

LA PROTEINA SIERO AMILOIDE A COME POTENZIALE INDICATORE DI STRESS DA TRASPORTO ED INFEZIONE NEL CAVALLO

Eleonora Mazzotta (*medico veterinario*)*; Serena Ceriotti (*medico veterinario*)*; Alessandro Centinaio (*medico veterinario*)* - *Clinica Veterinaria della Brughiera

INTRODUZIONE

Una delle principali sfide della medicina è quella di individuare e monitorare la risposta infiammatoria dell'organismo, che può insorgere in corso di molteplici processi patologici. L'infiammazione è un evento fisio-patologico a cascata molto complesso che coinvolge sia una reazione cellulare sia una risposta umorale, cruciali per la salute dell'organismo. Un riconoscimento precoce dell'infiammazione sistemica è essenziale e decisivo per il piano terapeutico e per la prognosi. La risposta infiammatoria di fase acuta rappresenta un meccanismo che si attiva tempestivamente nell'ospite per contrastare danni tissutali acuti, prevalentemente conseguenti a infezioni e traumi. Tale risposta implica la secrezione e l'attivazione di numerose sostanze chimiche denominate mediatori della cascata infiammatoria, che agiscono sia a livello locale, nella compagine del tessuto danneggiato, sia a livello sistemico, essendo distribuite attraverso il torrente circolatorio.

In particolare, uno dei principali organi bersaglio di tali mediatori è rappresentato dal fegato il cui metabolismo viene modificato in risposta alla presenza di tali mediatori. Precisamente, si innescano una serie di alterazioni dell'attività biosintetica epatica, che determinano una sostanziale variazione nella concentrazione delle proteine plasmatiche circolanti. Le proteine plasmatiche la cui concentrazione si modifica in corso di risposta infiammatoria acuta vengono convenzionalmente chiamate proteine di fase acuta (APP). L'alterazione della sintesi delle proteine plasmatiche di fase acuta da parte del fegato è uno dei momenti della risposta infiammatoria più studiati in medicina e in medicina

veterinaria.

Le proteine di fase acuta vengono classificate in positive, la cui concentrazione plasmatica aumenta durante la risposta di fase acuta, e negative, la cui concentrazione decresce durante questa risposta. Il gruppo delle proteine positive può essere ulteriormente suddiviso in proteine di fase acuta maggiori ("Major APP"), presenti in bassa quantità negli individui sani e la cui concentrazione aumenta fino a mille volte a seguito di uno stimolo infiammatorio, e in proteine di fase acuta minori e moderate ("Minor and Moderate APP") che sono presenti a livelli più alti nel plasma degli individui sani e la cui concentrazione aumenta soltanto da una a dieci volte in risposta a una fase acuta.

La Siero Amiloide A (SAA) è l'unica "Major APP" positiva isolata nel cavallo; ad oggi ne sono state identificate molte isoforme che sono attivamente coinvolte nella risposta infiammatoria. Il ruolo della SAA non è del tutto conosciuto: nei primi studi condotti, si pensava che la SAA fosse semplicemente il precursore della Amiloide A; ulteriori studi hanno tuttavia dimostrato che questa proteina è coinvolta in molti processi fisiologici e patologici del cavallo. In particolare, si è osservato che i valori della SAA aumentano in caso di setticemia neonatale, di polmoniti da *Rhodococcus equi* e di colica; recentemente, si è inoltre isolata un'isoforma di SAA (SAA3) nel liquido sinoviale i cui livelli sembrano aumentare in corso di diverse patologie articolari.

OBIETTIVO DELLO STUDIO

Questo studio si prefigge di eseguire una valutazione preliminare del dosaggio biochimico della proteina Siero Amiloide A in

cavalli da competizione, come indicatore di benessere in seguito a stress da trasporto e di eventuali stati settici febbrili associati (*shipping fever*), ricercando un'eventuale diretta correlazione tra elevati livelli di SAA ed infezione batterica.

