



**UNIVERSITE DE LIEGE
FACULTE DE MEDECINE VETERINAIRE
DEPARTEMENT CLINIQUE DES ANIMAUX DE PRODUCTION
CLINIQUE DES RUMINANTS**

**CONTRIBUTION AU DIAGNOSTIC ET A LA CORRECTION DES
CARENCES EN IODE ET SELENIUM CHEZ LES BOVINS**

**CONTRIBUTION TO DIAGNOSIS AND CORRECTION OF IODINE
AND SELENIUM DEFICIENCIES IN CATTLE**

Hugues GUYOT

**THESE PRESENTEE EN VUE DE L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR EN SCIENCES
VETERINAIRES**

ORIENTATION MEDECINE VETERINAIRE

ANNEE ACADEMIQUE 2007-2008

“Write how you want, the critic shall show the world you could have written better”

Oliver Goldsmith

Poète et écrivain (1728-1774)

« Ne recevoir jamais aucune chose pour vraie que je ne la connusse évidemment être telle (règle de l'évidence) »

« Diviser chacune des difficultés que j'examinerais en autant de parcelles qu'il se pourrait et qu'il serait requis pour les mieux résoudre (règle de l'analyse) »

« Conduire par ordre mes pensées, en commençant par les objets les plus simples et les plus aisés à connaître, pour monter peu à peu jusqu'à la connaissance des plus composés (règle de la synthèse) »

Faire partout des dénombrements si entiers et des revues si générales, que je fusse assuré de ne rien omettre (règle de la statistique) »

René Descartes

Philosophe et métaphysicien (1596-1650)

REMERCIEMENTS

Je voudrais tout d'abord remercier le Prof. Frédéric Rollin pour m'avoir donné la possibilité d'élargir mon horizon professionnel par la réalisation d'une thèse de doctorat. Je le remercie également de m'avoir donné le temps nécessaire à la réalisation de cette tâche ô combien périlleuse par moments et de m'avoir tenu la main jusqu'au bout de l'épreuve.

De plus, je voudrais également remercier les Profs. Louis Istasse (ULg-FMV) et Piet Deprez (Université de Gand-FMV) qui m'ont accompagné pendant ces trois dernières années et ont su me conseiller et me guider précisément là où je devais arriver.

Je remercie le Dr. Hélène Amory (ULg-FMV) qui directement et indirectement m'a soutenu lors de ce périple.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude envers le Service de Physiologie de la Reproduction (ULg-FMV) et notamment le Prof. Jean-François Beckers et le Dr. José Sulon, sans qui l'aventure de la TSH n'aurait jamais vu le jour. Je remercie également toute son équipe, notamment les Drs. Benoît Remy et Noélita de Soussa, pour leur aide appréciable lors de mes manipulations dans le laboratoire RIA. Je remercie aussi le Prof. Jean Closset (ULg-CHU) pour m'avoir fourni la précieuse bTSH et son antisérum.

Je remercie Søren Healy, Peter Spring, Sylvie Andrieu (Alltech) ainsi que le Dr. Pierre Frankinet (ALFRA s.a.) pour leur aide considérable lors de certains protocoles.

Je remercie le Dr. Johanne Detilleux (ULg-FMV) pour son aide lors de l'interprétation statistique de certains résultats ainsi que le Dr. Marie-France Humblet (ULg-FMV).

Je remercie encore les Professeurs François Garnier et Etienne Benoît (ENVL) pour leur accueil chaleureux dans le service de biochimie. Grâce à eux, j'ai acquis de nombreuses compétences dans le dosage RIA et ELISA et j'ai pu mener à bien les dosages pour les expériences de ma thèse.

En outre, je remercie le Dr. Laurent Alves de Oliveira (ENVL), Mr Pascal Lebreton (NBVC) et Mme Catherine Garnier (NBVC) pour m'avoir guidé efficacement dans mes expériences lors de mon séjour dans l'hexagone.

Pour leur support financier, je tiens à remercier chaleureusement les Fonds Spéciaux de la Recherche de l'Université de Liège, Alltech[®], N.B.V.C., l'E.N.V.L. (Service de Biochimie) et ALFRA s.a.

Pour son immense savoir dans le domaine des carences en iode et la patience dont il a fait preuve avec moi de son vivant, je remercie le Prof. François Delange (ICCIDD). Pour son accueil chaleureux et sympathique lors des consultations et au bloc opératoire (thyroïdectomies), pour son aide lors de l'apprentissage des échographies de la thyroïde, je remercie le Prof. Michel Meurisse (ULg-C.H.U.). Je remercie Mmes Kim-Thu Phan et Lisette Trzpiot (ULg-FMV), Mme Daniella Gnat (CHU St-Pierre), le Dr. Joël Pincemail et Mme Sophie Ledant (Probiox) pour leur aide et leurs nombreux conseils à propos des dosages d'oligo-éléments.

Je remercie Catherine Delguste, Stefan Deleuze et Jérôme Ponthier du comité « wake-me up when september ends ». Merci également à Christina Sandersen, Crina Lipovan, Charlie Sandersen, Sarah Porter et Anne-Françoise Rousseau pour leur aide dans mes problèmes linguistiques ou techniques. Merci aussi à Audrey (DJ Miss Jewell) pour son sourire et ses sets qui ont bercé mes nuits de travail.

Je remercie avec insistance tous mes collègues qui ont du subir mon stress lors des protocoles et notamment « la nuit de la TSH » ou encore la course contre la montre lors des « 6 heures TRH » et qui malgré tout m'ont aidé à réaliser ces protocoles. Je ne citerai que Sébastien, Aude, Frédéric (et son fils), Sandrine, Roger, Gaby, Veronica, Caroline, Nora, Kamal, Arnaud, Marie, Thierry et Nathalie. Je remercie également tous les autres membres du service (le 4026 et le 4256) de la « bovine » pour leur soutien moral lors de la rédaction de la thèse.

Je remercie enfin mes parents qui m'ont soutenu sans compter, poussé jusqu'au bout dans mes moments de découragement, depuis toujours. Je remercie Charlie pour son aide, sa patience et son réconfort qui m'ont été indispensables ainsi que David, mon meilleur ami. Sans eux, je ne serais sans doute pas arrivé au bout de cette épreuve. Merci !

RESUME

Les carences en sélénium (Se) et en iode (I) sont répandues en Europe chez le bétail et ont des répercussions sur leur santé. Les signes cliniques de carence sont rarement pathognomoniques, ce qui nécessite le recours à des examens de sang ou de lait afin de confirmer le diagnostic. Pour évaluer le statut en Se et en I des bovins, le dosage du Se plasmatique, de l'activité de la glutathion peroxydase érythrocytaire (GPX) et de l'I inorganique plasmatique (IIP) est réalisé en routine. L'évaluation du statut thyroïdien se fait principalement *via* la détermination de la thyroxine (T4) dans le plasma. D'autres analyses sont utilisables à cette fin, telles que la tri-iodothyronine (T3) ou la thyrotropine (bTSH). Une fois le diagnostic de carence posé, la carence peut être corrigée de diverses façons.

Le 1^{er} objectif de ce travail a été d'évaluer les statuts en zinc, cuivre, Se et I dans les exploitations bovines laitières et viandeuses en Wallonie et de mettre en corrélation ces statuts avec l'état de santé des troupeaux étudiés. Le statut en oligo-éléments (O-E) dans les troupeaux avec pathologies était moins bon que celui des troupeaux sains. De même, davantage de troupeaux avec pathologies étaient carencés par rapport aux troupeaux sains. Les troupeaux laitiers bénéficiaient de meilleurs statuts par rapport aux troupeaux viandeux. Les carences en Se et en I sont parmi les plus importantes et les plus lourdes de conséquences. La suite du travail s'est donc focalisé sur ces 2 oligo-éléments. Le 2^{ème} objectif a consisté à mettre au point un dosage de la bTSH et à établir des valeurs de référence chez des bovins adultes en bonne santé. Un intervalle de référence pour la bTSH et la T4 a été établi pour des vaches adultes saines et des veaux nouveau-nés sains. En corollaire, l'objectif suivant a été de comparer la concentration en bTSH trouvée chez des veaux nouveau-nés atteints d'un goitre avec celle obtenue chez des veaux nouveau-nés en bonne santé, afin de valider un test diagnostique pour cette pathologie. La bTSH a permis de discriminer ces 2 groupes de veaux et d'établir le diagnostic d'hypothyroïdie chez certains veaux goitreux. Une valeur seuil de bTSH pour poser le diagnostic d'hypothyroïdie chez des veaux nouveau-nés a été établie à 35 μ U/ml. Le 4^{ème} objectif a été de comparer les statuts en I (IIP) et Se (Se plasmatique, GPX) mais également le statut thyroïdien (bTSH, T4, T3, rT3) de vaches tarées gestantes ou non et, le cas échéant, de leur veau, qui ont reçu une ration normalement pourvue ou enrichie en I et Se. Chez les vaches recevant une ration enrichie en Se et I, la T4 et la bTSH ont diminué alors que l'IIP, la T3 et l'activité de la GPX ont augmenté. Dans le groupe recevant une ration normalement pourvue en Se et I, seule l'activité de la GPX a augmenté. A la naissance, les

veaux provenant des mères ayant reçu une ration enrichie en Se et I avaient une concentration en IIP et une activité de la GPX supérieures et une concentration en bTSH inférieure par rapport aux veaux de l'autre groupe. Le dernier objectif a été de comparer les effets sur la santé et le statut en Se de vaches BBB carencées et de leur veau de deux formes (sélénite de soude versus séléno-méthionine) et de deux doses différentes de Se (0,1 *versus* 0,5 ppm). Les deux premiers groupes de vaches ont reçu une ration avec respectivement 0,1 et 0,5 ppm de Se sous forme de sélénite de soude (Na-Se 0,1 et Na-Se 0,5), alors que le troisième groupe de vaches a reçu 0,5 ppm de Se sous forme de séléno-méthionine (Y-Se 0,5). Les concentrations en Se dans le plasma, le colostrum et le lait étaient plus élevées chez les vaches du groupe Y-Se 0,5 par rapport aux 2 autres groupes. La concentration en Se plasmatique était plus importante chez les veaux du groupe Y-Se 0,5 par rapport à celles des autres groupes. Le gain quotidien moyen des veaux du groupe Y-Se 0,5 était plus important par rapport à celui du groupe Na-Se 0,1. La prévalence de diarrhée des veaux du groupe Na-Se 0,1 était plus élevée par rapport à celle du groupe Y-Se 0,5.

En conclusion, les carences en oligo-éléments sont fréquentes en Wallonie et souvent multiples. Elles interviennent de manière importante dans l'étiologie des troubles multifactoriels constatés dans les exploitations bovines. Les carences en Se et en I sont celles qui occasionnent le plus de répercussions cliniques. Le diagnostic de ces carences en particulier repose sur l'utilisation de dosages sanguins. Il faut y distinguer ceux qui mesurent le statut nutritionnel en I et Se de ceux qui évaluent plutôt le statut thyroïdien. Une supplémentation simultanée en I et en Se peut modifier l'interprétation des statuts nutritionnel et thyroïdien, de même que la forme sous laquelle le Se est apporté aux bovins. De meilleures performances zootechniques et une meilleure santé sont constatées dans les troupeaux supplémentés en O-E qui jouissent de statuts corrects. De plus, de ce point de vue, la supériorité de la supplémentation en Se sous forme de séléno-méthionine a été démontrée par rapport au sélénite de soude chez des bovins BBB carencés.

De nombreuses perspectives se dégagent de ce travail. Le dosage de la bTSH est à implémenter dans des laboratoires en vue d'en faire une analyse de routine à disposition des vétérinaires praticiens qui pourraient ainsi utiliser cet outil dans le cadre de nombreuses autres pathologies que le goitre congénital. D'un point de vue plus fondamental, le dosage des désiodases permettrait d'affiner la compréhension de la régulation de la synthèse des hormones thyroïdiennes chez le bovin, en précisant les rôles respectifs de l'I et du Se à ce propos. Enfin, à l'instar des découvertes concernant la séléno-méthionine, l'intérêt annoncé des formes organiques des autres O-E chez les ruminants devrait être investigué plus avant.

SUMMARY

Deficiencies of selenium (Se) and iodine (I) are widespread in livestock all over Europe. They have an impact on the animals' health. Since the clinical signs of the deficiencies are rarely pathognomic, auxiliary exams, based on blood and milk samples are needed for the confirmation of the diagnosis. To evaluate the Se and I status, the plasmatic Se content, the erythrocytic glutathione peroxydase activity (GPX), and the inorganic plasmatic I (IIP) content are measured routinely. Other analyses, like e.g. the dosage of tri-iodothyronine (T3) or thyrotropine (bTSH) can be used. Once the deficiency is diagnosed, it can be corrected by several methods.

The first aim of the study was to evaluate the zinc, copper, Se, and I status of Wallonian dairy and beef herds and to correlate their trace element status to their health. The trace element status of the herds with pathologies was less good than that of healthy herds. Further, more herds with pathologies had deficiencies when compared to healthy ones. Dairy herds had a better trace element status than beef herds. Se and I deficiencies are among the most important ones and have the most severe sequels. Therefore, the subsequent parts of the study focussed on these two trace elements. The second aim was the establishment of a technique for the dosage of bTSH and of reference values in healthy cattle. Reference ranges for bTSH and for thyroxine (T4) have been determined in healthy adult cows and in healthy calves. Thereafter, the next aim was to compare the concentration of bTSH in newborn calves with goitre to those obtained in healthy calves, in order to validate a diagnostic test for this pathology. The bTSH allowed the discrimination of the two groups and to approve the diagnosis of hypothyroidism in some of the calves. The threshold value of bTSH for the diagnosis of hypothyroidism in the newborn calf has been fixed at 35 μ U/ml. The fourth aim was to compare the I (IIP) and Se (plasmatic Se, GPX) status as well as the thyroid status (bTSH, T4, T3, rT3) in dried pregnant cows and their calves and in non-pregnant cows, that received normal diet and a diet enriched in Se and I. In those receiving a Se and I enriched diet, the T4 and the bTSH decreased while the IIP, the T3, and the GPX activity increased. In the group that received a diet with normal Se and I contents, only the GPX activity increased. At birth, calves from mothers receiving the Se and I enriched diet, had a higher IPP content and GPX activity, and a lower bTSH concentration than calves from the other group. The last aim was to compare the effects of two different forms of Se (sodium selenite *versus* selenomethionine) and two different doses of Se (0.1 *versus* 0.5 ppm) on the health and the Se status

of Se deficient Belgian Blue cows and their calves. The first two groups of cows received a ration with 0.1 and 0.5 ppm, respectively, of Se in the form of sodium selenite (Na-Se 0.1 and Na-Se 0.5), while the third group received 0.5 ppm of Se in the form of seleno-methionine (Y-Se 0.5). The Se content of plasma, colostrum, and milk was higher in the cows of group Y-Se 0.5 when compared to the two other groups. The Se content of the plasma was higher in calves from group Y-Se 0.5 when compared to the two other groups. The daily weight gain of the Y-Se 0.5 group was higher than those of the group Na-Se 0.1. The incidence of diarrhoea among calves in group Na-Se 0.1 was higher than in group Y-Se 0.5.

In conclusion, trace elements deficiencies are common in Wallonia and often they are multiple. They play a major role in the aetiology of multifactorial diseases diagnosed in the cattle herds. Deficiencies in Se and in I are most commonly implicated in clinical problems. The diagnosis of these deficiencies is determined by blood analyses. Therefore, the tests need to be differentiated according to their capacity to test the nutritional or the thyroid status. A simultaneous supplementation with I and Se, as well as the form of the supplemented Se, may modify the interpretation of the nutritional and the thyroid status. Better reproduction performances and a better health have been observed in herds with a normal trace element status. Furthermore, the advantage of the supplementation with Se in the form of seleno-methionine has been demonstrated in comparison to sodium selenite in deficient Belgian Blue cattle.

This study opened numerous perspectives. The measurement of bTSH should be implemented in laboratories in order to offer it as a routine analysis to the practicing veterinarian, who could use this tool in the framework of many diseases other than goitre. From a fundamental point of view, the dosage of deiodinases would allow the understanding of the regulation and of the synthesis of the thyroid hormones in bovines, and identifying the role of Se and I in this process. Finally, following the discoveries concerning the seleno-methionine, the effect of organic forms of other trace elements in bovine supplementation should be investigated.

LISTE DES ABBREVIATIONS

A : Adulte

bTSH : Thyrotropine Bovine

CMV : Complexe Minéral-Vitaminé

Co : Cobalt

Cu : Cuivre

CV : Coefficient de Variation

EDDI : Ethylène-Diamine-Dihydro-Iodide

GQM : Gain Quotidien Moyen

GPX : Glutathion peroxydase érythrocytaire

GPX-p : Glutathion peroxydase plasmatique

Hb : Hémoglobine

Hép : Héparine

HGAAS : Hydride Generation Atomic Absorption Spectrophotometry

HISe : High I and high Se

I : Iode

ICP-MS : Inductivity Coupled Plasma-Mass Spectrophotometry

IIP : Iode Inorganique Plasmatique

IT : Iode Total

IRMA : Immunoradiometric assay

IV : Intra-Veineuse

KI : Iodure de potassium

LISe : Low I and low Se

LMD : Limite Minimale de Détection

MS : Matière Sèche

Na-Se : Sélénite de sodium

ND : Non-Déterminé

NN : Nouveau-Né

O-E : Oligo-Element

ppm : part par million (équivalent à mg par kg de matière sèche)

rT3 : Reverse-T3

RIA : Radioimmunoassay

SAA-ET : Spectrométrie d'Absorption Atomique à atomisation Electro-Thermique

SC : Score Corporel

SD : Standard Deviation (déviatiion standard)

Se : Sélénium

T3 : Tri-iodothyronine

T4 : Thyroxine

TBG : Thyroxine Binding Globulin

TBP : Thyroxine Binding Prealbumin

TT3 : T3 totale

TT4 : T4 totale

TRH : Thyrotropine-Releasing Hormone

TSH : Thyroid-Stimulating Hormone (thyrotropine)

U : Unité

UI : Unité Internationale

Y-Se : Yeast-Se (levure séléninée)

Zn : Zinc

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS**RESUME****SUMMARY****LISTE DES ABREVIATIONS****TABLE DES MATIERES**

1	INTRODUCTION.....	15
1.1	PRINCIPES DE BASE APPLICABLES AU DIAGNOSTIC D'UNE CARENCE EN OLIGO-ELEMENTS	17
1.2	OUTILS DE DIAGNOSTIC DE LA CARENCE EN SELENIUM.....	21
1.2.1	SIGNES CLINIQUES D'APPEL	21
1.2.1.1	Productions.....	21
1.2.1.2	Reproduction	21
1.2.1.3	Santé.....	22
1.2.2	EXAMENS COMPLEMENTAIRES	23
1.2.2.1	Analyse de la ration.....	23
1.2.2.2	Analyses sur l'animal : Sang.....	24
1.2.2.2.1	Selenium.....	25
1.2.2.2.2	GPX.....	26
1.2.2.2.3	Facteurs de variation	27
1.2.2.3	Analyses sur l'animal : Lait	28
1.2.2.4	Analyses sur l'animal : Urine.....	30
1.2.2.5	Analyses sur l'animal : Tissus.....	31
1.2.2.5.1	Sélénium tissulaire	32
1.2.2.5.2	Glutathion peroxydase tissulaire	32
1.3	OUTILS DE DIAGNOSTIC DE LA CARENCE EN IODE.....	34
1.3.1	PREAMBULE : BREF RAPPEL DE PHYSIOLOGIE.....	34
1.3.2	SIGNES CLINIQUES D'APPEL	35
1.3.2.1	Productions.....	35
1.3.2.2	Reproduction	35
1.3.2.3	Santé.....	35

1.3.3	EXAMENS COMPLEMENTAIRES	37
1.3.3.1	Analyse de la ration.....	37
1.3.3.2	Analyses sur l'animal : Sang.....	39
1.3.3.2.1	Marqueur nutritionnel : IIP	40
1.3.3.2.2	Marqueur nutritionnel : IT.....	41
1.3.3.2.3	Marqueur fonctionnel : TSH	41
1.3.3.2.4	Marqueurs fonctionnels : T4 et T3 totales et libres.....	44
1.3.3.3	Analyses sur l'animal : Lait	47
1.3.3.4	Analyses sur l'animal : Urine.....	49
1.3.3.5	Analyses sur l'animal : Tissus.....	49
1.3.3.5.1	Poids de la thyroïde	50
1.3.3.5.2	Histologie de la thyroïde	50
1.3.3.5.3	Dosage de l'I thyroïdien.....	51
1.3.3.5.4	Volume thyroïdien.....	51
1.4	PROTOCOLES A APPLIQUER LORS DE SUSPICION DE CARENCE EN SELENIUM ET EN IODE.....	53
1.4.1	SELENIUM.....	54
1.4.2	IODE	55
2	OBJECTIFS DE LA RECHERCHE.....	57
3	PRESENTATION SYNOPTIQUE DES ETUDES.....	59
3.1	ETUDE 1 : CARENCES EN OLIGO-ELEMENTS DANS DES TROUPEAUX BOVINS VIANDEUX ET LAITIERS EN WALLONIE.....	59
3.1.1	INTRODUCTION.....	59
3.1.2	MATERIEL ET METHODES	60
3.1.3	RESULTATS	62
3.1.4	DISCUSSION	65
3.1.5	CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	66
3.2	ETUDE 2 : DEVELOPPEMENT ET VALIDATION D'UN RADIOIMMUNOASSAY POUR LA THYROTROPINE CHEZ LES BOVINS.....	67
3.2.1	INTRODUCTION.....	67
3.2.2	MATERIEL ET METHODES	68
3.2.2.1	Développement du RIA bTSH	68
3.2.2.2	Caractéristiques du RIA bTSH.....	68
3.2.2.3	Validation physiologique du RIA bTSH.....	69

3.2.2.4	Intervalle de référence pour la bTSH chez des vaches cliniquement saines	69
3.2.2.5	Autres dosages.....	69
3.2.3	RESULTATS	69
3.2.3.1	Développement et caractéristiques du RIA bTSH	69
3.2.3.2	Validation physiologique du RIA bTSH : test de stimulation à la TRH et rythme circadien.....	69
3.2.3.3	Intervalle de référence (bTSH, T4) dans une population de vaches cliniquement saines	71
3.2.4	DISCUSSION	71
3.2.4.1	Développement et caractéristiques du RIA bTSH.	71
3.2.4.2	Validation physiologique du RIA bTSH.....	71
3.2.4.3	Intervalle de référence de la bTSH.....	72
3.2.5	CONCLUSIONS & PERSPECTIVES.....	72
3.3	ETUDE 3 : LE DOSAGE DE LA THYROTROPINE COMME MOYEN DE DIAGNOSTIC DE L'HYPOTHYROIDIE CHEZ LES VEAUX NOUVEAU-NES	73
3.3.1	INTRODUCTION.....	73
3.3.2	MATERIEL ET METHODES	73
3.3.2.1	Animaux	73
3.3.2.2	Dosages	74
3.3.3	RESULTATS	74
3.3.4	DISCUSSION	74
3.3.5	CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	76
3.4	ETUDE 4 : DETERMINATION DU STATUT THYROÏDIEN ET DU STATUT EN IODE ET EN SELENIUM CHEZ DES VACHES HOLSTEIN NON-LACTANTES CONSOMMANT DES RATIONS NORMALEMENT POURVUES OU ENRICHIES EN IODE ET EN SELENIUM.....	79
3.4.1	INTRODUCTION.....	79
3.4.2	MATERIEL ET METHODES	79
3.4.2.1	Animaux	79
3.4.2.2	Ration	79
3.4.2.3	Supplémentation en I et en Se	80
3.4.2.4	Protocoles de prélèvement, étude à long terme.....	80
3.4.2.5	Test de stimulation à la TRH.....	80
3.4.2.6	Prélèvements au vêlage	80

3.4.2.7	Dosages	81
3.4.3	RESULTATS	81
3.4.3.1	Etude à long terme.....	81
3.4.3.2	Test de stimulation à la TRH.....	81
3.4.3.3	Prélèvements au vêlage	81
3.4.4	DISCUSSION	84
3.4.5	CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	85
3.5	ETUDE 5 : REPOSES COMPAREES DE VACHES BLANC-BLEU BELGES ET DE LEUR VEAU SUITE A UNE SUPPLEMENTATION EN SELENIUM ORGANIQUE ET EN SELENITE DE SOUDE.....	87
3.5.1	INTRODUCTION.....	87
3.5.2	MATERIEL ET METHODES	87
3.5.3	RESULTATS	88
3.5.4	DISCUSSION	91
3.5.4.1	Statut des vaches en Se.....	91
3.5.4.2	Se dans le colostrum et le lait.....	92
3.5.4.3	Statut des mères en I.....	92
3.5.4.4	Statut des veaux en Se.....	92
3.5.4.5	Santé et performances des veaux	93
3.5.5	CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	93
4	DISCUSSION GENERALE, CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	95
5	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	107

1 INTRODUCTION

La production de lait et de viande par les bovins a considérablement augmenté au cours des cinquante dernières années en même temps que le nombre d'exploitations agricoles diminuait fortement, avec en parallèle une augmentation substantielle de leur taille. La sélection génétique d'animaux performants a permis cette productivité accrue mais a aussi nécessité une série d'adaptations indispensables. Parmi ces adaptations, on cite l'alimentation des bovins qui a été particulièrement revue et corrigée.

