspecte
21	3,7	3,24	490	1000	2	Suspecte
22	4,5	7,2	30	30	2	Suspecte
23	3,5	3,05	30	45	2	Suspecte
24	4,3	3,13	30	30	2	Suspecte
25	3,15	2,6	30	30	6	Suspecte
26	2,5	2,91	30	30	5	Suspecte
27	9,8	7,61	860	1000	1	Suspecte
28	5,25	6,09	610	1000	1	Suspecte
29	3,7	4,66	1000	1000	3	Suspecte
30	3,5	4,13	NA	30	3	Saine
31	3,075	2,92	NA	30	1	Saine
32	2,6	3,55	NA	30	NA	Saine
33	3,35	3,62	NA	30	2	Saine
34	3,725	4,66	NA	30	2	Saine
35	3,075	3,64	NA	150	3	Saine
36	3,7	4,22	NA	30	2	Saine
37	2,7	3,45	NA	30	6	Saine
38	0,67	0,9	NA	30	6	Saine
39	3,775	4,7	NA	130	2	Saine

Fb : fibrinogène

Individus	Appétit	NEC (/5)	Température rectale	Fréquence cardiaque	Fréquence respiratoire
1	bon	3	38,3	70	30
2	diminue	NA	38,5	60	30
3	bon	4	38,5	60	30
4	diminue	2,5	38,1	80	NA
5	diminue	NA	38,5	NA	NA
6	diminue	3	38,5	90	30
7	bon	2	38,2	88	24
8	anorexie	NA	38	NA	NA
9	diminue	NA	39	NA	NA
10	diminue	3	38,2	100	24
11	diminue	3	39	60	40
12	diminue	4	38,4	60	30
13	diminue	2,5	39,4	80	NA
14	anorexie	2	39,3	92	NA
15	bon	3,8	38,9	NA	NA
16	diminue	3	37,8	80	24
17	diminue	3	38,9	108	24
18	bon	4	38,7	80	20
19	bon	1	39,1	68	66
20	bon	2,2	39,4	NA	NA
21	diminue	2,1	38,1	NA	NA
22	bon	3	38,7	84	28
23	anorexie	1	37,9	100	24
24	bon	4	38	52	24
25	diminue	2,5	39,3	52	48
26	bon	1,5	38	80	20
27	anorexie	2	39	NA	NA
28	bon	3,75	38,4	60	24
29	anorexie	3	39,6	120	60
30	bon	3,5	38,6	69	24
31	bon	2,5	38,6	96	44
32	bon	3	38,5	88	48
33	bon	3	38,7	76	48
34	bon	4	38,8	96	24
35	bon	2,5	38,7	80	24
36	bon	2,5	38,7	80	40
37	bon	3	38,7	40	36
38	bon	2,5	38,8	76	36
39	bon	3	38,7	112	40

NEC : Note d'Etat Corporelle

Individus	Anomalie appareil circulatoire	Anomalie appareil respiratoire	Anomalie appareil digestif	Anomalie corps étranger	βOH	Anomalie appareil urinaire
1	non	non	oui	non	0	non
2	non	non	oui	non	0,3	oui
3	non	non	non	non	0,2	NA
4	oui	non	oui	non	2,2	NA
5	NA	non	NA	non	0,2	NA
6	non	non	non	oui	0,9	NA
7	non	non	non	non	0,1	non
8	non	non	non	non	0,1	NA
9	NA	non	oui	oui	0,4	non
10	non	non	oui	non	1,4	non
11	oui	oui	non	non	0,4	oui
12	non	non	oui	oui	1,3	non
13	non	oui	oui	oui	0,3	NA
14	oui	oui	oui	non	0,2	NA
15	non	non	non	non	1,4	non
16	non	non	oui	non	0	non
17	non	non	oui	non	0,1	non
18	non	non	non	non	0,1	non
19	NA	oui	non	non	0,2	non
20	non	oui	oui	non	0,6	non
21	oui	non	oui	non	0,3	non
22	NA	oui	non	non	0,1	NA
23	oui	non	oui	non	0,1	NA
24	non	non	non	NA	0,1	NA
25	oui	oui	oui	non	0,4	oui
26	non	non	oui	non	1,2	non
27	non	non	non	oui	0,3	NA
28	non	non	non	non	0	NA
29	non	non	oui	non	0	NA
30	non	non	non	non	0,7	non
31	non	non	non	non	0,5	non
32	non	non	non	non	1,3	non
33	non	non	non	non	1	non
34	non	non	non	non	1,2	non
35	non	non	non	non	0,8	non
36	non	non	non	non	0,4	non
37	non	non	non	non	1	non
38	non	non	non	non	1,3	non
39	non	non	non	non	1,1	non

CARRE Hélène

ESTIMATION DES PARAMETRES DIAGNOSTIQUES DE TESTS EVALUANT UN ETAT INFLAMMATOIRE CHEZ LES BOVINS ADULTES AU CHEVET DU MALADE ET AU CABINET VETERINAIRE

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, *5 novembre 2020*

RESUME : La mise en évidence d'un état inflammatoire chez des bovins adultes peut être difficile en l'absence de signes cliniques marqués. Les marqueurs de l'inflammation d'intérêts pour diagnostiquer un état inflammatoire ont été déterminés chez des bovins adultes et une estimation des paramètres diagnostiques de ces marqueurs et tests associés ont été calculés. Il semble que la mesure de l'haptoglobine, suivi de celle du fibrinogène et du comptage de neutrophiles et ratio neutrophiles/lymphocytes soient les tests les plus sensibles et spécifiques. En parallèle, une comparaison des méthodes de dosage du fibrinogène et du comptage des neutrophiles a permis de mettre en évidence l'interchangeabilité des méthodes utilisées ici.

Ces résultats apportent une aide au praticien vétérinaire quant au choix des tests à réaliser lors de suspicion clinique d'un processus inflammatoire sans certitude associée.

MOTS CLES :

- Inflammation
- Bovins
- Diagnostic
- Protéines de phase aigue
- Hémogramme

JURY :

Président :	Monsieur le Professeur Laurent JUILLARD
1er Assesseur :	Monsieur le Professeur Marie- Anne ARCANGIOLI
2ème Assesseur :	Monsieur le Professeur Thierry BURONFOSSE
Invité :	Monsieur le Docteur Thibaut LURIER

DATE DE SOUTENANCE : 5 novembre 2020