MATERIALI E METODI

Lo studio ha coinvolto 20 cavalli da competizione, di età media pari 10 anni (5-14 anni), di cui 6 stalloni, 9 castroni e 5 femmine, all'arrivo sul luogo della competizione in seguito a lungo trasporto (>12 ore), avvenuto via terra o via aria. Tutti i cavalli sono stati sottoposti a esame clinico completo e a prelievo di sangue venoso dalla vena giugulare, mediante sistema a vuoto. Il sangue è stato raccolto sia in provette prive di anticoagulanti, per la valutazione del profilo biochimico, sia in provette con EDTA, per la valutazione del profilo emocromocitometrico. Il dosaggio del livello di SAA è stato eseguito mediante l'impiego di "Scil Eurolyser SO-LO", mentre l'esame emocromocitometrico è stato eseguito mediante l'impiego di "Scil Vet abc".

Gli animali sono stati retrospettivamente suddivisi in tre gruppi. Nel primo gruppo (**gruppo 1**) sono stati inclusi 15 cavalli a cui è stato prelevato il sangue subito dopo il trasporto (tempo T0); a 11 cavalli di questo gruppo è stato inoltre eseguito un esame emocromocitometrico completo. Due cavalli di questo gruppo presentavano temperatura elevata al tempo T0. Il secondo gruppo (**gruppo 2**) comprende 5 cavalli a cui il prelievo è stato effettuato sia a T0 che 24 ore dopo (T24), su questi campioni è stato eseguito un esame emocromocitometrico completo a T0 e l'analisi della Siero Amiloide è

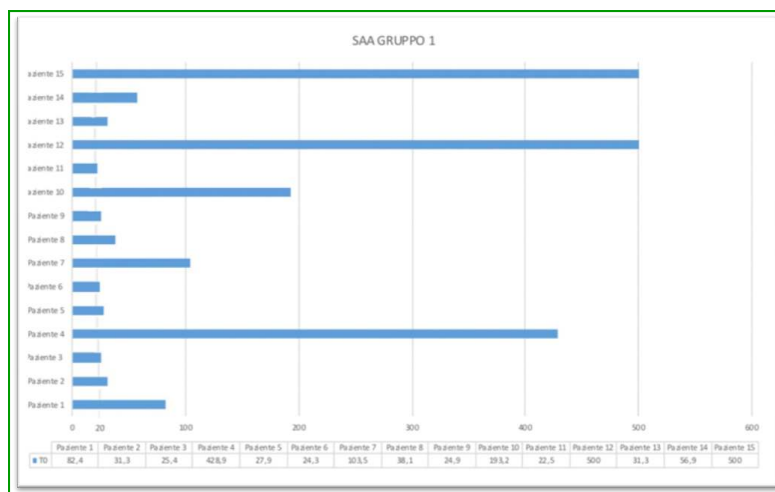
stata ripetuta a T0 e T24.

A un cavallo di questo gruppo che presentava uno stato febbrile persistente, l'analisi della Siero Amiloide è stata ripetuta per quattro giorni consecutivi (rispettivamente T0, T24, T48 e T72).

RISULTATI

Considerando il **gruppo 1**, in tutti i campioni di siero prelevati a T0 i livelli di SAA erano superiori al limite massimo indicato nel range di riferimento (0,5-20 mg/L) (**Figura 1**). I valori misurati variano da 24,3 mg/L a oltre 500 mg/L.