Dans la nutrition de bovins hautement performants, les oligo-éléments jouent un rôle essentiel. En effet, la production de lait ou de viande ainsi que les conditions d'élevage sont capables de générer des stress oxydants et des troubles de la santé (Miller et Brzezinska-Slebodzinska, 1993). Il se fait que les oligo-éléments jouent un rôle important, à côté de certaines vitamines, dans le capital anti-oxydant de l'organisme. Or, un écart grandissant est apparu progressivement entre d'une part les besoins en oligo-éléments, dictés par la productivité (litres de lait, gain de poids) et les conditions d'élevage (confort, stress dû à un nombre plus élevé d'animaux, pression d'infection), et d'autre part les apports en oligo-éléments par la ration. Les pratiques agricoles modernes (e.g. interdiction de l'utilisation des scories qui étaient une source appréciable d'oligo-éléments, monocultures) en ont fait progressivement appauvri les sols et, à partir de là, les végétaux que consomment les ruminants. Les tables des teneurs en oligo-éléments dans les fourrages (INRA, 2007) confirment effectivement cette tendance. Parallèlement, les éleveurs investissent peu, pour des raisons économiques principalement, dans des complexes minéraux-vitaminés (CMV) pour supplémenter leur bétail. Ce phénomène est toutefois beaucoup plus important dans les élevages viandeux par rapport aux élevages laitiers. Par ailleurs, la législation belge est particulièrement sévère. Par exemple, cette législation restreint la quantité de sélénium (Se) à incorporer dans les CMV à 20 ppm (Le Moniteur Belge, A.R. du 21/04/1999). La peur de la toxicité du Se, non fondée quand on regarde la cartographie des teneurs en Se en Europe (Oldfield, 2002), a sans doute motivé pareille décision. L'ensemble de ces divers éléments (besoins accrus par une productivité élevée et apports diminués par des sols et fourrages appauvris ainsi qu'une législation sévère) renforcent la probabilité de carence en oligo-éléments chez les bovins en Belgique, et plus particulièrement en Se. Les travaux effectués par Delange (2002) indiquent également un déficit important d'apports iodés (I) chez

l'homme, notamment en Belgique. On peut dès lors suspecter une carence en I chez les bovins qui vivent sur le même sol.

Ce déséquilibre entre apports et besoins en oligo-éléments a des conséquences évidentes sur la santé, la reproduction mais aussi sur la productivité des animaux (Muth *et al.*, 1958 ; Weiss *et al.*, 1983 ; Graham, 1991 ; Smyth *et al.*, 1996 ; Smith *et al.*, 1997 ; Wichtel *et al.*, 1996 ; Thrift *et al.*, 1999b). A partir du moment où les animaux sont carencés, leurs produits tels que le lait ou la viande sont également carencés. La viande et le lait sont consommés par les êtres humains qui eux aussi ont besoin d'un apport suffisant d'oligo-éléments pour leur santé. Des études telles que l'étude « SU.VI.MAX » chez l'homme ont clairement démontré l'impact positif de la supplémentation en minéraux et vitamines sur la santé (Hercberg *et al.*, 2004). La supplémentation des animaux en oligo-éléments se répercute par conséquent aussi positivement chez l'homme (Rasmussen *et al.*, 2002a ; Hartikainen, 2005). La carence en I a d'ailleurs régressé de par la supplémentation en I des vaches laitières, étant donné le passage de l'I dans le lait (Phillips, 1997). En effet, l'homme se complémente en I majoritairement via le lait (Rasmussen *et al.*, 2002a).

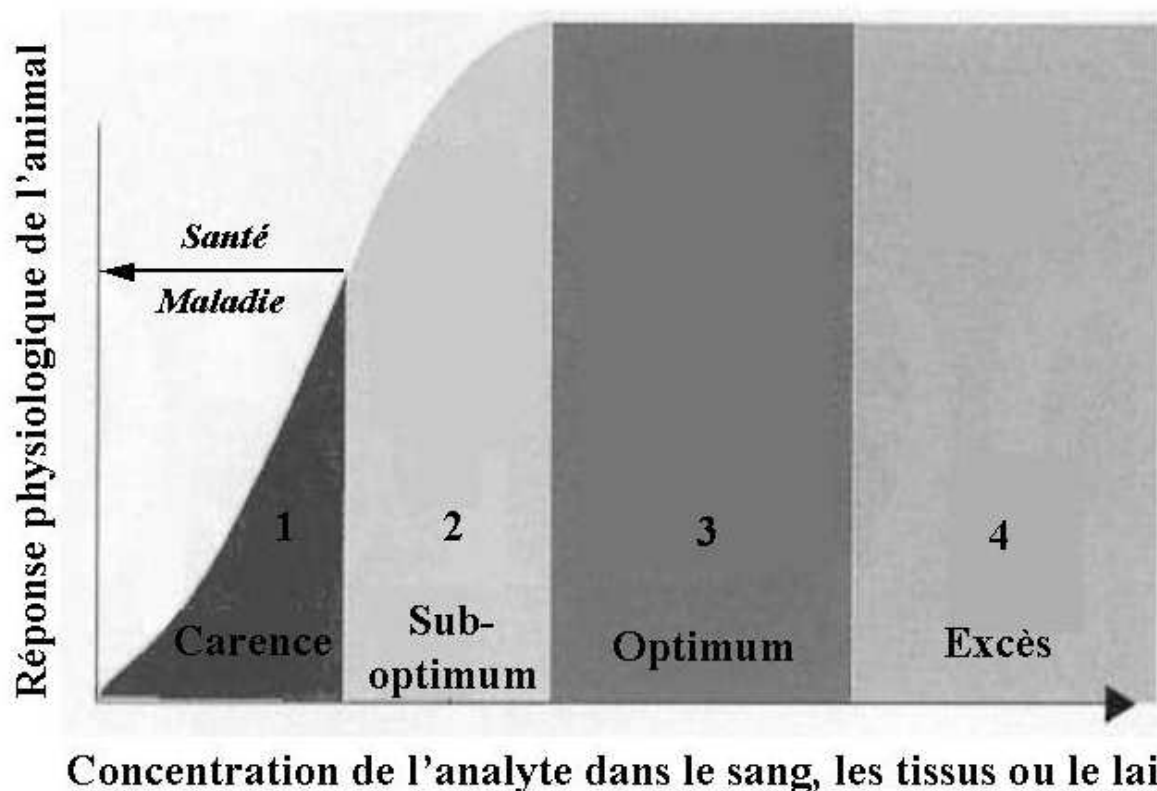
Les carences en oligo-éléments et plus particulièrement en Se et en I sont fréquemment rapportées sur le sol européen (Lamand, 1975 ; Delange, 2002 ; Oldfield, 2002). Les effets de ces carences en oligo-éléments chez le bétail ont d'ailleurs fait l'objet de très nombreuses publications (Koller *et al.*, 1983 ; Graham, 1991 ; Campbell *et al.*, 1995 ; Mee et Rogers, 1996 ; Rollin *et al.*, 2002). Les carences en Se et en I ressortent de manière plus manifeste sur le bétail de race Blanc-Bleu Belge (BBB) d'une part en raison d'apports faibles dans les élevages (faibles teneurs en Se et I dans les sols en Wallonie et faible supplémentation en Se et en I par les CMV) et d'autre part à cause de la synergie qui existe entre ces 2 oligo-éléments. En effet, chez l'homme, des études ont démontré le danger de supplémenter séparément en I (Hotz *et al.*, 1997) ou en Se (Contempre *et al.*, 1991), notamment en terme de risque d'hypothyroïdie, dans des régions potentiellement carencées en I et Se.

Les signes cliniques associés aux carences en oligo-éléments sont néanmoins très rarement pathognomoniques. Dès lors, le recours aux examens complémentaires s'avère indispensable. Cependant, le diagnostic de carence doit être posé de manière fiable.

1.1 PRINCIPES DE BASE APPLICABLES AU DIAGNOSTIC D'UNE CARENCE EN OLIGO-ELEMENTS

Lors de suspicion clinique de carence en oligo-éléments dans un troupeau bovin, le diagnostic se confirme sur base de prélèvements sanguins, urinaires, de lait ou de tissus. Il convient dès lors de respecter quelques règles concernant le choix et le nombre d'animaux à prélever.

L'objectif est d'approcher au mieux la valeur du troupeau, ce qui est possible en multipliant les prélèvements. Le nombre minimal d'animaux à prélever dépend du paramètre étudié, de la variabilité de ce paramètre et de la manière dont on détermine le seuil de carence (Herdt, 2000 ; Oetzel, 2004). Dans l'absolu, la carence est définie comme la concentration de l'analyte en dessous de laquelle des signes cliniques de carence apparaissent habituellement (Herdt, 2000). D'une autre manière, pour poser le diagnostic de carence, on utilise habituellement comme intervalle de référence la moyenne plus ou moins 1,96 écart-types (ou les percentiles 2,5 et 97,5 : voir plus loin) des concentrations sanguines de l'élément recherché trouvée dans un échantillon d'animaux pris au hasard au sein d'une population d'animaux en bonne santé. L'intervalle de référence est défini par une valeur seuil en dessous de laquelle on déclare la carence et valeur maximale au-dessus de laquelle on risque la toxicité. Trouver la population de référence parfaite pour ce genre de valeur est très difficile. Dès lors, on choisira de manière aléatoire des troupeaux avec de très bonnes performances de production, reproduction et avec le moins de maladies et troubles alimentaires possibles. Compte tenu de la variabilité individuelle, il faut considérer comme normaux des animaux dont la valeur s'écarte de 2 écarts-type (précisément 1,96, si les données sont distribuées normalement) de la moyenne ou utiliser les percentiles 2.5-97.5 (si les données ne sont pas distribuées normalement), couvrant 95 % d'une population d'individus en bonne santé (Grenier, 1993 ; Herdt, 2000). Une autre valeur seuil peut être définie à une concentration où les apports nutritionnels recommandés pour l'oligo-élément sont tout juste apportés mais où néanmoins une carence subclinique peut survenir dans des conditions de stress. Ce cas de figure est illustré dans la figure 1. La détermination d'un seuil n'est donc pas aisée. Elle dépend du laboratoire (variabilité analytique), de la catégorie d'animaux, de la détermination des besoins nutritionnels des animaux et de l'effet recherché lorsque l'on pose ce seuil.



En ordonnée : réponse animale en terme de productivité ou de santé selon le statut nutritionnel de l'animal (par exemple : croissance, efficacité alimentaire, performances de reproduction, production laitière, bien-être, santé, immunité)

En abscisse : concentration de l'analyte mesurée sur l'animal ou le groupe d'animaux

1 : Carence : niveau de carence absolu, déterminé par la présence de signes cliniques. A cette valeur correspondent des apports alimentaires insuffisants.

2 : Sub-optimum : cette plage de concentration indique que les besoins alimentaires l'animal sont juste couverts. Il y a prévention de l'apparition de signes cliniques si l'animal se trouve dans de bonnes conditions mais une carence subclinique peut survenir dans des conditions de stress ou de maladie. Ce statut est inadéquat pour une santé et une productivité optimales. Dès lors, cette concentration pourrait tout aussi bien être considérée comme également carencée ou « marginale ».

3 : Optimum : cette plage de concentration tient compte de tout facteur négatif pouvant influencer la santé et les performances. Ce statut permet à l'animal d'exprimer pleinement son potentiel de santé et de productivité prévu par sa capacité génétique.

4 : Excès : Bien qu'il n'y ait aucune répercussion néfaste sur la santé ou la productivité de l'animal, l'atteinte d'un tel niveau est néanmoins un non-sens économique. En effet, le dépassement du stade « Optimum » n'entraînera aucune amélioration de la santé ou de la productivité. Au-dessus de ce seuil d'excès existe le seuil de toxicité qui lui entraîne des répercussions néfastes sur la santé et la productivité.

Figure 1. Seuils de carence, sub-optimum, optimum et d'excès lors de détermination du statut en oligo-éléments, minéraux et vitamines (adapté selon Chung, 2003).

Lorsqu'une valeur seuil est définie, on peut considérer le diagnostic de carence selon plusieurs méthodes. A chaque méthode correspond un nombre minimal adéquat d'animaux à prélever (Kincaid, 2000). Soit on prend en considération la moyenne des valeurs d'un paramètre dans un groupe d'animaux et on la compare avec la valeur seuil. Dans ce cas, il est recommandé de prélever au minimum 7 (Herdt, 2000) à 8 animaux (Oetzel, 2004). Une autre méthode consiste à déterminer quelle proportion d'animaux présente une valeur en-dessous (ou au-dessus) de la valeur seuil (ce qui revient à estimer la prévalence de la carence). Oetzel (2004) recommande alors de prélever un nombre minimal de 12 animaux. Cependant, lorsque la prévalence d'une maladie est faible ou que les signes cliniques sont peu évidents, il est conseillé d'augmenter le nombre d'animaux à prélever pour atteindre un niveau de confiance statistique suffisant (Oetzel, 2004). Plus le troupeau sera grand, plus l'échantillonnage pourra être grand sans pour autant être non rentable économiquement. Quelle que soit la méthode utilisée, on peut réduire l'effectif à prélever simplement en ciblant au mieux la population à risque pour la carence. Ces valeurs d'échantillonnage minimal ne sont que des estimations. Pour être précis dans le calcul du nombre minimal d'animaux à prélever, il convient de prendre en compte plusieurs paramètres tels que la prévalence attendue de la carence dans le troupeau ainsi que la variabilité attendue des mesures (déviations standard). Pour ces paramètres, le praticien se fera sa propre expérience sur quelques troupeaux sélectionnés dans sa clientèle. Les données peuvent alors être intégrées dans un logiciel d'épidémiologie (e.g. logiciel gratuit WinEpiScope 2.0 : Thrusfield *et al.*, 2001) qui déterminera le nombre précis de prélèvements à effectuer, en fonction des variables précitées.

Le choix des animaux à prélever est enfin particulièrement important pour le diagnostic d'une carence nutritionnelle en oligo-éléments. Pour diagnostiquer des maladies, des animaux malades doivent être prélevés mais pour diagnostiquer un « statut nutritionnel » (e.g. carence), ce sont des animaux sains qui doivent être échantillonnés (Herdt, 2000 ; Herdt *et al.*, 2000). En effet, le statut en oligo-éléments peut être modifié par un phénomène d'inflammation aigu (Milanino *et al.*, 1986 ; Janosi *et al.*, 1998) ou chronique (Oliva *et al.*, 1987), ou encore lors de « stress » (Herdt *et al.*, 2000). Malgré toutes ces précautions, de nombreux facteurs de variations entachent encore la pertinence du prélèvement et du résultat obtenu. Les principaux facteurs de variation sont l'âge, le sexe, la race, la génétique, le stade de lactation, la production laitière et le stade de gestation (Herdt, 2000 ; Herdt *et al.*, 2000). Pour minimiser ces interactions, il faut donc prélever des animaux de même classe. Le nombre minimal d'animaux à prélever (entre 7 et 12 selon le type d'analyse) défini par Herdt (2000) et Oetzel (2004) est à instaurer pour chaque classe d'animaux. En plus de ces facteurs de variation

intra-troupeaux, la technique de prélèvement, le moment de prélèvement dans la journée (influence du moment d'affouragement et rythmes circadiens par exemple), la variabilité analytique inhérente au laboratoire, la variabilité environnementale (principalement due à l'alimentation) et la variabilité inter-troupeau sont d'autres facteurs dont il faut tenir compte (Herdt et al., 2000). C'est pour cela que les valeurs seuils peuvent différer sensiblement d'un laboratoire à l'autre et qu'il est délicat de comparer des valeurs provenant de laboratoires différents.

Enfin, dans la mesure où l'on désire obtenir un diagnostic de carence à moindre coût, il est possible de faire un « pool » d'échantillons de sang de divers animaux ou encore d'utiliser le lait de tank et ainsi de comparer la moyenne d'un groupe d'individus à un seuil. A partir du moment où une seule analyse est réalisée, il n'y a plus de contrainte économique à prélever un grand nombre d'animaux. Plus le nombre sera grand, plus il sera représentatif de la population étudiée, à condition de suivre les règles prescrites précédemment à savoir de ne prélever que des animaux sains et homogènes. Il est évident que de cette manière, la moyenne risque de masquer des animaux ayant une grande hétérogénéité de statut. C'est pour cela qu'on accordera davantage de confiance à des résultats très bas ou très élevés, comparativement à des résultats marginaux. Néanmoins, lors de carence nutritionnelle, la prévalence d'individus touchés par la carence au sein d'un groupe ou d'une exploitation est souvent ou très faible ou très élevée (Rollin *et al.*, 2002).

En résumé, afin de poser au mieux le diagnostic de carence sur base d'un prélèvement sur l'animal au sein d'un troupeau, il convient de :

- sélectionner un groupe d'animaux tels que des animaux à risque pour une pathologie ;
- choisir plusieurs animaux sains (entre 7 et 12 selon l'utilisation des seuils) en limitant autant que faire se peut la variabilité induite par l'âge, le stade de gestation ou de lactation et le niveau de production laitière ;
- effectuer des prélèvements de bonne qualité dont, par exemple, l'absence d'hémolyse.

1.2 OUTILS DE DIAGNOSTIC DE LA CARENCE EN SELENIUM

1.2.1 SIGNES CLINIQUES D'APPEL

1.2.1.1 Productions

En ce qui concerne les productions, on n'observe pas d'effet négatif direct de la carence en Se. La carence va plutôt se manifester en affaiblissant les animaux et en les prédisposant aux infections qui vont dès lors diminuer leur productivité (production laitière ou gain de poids). La baisse de production laitière peut être liée à des infections mammaires (Green *et al.*, 2006) dont la carence en Se serait un facteur prédisposant (voir plus loin). Une baisse de production laitière pourrait aussi être liée à une hypothyroïdie secondaire à une carence en Se. Dans ce cas, on observerait davantage une prise de poids (voir plus loin).

L'effet positif d'une supplémentation en Se sur la santé des veaux ainsi que sur leurs performances de croissance a été mise en évidence dans plusieurs études (Weiss *et al.*, 1983 ; Sanders, 1984 ; Spears *et al.*, 1986 ; Wichtel *et al.*, 1996). Cependant, Swecker et collaborateurs (1989) et Lacetera et collaborateurs (1996) n'ont rapporté aucun impact significatif de la supplémentation en Se sur la croissance des veaux. Wichtel et collaborateurs (1996) ont réalisé deux études sur la supplémentation en Se des veaux et n'ont trouvé une réponse positive sur le gain de poids que dans une des deux expériences. Selon une étude récente (Guyot *et al.*, 2007a), une supplémentation en Se des mères (0,5 ppm, sous forme organique) entraîne un gain de poids supérieur des veaux par rapport à des veaux dont les mères ont reçu seulement 0,1 ppm de Se (sous forme inorganique). Dans cette étude, le meilleur gain de poids serait entre autres lié à une incidence moindre des diarrhées.

La carence en Se participe à l'apparition de retards de croissance, peut-être également sous l'influence d'un défaut de conversion de la thyroxine (T4) en tri-iodothyronine (T3) (Arthur *et al.*, 1988 ; Graham, 1991 ; Larsen et Berry, 1995).

1.2.1.2 Reproduction

Chez les vaches adultes, la carence en Se se manifeste notamment par des kystes ovariens (Harrison *et al.*, 1984), des rétentions d'arrière-faix, des métrites et même dans certains cas des avortements ou mises-bas prématurées (Corah et Ives, 1991 ; Graham, 1991). De plus, la

fertilité de vaches carencées en Se peut être sensiblement améliorée lors de supplémentation en Se (Scales, 1976 ; Segerson *et al.*, 1977 ; Kappel *et al.*, 1984 ; Hidioglou *et al.*, 1987a ; Corah et Ives, 1991). Dans le cadre de la rétention d'arrière-faix, largement étudiée dans les troupeaux laitiers, il apparaît qu'une supplémentation orale ou des injections pré-partum en Se ou en vitamine E / Se réduisent l'incidence des rétentions d'arrière-faix dans les troupeaux carencés en Se mais pas dans les troupeaux non carencés (Trinder *et al.*, 1973 ; Julien *et al.*, 1976 ; Corah et Ives, 1991).

1.2.1.3 Santé

La carence en Se chez la mère a également des conséquences son veau. Le fœtus est dépendant de sa mère *via* le placenta pour son statut en oligo-éléments. Il accumule certains oligo-éléments à un niveau supérieur à celui de sa mère. Le Se, entre autres, est souvent un élément limitant pour le fœtus et le nouveau-né lors de son développement normal (Van Saun *et al.*, 1989 ; Abdelrahman et Kincaid, 1995). Lors de carence chez la mère, on observe donc une symptomatologie néonatale reprenant des veaux caractérisés par une faiblesse éventuellement associée à de la mortinatalité (Stauber, 1976 ; Weiss *et al.*, 1983 ; Spears *et al.*, 1986 ; Cawley, 1987 ; Graham, 1991 ; Zust *et al.*, 1996), de la détresse respiratoire chez le nouveau-né à terme (Guyot *et al.*, 2004) et des gastro-entérites néonatales (Andrews *et al.*, 1968 ; Sanders, 1984 ; Cawley, 1987 ; Zust *et al.*, 1996).

Une autre entité, en l'occurrence la myopathie dégénérative nutritionnelle également appelée maladie du muscle blanc ou encore syndrome de myopathie-dyspnée (Muth *et al.*, 1958 ; Hidioglou et Jenkins, 1968 ; Walsh *et al.*, 1993 ; Foucras *et al.*, 1996), sévit aussi bien chez le veau que chez l'adulte (Gitter *et al.*, 1978). Cette maladie dégénérative touche les myocytes des muscles striés squelettiques et cardiaques (cardiomyopathie congénitale). Chez les veaux, la maladie est souvent accompagnée de diarrhée et de taux élevés de mortalité (Graham, 1991). Une autre manifestation de cette maladie peut être l'incompétence du veau à téter (muscles masséter et de la langue touchés par la myopathie) (Foucras *et al.*, 1996 ; Zust *et al.*, 1996).

Enfin, Erskine et collaborateurs (1987) ont montré que des troupeaux de vaches laitières présentant des taux cellulaires dans le lait élevés (>700.000 cellules/ml) avaient un statut en Se moins favorable que des troupeaux à bas taux cellulaire. D'autres études ont mis en évidence la relation entre les mammites cliniques et subcliniques et les carences en Se et vitamine E chez la vache et la brebis (Hogan *et al.*, 1993 ; Weiss *et al.*, 1997 ; Smith *et al.*,

1997 ; Morgante *et al.*, 1999). L'administration orale d'un supplément de vitamine E et Se peut diminuer la prévalence et la sévérité des mammites dans les troupeaux laitiers. Par contre, une supplémentation en Se et vitamine E dans des élevages où le niveau de ces éléments est correct n'apporte aucune amélioration sur les infections mammaires (Smith *et al.*, 1997).

1.2.2 EXAMENS COMPLEMENTAIRES

1.2.2.1 Analyse de la ration

Etant donné qu'il est difficile d'appréhender la proportion d'oligo-éléments assimilables par les végétaux, l'analyse de sol a peu d'intérêt. Il faut donc lui préférer l'analyse des fourrages (Lamand, 1987). L'analyse de la ration, combinée avec les signes cliniques d'appel, permet d'approcher le diagnostic de la carence. En confrontant les apports en Se dans la ration avec les recommandations d'apports pour les bovins proposées dans la littérature (voir tableau 1), il est possible de se faire une idée de l'état de carence ou de satisfaction des besoins des animaux. Les valeurs seuils proposées dans le tableau 1 résultent soit d'études « dose-réponse » pour lesquelles seulement des concentrations adéquates chez des animaux sains ont été indiquées, soit d'études pour lesquelles des critères biologiques (e.g. santé) ont été comparés en fonction des apports en Se afin de définir un seuil adéquat et un seuil de carence.

Tableau 1. Besoins quotidiens en Se chez les bovins laitiers et viandeux (exprimés en mg par kg de matière sèche).

	Bovins laitiers	Bovins viandeux
Adultes	0,3 ^{a,c}	0,1 ^{b,e,f}
	0,1 ^{e,f}	0,3 ^c
Veaux	0,3 ^c	0,1 ^d
		0,3 ^c

^aN.R.C., 2001 ; ^bN.R.C., 2000 ; ^cPuls, 1994 ; ^dLamand, 1991 ; ^eINRA, 1988 ; ^fLamand, 1987

Les besoins en Se des bovins ont néanmoins augmenté, à cause de leur phénotype plus exigeant, amenant les normes de couverture des besoins à augmenter également. A l'heure actuelle, si en spéculation laitière la norme de 0,3 ppm est bien établie, il semble plus

opportun de revoir la norme en spéculation viandeuse, pour les races hyper-viandeuses telles que le BBB, et de l'amener à 0,3 ppm également (Guyot *et al.*, 2007a).

S'il est évident que des apports insuffisants conduisent à une carence appelée carence primaire, des apports adéquats sur base d'une analyse de la ration ne permettent pas d'affirmer qu'il y a absence de carence chez l'animal. En effet, la carence peut être également secondaire ou relative. Dans ce cas, d'autres éléments dans la ration tels que, par exemple, le cuivre, le plomb, le zinc, le soufre et le calcium, peuvent antagoniser ou réduire l'absorption du Se (Puls, 1994). En raison de ces divers antagonismes potentiels, il est vivement conseillé d'analyser les autres oligo-éléments et macro-éléments de la ration, en plus du Se. Le dosage du Se dans la ration se fait le plus souvent par ICP-MS (Inductivity Coupled Plasma/Mass Spectrophotometry). Néanmoins, étant donné que des résultats de l'analyse de la ration incluant les oligo-éléments n'est pas toujours disponible dans la ferme, que de nombreuses interactions entre macro- et oligo-éléments existent et qu'une compétition entre les animaux pour la ration, et plus particulièrement pour le CMV (si il est distribué sous forme de seaux à lécher) est fréquente, le recours à des analyses *sur l'animal* est indispensable.