Figura 1: Livelli di SAA (mg/L) nei soggetti appartenenti al gruppo 1



Considerando il **gruppo 2**, nei campioni di siero prelevati a T0, i livelli di SAA appaiono superiori ai range di riferimento in tre soggetti su quattro con valori misurati compresi tra 41,1 e 81,9 mg/L; in questi tre cavalli, anche i livelli di SAA misurati a T24 risultano superiori ai range di riferimento, con valori compresi tra 36,6 mg/L e 42,3 mg/L; in due soggetti i valori misurati a T0 risultano più

alti rispetto ai valori misurati a T24; nel terzo soggetto, invece, il valore a T0 risulta lievemente più basso rispetto al valore misurato a T24. Nel quarto soggetto appartenente al gruppo 2, il livello di SAA prelevato a T0 rientra nei normali range di riferimento con un valore misurato pari a 15,89 mg/L; tale livello diviene però superiore a T24 dove raggiunge valori pari a 37,4 mg/L (Figura2). Nel cavallo che presentava uno stato febbrile persistente i livelli sierici di SAA sono risultati elevati in tutti i campioni analizzati (T0 497,9 mg/L, T24 500 mg/L, T 48 325,5 mg/L, T72 500 mg/L).

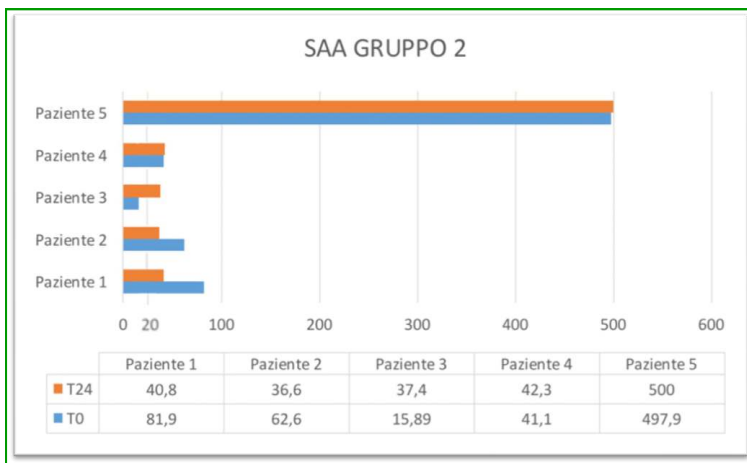


Figura 2: Livelli di SAA (mg/L) aT0 e T24 nei soggetti appartenenti al gruppo 2

Considerando soltanto i pazienti affetti da febbre, sia appartenenti al gruppo 1 che al gruppo 2, emerge che solo un soggetto presenta un aumento dei globuli bianchi totali e dei neutrofili (WBC 11,58 10³/mm³, GRA 10 10³/mm³).



Figura 3: Livelli di SAA ed Ematocrito dei soggetti con stato febbrile

I dati emersi dagli emocromi eseguiti sui 13 pazienti ritenuti sani (cioè senza febbre) hanno evidenziato alterazioni, per quanto riguarda i tipici marcatori dell'infiammazione, in un solo soggetto in cui i valori della SAA era 5 volte superiore al range di riferimento. Nel soggetto che presentava 428,9 mg/L come valore di SAA non erano presenti alterazioni nell'emocromocitometrico.