1.2.2.2 Analyses sur l'animal : Sang

La mesure du statut sélénique dans le sang peut se faire soit sur sérum, plasma, ou sur le sang total. Deux marqueurs peuvent y être dosés : le Se élément ou la glutathion peroxydase érythrocytaire (GPX), un enzyme séléno-dépendant. Le prélèvement sera réalisé de préférence à la veine jugulaire avec une aiguille de diamètre suffisant que pour éviter l'hémolyse (16-18 gauge). Le prélèvement à la veine coccygienne est possible à condition que la queue de l'animal soit propre. Il faut éviter l'aspiration du sang avec une seringue (hémolyse), la meilleure façon de procéder étant de laisser couler le sang spontanément dans le tube. Le tableau 2 reprend les principaux dosages réalisables en pratique ainsi que les valeurs seuils sanguines en Se et GPX les plus pertinentes. Il convient de prendre le seuil le plus sévère pour des animaux hautement productifs (e.g. vache laitière haute productrice, BBB culard) et le moins sévère pour des animaux dont on attend peu de performances (e.g. vache non lactante, vache tarie non gestante). En effet, d'après une étude menée sur du BBB culard par Guyot et collaborateurs (2007a), il s'avère que ce type de bétail a des besoins élevés en Se et que dès lors les seuils sanguins sont plus élevés également. A titre d'exemple, une valeur seuil de 250 UI/g hémoglobine (Hb) est à prendre en considération pour du bétail hyper-viandeux allaitant (e.g. BBB) et des vaches laitières hautes productrices (e.g. Holstein) tandis que pour du bétail viandeux ordinaire ou croisé, de même que pour des vaches taries ou encore du bétail laitier

ordinaire, un seuil plus bas, de l'ordre de 150 à 200 UI/gHb sera utilisé. Ces seuils sont valables pour des dosages de GPX réalisés selon la méthode de Paglia et Valentine (1967).

1.2.2.2.1 Selenium

Le Se peut se mesurer aussi bien dans le sang total (pool plasmatique et pool érythrocytaire du Se) que dans le sérum ou le plasma.

Dans le plasma, le Se est associé à l'albumine, la glutathion peroxydase plasmatique (GPX-p) et la sélénoprotéine P (Awadeh *et al.*, 1998a). La contribution en Se de la GPX-p dans le plasma est très faible étant donné que l'activité enzymatique de cette dernière est près de trois mille fois inférieure à celle de la GPX (Paglia et Valentine, 1967). Dès lors, la différence de concentration en Se dans le plasma et le sérum est peu significative. Le sérum est un bon indicateur des apports alimentaires en Se (Longnecker *et al.*, 1996). Les variations de la concentration en Se sérique suite à une modification des apports en Se est rapide (Thompson *et al.*, 1991 ; Villar *et al.*, 2002). Une augmentation des apports en Se dans la ration résulte en une augmentation du Se sérique endéans deux à six jours (Ellis *et al.*, 1997).

En Europe, parmi les sources de Se autorisées pour l'alimentation du bétail, il existe depuis décembre 2006 (directive européenne 2006/1750/EC), une forme organique (levure sélénée) de Se, en plus du sélénite de soude (forme inorganique) qui était déjà utilisé. A dose ingérée de Se égale, il existe une différence dans les concentrations plasmatiques/sériques de Se obtenues selon que la source de Se soit organique ou inorganique (Ortman et Pehrson, 1999). Toutefois, le Se plasmatique atteint un plateau environ 4 semaines après le début de la supplémentation, quelle que soit la source de Se (Conrad et Moxon, 1979 ; Ortman et Pehrson, 1999 ; Villar *et al.*, 2002). Cependant, pour des animaux supplémentés avec du Se organique, il résulte un statut sélénié qui se maintient sur une plus longue période après arrêt de la supplémentation. Cela est dû à l'incorporation non spécifique de sélénométhionine (à partir de protéines de levures digérées) dans les protéines et tissus tels que les muscles squelettiques, les érythrocytes et l'albumine, à partir desquels il peut y avoir un relargage dans le sang par catabolisme afin de maintenir le statut sélénié sanguin (Rayman, 2004).

La concentration en Se dans le sang total est approximativement deux à trois fois plus importante que dans le sérum (Scholz et Hutchinson, 1979). Le sang total contient le pool sérique/plasmatique et le pool érythrocytaire de Se où le Se se trouve principalement sous forme de glutathion peroxydase érythrocytaire (GPX) (Rotruck *et al.*, 1973). Aussi bien les changements rapides dans le pool sérique et les changements lents dans le pool érythrocytaire (voir plus loin) affectent la concentration en Se dans le sang total. La combinaison de ces

deux effets rend la valeur du Se dans le sang total généralement mieux interprétable que le Se sérique/plasmatique pour la détermination des apports en Se, bien que chacune des méthodes soit correcte.

La concentration en Se et l'activité de la GPX dans le sang des veaux nouveau-nés sont corrélées avec celles de leur mère (Hidioglou *et al.*, 1987b ; Kincaid et Hodgson, 1989 ; Awadeh *et al.*, 1998b ; Enjalbert *et al.*, 1999). Durant le dernier trimestre de gestation, de grandes quantités de Se sont transférées de la mère vers le fœtus (Koller *et al.*, 1984b ; Van Saun *et al.*, 1989). Le statut sélénique du veau dépend davantage du transfert placentaire que du transfert *via* la prise de colostrum (Koller *et al.*, 1984b ; Enjalbert *et al.*, 1999). Si la mère n'ingère pas au moins 3 mg de Se par jour (soit une ration entre 0,2 et 0,3 ppm selon l'ingestion de MS) pendant le dernier trimestre de gestation, les taux sériques de Se chez la mère sont réduits (Abdelrahman et Kincaid, 1995). La faible concentration en Se constatée au vêlage chez la mère, due au transfert de Se vers le fœtus, augmente progressivement durant le premier mois de lactation (Miller *et al.*, 1995).

Chez le fœtus par rapport à l'adulte, le Se dans le sang est principalement présent dans le pool érythrocytaire, avec une moindre proportion dans le sérum (Van Saun *et al.*, 1989). Cette tendance est bien visible après la naissance, avec des veaux nouveau-nés présentant des taux sériques de Se inférieurs à ceux des adultes, bien que la concentration en Se dans le sang total soit similaire. La concentration en Se dans le sérum reste basse chez les jeunes animaux durant la période d'alimentation lactée car la concentration en Se dans le lait est généralement faible. Cependant, la forme de Se ingérée par la mère fait varier fortement la teneur en Se dans le lait, avec davantage de Se dans le lait lorsque la mère consomme une source de Se organique (Knowles *et al.*, 1999 ; Ortman et Pehrson, 1999 ; Pehrson *et al.*, 1999 ; Givens *et al.*, 2004 ; Juniper *et al.*, 2006). La concentration sérique de Se augmente ensuite dès que les veaux mangent des aliments solides, à condition que ces derniers ne soient pas carencés en Se.

1.2.2.2.2 GPX

Le Se est présent dans les érythrocytes sous la forme de GPX (Rotruck *et al.*, 1973), dont la concentration dépend de la disponibilité en Se dans l'alimentation au moment de l'érythropoïèse. La contribution de la GPX en Se par rapport au Se du sang total est d'environ 60 % (Maas *et al.*, 1992). La GPX est formée en même temps que le développement des érythrocytes. Le dosage de la GPX donne donc une idée des apports en Se sur une période correspondant plus ou moins à la durée de vie d'un globule rouge (entre 100 et 150 jours)

(Whitaker, 1997 ; Herdt *et al.*, 2000). Après modification des apports alimentaires en Se, la valeur de la GPX ne peut changer plus vite que le taux de renouvellement des érythrocytes. Dès lors, suite à une supplémentation en Se, un délai existe entre l'augmentation du Se sérique ou plasmatique et celle de la GPX. La corrélation étroite qui existe entre l'activité de la GPX et le Se sanguin (Backall et Scholz, 1979 ; Koller *et al.*, 1984a ; Erskine *et al.*, 1987 ; Counotte et Hartmans, 1989 ; Maas *et al.*, 1992) se modifie donc lors d'une supplémentation en Se. A ce titre, Knowles et collaborateurs (1999) déconseillent l'utilisation de la GPX comme marqueur du statut en Se si les animaux ont été récemment supplémentés en Se. Néanmoins, après quelques semaines de supplémentation, un nouvel équilibre se crée dès lors que la concentration en Se plasmatique a atteint un plateau (Ortman et Pehrson, 1999 ; Guyot *et al.*, 2007a). A ce moment, la GPX peut de nouveau être utilisée comme marqueur du statut en Se.

L'activité de la GPX des veaux nouveau-nés est supérieure à celle de leur mère au vêlage et diminue avec l'âge (Koller *et al.*, 1984b ; Counotte et Hartmans, 1989 ; Enjalbert *et al.*, 1999). Chez la bête bovine, elle atteint habituellement son taux le plus bas vers deux ans et remonte ensuite progressivement (Counotte et Hartmans, 1989).

1.2.2.2.3 Facteurs de variation

La forme de Se ingérée par l'animal a une influence sur les valeurs de Se sérique et de GPX. Butler et collaborateurs (1991) ont montré chez des femmes recevant une supplémentation orale de Se que la majorité du Se est liée à l'hémoglobine quand elles reçoivent du Se sous forme de sélénométhionine (forme organique) mais est distribuée de manière égale entre la GPX et l'hémoglobine quand ces femmes reçoivent du Se sous forme de sélénate (forme inorganique). Le pourcentage de Se associé à la glutathion peroxydase est donc plus grand dans les érythrocytes et le plasma chez des femmes prenant du Se inorganique, comparativement à celles prenant du Se organique. Dès lors, on observe chez des animaux ayant reçu du Se sous forme organique des séléniémies plus élevées mais des activités de GPX comparables par rapport à des animaux ayant ingéré une forme inorganique de Se (Beilstein et Whanger, 1988 ; Thomson *et al.*, 1993 ; Guyot *et al.*, 2007a).

Une fois le sang prélevé, l'activité de la GPX est moins stable que la concentration sanguine en Se (Herdt *et al.*, 2000) mais est toutefois constante pendant sept jours à quatre degrés centigrades (Koller *et al.*, 1984a). Un acheminement rapide de l'échantillon sanguin vers le laboratoire où le dosage sera effectué est donc à prévoir.

Le dosage de la GPX n'est pas standardisé et les variations des valeurs de GPX entre laboratoires sont très grandes (Ullrey, 1987 ; Belsten et Wright, 1995). De même, une variabilité inter-laboratoire existe pour le Se sérique et total (Waldner *et al.*, 1998). De plus, l'expression de l'activité de la GPX est également soumise à la variation du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite ; il est donc préférable d'exprimer l'activité de la GPX en unités par gramme d'hémoglobine.

Etant donné la grande proportion de Se présent dans les érythrocytes, il faut être particulièrement prudent lors du prélèvement sanguin afin d'éviter l'hémolyse qui entraînera des valeurs de Se plasmatique ou sérique faussement élevées (Maas *et al.*, 1992 ; Herdt *et al.*, 2000). A ce propos, on peut observer lors de carence en Se une propension particulière des érythrocytes à l'hémolyse, due à une exposition aux peroxydes lors du stress oxydatif (Siddons et Mills, 1981).

Enfin, une supplémentation en I peut avoir un effet sur le métabolisme du Se. Pavlata et collaborateurs (2005) ont constaté une sélénémie et une activité de la GPX réduites (132 ± 23 $\mu\text{g/L}$ *versus* 88 ± 11 $\mu\text{g/L}$ pour le Se, et 713 ± 153 $\mu\text{kat/L}$ *versus* 484 ± 125 $\mu\text{kat/L}$ pour la GPX) chez des chevreaux recevant environ 350 μg d'I par jour, en comparaison avec des chevreaux ne recevant que 140 μg d'I par jour. La concentration en Se dans la ration était identique dans les deux lots.

1.2.2.3 Analyses sur l'animal : Lait

C'est le Se total qui est mesuré dans le lait entier. L'analyse peut se faire soit au niveau individuel ou alors sur le lait de tank, donnant ainsi une idée du statut sélénique du troupeau, entaché malgré tout des imprécisions liées à l'hétérogénéité des animaux dans le troupeau (cf. *infra*). Il convient de faire attention à ne pas prélever de lait contaminé par du sang (hémo-lactation) qui fausserait le résultat (Se contenu dans les érythrocytes). De plus, les premiers jets doivent être éliminés. Le meilleur prélèvement est celui représentatif de toute une traite. La teneur en Se dans un lait de tank sera donc plus représentative que la valeur d'un pool dont les animaux auront subi une traite incomplète, juste en vue du prélèvement. Le tableau 2 reprend les différentes analyses possibles dans le lait ainsi que les valeurs seuils les plus pertinentes. Au vu des recommandations d'apport en Se ainsi que de l'analyse objective des résultats des différentes études, les seuils d'apports adéquats sont fixés à 15 $\mu\text{g Se/L}$ lors d'ingestion de Se inorganique et à 33 $\mu\text{g Se/L}$ lors d'ingestion de Se organique.

Quel que soit le statut en Se de la vache, la mamelle en exporte davantage dans le colostrum que dans le lait (Salih *et al.*, 1987). Grace et collaborateurs (2001) ont montré que le statut en Se de vaches laitières peut être estimé à partir des concentrations en Se dans le lait. Dès lors, le lait de tank pourrait être utilisé pour déterminer le statut sélénié de tout le troupeau en lactation. Plus on apporte de Se à une ration carencée, plus on augmente la concentration dans le lait. *A contrario*, une plus faible fraction du Se se retrouve dans le lait de vaches correctement pourvues en sélénium (Conrad et Moxon, 1979). En général, la concentration en Se dans le lait est trois à cinq fois moins importante que dans le plasma (Conrad et Moxon, 1979), lorsque les animaux ne sont pas supplémentés en Se ou supplémentés uniquement avec des formes inorganiques (sélénite de soude). L'augmentation de la dose de Se, quelle que soit la forme de Se et la voie d'administration, permet une augmentation de la concentration en Se dans le lait (Maus *et al.*, 1980 ; Salih *et al.*, 1987 ; Grace *et al.*, 1997) même si cette augmentation est malgré tout beaucoup plus importante avec du Se sous forme organique (Knowles *et al.*, 1999 ; Givens *et al.*, 2004 ; Juniper *et al.*, 2006). La concentration en Se dans le lait augmente rapidement dans les dix jours suivant une supplémentation en Se (Se sous forme organique ou inorganique) et atteint son maximum vers trente à quarante jours (Conrad et Moxon, 1979 ; Ortman et Pehrson, 1999 ; Muniz-Naveiro *et al.*, 2005).

De nombreux auteurs ont démontré que la plus grande partie du Se dans le lait se trouve dans la caséine (55 à 75 %) puis dans le petit lait (17 à 33 %) et dans une moindre mesure dans la graisse (7 à 9 %) (Debski *et al.*, 1987 ; Van Dael *et al.*, 1991 ; Awadeh *et al.*, 1998b ; Muniz-Naveiro *et al.*, 2005). Néanmoins, quelle que soit la forme de Se ingérée par la vache, la proportion de Se dans les différentes fractions du lait ne change pas (Muniz-Naveiro *et al.*, 2005).

Le transfert du Se sanguin dans le lait est un processus qui dépend de nombreux facteurs, tels que la forme de Se ingérée par la vache, la dose de Se administrée et enfin le statut en Se de l'animal au départ. De nombreux auteurs ont montré que les formes organiques de Se permettent un transfert beaucoup plus important (30 % d'après Juniper *et al.*, 2006) du Se dans le lait par rapport à une même dose de Se sous forme inorganique (Knowles *et al.*, 1999 ; Ortman et Pehrson, 1999 ; Pehrson *et al.*, 1999 ; Givens *et al.*, 2004 ; Juniper *et al.*, 2006). A ce titre, Ortman et Pehrson (1997) ont montré qu'une supplémentation quotidienne chez des vaches laitières avec 0,75 mg de Se sous forme de Se organique (levures séléniées) induisait des niveaux équivalents de Se dans le lait par rapport à une supplémentation de 3 mg de Se

sous forme inorganique (sélénite de soude). Il convient donc de tenir compte de la forme de Se ingérée pour faire le diagnostic de carence sur base du Se dans le lait.

1.2.2.4 Analyses sur l'animal : Urine

Le lait n'est pas la seule voie d'excrétion pour le Se. L'urine et les matières fécales en sont d'autres (Juniper *et al.*, 2006). De même que pour le lait, c'est le Se total qui est mesuré dans l'urine, mais contrairement au Se contenu dans le lait, le Se dans l'urine n'est lié à aucune matrice (protéine, graisse, sucre) et est simplement excrété tel quel. La première difficulté dans l'analyse de l'urine est le prélèvement en lui-même. Si l'urine est prélevée au jet, il y a un risque de contamination par des sécrétions vaginales/utérines ou des matières fécales. Un nettoyage à l'eau de la région vulvaire est donc indiqué avant de procéder, par exemple, au massage de la région vulvaire pour stimuler la miction. Le prélèvement à la sonde est une autre possibilité mais est impossible chez les mâles et plus difficile chez les jeunes animaux. De plus, il faut faire attention à ne pas blesser l'animal lors du prélèvement car le sang occasionnerait un biais (cf. *infra*).

Le Se est principalement excrété par l'urine et est influencé par le statut en Se dans les reins et les muscles. Une augmentation linéaire des taux urinaires de Se est constatée lorsque les apports alimentaires en Se augmentent (Robinson *et al.*, 1997). Chez la vache Holstein, lors d'apports en Se au-delà des besoins, l'urine semble être un bon moyen diagnostique du statut sélénique (Ellis *et al.*, 1997). Chez l'homme, le Se urinaire est utilisé pour la mesure du statut en Se et il existe une forte corrélation entre les apports alimentaires quotidiens en Se et la sélénurie (Sanz Alaejos et Diaz Romero, 1993). Toutefois, très peu de données de référence existent chez le bovin et ce type de prélèvement n'est donc pas le premier choix.

Le volume et la densité urinaires sont des sources de variation logiques, diluant plus ou moins la concentration urinaire de Se. Dès lors, toute médication influençant la densité ou le volume urinaire (e.g. diurétiques, glucocorticoïdes) sont à proscrire avant un prélèvement. Une façon de contrer ce facteur de variation est de recueillir les urines de 24 heures. Cette méthode est bien entendu trop contraignante que pour être applicable en pratique. Une autre façon de déjouer les variations de densité ou de volume consiste à calculer la fraction d'excrétion du Se. Ce calcul permet de déterminer la proportion de Se excrétée par l'urine en fonction de la proportion de Se dans le sang, corrigée par les concentrations de créatinine sérique et urinaire.

La détermination de la fraction d'excrétion est peu pratique car elle nécessite 4 analyses différentes, dont la créatinine et le Se plasmatique. D'autre part, il n'existe pas de données de référence pour les fractions d'excrétion du Se chez le bovin.

Un autre facteur de variation provient une fois encore de la forme de Se ingérée par l'individu. Chez les humains ingérant du Se sous forme inorganique, une excrétion plus importante de Se par les reins est constatée comparativement à l'ingestion de Se sous forme organique (Robinson *et al.*, 1997). Ce résultat n'a toutefois pas été confirmé par Juniper et collaborateurs (2006) chez le bovin.

1.2.2.5 Analyses sur l'animal : Tissus

La teneur en Se des tissus mous constitue un marqueur de base en cas de carence sévère. Le Se élément peut y être dosé (Braselton *et al.*, 1997), de même que la glutathion peroxydase tissulaire (Ullrey, 1987).

Concrètement, le prélèvement de tissus sur animal vivant n'est applicable qu'au niveau du foie, dont la biopsie, à l'aiguille fine, n'est pas très difficile. Cependant, un risque de saignement et/ou d'infection existe (une antibiothérapie préventive peut être indiquée dans certains cas). Cet acte est pratiqué en routine outre-Atlantique mais peu usité en Europe. Il convient de prélever au minimum 200 mg de tissu hépatique pour l'analyse d'un oligo-élément (par ICP-MS). L'ensemble de la technique de biopsie est décrite dans un article de Ouweltjes et collaborateurs (2007). La biopsie rénale est plus compliquée et ne se pratique pas en routine. Quant au prélèvement musculaire, on pourrait éventuellement y songer en race BBB, à l'occasion d'une césarienne par exemple. En condition de terrain, le prélèvement par biopsie est délicat et découragera souvent l'éleveur et le praticien, surtout si l'échantillonnage doit être pratiqué sur un grand nombre d'individus.

Le prélèvement hépatique, rénal ou musculaire peut toutefois s'envisager plus aisément sur l'animal mort. Dans ce cas, il convient de réfléchir à la validité du diagnostic si l'animal est mort suite à une maladie. Le prélèvement sur un animal sain à l'abattoir sera donc préférable. Néanmoins, les prélèvements de tissus sur les animaux à l'abattoir sont soumis à une législation assez rigide, mettant un frein à ce type de procédure.

Enfin, citons sans plus de détail, car parfois utilisé en pratique surtout pour des raisons de facilité de prélèvement, l'analyse du Se pileaire. Il existe de nombreux inconvénients à cette méthode. Les poils sont très sensibles aux polluants endogènes (sébum, sueur) et exogènes (poussières), de même qu'il existe des variations selon la pigmentation, la longueur du poil, la

saison, la race, le sexe et l'âge (Avram *et al.*, 1998 ; Combs *et al.*, 1982). Dans ces conditions, il serait de plus très difficile de déterminer des valeurs de références. Cette méthode s'avère donc très aléatoire en pratique et n'est pas recommandée pour évaluer le statut en oligo-éléments d'un troupeau, bien que certains laboratoires en proposent l'analyse dans le foie et les reins.

1.2.2.5.1 Sélénium tissulaire

Après absorption, une grande proportion du Se est transférée vers le foie (Patterson *et al.*, 1989). Lors d'excès de Se par rapport aux besoins, une partie du pool de Se hépatique est excrété dans la bile, mais la plupart est récupérée dans le sérum en vue de l'excrétion rénale. Lors d'injections de Se (0,1 à 0,5 mg Se/kg de poids vif sous forme de Na₂SeO₄), il s'accumule principalement dans le foie et est excrété de manière importante via la bile (Archer et Judson, 1994).

Les concentrations les plus élevées en Se se trouvent dans le foie et les reins (Avram *et al.*, 1998). Le Se hépatique est un des meilleurs indicateurs du statut en Se chez l'adulte. Chez le fœtus, le Se s'accumule dans le foie pendant les 120 premiers jours, ensuite la concentration reste alors constante jusqu'à la fin de la gestation. Les valeurs du Se hépatique chez le fœtus sont environ deux à quatre fois plus élevées que chez sa mère (Puls, 1994).

1.2.2.5.2 Glutathion peroxydase tissulaire

Dans les muscles et le foie, on peut doser également la glutathion peroxydase. Les valeurs sont bien corrélées avec les apports alimentaires en Se ainsi qu'avec le Se sanguin (Ullrey, 1987). Néanmoins, il n'existe pas vraiment de concentration de référence chez le bovin. De plus, il ne s'agit pas d'une analyse de routine.

Tableau 2. Principaux examens complémentaires et valeurs seuils proposés pour la détermination du statut en Se chez des vaches adultes.

Marqueur	Prélèvement	Tube	Traitement	Analyse	Carence	Marginal	Adéquat	Unités
Se	Sang (total)	Héparine	Conservation 4°C	ICP-MS	< 60 ^b	60-200 ^b	> 210 (< 1200) ^b	µg/L
				SAA-ET			> 200 ^g	µg/L
Se	Sang (plasma)	Héparine	Au frais 4°C ou congelé (si centrifugé)	ICP-MS	-	50-100 ^e	51-85 ^c	µg/L
				SAA-ET			> 70 ^d	µg/L
							> 100 ^{e,f}	µg/L
Se	Sang (sérum)	Tube sec	<i>Idem</i> plasma	<i>Id.</i> plasma	voir plasma	voir plasma	voir plasma	µg/L
GPX	Sang (total)	EDTA	Conservation 4°C	Kit Ransel	< 75 ^h	75-150 ^h	150-600 ^h	U/gHb
		Héparine		Radox ^a	< 120 ⁱ	120-285 ⁱ	> 285 ⁱ	U/gHb
							> 250 ^j	U/gHb
							120 (< 600) ^o	U/gHb
Se	Lait entier (+Se inorganique)	Tube sec	Frais ou congelé	ICP-MS	-	< 20 ^k	> 28 ^k	µg/L
				HGAAS		12 ^l	> 15 ^{l,e}	µg/L
						< 12 ^m	> 12 ^m	µg/L
						10-20 ^j	> 20 ^j	µg/L
Se	Lait entier (+Se organique)	Tube sec	Frais ou congelé	ICP-MS	-	30 ^m	> 60 ^{m,j}	µg/L
				HGAAS			> 33 ^e	µg/L
Se	Urine	Tube sec	Frais ou congelé	ICP-MS	-	-	50-60 ^k	µg/L
Se	Foie	-	Frais ou congelé	ICP-MS	0.02-0.17 ⁿ	0.12-0.25 ⁿ	0.25-0.5 ⁿ	ppm poids humide
					0.1-0.5 ^b A	0.6-1.25 ^b A	1.25-2.5 ^b A	µg/g MS
					< 1.1 ^b NN	1.1-2.2 ^b NN	2.3-8 ^b NN	µg/g MS
Se	Rein	-	Frais ou congelé	ICP-MS	0.18-0.40 ⁿ	0.4-1 ⁿ	1-1.5 ⁿ	ppm poids humide
Se	Muscles	-	Frais ou congelé	ICP-MS	0.01-0.05 ⁿ	0.05-0.07 ⁿ	0.07-0.15 ⁿ	ppm poids humide

ICP-MS = Inductivity Coupled Plasma/Mass Spectrophotometry ; SAA-ET = Spectrométrie d'Absorption Atomique à atomisation Electro-Thermique ; HGAAS = Hydride Generation Atomic Absorption Spectrophotometry ; A = Adulte ; NN = Nouveau-Né.

^a Selon Paglia et Valentine, 1967^b Kincaid, 2000^c Villar *et al.*, 2002^d Gerloff, 1992^e Ortman et Pehrson, 1999^f Swecker *et al.*, 1989^g Hogan *et al.*, 1993 ; Olson, 1994^h Enjalbert *et al.*, 2006ⁱ Koller *et al.*, 1983^j Guyot *et al.*, 2007a^k Juniper *et al.*, 2006^l Conrad et Moxon, 1979^m Knowles *et al.*, 1999ⁿ Puls, 1994^o Ouweltjes *et al.*, 2007

1.3 OUTILS DE DIAGNOSTIC DE LA CARENCE EN IODE

1.3.1 PREAMBULE : BREF RAPPEL DE PHYSIOLOGIE

L'I est nécessaire à la synthèse des hormones thyroïdiennes que sont la T4 et la T3. Elles contrôlent notamment la synthèse des protéines dans toutes les cellules. Les hormones thyroïdiennes ont ainsi de nombreux rôles sur la croissance, le métabolisme, la production laitière, la thermorégulation, la reproduction et même l'immunité. Le taux de capture de l'I par la thyroïde dépend des apports en I et est déterminé par la sécrétion de deux hormones : la TRH (thyrotrophin-releasing hormone) et la TSH (thyroid stimulating hormone). La TRH est sécrétée par l'hypothalamus et induit à son tour la sécrétion de la TSH au niveau de l'hypophyse.

La TSH agit au niveau des récepteurs de la thyroïde pour promouvoir la synthèse et le relargage de T4 et, dans une moindre mesure, de T3. De plus, les hormones thyroïdiennes participent au contrôle de la sécrétion de TSH par un mécanisme de rétro-contrôle négatif au niveau de l'hypophyse (Vale *et al.*, 1967 ; Emerson *et al.*, 1989 ; Abend *et al.*, 1991).

Des niveaux bas d'hormones thyroïdiennes dus, par exemple, à une carence en I ou à un défaut d'utilisation de l'I (substances goitrogènes dans l'alimentation) peuvent augmenter la sécrétion de la TSH qui peut dès lors être utilisée comme moyen diagnostique dans les cas d'hypothyroïdie.

L'I capturé par la thyroïde est combiné à la tyrosine pour former de la diiodotyrosine (T2) et deux molécules de ce composé sont utilisées pour former la T4, la forme physiologique inactive de l'hormone. La T3 est l'hormone métaboliquement active. Une petite proportion de cette dernière est synthétisée dans la thyroïde mais la grande majorité est formée par désiodation de la T4 au niveau périphérique (Ingar, 1985 ; Nicol *et al.*, 1994). L'activation de T4 en T3 est obtenue par l'action de trois désiodases (types I, II et III) qui sont sélénodépendantes (Arthur *et al.*, 1988 et 1990 ; Larsen et Berry, 1995). La T4 peut également être convertie en reverse-T3 (rT3) qui est métaboliquement inactive (Chopra *et al.*, 1975a,b).

Lorsque le niveau d'I dans la ration satisfait largement aux besoins de l'animal, moins de 20 % de l'I est incorporé dans la glande thyroïde (Sorensen, 1962) alors que lorsque les apports en I sont marginaux, la thyroïde incorpore jusqu'à 30 % de l'I alimentaire (Miller *et al.*, 1975). Enfin, lors de carence sévère en I, la thyroïde hyperplasiée (goitre), peut incorporer jusqu'à 65 % de l'I consommé par la vache (Lengemann et Swanson, 1957).

1.3.2 SIGNES CLINIQUES D'APPEL

1.3.2.1 *Productions*

La diminution de la production laitière est une conséquence importante d'un état d'hypothyroïdie induite par la carence en I ou par l'absorption prolongée d'aliments contenant des substances goitrogènes. Cet état s'accompagne également d'une perte d'appétit conduisant *ipso facto* à une chute de la production laitière et à des troubles de la croissance (Hill, 1991 ; Thrift *et al.*, 1999b).

Une conséquence de l'hypothyroïdie liée à la carence en I chez les ruminants est une prise de poids (Bernal *et al.*, 1999 ; Thrift *et al.*, 1999a,b). Cet effet est intéressant en engraissement. *A contrario*, une consommation excessive d'I peut induire une perte de poids (Fish et Swanson, 1982). Cependant, à des doses ingérées d'I considérées comme normales (0,8 à 3,5 ppm) ou supra-normales (jusqu'à 8,3 ppm), aucun effet sur la consommation de matière sèche, sur le gain de poids ou les performances d'abattage ne sont constatés (Meyer *et al.*, 2007).

1.3.2.2 *Reproduction*

Une diminution des fonctions de reproduction chez la femelle, manifestée par une altération du cycle oestral, est observée lors de carence en I induisant un état d'hypothyroïdie (Hemken, 1960 ; Bernal *et al.*, 1999). De même, des avortements, de la mortalité embryonnaire ou des veaux mort-nés peuvent être observés (Graham, 1991). D'autres études n'ont cependant pas démontré d'effet direct de l'hypothyroïdie sur les performances de reproduction chez le bovin (Thrift *et al.*, 1999a,b). Chez le mâle, la fertilité peut aussi être affectée. Une diminution de la libido et une détérioration de la qualité du sperme sont présentes chez de nombreuses espèces en cas d'hypothyroïdie (Graham, 1991).

1.3.2.3 *Santé*

La manifestation clinique la plus évidente lors de carence en I est l'augmentation de la taille de la thyroïde (goitre) qui essaie ainsi de compenser le déficit iodé (Mee *et al.*, 1995 ; McCoy *et al.*, 1997). La taille de la glande augmente en fonction de la durée de la carence. L'augmentation de la taille de la thyroïde est aisément palpable sous la peau dans la région

laryngée et même parfois, dans les cas plus avancés, visible directement lors de l'inspection clinique de l'animal.

Le goitre implique une carence sévère en I mais n'est pas toujours pathognomonique d'une insuffisance d'apports. Le goitre peut également être la conséquence d'un excès d'I (Zimmermann *et al.*, 2005). Le goitre est plus fréquemment rencontré chez le nouveau-né, même si sa mère ne présente cliniquement aucune anomalie. Mais des modifications pathologiques de la glande peuvent être observées chez la mère et sa progéniture (Wilson, 1975 ; McCoy *et al.*, 1997).

Bien que le goitre puisse, en principe, être associé à de l'hypo- ou à de l'hyperthyroïdie, l'hypothyroïdie est de loin la pathologie thyroïdienne la plus fréquente chez les ruminants (Wilson, 1975). L'hyperthyroïdie est le plus souvent obtenue lors d'une reproduction expérimentale (Thrift *et al.*, 1999a).

La carence en I a des répercussions néfastes sur le développement du fœtus humain, à savoir principalement au niveau cérébral, en provoquant un retard mental (Nunez, 1984), des nerfs (Vries *et al.*, 1986), des poumons (Barker *et al.*, 1990), des muscles (Finkelstein *et al.*, 1991), du tissu adipeux (Giralt *et al.*, 1990) et du cœur (Birk *et al.*, 1992). Le défaut de maturation pulmonaire conduit d'ailleurs à une insuffisance primaire en surfactant pulmonaire chez le veau nouveau-né à terme, responsable du syndrome de détresse respiratoire aigu, fréquent en race BBB (Guyot *et al.*, 2004 ; Rollin *et al.*, 2005). La carence mène également à une mortalité néonatale plus importante, des retards de croissance (Wichtel *et al.*, 1996) et intervient également dans la pathogénie du « weak calf syndrome » (Smyth *et al.*, 1996). Des désordres cutanés tels que de l'œdème sous-cutané ou des dépilations peuvent également apparaître lors de carence en I.

L'I, outre son implication dans le métabolisme des hormones thyroïdiennes et le cas échéant des pathologies qui en découlent, a également un rôle propre dans la prévention et/ou le traitement de pathologies telles que la teigne, la furonculose interdigitée ou encore l'actinobacillose (Miller et Tillapaugh 1967). Cependant, une carence en I n'induit pas forcément ces pathologies. Enfin, Klebanoff (1967) a découvert il y a longtemps que l'iodination des bactéries pouvait être un mécanisme bactéricide.

1.3.3 EXAMENS COMPLEMENTAIRES

1.3.3.1 Analyse de la ration

Les mêmes remarques que celles soulevées pour le Se (carences absolue et relative) sont valables pour l'I. L'I dans la ration est également dosé par ICP-MS. Le tableau 3 reprend les besoins en I chez le bovin. Ces besoins sont déterminés par la quantité d'I nécessaire à l'élaboration des hormones thyroïdiennes. On considère qu'une vache en fin de gestation incorpore environ 1,5 mg d'I par jour dans les hormones thyroïdiennes alors qu'une vache en lactation en incorpore environ 4 à 4,5 mg par jour (Sorensen, 1962). Le climat a également un rôle sur la production des hormones thyroïdiennes, avec des besoins accrus lorsqu'il fait froid. Les normes sont donc variables selon l'état physiologique de l'animal. Considérant ces données, les recommandations du N.R.C. suffisent à couvrir les besoins en I. Néanmoins, il est aisément possible d'augmenter les apports (jusqu'à 5 ppm) sans atteindre de niveau préjudiciable pour la santé de l'animal. Toutefois, sur base des recommandations citées dans la littérature ainsi que sur base de l'expérience propre des auteurs, on peut considérer comme suffisant et raisonnable d'atteindre des apports iodés compris entre 0,5 et 1 ppm en l'absence de substances goitrogènes et quel que soit le stade physiologique de l'animal en période hivernale.

Tableau 3. Besoins quotidiens en I chez les bovins laitiers et viandeux (exprimés en mg par kg de matière sèche).

	Bovins laitiers	Bovins viandeux
Adultes	0,33 ^a (gestantes)	0,5 ^b (toutes catégories)
	0,45 ^a / 0,8-1 ^c (lactantes)	0,2-0,8 ^{d,f}
	0,6 ^a / 1-4,5 ^c (goitrogènes)	1,2-1,8 ^f (goitrogènes)
	0,2-0,8 ^{d,f}	
	1,2-1,8 ^f (goitrogènes)	
Veaux	0,25 ^c	0,25 ^c

^aN.R.C., 2001 ; ^bN.R.C., 2000 ; ^cPuls, 1994 ; ^dINRA, 1988 ; ^fLamand, 1987

Concernant les carences relatives, de nombreuses substances peuvent influencer l'absorption et/ou l'utilisation de l'I. Les principaux facteurs de ce type sont les substances goitrogènes ou les précurseurs de goitrogènes. Dans le passé, les ruminants étaient considérés comme moins

sensibles aux goitrogènes que les non-ruminants, car il était estimé que ces substances étaient détruites dans le rumen. Cependant, des études ultérieures ont démontré que les substances goitrogènes pouvaient passer dans le lait et donc persister au-delà du rumen (Laarveld *et al.*, 1981 ; Hill, 1991). Les substances goitrogènes contenues dans les aliments peuvent accroître les besoins en I de deux à quatre fois, dépendant de la quantité et du type de substances goitrogènes (N.R.C., 2000 et 2001). Il existe plusieurs catégories de substances goitrogènes :

- les glucosides cyanogéniques qui vont être détoxifiés par l'organisme en thiocyanates. Ces derniers capturent l'I et empêchent sa fixation par la thyroïde. On les trouve principalement dans les graines de lin, les patates douces, le trèfle blanc, le manioc cru et le millet.
- les glucosinolates peuvent être hydrolysés en thiocyanates et pour certains en goitrine. On les trouve principalement dans des Brassicacées (crucifères) notamment les choux, le colza (graine, tourteau et plante entière), les navets et les moutardes.
- les thiouracils (tourteau de colza, choux, moutardes) et di-sulfides aliphatiques (oignons).

D'autres aliments présentent également des composés goitrogènes : *Leucaena leucocephala* (métabolite de la minosine), la graine de soja crue et les bettes.

Les thiocyanates exercent une inhibition compétitive au niveau du système de transport actif de l'I et donc diminuent la captation d'I par la thyroïde. Cet effet peut néanmoins être facilement contourné en augmentant la dose d'I dans la ration.

La goitrine, les thiouraciles et les di-sulfides aliphatiques diminuent la synthèse des hormones thyroïdiennes en inhibant la thyroperoxydase et donc l'iodation de la tyrosine dans la glande thyroïde. Avec cette catégorie de goitrogènes, il est difficile de restaurer la synthèse hormonale, même en augmentant les apports exogènes en I. Il convient dès lors de diminuer la proportion d'aliments à risque, ou mieux encore de les supprimer complètement de la ration des animaux lorsque c'est possible.

La consommation de substances goitrogènes est à suspecter lorsque des apports suffisants en I n'induisent pas chez l'animal une augmentation du statut en I ou conduisent à des manifestations cliniques d'hypothyroïdie. Cela peut se marquer, par exemple, par une augmentation de la concentration sanguine en TSH (Laarveld *et al.*, 1981). Une analyse plus fine de la ration avec recherche de substances goitrogènes est alors à conseiller.

Outre les substances goitrogènes « organiques », il existe des substances « inorganiques » qui, lorsque leur teneur dans la ration est importante, peuvent réduire l'absorption de l'I. Il s'agit notamment des nitrates, du rubidium, de l'arsenic, du fluor, du brome, du manganèse, du

calcium, du magnésium, du potassium, du periodate, du chlore (désinfection de l'eau) et des perchlorates (Puls, 1994 ; Konova *et al.*, 1999).

Enfin, la carence en Se perturbe la transformation de la T4 en T3, l'hormone métaboliquement active, et peut engendrer une hypothyroïdie secondaire. En effet, la transformation de T4 en T3 est obtenue par l'action de désiodases qui sont sélénodépendantes.

1.3.3.2 Analyses sur l'animal : Sang

La détermination du statut en I dans le sang est réalisée habituellement sur sérum ou sur plasma. De nombreux marqueurs peuvent y être dosés et sont répartis en deux catégories. La première catégorie, les marqueurs nutritionnels, cible la présence de l'élément I dans l'organisme, qui est en relation avec les quantités d'I présentes dans la ration. Les marqueurs nutritionnels les plus utilisés sont l'I total (IT) et l'I inorganique plasmatique (IIP). D'autres paramètres existent néanmoins, à savoir la mesure de la SPI (serum-precipitable iodine), de la PBI (protein-bound iodine) et de la BEI (butanol-extractable iodine). Ces paramètres (SPI, PBI et BEI) sont majoritairement constitués de T4 et sont très sensibles aux changements de l'activité de la thyroïde. Ils ont été abandonnés car ils reflétaient peu le statut nutritionnel iodé mais surtout à cause de la très grande variabilité entre individus, même au sein d'une même espèce et race. La deuxième catégorie, les marqueurs fonctionnels, concerne plutôt la fonction majeure de l'I dans l'organisme, à savoir la synthèse des hormones thyroïdiennes. Les marqueurs fonctionnels ne s'arrêtent pas à l'investigation de la thyroïde seule mais à tout l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien.

Il convient de préciser que, lors de l'investigation des marqueurs nutritionnels tels que l'I sanguine, urinaire ou du lait, les animaux sélectionnés en vue du diagnostic ne doivent pas avoir été traités de manière locale, parentérale ou orale avec des produits contenant de l'I. Les produits locaux contenant de l'I sont en général des désinfectants (e.g. povidone iodine, teinture d'I) et certains produits de traite utilisés en post-trempage. Dans les produits injectables, citons l'iodure de sodium (NaI, utilisé pour le traitement de l'actinobacillose et l'actinomycose) mais également certaines classes de vermifuges tels que le closantel et le nitroxinil. Les médications orales contenant de l'I sont essentiellement l'iodure de potassium (KI) utilisé couramment dans le traitement des laryngites striduleuses, de l'actinobacillose et de l'actinomycose. Rappelons encore la nécessité d'investiguer le statut en oligo-éléments seulement chez des animaux sains. Les mêmes précautions que celles décrites pour le Se sont

d'usage en ce qui concerne le prélèvement sanguin. Le tableau 4 reprend les principaux dosages réalisables en pratique ainsi que les valeurs seuils les plus pertinentes des marqueurs biochimiques du statut en I.

1.3.3.2.1 Marqueur nutritionnel : IIP

Le dosage de l'IIP évalue la concentration d'I circulant à l'état minéral (iodure) dans le plasma. Il reflète surtout les apports exogènes d'I à très court terme (environ 3 jours) (Allcroft *et al.*, 1954 ; Swanson *et al.*, 1990 ; Mee et Rogers, 1996). L'accroissement des apports d'I augmente l'IIP en quelques heures, tandis que la réduction des apports d'I diminue l'IIP en quelques jours seulement (Rogers, 1999). La détermination de l'IIP est une mesure simple de la supplémentation en I mais elle ne donne aucun renseignement sur la fonction thyroïdienne (Mee *et al.*, 1995 ; Hemingway *et al.*, 2001). L'I inorganique présente des niveaux similaires dans le plasma et le sérum (Puls, 1994). La valeur seuil de 105 µg/L proposée par Rogers (1992) ou Hemingway et collaborateurs (2001) est élevée compte tenu des recommandations d'apports en I précédemment discutées. Selon l'analyse des résultats de ces études, cette valeur seuil correspond à des apports alimentaires en I bien supérieurs à 0,5 ppm. Souvent, ces valeurs ne sont atteintes que grâce à une supplémentation en I de la ration. C'est pourquoi la mesure de l'IIP est plus intéressante lors du contrôle d'une supplémentation en I que pour un diagnostic ponctuel de carence en I, sachant que l'IIP subit des changements très rapides après le début ou l'arrêt d'une supplémentation. Toutefois, une valeur seuil de 50 µg/L, telle que proposée par McCoy et collaborateurs (1997) est plus adaptée aux besoins réels en I, à savoir 0,5 ppm. Mee et Rogers (1994) décrètent également que les apports en I ne sont pas adéquats lorsque l'IIP est inférieure à 50 µg/L.

Il existe de grandes différences entre l'IIP des mères et celui des veaux. Au cours de la gestation, l'organisme maternel transfère des hormones thyroïdiennes et de l'I vers le fœtus, via le placenta. Le statut en I de la mère pendant la gestation conditionne ainsi celui du nouveau-né (Austin *et al.*, 1980 ; McCoy *et al.*, 1997). Des concentrations en I 4 à 8 fois supérieures aux taux plasmatiques maternels sont retrouvées dans le plasma fœtal. A la naissance, la forte concentration en I dans le plasma des veaux nouveau-nés est davantage le résultat d'échanges placentaires que d'un apport colostrale (Austin *et al.*, 1980). La concentration en IIP et en T4 du veau à la naissance, mesurée avant la prise de colostrum, est dès lors largement supérieure à celle de sa mère (McCoy *et al.*, 1997). Après la naissance, les apports iodés sont assurés par le colostrum, puis par le lait. Ces apports sont inférieurs aux apports placentaires sauf si un CMV riche en I est distribué aux mères après vêlage. Dès lors,

la concentration en IIP du veau diminue progressivement de la naissance jusqu'à 10 jours d'âge puis reste stable jusqu'à la fin du premier mois de vie (Davicco *et al.*, 1982).

En médecine humaine, le dosage de l'I total est réalisé mais pas l'IIP. Ce sont principalement des laboratoires vétérinaires qui ont développé cette technique de dosage. Il n'existe donc que peu de laboratoires capables de réaliser ce dosage, on en trouve seulement en France et en Irlande. La méthode utilisée est celle décrite par Aumont et Tressol (1987) et consiste d'abord en une séparation des protéines et de l'I lié aux hormones thyroïdiennes (=I organique), par précipitation à l'éthanol et chromatographie échangeuse d'ions. Après une minéralisation alcaline suivie d'une solubilisation des cendres dans l'eau, l'I inorganique est déterminé par un dosage colorimétrique à 421 nm (réaction de Sandell et Kolthoff). L'ICP-MS pourrait être utilisé mais la première étape de précipitation de protéines et séparation de l'I organique reste indispensable.

1.3.3.2.2 Marqueur nutritionnel : IT

L'I total comporte l'I inorganique ainsi que l'I lié aux hormones thyroïdiennes. Ce marqueur suit donc les variations de l'apport exogène d'I ainsi que les variations des hormones thyroïdiennes. Bien que l'IT soit en relation avec l'I dans la ration (Austin *et al.*, 1980), ce paramètre reste néanmoins difficile à interpréter à cause des variations de la fonction thyroïdienne qui s'ajoutent à celles des apports en I dans la ration. La contribution des hormones thyroïdiennes à l'apport en I total n'est pas négligeable. Par exemple, à une valeur plasmatique de T4 totale (TT4) de 100 nmol/L correspond une quantité d'I équivalente à environ 50 µg d'I/L. Dès lors, la concentration en IT de 100 µg/L, considérée comme adéquate par Kincaid (2000), est un seuil convenable en comparaison avec les valeurs en IIP des autres auteurs. De façon semblable à l'IIP, les mêmes rapports de concentration entre mère et fœtus sont observés avec l'IT (Austin *et al.*, 1980 ; Puls, 1994). Le dosage de l'IT se fait par ICP-MS, sans traitement préalable.

1.3.3.2.3 Marqueur fonctionnel : TSH

La TSH ou thyrotropine est une glycoprotéine produite dans la partie antérieure de l'hypophyse. L'hormone TSH est composée de deux sous-unités : la sous-unité α qui est commune pour toutes les hormones glycoprotéiques et la sous-unité β qui est spécifique de chaque hormone (Shome *et al.*, 1968 ; Fairlie *et al.*, 1996). La TSH est spécifique de chaque espèce, ce qui demande donc la mise au point d'une technique de dosage par espèce. La thyrotropine-releasing hormone (TRH) est un petit neuropeptide de 3 acides aminés

(glutamine, histidine et proline) produit dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus. La TRH contrôle la sécrétion de la TSH.

Des niveaux faibles en hormones thyroïdiennes dus, par exemple, à une carence en I ou à un défaut d'utilisation de l'I associé à des substances goitrogènes dans l'alimentation peuvent augmenter la sécrétion de TSH, qui peut être utilisée comme moyen diagnostique dans les cas d'hypothyroïdie. La TSH est donc un marqueur indirect de la carence en I. Elle est un marqueur fonctionnel qui revêt son intérêt seulement lorsque la carence en I est suffisamment profonde que pour induire un trouble du fonctionnement de la thyroïde.

La TSH est utilisée comme moyen de diagnostic de l'hypothyroïdie et de l'hyperthyroïdie chez de nombreuses espèces animales telles que l'homme (Spencer *et al.* 1987 ; Elmlinger *et al.* 2001), le cheval (Breuhaus, 2002) et le chien (Williams *et al.* 1996 ; Boretti et Reusch 2004). Chez ces espèces, le dosage se pratique en routine. Chez le bovin, il n'existe actuellement pas de dosage de routine de la TSH bien que la technique ait déjà été utilisée à plusieurs reprises auparavant (Hopkins *et al.*, 1975 ; Convey *et al.*, 1978 ; Elsasser *et al.*, 1992 ; Stewart *et al.*, 1994 ; Cvejic *et al.*, 1995). Par le passé, de nombreux cas de goitre ont été décrits dans l'espèce bovine sans investigation de TSH. D'autres marqueurs tels que les hormones thyroïdiennes (Takahashi *et al.*, 2001), l'IIP/IT sanguin ou le poids de la thyroïde chez les veaux mort-nés étaient alors utilisés (Wilson, 1975 ; Seimiya *et al.*, 1991 ; Ghergariu et Roca, 1995). Très récemment, un intervalle de référence pour la TSH bovine a été proposé par Guyot et collaborateurs (2007b) pour du bétail adulte et des veaux nouveau-nés. Les valeurs de TSH chez le nouveau-né ont été confrontées avec celles de veaux nouveau-nés goitreux. A l'exception des valeurs proposées par Guyot et collaborateurs (2007b), les seuils proposés dans le tableau 4 ont peu de valeur diagnostique compte tenu du fait qu'aucune valeur « pathologique » n'est disponible. On peut supposer que des valeurs en TSH supérieures à celles proposées sont pathologiques (suspicion d'hypothyroïdie). Pour des valeurs de TSH très faibles (suspicion d'hyperthyroïdie), la limite de détection du RIA peut néanmoins considérablement gêner l'interprétation du résultat.

Le prélèvement pour le dosage de la TSH se fait sur tube sec ou hépariné. Chez l'homme, il a été démontré que l'activité de la TSH est relativement stable, quelles que soient les conditions de stockage du prélèvement sanguin (Koliakos *et al.* 1999 ; Foucher *et al.* 2005). Kashiwai et collaborateurs (1991) ont noté une dégradation de l'hormone après congélation lors de test de TSH humaine dans un tampon. Cependant, quand ils ont ajouté 1 % d'albumine dans le tampon, ils ont ainsi prévenu la dégradation de l'hormone. On peut supposer que ces

observations à propos de la TSH humaine sont transposables chez le bovin d'autant plus que dans le sérum ou le plasma, la concentration en albumine est bien supérieure à 1 %.

Le dosage de la TSH se fait par radioimmunoassay (RIA) de compétition (= 1^{ère} génération de RIA). Jusqu'à présent, il n'existe pour l'espèce bovine que des tests RIA de 1^{ère} génération. Ce type de RIA n'est pas assez sensible pour des valeurs très faibles de TSH et donc pour diagnostiquer l'hyperthyroïdie. Seul le diagnostic de l'hypothyroïdie est par conséquent envisageable avec cette méthode. Chez le chien et chez l'homme, il existe une méthode plus sensible appelée dosage immunoradiométrique (IRMA) qui est un RIA de 2^{ème}, 3^{ème} voire 4^{ème} génération. Ces méthodes permettent d'investiguer des valeurs extrêmement basses de TSH.