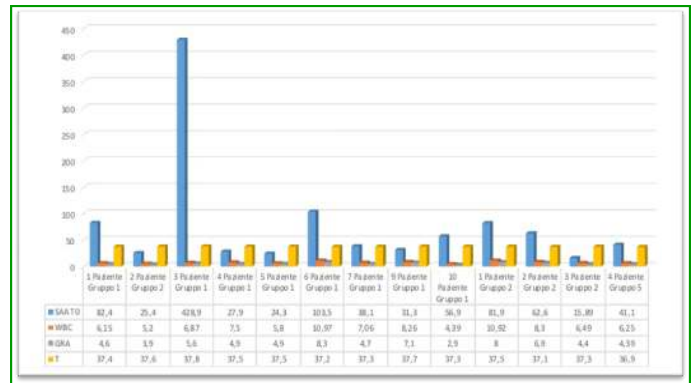


Figura 4: Livelli di SAA ed Ematocrito nei pazienti senza alterazioni febbrili

DISCUSSIONE

Dai dati ottenuti emerge che la SAA possa rivestire un potenziale ruolo come indicatore di stress indotto da trasporto nel cavallo: è emerso, infatti, che pressoché in tutti i cavalli (19 cavalli su 20), sia appartenenti al gruppo 1 che al gruppo 2, i valori fossero superiori al limite previsto dal range di riferimento anche nei soggetti che non presentavano nessun altro segno patologico all'esame clinico. Questo risultato si pone in linea con altri studi precedentemente condotti, e pertanto sottolinea ancora di più come la proteina siero amiloide possa rappresentare un parametro ideale da utilizzare come indicatore nella valutazione dello stato di benessere e di salute del cavallo. Dallo studio inoltre emerge una potenziale correlazione di tipo semi-quantitativo tra i livelli di SAA e il tipo di processo patologico in corso; in particolare si evidenzia come nei soggetti con febbre (presumibilmente colpiti da infezione in corso di *shipping fever*) i livelli di SAA misurati raggiungano valori almeno dieci volte più

elevati rispetto al limite fisiologico; al contrario i soggetti non affetti da febbre, in cui è semplicemente riscontrabile una condizione di stress da trasporto in assenza di infezione, l'aumento dei livelli di SAA è molto più contenuto con valori che non superano i 100 mg/dL. Pertanto, è opportuno sottolineare che la proteina siero amiloide A possa costituire anche un parametro di riferimento per distinguere condizioni infiammatorie di origine infettiva da semplici stati di stress e ciò è importante soprattutto per l'orientamento della successiva scelta terapeutica, in particolare per il ricorso a una terapia antibiotica.

Un'altra importante considerazione emerge dal confronto tra i valori di siero amiloide A e la conta leucocitaria nei cavalli affetti da *shipping fever*. È risaputo che l'aumento del numero totale di globuli bianchi (leucocitosi) e in particolare dei neutrofili (neutrofilia) costituisce un'importante indicatore di infezione acuta in atto; generalmente, però, l'aumento dei globuli bianchi si verifica con un certo ritardo rispetto alla comparsa dei sintomi clinici, in particolare della febbre. In effetti, nella quasi totalità dei soggetti con febbre esaminati in questo studio, i valori della conta leucocitaria appaiono nei *range* fisiologici. In questi soggetti, però, i livelli di siero amiloide A appaiono già marcatamente elevati: questa osservazione conferma quanto già riportato da precedenti studi in cui si è dimostrato come la SAA sia un buon indicatore per la diagnosi precoce di infezioni batteriche, in quanto la sua concentrazione aumenta molto più rapidamente rispetto a quella di globuli bianchi e fibrinogeno.

Infine, è importante evidenziare che la siero amiloide A ha un'emivita molto breve, pertanto i suoi livelli sierici calano entro le 48 ore a partire dal momento in cui si interrompe la sua produzione: ciò significa che i valori rientrano nei *range* di normalità pressoché contemporaneamente all'esaurimento dello stimolo infiammatorio. Ciò spiegherebbe la ragione per cui in alcuni cavalli affetti solo da stress da trasporto, in cui lo stimolo si esaurisce con la fine del trasporto stesso, i valori di

sieroamiloide risultino sostanzialmente calati dopo 24 ore dalla fine del trasporto ma non ancora rientrati, di fatto, nei *range* fisiologici. È ipotizzabile che una misurazione effettuata a 48 ore avrebbe evidenziato livelli sierici di amiloide perfettamente nei *range* di normalità, e ciò potrebbe costituire una valutazione da inserire in studi futuri. Tale caratteristica, comunque, rende la siero amiloide un ottimo marker prognostico, in quanto potrebbe rappresentare un indicatore immediato dell'efficacia della terapia in atto.