Plusieurs facteurs sont susceptibles de faire varier la concentration en TSH. Chez l'homme, les glucocorticoïdes peuvent interférer avec la sécrétion de TSH en la diminuant (Re *et al.*, 1976). D'autres médicaments peuvent également interférer avec la sécrétion de TSH mais ne sont pas enregistrés chez les animaux. La pulsativité de la sécrétion de TSH peut occasionner un biais lorsque la concentration en TSH de plusieurs individus est comparée. La pulsativité de la TSH a été décrite chez le bovin (Thomas *et al.*, 1974 ; Stewart *et al.*, 1994 ; Guyot *et al.*, 2007b) mais peu d'études ont décrit la sécrétion et le rythme circadien de la TSH dans cette espèce. Chez l'homme, la TSH suit un pattern de sécrétion pulsatile également. Le nadir est atteint dans l'après-midi et le pic de sécrétion la nuit (Patel *et al.*, 1972). Chez le bovin, une étude a montré que l'inverse se produisait, avec une concentration en TSH plus haute la journée et plus basse la nuit (Guyot *et al.*, 2007b).

Chez le bébé nouveau-né, la TSH est connue pour augmenter très fortement dans les heures qui suivent la naissance (pic appelé « TSH-surge ») pour se stabiliser à des niveaux plus bas environ 48 heures après la naissance. Pareil phénomène se produit également chez les animaux (Nathanielsz, 1975). Des valeurs élevées en TSH sont donc fréquentes chez le nouveau-né mais ne doivent pas être systématiquement associées à de l'hypothyroïdie. C'est pourquoi le sang des bébés de moins de 24 heures n'est pas le prélèvement idéal pour un screening de la TSH chez les humains (Lott *et al.*, 2004).

Enfin, il est également possible de mesurer la concentration de TSH après un test de stimulation à la TRH. Cette méthode consiste à injecter de la TRH à l'animal et à observer par la suite la réponse de l'hypophyse en terme de décharge de TSH et indirectement la réponse de la thyroïde (sécrétion de T4 et T3) suite à la stimulation par la TSH. Ce test permet de vérifier l'intégrité de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien. Cependant, d'une part l'injection de TRH n'est pas autorisée chez les bovins (médicament non enregistré pour les

bovins) et, d'autre part, les dosages de TSH (et T4, T3) doivent être répétés à intervalles réguliers pendant plusieurs heures après l'injection de TRH, ce qui rend le protocole particulièrement lourd et coûteux. De plus, il n'existe pas de valeurs de référence pour ce test chez le bovin. Il n'est donc pas applicable en pratique bovine et est réservé aux protocoles de recherche.

1.3.3.2.4 Marqueurs fonctionnels : T4 et T3 totales et libres

Les hormones thyroïdiennes circulantes peuvent se retrouver sous deux formes dans la circulation sanguine : la forme libre (1 %) et la forme liée (99 % dont 9 % de T3 et 90 % de T4) (De Nayer et Glinoyer, 1985). Seules les fractions libres sont disponibles pour être utilisées par les tissus périphériques et seules les fractions libres contrôlent la sécrétion de TRH à partir de l'hypothalamus et celle de TSH à partir de l'hypophyse (Bantle *et al.*, 1980).

Les hormones thyroïdiennes circulant dans le plasma sont liées de manière covalente à des protéines assurant leur transport. Ces protéines sont la Thyroxine Binding Globulin (TBG), l'albumine et la Thyroxine Binding Prealbumin (TBP). La TBG possède une plus grande affinité pour la T4 mais peut également transporter la T3. Sa capacité de transport se voit limitée par sa faible concentration plasmatique. L'albumine a une moindre affinité pour la T4 et la T3 mais, par sa concentration plasmatique plus importante, possède une capacité de transport supérieure à celle de la TBG. Lors de déficience en TBG, l'albumine devient la principale protéine de transport des hormones thyroïdiennes. La TBP est spécifique à la T4 et sa capacité de transport est intermédiaire aux deux précédentes. La concentration en hormones thyroïdiennes totales est dépendante du taux de protéines de transport et est donc moins fiable que la concentration des hormones libres. Cependant, le dosage des hormones totales est beaucoup plus fréquemment réalisé en routine car il est plus facile que le dosage des hormones libres.

Les hormones thyroïdiennes présentent un intérêt en tant qu'indicateur à long terme d'une insuffisance thyroïdienne mais sont peu spécifiques de la nutrition iodée. En effet, de nombreuses études ont montré le manque de corrélation entre les hormones thyroïdiennes et le taux d'I dans le sang, l'urine ou le lait (Swanson *et al.*, 1990 ; Whitaker, 1999 ; Randhawa et Randhawa, 2001 ; Hemingway *et al.*, 2001 ; Soldin *et al.*, 2005). Seule une carence sévère et prolongée en I peut modifier les taux circulants d'hormones thyroïdiennes. En effet, l'administration d'une ration fortement carencée en I pendant une longue période (4 mois) s'est avérée nécessaire pour obtenir une diminution de la thyroxinémie chez des brebis (Potter *et al.*, 1982). Néanmoins, une valeur plasmatique en T4 inférieure à 20 nmol/L est considérée

par Whitaker (1999) comme un bon index d'un apport inadéquat en I à long terme. Chez des bovins goitreux (hypothyroïdiens), les concentrations en T4 et T3 sont globalement inférieures à celles d'animaux sains (Ghargariu et Roca, 1995 ; Takahashi *et al.*, 2001). Pour définir le seuil adéquat, la fourchette la plus large (entre 25 et 130 nmol/L pour la TT4 et entre 0,8 et 4 nmol/L pour la TT3) proposée dans le tableau 4 tient compte d'une plus grande population d'animaux sains et est dès lors plus représentative. Il est plus difficile d'établir des seuils chez le nouveau-né étant donné les grandes variations des taux hormonaux présents à la naissance (voir paragraphe suivant). Les valeurs des hormones thyroïdiennes présentées comme « carence » dans le tableau 4 correspondent à des animaux hypothyroïdiens présentant un goitre. Chez l'homme, des niveaux bas en rT3 peuvent être trouvés chez des patients hypothyroïdiens, même si de grandes variations dans les taux sécrétés peuvent se produire (Klein *et al.*, 1978). Malheureusement, aucune valeur de référence n'est disponible pour le veau ou la vache adulte.

Il est intéressant de doser la T4 et la T3 simultanément. En effet, le ratio T4/T3 est plus sensible pour diagnostiquer les troubles thyroïdiens que la T4 ou la T3 seules, comme le suggèrent les résultats des travaux de Takahashi et collaborateurs (2001) chez des veaux nouveau-nés goitreux. Un rapport T4/T3 de 40-50 chez les veaux sains nouveau-nés est en effet proche de celui des animaux adultes (45-90) et nettement supérieur au rapport T4/T3 chez les veaux nouveau-nés goitreux hypothyroïdiens (5-25). De plus, comme il a déjà été mentionné, la concentration en T3 n'est pas seulement fonction de la concentration de son précurseur (T4) mais également de l'enzyme désiodase sélénio-dépendante. Dès lors, une carence en Se peut mimer une symptomatologie d'hypothyroïdie par carence en I en empêchant la formation de l'hormone thyroïdienne active T3. Wichtel et collaborateurs (1996) ainsi que Awadeh et collaborateurs (1998b) ont, à ce propos, montré chez le bovin qu'une supplémentation en Se engendre une élévation de la T3 et une diminution de la T4 au niveau sanguin. De même, Arthur et collaborateurs (1988) ont rapporté chez le bovin qu'une carence en Se peut causer une diminution significative de la T3 et une augmentation de la T4. Les hormones thyroïdiennes du veau nouveau-né augmentent fortement dans les heures suivant le vêlage et leur concentration diminue jusqu'à 5 à 10 jours après la naissance (Hernandez *et al.*, 1972 ; Davicco *et al.*, 1982 ; Takahashi *et al.*, 2001). Ce phénomène est sans doute à mettre en relation avec la « TSH-surge » évoquée précédemment. La r-T3 est connue chez l'homme et les ruminants pour être présente à de hautes concentrations également à la naissance (Chopra *et al.* 1975a,b). Les variations des taux de rT3 dans le sérum des nouveau-nés peuvent être dues aux variations du substrat (T4).

Les hormones thyroïdiennes sont également soumises à des variations dues à la gestation, au stade de lactation, à la saison et au moment de la journée (rythme circadien). Autour du vêlage, les hormones thyroïdiennes chutent (Strbak et Tomsik, 1988) pour retourner aux valeurs du pré-partum dès 5 jours après le vêlage (Nikolic *et al.*, 2003). Durant la lactation, les taux de T4 augmentent alors que les taux de T3 et rT3 restent constants (Akasha *et al.*, 1987). Pezzi et collaborateurs (2003) ainsi que Meikle et collaborateurs (2004) observent des valeurs en T4 et T3 plus basses en début de lactation, augmentant vers le milieu de lactation puis chutant en fin de lactation. Les taux hormonaux sont plus élevés chez les multipares par rapport aux primipares (Meikle *et al.*, 2004). Les taux d'hormones thyroïdiennes varient également en fonction de la saison (Khurana et Madan, 1986 ; Nixon *et al.*, 1988), même si Nixon et collaborateurs (1988) considèrent que le stade de lactation a davantage d'influence que la saison sur ces taux d'hormones. Magdub et collaborateurs (1982) suggèrent que la baisse des concentrations plasmatiques en TT3 et TT4 serait due à une baisse de la synthèse hormonale lors de stress calorique (e.g. canicule).

Chez le bovin, la concentration plasmatique en hormones thyroïdiennes varie selon un rythme circadien (Bitman *et al.*, 1994). Le nadir se situe au lever du jour et le pic dans la soirée. Les deux extrêmes sont espacés de 12 heures. L'ensemble de l'oscillation journalière de la T4 suit de 2 heures environ celle de la T3. Le rythme circadien de la T4 plasmatique est directement relié à un rythme de sécrétion thyroïdienne alors que la T3 provient essentiellement des désiodinations périphériques.

Enfin, dans des cas où l'animal souffre d'une maladie systémique non-thyroïdienne, une diminution de la T3 plasmatique, une augmentation de la rT3 et, dans des cas sévères, une diminution de la T4 et de la TSH peuvent être observées. Il s'agit de l'« *euthyroid sick syndrome* » (Lohuis *et al.*, 1988 ; Larsson *et al.*, 1995 ; Janosi *et al.*, 1998). Le parasitisme intestinal peut également faire chuter la thyroïdémie (Prichard *et al.*, 1974).

Le dosage des hormones thyroïdiennes totales ou liées (T4, T3 et rT3) se fait par RIA de compétition. Il existe sur le marché de nombreux kits, souvent de médecine humaine, qui peuvent être aisément validés pour le dosage chez le bovin. Ce dosage se fait en routine dans certains laboratoires vétérinaires et humains. Par contre, le dosage des hormones libres est un peu plus complexe. Il nécessite une étape de filtration et de dialyse à l'équilibre afin de séparer les hormones liées des hormones libres. Ensuite, le dosage se passe comme un RIA traditionnel. Il existe des kits humains pour le dosage des hormones thyroïdiennes libres. Cependant, en raison des différences qui peuvent exister au niveau des protéines transporteuses et des concentrations sériques des hormones, l'utilisation de ces kits est

hasardeuse chez le bovin. Une validation de ces kits pour le bovin est préalablement nécessaire.

1.3.3.3 Analyses sur l'animal : Lait

L'I total est mesuré dans le lait entier. Son dosage peut se faire soit par ICP-MS soit par la réaction de Sandell-Kolthoff (Aumont et Tressol, 1986). L'analyse peut se faire au niveau individuel ou sur le lait de tank, avec les mêmes recommandations et remarques que pour le Se dans le lait (*cf. supra*).

L'I dans le lait est un marqueur nutritionnel mais pas fonctionnel. Le tableau 4 reprend les valeurs seuils les plus pertinentes d'I dans le lait lors de diagnostic de carence en I. Rollin (2003) considère comme adéquates des valeurs supérieures à 80 µg/L lait. Cependant, pour les mêmes raisons que celles décrites pour l'IIP, la limite de carence devrait être abaissée à 30 µg/L, comme le proposent différents auteurs (Alderman et Stranks, 1967 ; Puls, 1994 ; Kincaid, 2000).

L'I est principalement excrété *via* l'urine (40 %) et les fèces (30 %) mais également dans une petite proportion *via* le lait (8 %) (Miller *et al.*, 1975). Chez des vaches ayant une production laitière moyenne, environ 10 % de l'I ingéré est excrété dans le lait (Swanson *et al.*, 1990). Le taux d'I dans le lait est influencé par les apports en I dans la ration, la saison, le niveau de production laitière et l'utilisation de produits de trempage des trayons contenant de l'I.

La concentration en I dans le lait de vache augmente linéairement avec les apports en I dans la ration (Alderman et Stranks, 1967 ; Hemken *et al.*, 1972 ; Berg *et al.*, 1988 ; Swanson *et al.*, 1990 ; Grace et Waghorn, 2005). La teneur en I dans le lait varie au cours de la lactation. Elle est souvent plus grande dans le colostrum que dans le lait. Néanmoins, Iwarsson et collaborateurs (1973) ont constaté des valeurs plus élevées dans le lait de vaches en lactation par rapport au colostrum. Les variations observées seraient toutefois davantage liées à la production laitière et à l'alimentation. Il existe en effet une corrélation positive entre la teneur en I dans le lait et la production laitière (Miller *et al.*, 1975 ; Daburon *et al.*, 1989 ; Swanson *et al.*, 1990). Plus la production laitière augmente et plus la teneur en I dans le lait augmente, ce qui va à l'encontre d'un phénomène de dilution auquel on aurait pu s'attendre. De plus, le lait d'hiver est plus riche en I que celui de printemps et d'été. Au printemps, les animaux consomment de l'herbe jeune et pauvre en oligo-éléments et reçoivent en général peu de compléments minéraux. *A contrario*, durant l'hiver, les bovins consomment des concentrés et

minéraux enrichis en I. C'est ainsi que d'une manière générale les teneurs en I dans le lait sont plus faibles chez les animaux au pâturage comparativement à ceux qui sont en stabulation (Nelson et Phillips, 1985).

La concentration en I dans le lait est proportionnelle à l'ingestion d'I mais également à la concentration en I sanguin (Alderman et Stranks, 1967 ; Berg *et al.*, 1988 ; Swanson *et al.*, 1990 ; Herzig *et al.*, 1999). Néanmoins, lorsque la supplémentation en I est arrêtée, l'I dans le lait décroît plus lentement que l'I urinaire (Herzig *et al.*, 1999) et l'I sanguin (Swanson *et al.*, 1990).

Dans une revue concernant plusieurs études, Miller et collaborateurs (1975) ont montré que les formes organiques d'I telles que l'éthylènediaminedihydroiodide (EDDI) ingérées par les vaches entraînent un meilleur transfert de l'I dans le lait. Cependant, ces formes ne sont pas autorisées dans l'alimentation du bétail en Europe.

Le dosage de l'I dans le lait de tank est largement utilisé en médecine bovine. Aux Etats-Unis, le dosage de l'I dans le lait a été utilisé pour contrôler les risques de toxicité de l'I pour les humains (Hemken, 1980). La concentration en I dans le lait ne peut pas dépasser 500 µg/L. En effet, la teneur en I dans le lait de vache dans ce pays a augmenté depuis plusieurs décennies. La raison provient d'une augmentation des apports iodés dans l'alimentation, le pré- ou post-trempage des trayons avec un agent iodé et l'utilisation de produits iodés dans le nettoyage des installations de traite. A ce titre, lors de l'évaluation du statut iodé de vaches dans une exploitation, il faut éliminer le lait provenant d'animaux dont le pré- ou post-trempage a été réalisé avec des produits iodés. Les résidus d'I sur la peau des trayons peuvent en effet contaminer le lait dans le tank (Aumont, 1987).

L'I dans le lait tend à être retenu dans les graisses. Il faut donc prélever de préférence du lait entier afin de ne pas sous-estimer les teneurs réelles. Dans le lait, la plus grande partie de l'I est sous forme inorganique (iodure). L'I dans le lait est surtout lié aux protéines. Si on écarte la partie protéique du lait, on retire environ deux tiers de l'I (Alais, 1984). Bien qu'environ 16 % de l'I total sécrété dans la glande mammaire est présent dans la crème, presque tout l'I dans la crème se trouve dans la partie non grasseuse (sérum) (Miller *et al.*, 1975). Dans le lait, on trouve également des hormones thyroïdiennes apportant de l'I sous forme organique. Cependant, les concentrations en hormones thyroïdiennes dans le lait sont négligeables soit jusqu'à 100 fois moins que dans le sang pour T4 et 5 fois moins pour T3 (Akasha *et al.*, 1987).

1.3.3.4 Analyses sur l'animal : Urine

De même que pour le lait, l'I total est mesuré dans l'urine. Une partie minime de cet I est excrétée sous forme d'I organique (hormones thyroïdiennes) mais la majeure partie l'est sous forme d'iodure. Des remarques identiques à celles évoquées concernant la prise d'urine pour le dosage de la sélénurie sont d'application pour l'I. Le dosage de l'I urinaire peut se faire soit par ICP-MS, soit par la réaction de Sandell-Kolthoff (Aumont et Tressol, 1986). Le tableau 4 ne propose que deux références d'I dans l'urine chez des animaux carencés ou non en I, les données à ce sujet chez la bête bovine étant rares.

Chez l'homme, la mesure de l'I urinaire est la technique de référence pour évaluer les apports iodés (Delange *et al.*, 2002). L'I est principalement excrété par l'urine. Chez le bovin, lorsque les apports en I ne dépassent pas les recommandations habituelles, l'excrétion urinaire se situe autour de 40 % (Miller *et al.*, 1975). L'I urinaire reflète également les apports en I chez les bovins (Herzig *et al.*, 1996 et 1999). Considérant que l'excrétion urinaire d'I peut être mise en relation avec les apports en I et que l'IIP est directement et rapidement influencé par les apports alimentaires (Swanson *et al.*, 1990), l'I urinaire et l'IIP peuvent être également corrélés.

Lorsqu'un dysfonctionnement de la thyroïde n'a pas pour origine une carence en I mais est secondaire à une carence en Se ou à l'absorption de substances goitrogènes, l'excrétion d'I dans l'urine sera malgré tout élevée. Dans ces cas, l'iodurie n'est pas un bon indicateur du statut thyroïdien. Par ailleurs, Soldin et collaborateurs (2005) ont indiqué chez l'être humain que l'I urinaire est un bon marqueur des apports en I (marqueur nutritionnel) mais n'est pas en relation avec la fonction thyroïdienne.

Les mêmes problèmes évoqués lors de l'analyse du Se dans l'urine peuvent être également soulevés pour le dosage de l'I urinaire. Dans les hôpitaux humains, les urines de 24 heures sont habituellement recueillies. Les fractions d'excrétion sont également envisageables. Il n'existe toutefois pas de normes concernant les fractions d'excrétion de l'I chez le bovin.

1.3.3.5 Analyses sur l'animal : Tissus

Le principal tissu intéressant à prélever dans le cadre de l'investigation des apports iodés est la thyroïde. A ce propos, Miller et collaborateurs (1975) ont montré que les autres tissus, tels que les muscles squelettiques, présentent une plus faible concentration en I.

Diverses analyses peuvent être réalisées sur la thyroïde. En *ante-mortem*, la détermination de son volume peut se faire par échographie. En *post-mortem*, le poids de la thyroïde peut être simplement mesuré mais l'histologie de la glande ou encore la détermination en I thyroïdien sont également envisageables. Les biopsies de thyroïde sur l'animal vivant sont à proscrire étant donné la difficulté et les risques liés à la réalisation de cette méthode.

1.3.3.5.1 Poids de la thyroïde

Le poids de la thyroïde est une mesure facile à réaliser lors d'autopsie. Un poids excessif signale la présence d'un goitre mais pas nécessairement une hypothyroïdie comme précédemment expliqué. Néanmoins, Wilson (1975) suggère que la majorité des troubles thyroïdiens chez le bovin est de l'hypothyroïdie. Le poids de la thyroïde a surtout été investigué lors de goitres congénitaux chez des veaux.

Le poids normal d'une thyroïde est fonction du poids vif du veau et a été déterminé par Hernandez et collaborateurs (1972) selon l'équation suivante :

$$Y = 0,348 \times Z^{0,944}$$

où Y est le poids estimé de la thyroïde du veau, en grammes et Z le poids vif du veau en kg. Seimiya et collaborateurs (1991) ont comparé le poids de la thyroïde de veaux morts avant et après un programme de supplémentation des mères en sel iodé. Le poids moyen des thyroïdes avant l'apport de sel iodé était de 36,3 grammes contre 12,0 grammes après supplémentation en sel iodé. Smyth et collaborateurs (1996) ont rapporté chez des veaux mort-nés ou faibles que l'histologie de la glande était normale dans seulement 1 % des thyroïdes de plus de 30 grammes, indiquant une grande probabilité qu'une thyroïde de plus de 30 grammes soit anormale. Cependant, 76 % des glandes histologiquement anormales pesaient moins de 30 grammes. De plus, les glandes thyroïdes anormales représentaient un pourcentage plus élevé du poids du veau et présentaient une teneur en I inférieure à celles de thyroïdes normales. La limite de poids de la thyroïde devrait être diminuée à 13 grammes dans le cadre du diagnostic du goitre congénital.

1.3.3.5.2 Histologie de la thyroïde

Des anomalies histologiques de la glande thyroïde sont décrites chez des génisses et leur descendance carencées en I. Ces changements histologiques sont accompagnés d'une diminution de l'IIP et de l'I dans la glande mais on n'observe pas de diminution de T4 dans le plasma (McCoy *et al.*, 1997).

Les modifications histologiques trouvées chez des veaux goitreux consistent en une hyperplasie puis une hypertrophie de l'épithélium cuboïdal des follicules thyroïdiens (thyrocytes) ainsi qu'une diminution de la quantité de colloïde (Seimiya *et al.*, 1991 ; McCoy *et al.*, 1997). Smyth et collaborateurs (1996) ont suggéré que l'hyperplasie était un meilleur index de la carence en I que le poids de la thyroïde mais les deux éléments peuvent être anormaux chez des veaux sains (Mee *et al.*, 1995 ; McCoy *et al.*, 1997).

1.3.3.5.3 Dosage de l'I thyroïdien

Le dosage de l'I thyroïdien est plus anecdotique que pratique dans le diagnostic de la carence en I chez le bovin. Lors de goitre, la quantité d'I dans la glande est réduite. Néanmoins, des valeurs normales comprises entre 600 et 1500 µg d'I par gramme de tissu ont été rapportées dans la littérature. En cas de carence, cette concentration chute en-dessous de 300 µg d'I par gramme de thyroïde (Smyth *et al.*, 1996).

1.3.3.5.4 Volume thyroïdien

La mesure du volume thyroïdien peut se faire par échographie. Une sonde de type linéaire, droite, avec une fréquence supérieure ou égale à 7,5 Méga-Hertz est utilisée pour obtenir une image de qualité. Usuellement, le volume se calcule après mesure des longueur, largeur et profondeur maximales de chaque lobe de la thyroïde. Le volume d'un lobe se calcule selon la formule :

$$\text{Longueur} \times \text{largeur} \times \text{profondeur} \times 0,479$$

où la longueur correspond au diamètre crânio-caudal, la largeur au diamètre médio-latéral, la profondeur au diamètre antéro-postérieur et 0,479 à un facteur correctif pour le calcul d'un volume ellipsoïdal, dérivé de la valeur $\pi/6$. Le volume des deux lobes est alors additionné. Le volume de l'isthme n'est habituellement pas mesuré (Brunn *et al.*, 1981 ; WHO & ICCIDD, 1997).

Chez l'homme, une corrélation significative entre le volume thyroïdien et les apports en I a été démontrée (Rasmussen *et al.*, 2002b). Chez le chien, l'échographie thyroïdienne permet également de distinguer les animaux euthyroïdiens des animaux hypothyroïdiens (Reese *et al.*, 2005). Il n'existe malheureusement pas encore d'études réalisées chez le bovin présentant des mesures du volume thyroïdien chez des animaux sains et des animaux souffrant de pathologies thyroïdiennes. Toutefois, Braun et collaborateurs (1994) ont validé une technique de mesure de la thyroïde chez la vache adulte.

Tableau 4. Principaux examens complémentaires et valeurs seuils proposés pour la détermination du statut en I et thyroïdien chez les bovins adultes et le veau nouveau-né (NN).

Marqueur	Prélèvement	Tube	Traitement	Analyse	Carence	Marginal	Adéquat	Unités	
IIP	Sang (plasma)	Héparine	Au frais 4°C ou congelé (si centrifugé)	Sandell-Kolthoff ^a	< 25 ^b	25-50 ^b	51-380 ^b	µg/L	
				ICP-MS	< 51 ^d	51-104 ^d	> 105 ^{d,i}	µg/L	
IT	Plasma/Sérum	Hép./Sec	Idem IIP	ICP-MS	< 50 ^e	50-100 ^e	100-400 ^e	µg/L	
TSH	Plasma/Sérum	Hép./Sec	Idem IIP	RIA	(NN) > 35 ^y	-	(NN) 1.3-19.7 ^y	µU/ml	
							1.3-13.0 ^y	µU/ml	
							3,8-26,9 ^f	µU/ml	
							(NN) 2.0-5.0 ^m	µU/ml	
							0,5-1 ^g	ng/ml	
							0,5-1,7 ^h	ng/ml	
T4 Totale (TT4)	Plasma/Sérum	Hép./Sec	Idem IIP	RIA	(NN) 6-142 ^l	-	(NN) 232-373 ^l	nmol/L	
							< 20 ⁿ	64-116 ^l	nmol/L
							(NN) 39-195 ^o	(NN) 112-372 ^o	nmol/L
							< 30 ^e	30-129 ^e	nmol/L
							(NN) < 15 ^y	(NN) 84-283 ^y	nmol/L
							25-95 ^y	nmol/L	
							62-80 ^j ; 46-120 ^k	nmol/L	
T4 Libre	Plasma/Sérum	Hép./Sec	Idem IIP	RIA	-	-	0,015-0,033 ^k	nmol/L	
T3 Totale (TT3)	Plasma/Sérum	Hép./Sec	Idem IIP	RIA	(NN) 0,6-13,9 ^o	-	(NN) 2,3-15 ^o ; 4,95-6,93 ^m	nmol/L	
							(NN) 0,62-12,37 ^l	(NN) 6,49-9,28 ^l	nmol/L
								0,93-1,7 ^l	nmol/L
								1,86-2,13 ^j	nmol/L
							0,88-4,05 ^k	nmol/L	
T3 Libre	Plasma/Sérum	Hép./Sec	Idem IIP	RIA	-	-	0,002-0,012 ^k	nmol/L	
rT3	Plasma/Sérum	Hép./Sec	Idem IIP	RIA	-	-	0,46-0,55 ^j	nmol/L	
IT	Lait (entier)	Sec	Frais ou congelé	ICP-MS	< 25 ^{e,q}	-	> 100 ^r	µg/L	
				Sandell-Kolthoff ^p	< 30 ^s		30-300 ^{e,s}	µg/L	
IT	Urine	Sec	Frais ou congelé	Idem IT lait	< 50 ^t	50-100 ^t	> 100 ^{e,s,t}	µg/L	
Poids	Thyroïde	-	Frais	Balance	(NN) >30 ^{v,w} ; >13 ^x	NN 10-13 ^x	(NN) 5-12 ^u ; 12 ^v ; <10 ^x	g.	
^a Aumont et Tressol, 1987		^f Goret <i>et al.</i> , 1974		^k Nixon <i>et al.</i> , 1988		^p Aumont et Tressol, 1986	^u Hernandez <i>et al.</i> , 1972		
^b Mee et Rogers, 1994		^g Elsasser <i>et al.</i> , 1992		^l Takahashi <i>et al.</i> , 2001		^q Alderman et Stranks, 1967	^v Seimiya <i>et al.</i> , 1991		
^c Grace et Waghorn, 2005		^h Stewart <i>et al.</i> , 1994		^m Cabello, 1980		^r Swanson <i>et al.</i> , 1990	^w Smyth <i>et al.</i> , 1996		
^d Rogers, 1992		ⁱ Hemingway <i>et al.</i> , 2001		ⁿ Whitaker, 1999		^s Puls, 1994	^x Wilson, 1975		
^e Kincaid, 2000		^j Akasha <i>et al.</i> , 1987		^o Ghergariu et Roca, 1995		^t Herzig <i>et al.</i> , 1996	^y Guyot <i>et al.</i> , 2007b		

1.4 PROTOCOLES A APPLIQUER LORS DE SUSPICION DE CARENCE EN SELENIUM ET EN IODE

La détermination du statut nutritionnel ou de la carence en Se ou I est loin d'être aisée. En effet, non seulement le choix des animaux à prélever est délicat mais il faut encore le coupler avec l'analyse adéquate en fonction de la question posée. Par ailleurs, il faut encore tenir compte de nombreux biais possibles de l'aliment à l'animal lors de l'interprétation des résultats d'analyses.

Le diagnostic d'une carence se construit un peu de la même manière que le diagnostic d'une pathologie, si ce n'est qu'on la recherche sur des animaux sains. Il faut disposer de l'anamnèse, d'examen cliniques et ensuite d'examen complémentaires.

L'anamnèse a une grande importance. Elle permet de mieux cibler les analyses à réaliser et d'éviter les biais lors de l'interprétation des résultats. Il faut prendre soin de s'informer à propos :

- des symptômes cliniques et le cas échéant les décrire ;
- du type d'animaux touchés (vaches, génisses, veaux) ;
- de la ration de base des animaux qui sera étudiée (analyse de base + macro- et oligo-éléments si disponible) ;
- de l'eau distribuée aux animaux (source, puit, eau de distribution, désinfection de l'eau) ;
- de la présence de substances goitrogènes (ou aliments potentiellement goitrogènes) ;
- de la technique de traite (pré- ou post-trempage avec produits iodés) ;
- de la supplémentation des animaux en macro- et oligo-éléments en tenant compte de la forme, de la dose et de la période de distribution.

Si le vétérinaire d'exploitation est appelé pour un diagnostic de carence suite à des pathologies, ces éléments d'anamnèse permettront d'emblée de préciser s'il y a un lien probable entre les troubles de la santé observés et la carence. Si le motif d'appel est simplement un bilan du statut en oligo-éléments de l'exploitation, ces données aideront au choix de l'analyse à réaliser pour déterminer ce statut. Quoiqu'il en soit, il est nécessaire d'observer les animaux pour se faire une idée du tableau clinique présent, même si l'éleveur ne déplore aucune pathologie préoccupante dans son troupeau.

L'examen clinique de l'exploitation (examen des animaux et examen des documents de production) portera sur des points critiques pouvant être mis en relation, de près ou de loin, avec une carence en Se et/ou I :

- production laitière, volume et qualité (cellules)
- reproduction (fécondité, fertilité, fréquence de métrites, rétentions d'arrière-faix, avortements)
- néonatalogie (détresse respiratoire, veaux mous, veaux mort-nés, myopathies)
- goitre, hypothyroïdie

En raison des nombreuses interactions possibles entre les divers nutriments de la ration, parmi lesquels il faut citer les macro- et les oligo-éléments, il vaut mieux réaliser un prélèvement directement sur l'animal. L'analyse de la ration viendra en complément de l'examen sanguin et ne sera jamais la seule analyse effectuée dans le cadre du diagnostic d'une carence en oligo-éléments. L'analyse au niveau de l'animal est donc à envisager en première intention.

Comme il a été présenté au préalable, de très nombreux marqueurs sont envisageables chez l'animal. Le choix d'un marqueur nutritionnel ou fonctionnel reposera sur la supplémentation éventuelle des animaux avant le prélèvement ainsi que sur la base des signes cliniques. Lors de l'investigation de la carence, il conviendra de coupler le Se et l'I, en raison des nombreuses interactions entre ces deux éléments, telles qu'énoncées précédemment.

1.4.1 SELENIUM

Pour le Se, il existe un marqueur nutritionnel (Se plasmatique) et un marqueur fonctionnel (activité de la GPX).

Les analyses sur tissus (biopsies, prélèvements à l'abattoir) sont plutôt à réserver en cas d'excès plutôt que de carence. De plus, la difficulté du prélèvement ne plaide pas en leur faveur pour un diagnostic de troupeau.

Les prélèvements d'urine sont également difficiles à réaliser et peu de valeurs de référence existent. Ce prélèvement n'est donc pas le premier choix.

L'analyse du Se dans le lait, et plus particulièrement le lait de tank est un bon indicateur du statut nutritionnel du troupeau et permet également de se faire une idée de la forme de Se ingérée. Il a l'avantage de donner une idée du statut en Se d'un grand groupe d'animaux en une seule analyse. Néanmoins, le résultat est plus délicat à interpréter si l'on désire mettre en évidence une carence suite à l'hétérogénéité possible de ce grand groupe d'animaux. Pour

mieux circonscrire la carence, il faut cibler la population d'animaux à risque et prélever des animaux dans cette catégorie uniquement.

L'analyse de sang semble être le meilleur indicateur pour diagnostiquer une carence dans une population à risque déterminée. Aussi bien le Se plasmatique que la GPX peuvent être utilisés. Les normes les plus sévères doivent être prises en considération lorsqu'on veut optimiser le statut en Se, et ce afin d'atteindre le stade optimal de la nutrition en oligo-éléments (cf. figure 1). Si les animaux ont reçu une supplémentation récente en Se, la mesure du Se plasmatique sera préférée par rapport à la détermination de l'activité de la GPX. En effet, lors d'une supplémentation en Se, il existe un décalage entre l'augmentation de la séléniémie et l'augmentation de l'activité de la GPX. Ce délai correspond à l'incorporation du Se dans la GPX lors de l'érythropoïèse. Le Se plasmatique rend compte davantage du statut Se récent des animaux, *a contrario* de la GPX qui donne une idée à plus long terme. Si les animaux ont reçu une supplémentation en Se organique, il convient également d'adapter les normes. A dose de Se égale dans l'alimentation, on s'attend en effet à des concentrations plasmatiques en Se plus élevées lorsque du Se organique a été consommé par les animaux, par rapport à du sélénite de soude. L'ajout de Se organique au CMV est plus coûteux par rapport au sélénite de soude. Cette utilisation est autorisée dans les pays de la Communauté Européenne depuis décembre 2006. Il faut désormais en tenir compte lorsque l'on réalise une analyse de Se sur du sang ou du lait de bovins. De même, l'utilisation d'engrais enrichis en Se pourraient augmenter la quantité de séléno-méthionine dans les aliments et agir de la même façon qu'un CMV enrichi en Se organique.

1.4.2 IODE

Pour l'I, il existe des marqueurs nutritionnels et des marqueurs fonctionnels. Les marqueurs nutritionnels seront surtout utilisés pour suivre l'efficacité d'une supplémentation, en raison des modifications très rapides de ces marqueurs dans le sang faisant suite à la supplémentation. Les marqueurs fonctionnels seront davantage utilisés lorsque des pathologies sont présentes dans l'exploitation.

Concernant les marqueurs nutritionnels, l'iodurie est un bon indicateur des apports iodés mais la difficulté de prélèvement (e.g. mâles, veaux, génisses) et les variations intrinsèques au prélèvement (volume d'urine) ne permettent pas de l'utiliser en routine.

La concentration en I dans le lait est un très bon indicateur et n'est pas influencée par la forme de l'I ingérée dans la mesure où seules les formes inorganiques sont autorisées en Europe. De la même manière que pour le Se, le lait de tank est très utile pour juger du statut nutritionnel

du troupeau en lactation mais est trop imprécis lorsque l'on recherche une carence sur une population d'animaux plus spécifique. Dans ce cas, on se focalisera sur la population à risque, avec des prélèvements individuels.

L'IIP est sans doute le meilleur marqueur pour suivre l'efficacité d'une supplémentation en I. En effet, de manière ponctuelle, une concentration faible en IIP ne sera pas nécessairement reliée à une carence, en raison de la diminution très (trop) rapide de ce marqueur suite à l'arrêt d'une supplémentation. Les commémoratifs sont dès lors très importants dans ce cas de figure. Par exemple, si un éleveur a supplémenté ses animaux pendant plusieurs mois et a arrêté depuis une semaine, il est inutile de mesurer l'IIP qui sera bas mais n'aura pas de rapport avec une carence en I.

L'I total est soumis aux variations des hormones thyroïdiennes et n'est donc pas un marqueur de premier choix.

Les marqueurs fonctionnels viennent à la rescousse indirectement pour le diagnostic de la carence en I ou plutôt de ses conséquences cliniques, à savoir notamment l'hypothyroïdie. Cependant, la carence doit sévir depuis longtemps (4-5 mois) et être suffisamment profonde pour modifier ces marqueurs. La TSH et la T4 sont très spécifiques de l'hypothyroïdie, trouble très fréquemment occasionné par une carence profonde en I. Néanmoins, dans ce cas, les signes cliniques sont assez évidents et on ne procède généralement à la détermination du statut en oligo-éléments que sur des animaux sains. Toutefois, avant ce stade clinique, la chute des concentrations en hormones thyroïdiennes (et éventuellement la hausse de la TSH) peut déjà être significative.

A l'autopsie, la détermination du poids de la thyroïde chez des veaux est un très bon indicateur, peu coûteux, d'un problème lié à la carence en I. La mesure du volume thyroïdien par échographie pourra être intéressante, dès que des normes auront été fixées.

Enfin, la concentration en I thyroïdien n'est pas déterminée en routine. L'histologie n'est également pas un acte de première intention et ne donne que peu d'indications sur le statut iodé des animaux.

La mise en place d'un protocole pour détecter des carences en oligo-éléments n'est pas simple et nécessite une bonne connaissance de l'exploitation et de ses pratiques d'élevage. La démarche est généralement coûteuse mais permet d'affiner au mieux la stratégie à adopter pour corriger ces carences. Cette correction a également un coût mais, lorsqu'elle est réalisée sur base d'analyses judicieuses, elle permet un retour sur l'investissement intéressant en augmentant la productivité de l'exploitation et en diminuant les coûts liés aux traitements.

2 OBJECTIFS DE LA RECHERCHE

Les carences en oligo-éléments chez les bovins peuvent entraîner des pathologies cliniques ou sub-cliniques. Parmi les oligo-éléments incriminés, les carences en Se et en I sont les plus fréquemment rencontrées. En Belgique, un appauvrissement progressif des teneurs en oligo-éléments dans les sols ainsi qu'une augmentation des performances des bovins et donc une augmentation de leurs besoins en oligo-éléments font craindre des carences tant chez les bovins laitiers que viandeux. Néanmoins, en Belgique, aucune donnée publiée récemment ne renseigne sur le statut en oligo-éléments des troupeaux bovins.

(1) Le premier objectif de ce travail a donc été d'évaluer les statuts en oligo-éléments (Zn, Cu, Se, I) dans les exploitations bovines laitières et viandeuses en Wallonie et de mettre en corrélation ces statuts avec l'état de santé des troupeaux étudiés.

Parmi les carences en oligo-éléments, les carences en Se ou en I apparaissent comme les plus fréquentes. Leurs conséquences cliniques sont également parmi les plus importantes. Néanmoins, les signes cliniques de carence sont rarement pathognomoniques et le recours à des examens de laboratoire sur le sang ou le lait est nécessaire afin de confirmer le diagnostic. Des dosages sanguins réalisés en routine tels que le Se plasmatique ou l'IIP permettent la détermination du statut en Se et en I. Cependant, ils ne permettent la détermination du statut en Se et I qu'à court terme et ne donnent aucune indication directe quant au fonctionnement de la thyroïde. Or, le Se et l'I jouent un rôle primordial dans la synthèse des hormones thyroïdiennes, tant au niveau de la thyroïde qu'au niveau périphérique, comme lors de la désiodation de la T4 en T3 par des enzymes séléno-dépendantes. Chez l'homme, le chien et le cheval, le dosage de la TSH est un outil capable de contrôler le fonctionnement de la synthèse des hormones thyroïdiennes mais cet outil manque chez la bête bovine.

(2) Le deuxième objectif a donc consisté à mettre au point un dosage de la bTSH et à établir des valeurs de référence chez des bovins adultes en bonne santé.

(3) En corollaire, l'objectif suivant a été de comparer la concentration en bTSH trouvée chez des veaux nouveau-nés atteints d'un goitre avec celle obtenue chez des veaux nouveau-nés en bonne santé, afin de valider un test diagnostique pour cette pathologie.

Les apports en Se et en I mesurés dans la ration peuvent être comparés aux recommandations éditées dans la littérature afin de diagnostiquer une carence en Se ou en I. Cependant, la

présence possible de carences relatives peut fausser l'interprétation des résultats d'une analyse de la ration. Une fois de plus, le recours à des examens de laboratoire sur l'animal (sang, lait) est indispensable. Ces examens de laboratoire sur l'animal doivent permettre de déterminer si les apports en Se ou en I dans la ration sont satisfaisants.

(4) Le quatrième objectif a été de comparer les statuts en I et Se mais également le statut thyroïdien chez des vaches tarées gestantes ou non et, le cas échéant, de leur veau, qui ont reçu une ration normalement pourvue ou enrichie en I et Se.

Une fois la carence en Se ou en I diagnostiquée, il y a lieu de choisir la meilleure façon de corriger cette carence. Pour supplémenter les bovins en Se, une forme organique (sélénométhionine enregistrée depuis peu au niveau Européen), et des formes inorganiques (sélénite et sélénate de soude) sont autorisées en Europe.

(5) Le dernier objectif a été de comparer les effets sur la santé et le statut en Se de vaches BBB carencées et de leur veau de deux formes (sélénite de soude versus sélénométhionine) et de deux doses différentes de Se (0,1 versus 0,5 ppm).

3 PRESENTATION SYNOPTIQUE DES ETUDES

3.1 ETUDE 1 : CARENCES EN OLIGO-ELEMENTS DANS DES TROUPEAUX BOVINS VIANDEUX ET LAITIERS EN WALLONIE

Guyot H., Saegerman C., Lebreton P., Rollin F. Trace elements deficiencies in beef and dairy cattle herds in the southern part of Belgium. *Soumis*.

3.1.1 INTRODUCTION

Les oligo-éléments sont essentiels pour la nutrition humaine et animale. Les oligo-éléments interviennent en effet dans la composition d'enzymes ou agissent comme co-facteurs de mécanismes anti-oxydants. Dans l'espèce bovine, la production de lait et de viande induit des stress oxydants qui peuvent conduire à des troubles de la santé (Miller et Brzezinska-Slebodzinska, 1993). Des pathologies associées à des carences en oligo-éléments sont abondamment décrites dans la littérature (Graham, 1991). Néanmoins, la plupart des signes cliniques rencontrés lors de carence en oligo-éléments n'est pas pathognomonique. Le diagnostic clinique est le plus souvent confirmé par des analyses de sang, d'urine ou de lait effectuées en laboratoire. Les analyses de sol ont peu d'intérêt car l'assimilation des oligo-éléments par les végétaux et ensuite par les animaux est complexe et dépend de nombreux facteurs. De plus, si des carences relatives sont présentes, l'analyse des fourrages ne permettra pas l'extrapolation du statut en oligo-éléments chez l'animal.

Les carences en oligo-éléments, et plus particulièrement en I et Se, ont été rapportées en Europe, tant au niveau des sols (Lamand, 1975 ; Oldfield, 2002) que lors de bilans biochimiques chez les animaux (Mee et Rogers, 1994 ; Enjalbert *et al.*, 2006) ou les êtres humains (Delange, 2002). En Belgique, plusieurs facteurs concourent au développement de carences chez les bovins. En effet, la teneur en oligo-éléments a diminué dans les sols et les fourrages depuis une dizaine d'années (communication personnelle). Cette faible teneur découle de l'épuisement progressif des sols ainsi que des pratiques agricoles modernes (e.g. engrais dépourvus d'oligo-éléments). De plus, la législation belge a déterminé une limite trop faible pour le Se dans les CMV (20 ppm). Toutefois, les éleveurs belges n'utilisent pas toujours de CMV dans la ration de leurs animaux. Enfin, la sélection en race BBB

hypermusclée a induit une augmentation de ses performances et donc également de ses besoins en oligo-éléments. En 2002, une étude préliminaire menée par Rollin et collaborateurs a confirmé la suspicion de carences en cuivre (Cu), zinc (Zn) et Se dans des troupeaux de vaches viandeuses et de vaches laitières. Néanmoins, aucune donnée n'était disponible concernant l'I. L'impact de la nutrition sur le statut en oligo-éléments n'avait pas non plus été étudié.

Le but de cette première étude était d'investiguer le statut en oligo-éléments (Zn, Cu, I et Se) de troupeaux bovins en Wallonie et de comparer le statut des troupeaux sains avec celui obtenu dans des troupeaux dans lesquels des pathologies étaient rencontrées en trop grand nombre.

3.1.2 MATERIEL ET METHODES

Troupeaux

Un total de 178 troupeaux bovins a été investigué en Wallonie durant la stabulation hivernale. Ces troupeaux ont été classés en 4 groupes: (A) troupeaux viandeux malades (n=82), (B) troupeaux viandeux sains (n=11), (C) troupeaux laitiers malades (n=65), (D) troupeaux laitiers sains (n=20). Les troupeaux ont été classés comme malades quand le nombre d'animaux malades dépassait les seuils fixés dans la littérature pour les principales pathologies (Brand *et al.*, 1996 ; Radostits, 2001). Le nombre annuel de vêlages par an était respectivement de 101 ± 56 , 88 ± 33 , 51 ± 26 et 51 ± 15 pour les troupeaux des groupes (A), (B), (C) et (D).

Les données concernant l'alimentation et les pathologies ont été collectées dans chaque ferme. Les aliments ont été classés en 7 catégories : herbe (pâturage, foin ou ensilage), maïs (ensilage), pulpes de betteraves (fraîches ou surpressées), concentrés (protéiques et/ou énergétiques), céréales, dérivés de betteraves (mélasse, pulpes séchées) et minéraux (complexes minéraux-vitaminés). Les pathologies des veaux et des adultes ont été classées tel que décrit dans le tableau 5.

Prélèvements et dosages

Dans les troupeaux, seules des vaches cliniquement saines ont été sélectionnées pour les prélèvements. Elles étaient âgées de 4 ± 2 ans en moyenne. Un total de 669, 94, 484 et 156 animaux a été investigué dans les troupeaux des groupes (A), (B), (C) et (D), respectivement.

En moyenne, 8 ± 2 animaux ont été prélevés par ferme. Sur ces animaux, un prélèvement de sang (tube hépariné) et/ou de lait a été effectué. Dans les troupeaux laitiers, le lait de tank a été prélevé tandis que, dans les troupeaux viandeux, le lait de 10 animaux a été mélangé.

Du lait entier (U.H.T.) en provenance de 11 laiteries belges, ainsi que du lait provenant de 8 fermes saines où un produit de trempage iodé était utilisé lors de la traite, ont aussi été analysés.

Tableau 5. Classement des pathologies rencontrées dans les exploitations bovines étudiées.

Animaux	Code	Pathologies
Veaux	V1	Mortalité néonatale, veau faible, syndrome de détresse respiratoire
	V2	Septicémie, omphalite, arthrite, méningite, diarrhée, échec de transfert de l'immunité colostrale
	V3	Myopathie, cardiomyopathie
	V4	Retard de croissance, broncho-pneumonie, laryngite, mortalité
Adultes	RE	Infertilité, rétention d'arrière-faix, métrite, avortements, mortalité embryonnaire, anœstrus, hypoplasie utérine
	SM	Mammite clinique et sub-clinique
	PL	Production laitière non optimale
	MA	Mortalité
	DE	Gale, teigne, pelage terne
	NE	Nécrose cortico-cérébrale, listériose
	ME	Fièvre de lait, acétonémie, déplacement de caillette, syndrome de la vache couchée
	BO	Boiteries (toutes étiologies)
	AU	Autres: parasitisme, perte de poids, diarrhée

Dans le plasma, le Zn et le Cu ont été dosés par ICP-MS (Inductivity Coupled Plasma/Mass Spectrophotometry) (Lumet et Negriolli, 2007). L'IIP et l'I inorganique dans le lait ont été dosés selon la méthode d'Aumont et Tressol (1987). Dans le sang total, l'activité de la GPX a été mesurée selon la méthode de Paglia et Valentine (1967) en utilisant un kit commercial (Ransel ND, Randox laboratories, Crumlin, U.K.). Le même laboratoire a effectué toutes les analyses.

Les seuils de carence en Zn, Cu, IIP et GPX (tableau 6) ont été établis selon Mee et Rogers (1994), Enjalbert et collaborateurs (2006) et Rollin (2003). Si la valeur moyenne du troupeau

était en dessous du niveau adéquat pour le Zn, le Cu, la GPX, l'IIP ou l'I dans le lait, le troupeau était considéré comme carencé pour l'oligo-élément incriminé.

Tableau 6. Seuils pour le Zn, le Cu, la GPX et l'IIP (sang) et l'I (lait) chez les bovins.

Statut	Zn (µmol/L)	Cu (µmol/L)	GPX (UI/gHb)	IIP (µg/L)	I lait (µg/L)
Adéquat	14-21	13-18	220-600	45-650	>80
Marginal	8-14	8-13	75-220	15-45	30-80
Carencé	<8	<8	<75	<15	<30

3.1.3 RESULTATS

La répartition géographique des troupeaux étudiés est représentée dans la figure 2.

Dans les troupeaux viandeux malades, les pathologies des veaux (V1+V2+V3+V4) étaient les plus fréquentes (75 troupeaux sur 82 au total) par rapport aux pathologies d'adultes. De plus, 17 troupeaux étaient affectés par RE, 8 par DE, 6 par BO, 6 par AU, 4 par MA et 2 par NE. Dans les troupeaux laitiers malades, les pathologies des veaux étaient également les plus fréquentes (29 troupeaux sur 65 au total). De plus, 24 troupeaux étaient affectés par RE, 22 par SM, 15 par BO, 11 par ME, 5 par PL, 3 par DE, 2 par AU et 1 par NE.

Trente-quatre troupeaux viandeux et 31 troupeaux laitiers étaient affectés par plus d'un groupe de pathologies. De 1 à 5 groupes de pathologies différents étaient observés dans les troupeaux, avec une moyenne de 2 ± 1 groupes de pathologies par troupeau.

L'utilisation des différentes catégories d'aliments dans les troupeaux étudiés est représentée dans le tableau 7. Les concentrés étaient davantage utilisés dans les troupeaux viandeux sains par rapport aux troupeaux viandeux malades ($\chi^2 = 7,2$; $P < 0,01$). Par contre, ils étaient moins utilisés dans les troupeaux viandeux malades par rapport aux troupeaux laitiers malades ($\chi^2 = 22,9$; $P < 0,01$). Les minéraux étaient utilisés dans un nombre moins important de troupeaux viandeux malades, en comparaison avec les troupeaux laitiers malades ($\chi^2 = 7,7$; $P < 0,01$). De plus, les minéraux étaient utilisés dans davantage de troupeaux sains (viandeux ou laitiers) que dans les troupeaux malades (viandeux ou laitiers) (Fisher : $P < 0,01$).

Le tableau 8 présente la valeur moyenne (\pm SD) du Zn, du Cu, de la GPX et de l'IIP dans le sang et l'I dans le lait dans les 4 groupes de troupeaux. Le tableau 9 montre la répartition des troupeaux carencés dans chaque groupe, selon les seuils définis dans le tableau 6. Ces résultats révèlent qu'il existe significativement plus de troupeaux carencés dans le groupe des troupeaux malades, en comparaison avec les troupeaux sains. De plus, les troupeaux malades présentaient plus de carences multiples en comparaison avec les troupeaux sains.