CONCLUSIONI

In conclusione, lo studio condotto ha dimostrato che la Siero Amiloide A è un buon indicatore di infiammazione dovuta a stress o infezione nella specie equina, in quanto i suoi livelli subiscono un innalzamento più repentino rispetto ad altri parametri che raggiungono il picco di concentrazione in tempi più lunghi, come il fibrinogeno. A questo si aggiunge anche la rapidità con cui si verifica il rientro a livelli fisiologici che la rende un ideale strumento di monitoraggio per l'efficacia della terapia adottata. Infine, i risultati ottenuti sono sicuramente promettenti nel dimostrare che i valori di SAA subiscono un incremento significativamente maggiore in corso di infezione batterica rispetto alla condizione di stress, pertanto la loro variazione potrebbe costituire un parametro semi-quantitativo e non solo qualitativo in quanto direttamente correlabile all'entità dello stimolo infiammatorio.

Studi che coinvolgano un maggior numero di pazienti e che prendano in considerazione i diversi tipi di trasporto sono tuttavia necessari per confermare questi risultati preliminari.

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano vivamente Scil per aver fornito attrezzature, materiale di consumo e reagenti necessari alla realizzazione delle analisi e il Signor Massimiliano Nardi, referente per la Salutech, per

la consulenza e per il suo significativo contributo alla raccolta e archiviazione dei dati.

BIBLIOGRAFIA

Casella S., Fazio F., Giannetto C., Giudice E., Piccione G. (2012) Influence of transportation on serum concentration of acute phase proteins in horse. *Research in Veterinary Science* 93 914-917

Crisman V. Mark, Scarratt W. Kent, Zimmerman Kurt L. (2008) Blood Proteins and Inflammation in the Horse. *Veterinary Clinics Equine Practice* 285-297

Jacobsen Stine, Maj Halling Thomsen, Simone Nanni (2006) Concentration of serum amyloid A in serum and synovial fluid from healthy horses and horses with joint disease. *AJVR*, Vol 67, No 10 1738-1742

Jacobsen S, Andersen P. H. (2007) The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as a marker of inflammation in horses. *Equine vet. Educ* 38-46

Pepys M. B., Marilyn L. Baltz, Glenys A. Tennent, Joyce Kent, Jennifer Ousey and P. D. Rosedale (1989) Serum amyloid A protein (SAA) in horses: objective measurement of the acute phase response. *Equine Veterinary Journal*, Vol 21, 106-1091

Wessely-Szponder J. , Z. Belkot, R. Bobowiec, U. Kosior-Korzecka, M. Wójcik (2015) Transport induced inflammatory responses in horses. *Polish Journal of Veterinary Sciences* Vol. 18, No. 2 407-413

Uhlar Clarissa M., Whitehead Alexander S. (1999) Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur J. Biochem* 265 501-523

Westerman L. Trina, Tornquist Susan J., Foster Crystal M., Poulsen Keith P. (2015) Evaluation of serum amyloid A and haptoglobin concentrations as prognostic indicators for horses with inflammatory disease examined at a tertiary care hospital. *AJRV*, Vol 76, No 10, 882-888

Eurolyser solo

L'innovazione
nella Biochimica



solo
Test: T4 (µg/dl)
Remaining Tests: 10
Expiration date: 2012-11-24
Lot No: 9101

EUROlyser

Unico!

T4, Fibrinogeno,
Fruttosamina,
Proteina C Reattiva (cCRP),
Amiloide Sierica A (SAA),
Lipasi pancreatico,
Ammonio.



Siamo l'Eccellenza Veterinaria!

Con ogni goccia.

www.scilvet.it



PROTEIN SERUM AMYLOID A AS A POTENTIAL MARKER OF TRANSPORTATION STRESS AND INFLAMMATION IN HORSE -Preliminary clinical results

Introduction

One of the main challenge of modern medicine is to identify and monitor the inflammatory response, which may arise during many pathological processes. Inflammation is a very complex physiological process, which involves a network of cellular and humoral responses, crucial for the health of the organism. Early recognition of systemic inflammation is essential and decisive for both treatment and prognosis. The acute phase of inflammatory response is an early activated mechanism in acute tissue damage, due to infection or trauma. This response involves the secretion and activation of several chemicals called mediators of the inflammatory cascade, acting both locally, in the injured tissue, and at a systemic level, being spread through the bloodstream. One of the main target organ of these mediators is the liver, whose metabolism is changed in response to these mediators. Specifically, the mediators trigger a series of alterations in the hepatic biosynthetic activity, which determine a substantial variation in the concentration of plasma proteins. (Baumann et al, 1994)

Plasma proteins whose concentration changes during acute inflammatory response are conventionally called acute phase proteins (APPS). The alteration of the synthesis of acute phase proteins by the liver is one of the most studied inflammatory response in medicine and veterinary medicine. Acute phase proteins are classified into positive, whose concentration increases during the acute phase response, and negative, whose concentration decreases during this response. The group of positive protein can be further divided into acute phase proteins "Major", present in low amounts in healthy subjects and whose concentration increases up to a 1000 times as a result of inflammatory stimulus, and in acute phase proteins "Minor and Moderate" that are present at higher levels in the plasma of healthy individuals and whose concentration increases only between 1 to 10 times in response to an acute phase. (Crisman et al, 2008)

The Serum Amyloid A (SAA) is the only "Major APP" isolated in horses. Nowadays several isoforms that are actively involved in the inflammatory response have been isolated. (Sletten et al 1989, Nunokawa et al 1993, Jacobsen et al 2007) The role of the SAA is not fully known: in the earliest studies it was thought that the SAA was merely the precursor of amyloid A. Further studies, however, have shown that this protein is involved in many physiological and pathological processes of the horse. In particular, it was observed that SAA increases in case of neonatal septicemia, *Rhodococcus equi* pneumonia and colic. Recently, an additional isoform of SAA (SAA3) has also been isolated in synovial fluid, whose levels appear to increase in several joint diseases. (Hultén et al 1997, Jacobsen et al 2006, Cohen et al 2005, Westerman et al 2015).

Objective

This study aims to perform a preliminary assessment of Serum Amyloid A protein biochemistry dosage in sportive horses, as an indicator of well-being after stress and any associated febrile septic states (shipping fever), seeking any direct correlation between high levels of SAA and bacterial infection.

Material and methods

The study involved 20 horses, mean age 10 years (5-14 years), of which 6 stallions, 9 geldings and 5 females, on arrival at the competition after a long transport (> 12 hours), by land or air. A complete clinical examination was performed to all the horses and a venipuncture was performed from the jugular vein, using vacuum system. The blood was collected both in tubes without anticoagulant, for the assessment of biochemical profile, and in tubes with EDTA, for the evaluation of the profile blood count. The level of SAA was evaluated through the use of "Scil Eurolyser ONLY", while the blood count was performed with the use of "Scil Vet abc". The animals were retrospectively divided into two groups.

In the first group (Group 1) 15 horses were included. They were taken blood immediately after transport (T0); to 11 horses of this group we also run a complete blood count. Two horses of this group presented high temperature at T0.

In the second group (Group 2) 5 horses were included. In this group, the withdrawal was carried out both at T0 and 24 hours later (T24) and on these samples we run a complete blood count at T0, and analysis of Serum Amyloid was repeated at T0 and T24. For 1 horse of this group, who had persistent fever, analysis of Serum Amyloid was repeated for 4 days (respectively T0, T24, T48 and T72).

Results

Considering the first group, in every T0 serum samples the level of SAA was higher than the maximum indicated in the reference range (20mg/L) (Figure 1). The measured values range from 24.3 mg/L to over 500 mg/L. Considering the second group, in serum samples taken at T0, levels of SAA appeared above the reference range in four of five subjects with results ranging from 41.1 and 497,9mg/L; in these five horses, levels of AAS in T24 were higher than the reference range, with values ranging from 36.6 mg/L and 500 mg/L. In three horses, values in T0 were higher than the values measured at T24. In the third horse of the second group, the level of SAA at T0 was in normal reference ranges with a measured value of 15.89 mg/L; however, that level became higher at T24 where it reached values of 37.4 mg/L (Figure 2).