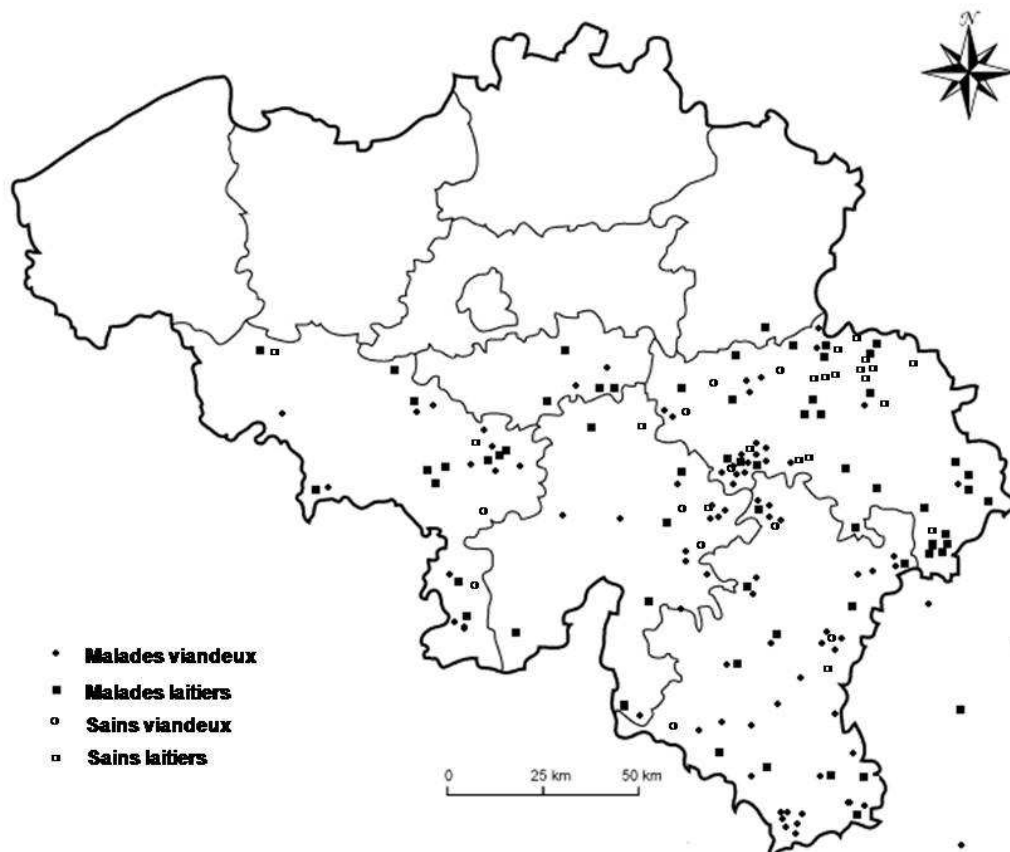


Figure 2. Distribution géographique des troupeaux étudiés (4 groupes).

Tableau 7. Utilisation des différentes catégories d'aliments dans les troupeaux étudiés.

	Herbe	Maïs	Pulpes de betteraves	Concentrés	Céréales	Dérivés de betteraves	Minéraux
Viandeux malades (n=82)	77	71	31	32 *°	29	15	38 *°
Viandeux sains (n=11)	11	8	5	9	4	3	11
Laitiers malades (n=65)	63	44	31	51	30	19	45 *°
Laitiers sains (n=20)	20	12	9	19	10	6	20

* Différence significative entre les troupeaux sains et malades ($P < 0,05$)

° Différence significative entre les troupeaux viandeux et laitiers ($P < 0,05$)

Tableau 8. Concentrations moyennes en Zn, en Cu, en GPX et en IIP dans le sang et en I dans le lait des vaches prélevées dans les 4 groupes de troupeaux.

	Troupeaux viandeux malades		Troupeaux viandeux sains		Troupeaux laitiers malades		Troupeaux laitiers sains	
	<i>N</i>	Moy. ± SD	<i>N</i>	Moy. ± SD	<i>N</i>	Moy. ± SD	<i>N</i>	Moy. ± SD
Zn (µmol/L)	494	13,1 ± 2,4* [§]	87	16,7 ± 2,1	220	13,4 ± 1,8 [°]	142	16,3 ± 2,8
Cu (µmol/L)	494	11,8 ± 3,3* [§]	87	14,8 ± 1,7	220	12,5 ± 2,6 [°]	142	14,7 ± 2,6
GPX (UI/gHb)	669	111 ± 79* [§]	94	293 ± 59 [#]	484	154 ± 115 [°]	156	365 ± 108
IIP(µg/L)	353	32 ± 24* [§]	55	79 ± 11 [#]	377	39 ± 40 [°]	102	107 ± 43
I lait (µg/L)	44	44 ± 21*	9	103 ± 30 [#]	39	49 ± 35 [°]	12	145 ± 50

N = nombre d'animaux prélevés (Zn, Cu, GPX, IIP) ou nombre de troupeaux prélevés (I lait)

* Différence significative ($P < 0,05$) entre les troupeaux viandeux malades et viandeux sains.

[°] Différence significative ($P < 0,05$) entre les troupeaux laitiers malades et laitiers sains.

[#] Différence significative ($P < 0,05$) entre les troupeaux viandeux sains et laitiers sains.

[§] Différence significative ($P < 0,05$) entre les troupeaux viandeux malades et laitiers malades.

Tableau 9. Nombre de troupeaux carencés et intervalle de confiance selon les seuils de carence dans les 4 groupes pour le Zn, le Cu, la GPX et l'IIP dans le sang et l'I dans le lait.

	Troupeaux viandeux malades	Troupeaux viandeux sains	Troupeaux laitiers malades	Troupeaux laitiers sains
	Zn	42/57 (74 %) *	0/10 (0 %)	18/27 (66 %)
	60-84% **	0-26%	46-83%	0-27%
Cu	40/57 (70 %)	1/10 (10 %)	13/27 (48 %)	3/18 (17 %)
	57-82%	0-45 %	51-90%	4-41%
GPX	78/82 (95 %)	0/11 (0 %)	50/65 (77 %)	1/20 (5 %)
	88-99%	0-36%	65-86%	0-25%
IIP	36/45 (80 %)	0/6 (0 %)	38/51 (75 %)	0/11 (0 %)
	65-90%	0-39%	60-86%	0-24%
I lait	42/44 (95 %)	2/9 (22 %)	34/39 (87 %)	1/12 (8 %)
	85-99%	0-60%	73-96%	0-39%

* Nombre de troupeaux carencés sur le nombre total de troupeaux (et %)

** Intervalle de confiance à 95 %

La concentration en I dans le lait du commerce variait de 74 à 180 $\mu\text{g/L}$ ($118 \pm 32 \mu\text{g/L}$). Le lait provenant de fermes où un trempage avec des produits iodés était utilisé après la traite contenait entre 275 et 880 $\mu\text{g d'I/L}$ ($476 \pm 236 \mu\text{g/L}$).

La concentration en I dans le lait du commerce n'était pas différente de celle provenant des troupeaux sains mais était plus élevée par rapport à celle des troupeaux malades ($P < 0,01$). La concentration en I dans le lait du commerce était cependant plus basse que celle du lait provenant des exploitations utilisant un trempage iodé après la traite ($P < 0,01$).

3.1.4 DISCUSSION

Comme suspecté, des niveaux bas en oligo-éléments ont été trouvés dans les troupeaux malades, en comparaison avec les troupeaux sains. L'origine de cette différence pourrait provenir de l'utilisation moins fréquente de CMV et de concentrés dans les troupeaux connaissant un nombre trop élevé de pathologies.

Les teneurs en oligo-éléments trouvés dans notre étude ont été comparés avec d'autres études en Irlande, en France et en Belgique. Les valeurs d'IIP et de Cu dans nos troupeaux malades étaient similaires à celles trouvées dans des troupeaux à problèmes en Irlande (Mee and Rogers, 1994) alors que la GPX était plus élevée dans notre étude. Les valeurs de GPX, Zn et Cu en France dans des troupeaux sains et malades étaient globalement similaires à nos valeurs respectives (Enjalbert *et al.*, 2006), de même que dans les troupeaux Wallons lors d'une étude préliminaire (Rollin *et al.*, 2002). En effet, le statut en Se (Oldfield, 2002) et en I (WHO, 2001) en Europe est souvent décrit comme déficient.

Des animaux cliniquement sains ont été prélevés dans les fermes car lorsqu'un statut nutritionnel est recherché, des animaux en bonne santé doivent être investigués. Par contre, si un diagnostic clinique de maladie est recherché, des animaux malades doivent alors être prélevés (Herdt, 2000). De plus, de nombreux facteurs peuvent modifier les concentrations sanguines des oligo-éléments. Par exemple, l'inflammation (Milanino *et al.*, 1986), le stress (Herdt *et al.*, 2000) et les infections (Orr *et al.*, 1990) peuvent causer une augmentation du Cu plasmatique et une diminution du Zn plasmatique. Enfin, les animaux ont été sélectionnés au hasard parmi une population d'animaux en bonne santé avec des caractéristiques (sexe, âge, race, stade de gestation) proches afin de limiter la variabilité intra-troupeaux lors de l'interprétation des résultats.

Pour déterminer le statut iodé chez les bovins, les méthodes les plus utilisées sont le dosage de l'IIP (Mee and Rogers, 1994) ou de l'I dans le lait (Swanson *et al.*, 1990). L'IIP décroît endéans une semaine après l'arrêt d'une supplémentation mais l'I dans le lait diminue plus

lentement (Swanson *et al.*, 1990). Cela montre que l'IIP pourrait ne pas être un bon marqueur du statut iodé si l'analyse est effectuée rapidement après l'arrêt d'une supplémentation en I. Le dosage des hormones thyroïdiennes pourrait éventuellement être envisagé pour déterminer le statut iodé à plus long terme. Pour déterminer le statut en Se, la GPX a été utilisée en raison de sa bonne corrélation avec la concentration sanguine en Se (Counotte et Hartmans, 1989). Pour le Cu et le Zn, les niveaux plasmatiques ont été évalués car ce moyen est le plus répandu et le plus aisé (Kincaid, 2000). Les biopsies hépatiques sont décrites pour être de meilleurs marqueurs du statut en Zn et en Cu mais le prélèvement est difficilement réalisable en conditions de terrain sur un grand nombre d'individus.

Les maladies observées dans les fermes étaient pour la plupart des maladies multifactorielles. Bien que de nombreux auteurs aient montré le lien direct entre certains signes cliniques et une carence spécifique en oligo-élément, il n'était pas possible, d'après notre protocole d'étude et nos résultats, de mettre en relation certains signes cliniques en particulier avec une carence en un oligo-élément précis. En effet, la plupart du temps, des carences multiples étaient constatées dans les troupeaux ainsi que de nombreuses pathologies différentes.

3.1.5 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Comme décrit dans d'autres pays européens, des carences en Zn, Cu, Se et I sont bien présentes chez les bovins en Wallonie. Ces carences en oligo-éléments augmentent la probabilité de trouver des pathologies dans les troupeaux. L'alimentation joue un rôle dans la prévalence de ces carences. Cette étude suggère par conséquent l'intérêt de supplémenter les animaux en oligo-éléments. Le coût d'une supplémentation peut être rapidement récupéré dès lors que chute la prévalence des maladies ou mortalités dans le troupeau.

Le diagnostic des carences par analyse de sang ou de lait est coûteux. D'autres études sont nécessaires afin de déterminer la précision du diagnostic réalisé sur des "pools" sanguins ou sur le lait. Le dosage de l'I et du Se sur le lait de tank semble être une première approche intéressante dans ce cadre. La détermination des statuts en I et Se par d'autres marqueurs est à envisager. La carence en I peut avoir des répercussions sur la fabrication des hormones thyroïdiennes. Une manière de déterminer si les apports en I sont suffisants serait donc d'étudier l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien par le dosage des hormones thyroïdiennes et de la bTSH. Cependant, le dosage de la bTSH n'est pas disponible et devrait être développé. Enfin, les races viandeuses actuelles sont exigeantes, avec des besoins élevés en oligo-éléments. Les carences s'expriment dès lors davantage dans ces races. Il est sans doute opportun de revoir à la hausse les normes d'apports en oligo-éléments pour ces races.

3.2 ETUDE 2 : DEVELOPPEMENT ET VALIDATION D'UN RADIOIMMUNOASSAY POUR LA THYROTROPINE CHEZ LES BOVINS

Guyot H., Sulon J., Beckers J-F., Closset J., Lebreton P., Alves de Oliveira L., Rollin F. Development and validation of a radioimmunoassay for thyrotropin in cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 19 (2007), in press.

3.2.1 INTRODUCTION

L'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien a une grande importance dans l'adaptation des mammifères à leur environnement (Nathanielsz, 1975). La thyrotropine ou TSH est une glycoprotéine produite par l'hypophyse antérieure. La TSH agit sur les récepteurs de la glande thyroïde et promeut la synthèse et la libération des hormones thyroïdiennes (T4 et T3). Les hormones thyroïdiennes, quant à elles, participent au contrôle de la sécrétion de TSH par un feedback négatif sur l'hypophyse et l'hypothalamus (Huszenicza *et al.*, 2002) (figure 3). Des niveaux bas en hormones thyroïdiennes dus à une carence en I ou à une absorption ou une utilisation altérée de l'I peuvent augmenter la sécrétion de TSH, servant de base au diagnostic de l'hypothyroïdie chez l'homme (Elmlinger *et al.*, 2001), le chien (Williams *et al.*, 1996) et le cheval (Breuhaus, 2002).

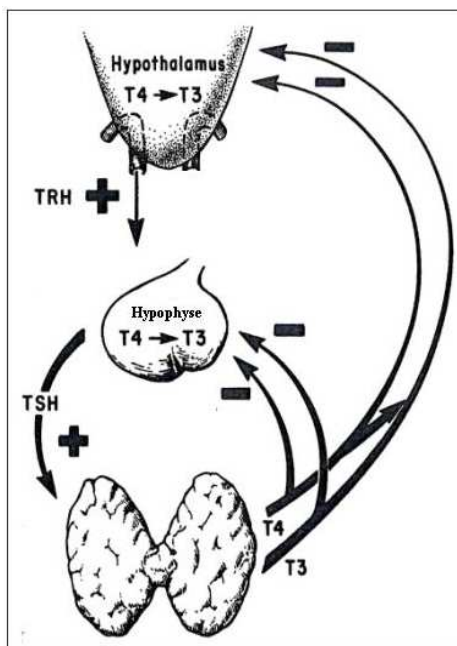


Figure 3. Représentation schématique du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien.

Le but de l'étude était de développer et valider un radioimmunoassay (RIA) spécifique et sensible pour la TSH bovine (bTSH) avant de définir des intervalles de référence pour du bétail adulte viandeux et laitier sain. Le dosage de la bTSH par RIA a été validé en conditions physiologiques au moyen d'un test de stimulation à la TRH. De plus, la pulsatilité et le rythme circadien de la bTSH ont été étudiés.

3.2.2 MATERIEL ET METHODES

3.2.2.1 Développement du RIA bTSH

Le RIA a été réalisé en duplicate. Pour la réalisation de la courbe standard, chaque tube contenait 200 μ L de bTSH purifiée (WHO-NIBSC 53/011) d'une concentration de 0,8 à 100,0 μ U/ml, en solution dans du plasma bTSH-free (préparé à partir du plasma d'un veau ayant subi un test de freination avec de fortes doses de T4). Le même volume de plasma bovin a été utilisé pour la détermination de la concentration en bTSH dans les échantillons de l'étude. Tous les tubes ont été pré-incubés pendant 24 heures à température ambiante avec 100 μ L de sérum anti-bTSH (1975/Batch-001, Prof. J. Closset). Dès lors, 200 μ L de bTSH marquée (selon la méthode de la chloramine-T, Greenwood *et al.*, 1963) ont été ajoutés et l'incubation s'est poursuivie pendant 40 heures à 4°C. Cette mixture a été incubée avec 1 ml de précipitant (2nd anticorps préparé avec des IgG de mouton et du sérum de lapin) pendant 30 minutes à 20°C. Ensuite, la TSH liée et libre a été séparée par centrifugation (20 minutes, 2800 x g) après un lavage avec 2 ml de tampon. Le surnageant a été retiré et la radioactivité dans le précipité a été déterminée avec un compteur γ automatique.

3.2.2.2 Caractéristiques du RIA bTSH

La limite minimale de détection (LMD) du RIA a été calculée selon la méthode de Skelley *et al.* (1973). Pour ce faire, la valeur du « 0 » a été mesurée 20 fois dans le même dosage. La moyenne \pm SD des « coups par minute » (radioactivité mesurée par le compteur γ) du « 0 » a été calculée. La valeur de bTSH qui correspondait à la moyenne moins 2 SD, transposée sur la courbe standard, était définie comme la LMD de ce RIA. La précision du test (ajout de concentrations connues de bTSH à un échantillon inconnu) a également été calculée. Des dilutions en série de plasmas bovins de concentration en bTSH connue ont également été opérées afin de déterminer le parallélisme entre la courbe standard et la courbe de dilutions. Enfin, la reproductibilité de la méthode a été testée en déterminant les coefficients de variation (CV) inter- et intra-essais.

3.2.2.3 Validation physiologique du RIA bTSH

Huit vaches Holstein non-lactantes et non-gestantes ont subi un test de stimulation à la TRH. Pour ce faire, une injection IV de TRH à la dose de 2 µg/kg de poids vif a été effectuée. Le sang a été récolté dans des tubes héparinés à intervalles réguliers avant et après injection de TRH (figure 4) et la bTSH a été dosée dans chaque échantillon. Ultérieurement, un tube de sang hépariné a été récolté sur ces 8 mêmes vaches toutes les 20 minutes pendant 24 heures consécutives, en respectant le cycle lumière-obscurité. La bTSH a été dosée sur ces échantillons.

3.2.2.4 Intervalle de référence pour la bTSH chez des vaches cliniquement saines

Des échantillons de plasma ont été prélevés chez 161 vaches viandeuses et 169 vaches laitières cliniquement saines, appartenant à 69 troupeaux différents en Belgique et en France, entre la mi-automne et le mi-printemps. La bTSH et la T4 ont été dosés.

3.2.2.5 Autres dosages

Les dosages de T4 ont été réalisés à l'aide de kits de dosage RIA (Clinical Assays™ GammaCoat™ M Total T4 ¹²⁵I RIA Kit, DiaSorin, Minnesota).

3.2.3 RESULTATS

3.2.3.1 Développement et caractéristiques du RIA bTSH

La LMD était de 1,3 µU/ml. Les différents tests de validation technique du RIA ont conforté sa précision et sa spécificité. Les CVs intra-essais variaient entre 5 et 11 % alors que les CVs inter-essais variaient entre 11 et 15 %.

3.2.3.2 Validation physiologique du RIA bTSH : test de stimulation à la TRH et rythme circadien

La figure 4 illustre la réponse de la bTSH suite à une stimulation par la TRH. La bTSH a atteint un pic de concentration ($25,5 \pm 9,6$ µU/ml) rapidement (14 ± 6 minutes) après injection de la TRH (T0). Par après, la concentration en bTSH a lentement diminué pour revenir aux valeurs basales 29 heures après l'injection de TRH.

Il est apparu que la bTSH est sécrétée de manière pulsatile durant les 24 heures d'une journée (figure 5). Il y a une différence significative ($P < 0,05$) entre les valeurs nocturnes (médiane : 1,6 µU/ml) et diurnes (médiane : 2,5 µU/ml), avec des valeurs plus élevées durant le jour (8h00 à 20h00).

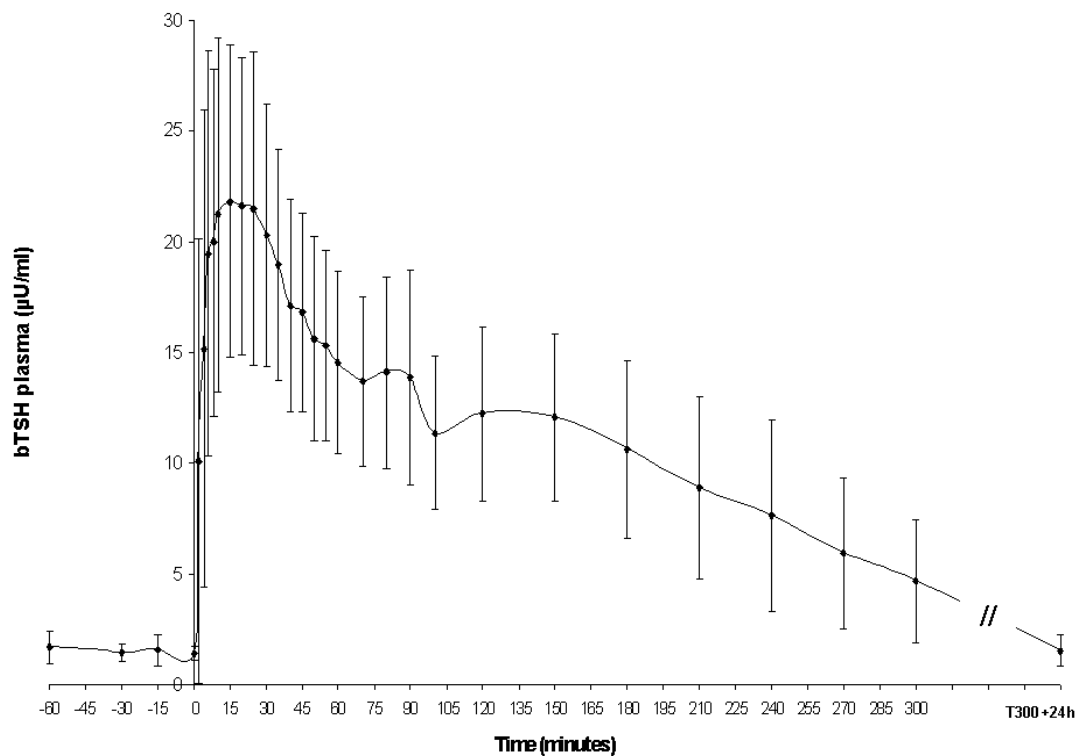


Figure 4. Test de stimulation à la TRH chez 8 vaches euthyroïdiennes.

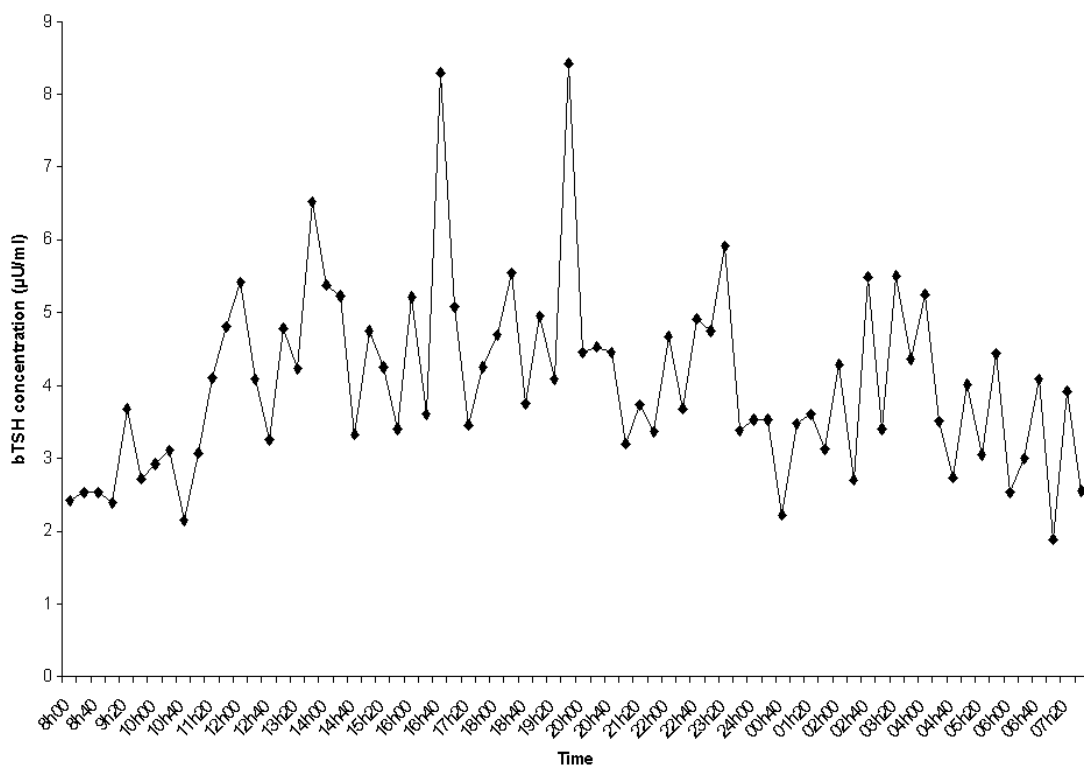


Figure 5. Sécration pulsatile de la bTSH pendant 24 heures chez une vache saine.

3.2.3.3 Intervalle de référence (bTSH, T4) dans une population de vaches cliniquement saines

Les valeurs de bTSH et de T4 des vaches laitières et viandeuses cliniquement saines sont présentées dans le tableau 10. Seulement les valeurs de T4 étaient distribuées normalement. Vingt pourcents des vaches étudiées avaient une concentration en bTSH en dessous de la LMD. Les valeurs de bTSH n'étaient pas différentes selon la race (viandeuse ou laitière). Cependant les valeurs de T4 étaient significativement plus élevées chez les vaches viandeuses ($P < 0,01$) par rapport aux vaches laitières.

Tableau 10. Intervalles de référence pour la bTSH (percentiles 2,5-50-97,5) et la T4 (moyenne \pm 1,96 SD) dans une population de vaches cliniquement saines.

	bTSH (μU/ml)	T4 (nmol/L)
Total (n:330)	1,3-3,3-13,0	25-60-95
Laitier (n:169)	1,3-3,2-9,2	21-56-91*
Viandeux (n:161)	1,3-3,5-15,5	31-64-97

* Différence significative entre troupeaux laitiers et viandeux ($P < 0,05$)

3.2.4 DISCUSSION

3.2.4.1 Développement et caractéristiques du RIA bTSH.

Les différents tests de laboratoire (LMD, CV, parallélisme, précision) ont mis en évidence que le RIA était suffisamment sensible, spécifique et reproductible que pour être utilisé pour le dosage de la bTSH.