References

- Baumann, H. & Gauldie, J. (1994) The acute phase response. *Immunol. Today* 15, 74-78.
- Belgrave Rodney L., Dickey Meranda M., Arheart Kristopher L., Cray Carolyn. (2013) Assessment of serum amyloid A testing of horses and its clinical application in a specialized equine practice. *JAVMA*, Vol 243, No. 1 113-119
- Casella S., Fazio F., Giannetto C., Giudice E., Piccione G. (2012) Influence of transportation on serum concentration of acute phase proteins in horse. *Research in Veterinary Science* 93 914-917
- Cohen N. D., Chaffin M. K., Vandenplas M. L., Edwards R. F., Neville M., Moore J. N. and Martens R. J. Study of serum amyloid A concentrations as a means of achieving early diagnosis of *Rhodococcus equi* pneumonia. (2005) *EQUINE VETERINARY JOURNAL* Equine vet. J. 37 (3) 212-216
- Crisman V. Mark, Scarratt W. Kent, Zimmerman Kurt L. (2008) Blood Proteins and Inflammation in the Horse. *Veterinary Clinics Equine Practice* 285-297
- Friend, T.H., 2011. A review of recent research on the transportation of horses. *Journal of Animal Science* 79, E32-E40
- Gabay, C. & Kushner, I. (1999) Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N. Engl. J. Med.* 340, 448-454.
- Hultén, C. and Demmers, S. (2002) Serum amyloid A (SAA) as an aid in the management of infectious disease in the foal: comparison with total leucocyte count, neutrophil count and fibrinogen. *Equine Vet J* 34, 693-698.
- Hultén C., Sletten B, Foyen Bruun C., Marhaug G. The acute phase serum amyloid A protein (SAA) in the horse: isolation and characterization of three isoforms (1997)

In the horse with persistent fever, serum levels of AAS were high in all samples (T0 497.9 mg/L, 500 mg/L, T, T24 48 325.5 mg/L, T72 500 mg/L). Considering only the patients suffering from fever, in both groups, the results showed that only one horse increased white blood cell count and neutrophils (WBC $11.58 \cdot 10^3 / \text{mm}^3$, GRA/mm³).

The data obtained from the blood counts performed on the 13 healthy patients showed alterations regarding the typical markers of inflammation in one subject in which the values of the SAA was 5 times higher than the reference range. In the subject in which the value of the SAA was 428.9 mg/L, alterations in blood counts were not present.

Discussion

The data obtained showed that the SAA may play a potential role as indicator of transport induced stress in horses: they showed that in almost all horses (19 horses out of 20), in both groups, the values are higher than the limit set by the reference ranges even in subjects that did not show any other pathologic sign at clinical examination.

These results can be compared with other studies previously conducted, and therefore they underline that the protein serum amyloid can be an ideal indicator in the assessment of the State of health and well-being of the horse. (Casella et al 2012)

This study also shows a potential semi-quantitative correlation between the levels of SAA and the type of pathological process; in particular, it is evident that in those with fever (presumably affected by infection during shipping fever) levels of SAA are at least ten times higher than the physiological limit; on the contrary the subjects that do not suffer from fever, only with a condition of transport stress in the absence of infection, increased levels of SAA is less evident, with values that do not exceed 100 mg/dL. (Westerman et al 2015)

Therefore, it should be noted that the protein serum amyloid A may also be a reference parameter to distinguish inflammatory conditions of infectious origin from simple stress and this is particularly important for the therapeutic choice, especially for the use of antibiotics.

It is also important to compare the values of serum amyloid A and the WBC count in horses suffering from shipping fever. It is well known that the increase of the total number of white blood cells (leukocytosis), particularly neutrophils (neutrophilia) is an important indicator of acute infection. However, white blood cells increase only after the appearance of clinical symptoms, in particular fever. The patients with fever examined in this study showed a normal white blood cell counts indeed. In these cases, however, the levels of serum amyloid A appear markedly elevated from the beginning: this confirms what has already been reported in previous studies, in which it was shown that the SAA is a good marker for early diagnosis of bacterial infections, because its concentration increases much rapidly than that of white blood cells and Fibrinogen. (Hultén et al 2002)

Moreover, the sieroamiloide has a very short half-life, so its serum concentration decreases in only 48 hours, which means that the values are within the normal range almost simultaneously to the exhaustion of inflammatory stimulus. It is conceivable that a measurement made in 48 hours would have well highlighted serum amyloid within the normal range, and this might be taken into account in future studies. This feature, however, makes sieroamiloide a very good prognostic marker, because it could represent an immediate indicator of the effectiveness of a treatment.

Conclusion

In conclusion, the study has shown that Serum Amyloid A is a good indicator of inflammation due to stress or infection in horses, because its levels are rising more quickly than other parameters, such as Fibrinogen. In addition, it is also important how quickly it returns to normal levels, which makes it an ideal tool for monitoring the effectiveness of the treatment adopted.

These results are definitely promising to demonstrate that the values of SAA significantly increase during bacterial infection rather than in the state of stress, therefore their variation could be a semi-quantitative (and not only qualitative) parameter because it is directly correlated to the type of the inflammatory stimulus. However other studies are needed to confirm these preliminary results, involving a larger number of patients and taking into consideration the different types of transportation.

Acknowledgements

We sincerely thank Scil for providing equipment, consumables materials and reagents for the realization of the analysis of this study and Mr. Maximilian Nardi, Salutech referent, for the advices and for his significant contribution to the collection and storage of data.

Veterinary Immunology and Immunopathology 57 215-227

Jacobsen Stine, Maj Halling Thomsen, Simone Nanni (2006) Concentration of serum amyloid A in serum and synovial fluid from healthy horses and horses with joint disease. *AJVR*, Vol 67, No 10 1738-1742

Jacobsen S, Andersen P. H. (2007) The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as a marker of inflammation in horses. *Equine vet. Educ* 38-46

Nunokawa, Y., Fujinaga, T., Taira, T., Okumura, M., Yamashita, K., Tsunoda, N. and Hagio, M. (1993) Evaluation of serum amyloid A protein as an acute-phase reactive protein in horses. *J. vet. med. Sci.* 55, 1011-1016.

Pepys M. B., Marilyn L. Baltz, Glenys A. Tennent, Joyce Kent, Jennifer Ousey and P. D. Rosedale (1989) Serum amyloid A protein (SAA) in horses: objective measurement of the acute phase response. *Equine Veterinary Journal*, Vol 21, 106-1091

Pihl Tina Holberg, Andersen Pia Haubro, Kjelgaard-Hansen Mads, Brinch Mørck Nina, Jacobsen Stine. Serum amyloid A and haptoglobin concentrations in serum and peritoneal fluid of healthy horses and horses with acute abdominal pain. (2013) *Vet Clin Pathol* 42/2 177-183, American Society for Veterinary Clinical Pathology.

Sletten, K., Husebekk, A. & Husby, G. (1989) The primary structure of equine serum amyloid A (SAA) protein. *Scand. J. Immunol.* 30, 117-122.

Wessely-Szponder J., Z. Belkot, R. Bobowiec, U. Kosior-Korzecka, M. Wójcik (2015) Transport induced inflammatory responses in horses. *Polish Journal of Veterinary Sciences* Vol. 18, No. 2 407-413

Uhlar Clarissa M., Whitehead Alexander S. (1999) Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur. J. Biochem* 265 501-523

Westerman L. Trina, Tornquist Susan J., Foster Crystal M., Poulsen Keith P. (2015) Evaluation of serum amyloid A and haptoglobin concentrations as prognostic indicators for horses with inflammatory disease examined at a tertiary care hospital. *AJRV*, Vol 76, No 10, 882-888