3.2.4.2 Validation physiologique du RIA bTSH.

L'injection de TRH a effectivement stimulé la sécrétion de TSH chez les 8 vaches. Globalement, la courbe de réponse à la stimulation par la TRH concordait avec les résultats trouvés dans d'autres études chez la bête bovine (Convey *et al.*, 1978 ; Romo *et al.*, 1997). Une large gamme de valeurs a été mesurée suite à cette stimulation par la TRH, tout en restant dans les limites de mesure du RIA. De plus, la demi-vie de la bTSH a pu être extrapolée à un peu moins de 3 heures, sur base de la courbe de décroissance de la bTSH après injection de TRH.

Peu d'études ont examiné la sécrétion de la bTSH chez la bête bovine (Thomas *et al.*, 1974 ; Stewart *et al.*, 1994). Chez l'être humain, la sécrétion de la TSH est également pulsatile, bien que le nadir soit atteint dans l'après-midi et le pic la nuit (Patel *et al.*, 1972).

3.2.4.3 Intervalle de référence de la bTSH

Il n'existait pas de valeurs de référence de bTSH basées sur des grandes populations de vaches et, dès lors, la comparaison avec les résultats d'autres études s'avère difficile. Néanmoins, quelques études ont proposé des valeurs de bTSH sur un nombre restreint de vaches en bonne santé. Les valeurs de notre étude sont comprises dans l'intervalle d'autres études (e.g. Goret *et al.*, 1974 : 3,8-26,9 μ U/ml). Les valeurs peuvent varier également en fonction de la technique de dosage utilisée.

Les valeurs de T4 dans notre étude ont été utilisées pour comparaison avec d'autres populations de vaches en bonne santé, afin de valider indirectement les valeurs de référence de la bTSH. Les valeurs de T4 chez les vaches cliniquement saines dans cette étude sont en adéquation avec celles trouvées dans la littérature (Kincaid, 2000 ; Takahashi *et al.*, 2001). Dans cette étude, la différence de T4 entre les vaches viandeuses et les vaches laitières provient sans doute des statuts en Se différents dans ces deux populations de vaches. En effet, une carence en Se peut causer une diminution de la T3 et une augmentation de la T4 par une inhibition de la désiodase de type-I (qui transforme T4 en T3) au niveau périphérique (Arthur *et al.*, 1988).

3.2.5 CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

En conclusion, ce RIA a prouvé sa capacité à mesurer une large gamme de valeurs de bTSH, avec une relativement bonne précision. Cependant, il convient de préciser la limite de ce RIA quant aux valeurs basses de bTSH. En effet, ce RIA ne peut être utilisé que lors de diagnostic d'hypothyroïdie et non d'hyperthyroïdie.

Il serait intéressant à l'avenir de comparer les valeurs de bTSH d'animaux sains avec des animaux souffrant d'hypothyroïdie afin d'offrir une validation supplémentaire du dosage de la bTSH. De plus, une valeur seuil pour le diagnostic de l'hypothyroïdie à l'aide du dosage de la bTSH pourrait être ainsi définie.

3.3 ETUDE 3 : LE DOSAGE DE LA THYROTROPINE COMME MOYEN DE DIAGNOSTIC DE L'HYPOTHYROIDIE CHEZ LES VEAUX NOUVEAU-NES

Guyot H., Lebreton P., Alves de Oliveira L., Sulon J., Beckers J-F., Rollin F. Thyrotropin in newborn calves as a tool for diagnosing hypothyroidism. *Cattle Practice* (2007), *in press*.

3.3.1 INTRODUCTION

Parmi les troubles de la fonction thyroïdienne chez les bovins, l'hypothyroïdie est le plus fréquent (Wilson, 1975). Les causes possibles d'hypothyroïdie chez les ruminants sont des apports pauvres en I ou un défaut d'absorption ou d'utilisation de l'I. Bien que le goitre ne soit pas nécessairement lié directement à l'hypothyroïdie, de nombreux cas de goitre associés à de l'hypothyroïdie ont été décrits chez les bovins (Seimiya *et al.*, 1991 ; Takahashi *et al.*, 2001 ; Wilson, 1975). Cependant, la bTSH n'a pas été investiguée chez ces animaux.

Un dosage de la bTSH a été développé et validé en conditions physiologiques (Guyot *et al.*, 2007b). Des valeurs de référence ont été proposées pour la bTSH de vaches adultes cliniquement saines (Guyot *et al.*, 2007b). Le dosage de la bTSH n'a toutefois pas été validé chez des animaux souffrant d'hypothyroïdie.

Le but de l'étude était de comparer différents marqueurs de la fonction thyroïdienne et des apports nutritionnels iodés chez des veaux nouveau-nés cliniquement sains et des veaux nouveau-nés goitreux afin de proposer un outil diagnostique fiable pour l'hypothyroïdie.

3.3.2 MATERIEL ET METHODES

3.3.2.1 Animaux

Douze veaux viandeux présentant un goitre congénital, de race BBB ou Salers, ont été étudiés. Ces animaux provenaient de 2 élevages où de nombreux cas de goitre congénital avaient été rapportés par les vétérinaires d'exploitation. Des échantillons de sang (tubes héparinés) ont été prélevés sur ces 12 veaux dans les 24 premières heures de vie. Parmi ces 12 veaux, 8 présentaient un goitre important à la palpation et étaient alopeciques. Ces veaux sont morts (=goitreux-morts) dans les 24 premières heures de vie. Les 4 autres veaux présentaient un goitre de taille modérée et avaient un pelage normal. Ces 4 veaux ont survécu (=goitreux-vivants). De plus, du sang en provenance de 45 veaux nouveau-nés cliniquement sains et de races identiques a été prélevé de la même manière.

La concentration en bTSH, T4, T3, rT3, IIP et l'activité de la GPX ont été comparées entre les veaux goitreux et les veaux sains. De plus, la bTSH, la T4, l'IIP et l'activité de la GPX ont été également analysés chez leur mère respective, au moment du vêlage.

3.3.2.2 Dosages

La concentration de la bTSH plasmatique a été mesurée selon la méthode de Guyot et collaborateurs (2007b). Les dosages de T4 et T3 (totales) ont été réalisés à l'aide de kits de dosage RIA (Clinical Assays™ GammaCoat™ M Total T4 ou T3 ¹²⁵I RIA Kit, DiaSorin, Minnesota). La rT3 a été déterminée en utilisant un kit de dosage RIA (Reverse T3, Adaltis, Casalecchio di Reno, Italy). L'IIP et la GPX ont été dosés comme décrit dans la première étude.

3.3.3 RESULTATS

La comparaison des veaux sains et goitreux, ainsi que l'interprétation statistique ($P < 0,05$) de ces résultats sont présentées dans le tableau 11. Les corrélations entre les veaux et leur mère pour les valeurs de bTSH, T4, IIP et GPX sont indiquées dans le tableau 12.

Des concentrations en bTSH significativement plus élevées ont été constatées chez les veaux goitreux par rapport aux veaux sains ($P < 0,01$), contrairement à la T4, aux ratios T4/T3 et T4/bTSH, la rT3 ($P < 0,01$) et la T3 ($P < 0,05$) qui étaient plus faibles chez les veaux goitreux.

Dans le groupe des veaux goitreux, les veaux goitreux-morts présentaient des concentrations en bTSH significativement supérieures ($P < 0,01$) à celles des veaux goitreux-vivants mais des concentrations en T4, T3, T4/bTSH ($P < 0,01$) et rT3 ($P < 0,05$) inférieures.

Les concentrations en bTSH, en IIP et en GPX étaient significativement plus élevées chez les veaux goitreux comparativement à leur mère ($P < 0,01$). En ce qui concerne la T4, seuls les veaux goitreux-morts présentaient des concentrations plus basses que celles de leur mère ($P < 0,01$). Les mères des veaux goitreux avaient des concentrations en bTSH ($P < 0,01$) et IIP ($P < 0,05$) plus hautes par rapport aux mères des veaux sains mais des concentrations en T4 et une activité de la GPX similaires.

3.3.4 DISCUSSION

Malgré les disparités physiologiques importantes des concentrations en hormones thyroïdiennes et en bTSH décrites chez les veaux nouveau-nés (Davicco *et al.*, 1982, Takahashi *et al.*, 2001), la bTSH a permis de différencier les veaux goitreux des veaux sains.

En médecine humaine, le test biochimique de référence pour diagnostiquer l'hypothyroïdie se base sur des concentrations en hormones thyroïdiennes très basses accompagnées de concentrations en TSH très élevées. Sur base de ce critère, dans cette étude, seuls les veaux goitreux-morts pouvaient être définis comme hypothyroïdiens. Bien qu'un nombre peu important d'animaux testés dans notre étude (12 veaux goitreux et 45 veaux sains) ne permette pas la détermination d'un seuil très fiable, un seuil hypothétique de 35 $\mu\text{U/ml}$ a été déterminé pour diagnostiquer l'hypothyroïdie chez les veaux nouveau-nés.

Takahashi et collaborateurs (2001) ont suggéré que les hormones thyroïdiennes, et plus spécifiquement le ratio T4/T3, étaient suffisants pour établir le diagnostic d'hypothyroïdie. Néanmoins, dans notre étude, bien que le ratio T4/T3 était utile pour détecter les veaux goitreux, il ne permettait pas la distinction entre les veaux goitreux-morts et goitreux-vivants, contrairement à la bTSH. Le dosage de la bTSH semble donc très utile à ce propos, bien que des concentrations très faibles en T4 soient rapportées par Takahashi et collaborateurs (2001) et Ghergiu et Roca (1995) chez des veaux nouveau-nés goitreux hypothyroïdiens.

La reverse-T3 est connue chez l'homme et les ruminants pour être présente à des concentrations élevées à la naissance (Chopra *et al.*, 1975a et 1975b). Des concentrations basses en rT3 peuvent être constatées chez des patients hypothyroïdiens, même si de grandes variations dans les concentrations de cette hormone peuvent se produire (Klein *et al.*, 1978). Dans notre étude, la concentration en rT3 était faible chez les veaux goitreux-morts, comparativement aux autres veaux. Cela constitue un élément supplémentaire pour confirmer le diagnostic d'hypothyroïdie chez les veaux goitreux-morts.

La concentration en IIP ainsi que l'activité de la GPX sont des marqueurs pour le statut nutritionnel en I et en Se, respectivement. Dans notre étude, le statut iodé était marginal à adéquat chez les mères de chaque groupe, selon la valeur seuil de McCoy et collaborateurs (1997) (adéquat si IIP > 50 $\mu\text{g/L}$). Le statut en Se, indiqué par l'activité de la GPX, était marginal à adéquat dans chaque groupe, selon le seuil d'Enjalbert et collaborateurs (2006) (adéquat si l'activité de la GPX > 220 UI/gHb). Les valeurs élevées en IIP chez les veaux goitreux-morts provenaient d'une supplémentation spécifique en I à la naissance (Orodine[®], Octavet: comprimés avec 420 mg de KI). Cette supplémentation en I a été réalisée à des fins thérapeutiques chez ces veaux dont l'examen clinique présageait un pronostic réservé. La concentration en IIP obtenue sur ces veaux à la naissance ne correspondait très probablement pas à la concentration en IIP présentée dans le courant de la gestation.

Bien que la carence en I soit principalement décrite comme cause primaire d'hypothyroïdie chez les ruminants et l'être humain (Wilson, 1975 ; Delange, 2002), il semble que le statut en

I des vaches n'ait aucune relation directe avec la prévalence de goitre dans les deux exploitations bovines viandeuses étudiées.

3.3.5 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Cette étude suggère que la bTSH seule peut être un bon outil dans le diagnostic de l'hypothyroïdie chez les veaux nouveau-nés. En l'absence de dosage de la bTSH, les hormones thyroïdiennes peuvent aussi être utilisées pour ce diagnostic bien que celles-ci soient moins sensibles pour détecter des animaux hypothyroïdiens. Finalement, dans cette étude, la présence de goitre congénital chez les veaux n'a pu être expliquée par le statut iodé (IIP) et le statut thyroïdien (T4) de leur mère.

D'autres études sur de plus larges populations d'animaux sont nécessaires afin d'évaluer si une supplémentation en I des mères ou leur statut en I et Se peuvent influencer la prévalence du goitre chez les veaux nouveau-nés.

L'étude suivante s'est focalisée sur le comportement des marqueurs sanguins du statut thyroïdien et du statut en Se et en I, lors de supplémentation en Se et en I.

Tableau 11. Comparaison de la concentration en bTSH, T4, T3, rT3, IIP et GPX chez les veaux nouveau-nés cliniquement sains et goitreux (percentiles 2,5-50-97,5).

	bTSH μU/ml	T4 nmol/L	T3 nmol/L	rT3 nmol/L	T4/T3 ratio	T4/bTSH ratio	IIP μg/L	GPX UI/gHb
Goitreux vivants n=4	25,2-26,7-29,2 ^{°#}	250-257-373 [°]	8,4-10,9-18,8 ^{°#}	3,1-3,4-4,3 [°]	20-23-31 [#]	8,9-9,5-14,6 ^{°#}	40-123-545 [°]	106-148-218
Goitreux morts n=8	42,6-74,0-81,1 [#]	13-13-15 [#]	0,4-0,5-0,8 [#]	1,2-1,6-2,3 [#]	17-26-31 [#]	0,2-0,2-0,3 [#]	216-610-1153 [#]	47-170-349
Goitreux n=12	25,3-47,4-80,8 [*]	13-13-348 [*]	0,4-0,6-17,3 [*]	1,3-2,7-4,2 [*]	17-26-32 [*]	0,2-0,3-13,6 [*]	46-540-1112	50-170-338
Sains n=45	1,3-7,3-19,7	84-241-283	2,0-5,1-16,1	2,5-4,0-16,1	15-37-78	13,3-23,8-188,2	27-111-1469	14-106-407

* Différence significative ($P < 0,05$) entre veaux goitreux (morts *et* vivants) et veaux sains.

° Différence significative ($P < 0,05$) entre veaux goitreux vivants et veaux goitreux sains.

Différence significative ($P < 0,05$) entre veaux goitreux (morts *ou* vivants) et veaux sains.

Tableau 12. Comparaison de la bTSH, T4, IIP et GPX des veaux nouveau-nés sains et goitreux avec les valeurs correspondantes de leur mère (percentiles 2,5-50-97,5).

	bTSH (μ U/ml)	T4 (nmol/L)	IIP (μ g/L)	GPX (UI/gHb)
Mères veaux goitreux (n=12)	5,5-9,3-12,0	18-35-68	15-149-274	26-133-253
Veaux goitreux (n=12)	25,3-47,4-80,8	13-13-348	46-540-1112	50-170-338
Corrélation “goitreux” (<i>rho</i>)	NS	NS	0,82	0,94
Mères veaux sains (n=45)	1,3-5,4-10,5 *	15-34-73	15-23-336 *	14-82-394
Veaux sains (n=45)	1,3-7,3-19,7 °	84-241-283 °	27-111-1469	14-106-407
Corrélation “sains” (<i>rho</i>)	0,44	-0,44	0,70	0,87

NS = non-significatif.

* Différence significative ($P < 0,05$) entre les mères des veaux goitreux et les mères des veaux sains.

° Différence significative ($P < 0,05$) entre les veaux goitreux et les veaux sains.

3.4 ETUDE 4 : DETERMINATION DU STATUT THYROÏDIEN ET DU STATUT EN IODE ET EN SELENIUM CHEZ DES VACHES HOLSTEIN NON-LACTANTES CONSOMMANT DES RATIONS NORMALEMENT POURVUES OU ENRICHIES EN IODE ET EN SELENIUM

Guyot H., Alves de Oliveira L., Uyttenhoef A., Vandeputte S., Sulon J., Beckers J-F., Rollin F. Assessment of iodine and selenium status using nutritional and functional markers in non-lactating Holstein dairy cows fed low or high iodinated and selenized rations. *Soumis*.

3.4.1 INTRODUCTION

Etant donné que la plupart des signes cliniques des carences en I et Se ne sont pas pathognomoniques, le recours à des examens de laboratoire est nécessaire afin de confirmer la suspicion de carence. Or, les principaux outils diagnostiques décrits jusqu'à présent pour évaluer le statut en Se et en I ont été utilisés dans des exploitations où les apports en Se et en I n'étaient ni standardisés ni contrôlés. Il était donc intéressant de tester ces outils diagnostiques dans une étude expérimentale où les apports en I et en Se seraient strictement contrôlés et, en corollaire, de comparer les résultats obtenus en fonction du niveau de supplémentation en I et en Se.

Le but de la quatrième étude a été de comparer le statut thyroïdien et le statut en I et en Se chez des vaches tarées non-gestantes et gestantes (ainsi que leur veau) recevant des apports en I et Se juste suffisants pour couvrir les besoins ou au contraire largement supérieurs aux besoins.

3.4.2 MATERIEL ET METHODES

3.4.2.1 Animaux

Douze vaches Holstein gestantes et 12 vaches Holstein non-gestantes, toutes non-lactantes, ont été réparties dans deux groupes différents, le groupe LISe (Low I & Se) et le groupe HISe (High I & Se), avec 6 vaches gestantes et 6 vaches non-gestantes dans chaque groupe.

3.4.2.2 Ration

Leur ration était composée de foin *ad libitum*, de concentrés, de pulpes séchées et d'orge aplatie pour un total d'environ 10 kg de matière sèche (MS) par vache et par jour. L'eau était

disponible en permanence. Sur base de la MS, la teneur en Se et en I de la ration était de respectivement 0,15 ppm et 0,45 ppm. Les animaux ont été acclimatés à la ration pendant minimum un mois avant le début de l'étude.

3.4.2.3 Supplémentation en I et en Se

Seules les vaches du groupe HISe ont reçu 50 g par jour d'un complément minéral. Ce minéral était un sel iodé et sélénié à 1000 ppm d'I sous forme d'iodate de calcium et 60 ppm de Se sous forme de sélénite de soude. Les animaux de ce groupe ont donc reçu 50 mg d'I et 3 mg de Se supplémentaires par jour. La supplémentation a commencé au jour 0 (T0).

3.4.2.4 Protocoles de prélèvement, étude à long terme

Du sang a été prélevé sur les 24 vaches une fois par mois pendant 4 mois consécutifs, toujours à la même heure (14h30). Le dosage de la bTSH, la T4, la T3, la rT3, l'IIP, du Se plasmatique et de l'activité de la GPX a été réalisé sur ces prélèvements sanguins.

De plus, le score corporel (SC) a également été mesuré une fois par mois, selon la méthode d'Edmonson *et al.* (1989). Enfin, si des maladies étaient présentes, elles étaient consignées.

3.4.2.5 Test de stimulation à la TRH

Afin d'évaluer la réponse de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien, un test de stimulation à la TRH a été effectué au 110^{ème} jour de l'étude. Parmi les 24 vaches, 4 vaches non-gestantes de chaque groupe ont été utilisées pour ce test. Une ligne de base a été établie (4 dosages sur une heure) avant l'injection de la TRH. Après avoir déterminé cette ligne de base, une solution à 0,02 % de TRH (Sigma-Aldrich) a été injectée par voie IV aux vaches, à la dose de 2 µg/kg de poids vif. Ce moment correspond au début de l'expérience (=TD). Par après, du sang a été récolté à intervalles réguliers (figure 6) et la bTSH, la T4 et la T3 ont été dosées.

3.4.2.6 Prélèvements au vêlage

Au vêlage, la bTSH, la T4, la T3 et l'IIP ont été dosés dans le sang des vaches gestantes. L'I inorganique a également été mesuré dans le liquide allantoïdien, amniotique et dans le colostrum. Chez les veaux, avant la prise de colostrum, la bTSH, la T4, la T3, la rT3, l'IIP et l'activité de la GPX ont été dosés dans le sang.

3.4.2.7 Dosages

La concentration de la bTSH, T4, T3, rT3, de l'IIP et du Se plasmatique ainsi que l'activité de la GPX ont été déterminées tel que décrit dans les études précédentes.

3.4.3 RESULTATS

3.4.3.1 Etude à long terme

Le tableau 13 présente l'évolution des paramètres biochimiques sanguins (bTSH, T4, T3, rT3, IIP, Se plasmatique et GPX) dans les 2 groupes de vaches durant l'étude à long terme.

A T0, les paramètres sanguins dans les deux groupes de vaches n'étaient pas différents alors qu'à la fin de l'étude (T120), la GPX ($P<0,05$), l'IIP ($P<0,01$) et la T3 ($P<0,01$) étaient significativement plus élevés et la T4 ($P<0,01$) et le ratio T4/T3 ($P<0,01$) étaient plus bas dans le groupe HISe, en comparaison avec le groupe LISe.

Excepté pour la GPX dont l'activité a augmenté à la fin de l'étude, les paramètres sanguins dans le groupe LISe n'ont pas changé significativement durant les 120 jours de l'étude. Dans le groupe HISe, la GPX ($P<0,01$), l'IIP ($P<0,01$) et la T3 ($P<0,05$) ont augmenté durant l'étude alors que la bTSH ($P<0,05$), la T4 ($P<0,05$) et le ratio T4/T3 ($P<0,01$) ont diminué.

Enfin, le SC des vaches du groupe LISe était plus important à la fin de l'étude par rapport à T0 ($P<0,05$) alors que le SC des vaches du groupe HISe est resté stable tout au long de l'étude. Enfin, aucune maladie n'a été constatée durant l'étude.

3.4.3.2 Test de stimulation à la TRH

La figure 6 montre la courbe de réponse de la bTSH suite à l'injection de TRH, dans les deux groupes de 4 vaches. Après injection de TRH, un pic significatif était présent pour la bTSH, la T4 et la T3 ($P<0,05$). Le pic de T4 et de T3 est apparu plus tardivement par rapport à celui de la bTSH. A l'exception de la bTSH dont la valeur de pic était plus élevée dans le groupe HISe ($P<0,05$), bien que l'aire sous la courbe ne soit pas différente selon le groupe, il n'a pas été observé de différence concernant la réponse de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien selon le groupe, supplémenté ou non en I et en Se.

3.4.3.3 Prélèvements au vêlage

La concentration de bTSH, T4, T3 et rT3, le ratio T4/T3 et l'activité de la GPX des mères au vêlage et de leur veau à la naissance, ainsi que les concentrations en I dans le colostrum et les liquides allantoidien et amniotique des mères au vêlage sont présentés dans le tableau 14.

L'IIP chez les veaux du groupe HISe, de même que l'I dans le colostrum, le liquide allantoïdien et le liquide amniotique de leur mère étaient significativement plus élevés, comparativement aux animaux du groupe LISe ($P<0,01$). La concentration en bTSH des veaux du groupe HISe était plus basse que celle du groupe LISe ($P<0,05$) bien que le ratio T4/T3 était plus élevé chez les veaux du groupe HISe, par rapport au groupe LISe ($P<0,05$). Des corrélations ont été trouvées, entre les mères au vêlage et leur veau à la naissance, pour la bTSH ($\rho=0,67$), la T4 ($\rho=-0,67$) et l'IIP ($\rho=0,74$). De même, l'IIP des mères était corrélé avec l'I dans l'allantoïde ($\rho=0,79$), l'amnios ($\rho=0,68$) et le colostrum ($\rho=0,74$). Enfin, des corrélations entre l'IIP des veaux et l'I dans le liquide allantoïdien ($\rho=0,91$) et amniotique ($\rho=0,90$) ont été constatées.

Tableau 13. Evolution du score corporel (SC) et des marqueurs du statut thyroïdien et du statut en I et Se chez les vaches des groupes LISe (n=12) et HISe (n=12) durant 120 jours.

	T0		T30		T60		T90		T120	
	LISe	HISe	LISe	HISe	LISe	HISe	LISe	HISe	LISe	HISe
Se µg/L	57 ± 12	69 ± 27	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	60 ± 20	67 ± 12
GPX UI/gHb	186 ± 77	198 ± 99	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	283 ± 63*	351 ± 47
IIP µg/L	27 ± 5	23 ± 8	23 ± 10*	290 ± 116	28 ± 9*	176 ± 81	22 ± 7*	217 ± 77	23 ± 4*	268 ± 48
bTSH µU/ml	4,2 ± 1,5	4,7 ± 2,1	3,9 ± 2,5	4,0 ± 1,9	3,3 ± 1,4	4,3 ± 2,9	3,9 ± 2,6	3,8 ± 2,8	3,1 ± 2,2	2,9 ± 1,6
T4 nmol/L	75 ± 23	69 ± 18	78 ± 24	63 ± 23	72 ± 20	61 ± 19	82 ± 23*	49 ± 17	87 ± 24*	51 ± 17
T3 nmol/L	1,18 ± 0,18	1,20 ± 0,32	1,20 ± 0,38	1,06 ± 0,22	1,18 ± 0,30	1,14 ± 0,27	1,24 ± 0,26	1,30 ± 0,36	1,16 ± 0,20*	1,50 ± 0,33
rT3 nmol/L	0,31 ± 0,14	0,25 ± 0,08	N.D.	N.D.	0,31 ± 0,13	0,26 ± 0,12	N.D.	N.D.	0,32 ± 0,13	0,23 ± 0,08
T4/T3 ratio	63 ± 16	60 ± 20	67 ± 16	60 ± 21	62 ± 16	54 ± 15	68 ± 22*	38 ± 12	76 ± 20*	35 ± 11
SC	3,0 ± 0,5*	2,5 ± 0,5	3,2 ± 0,5*	2,7 ± 0,4	3,0 ± 0,6*	2,6 ± 0,4	3,3 ± 0,6*	2,6 ± 0,6	3,3 ± 0,6*	2,6 ± 0,6

N.D. : non déterminé

* Différence significative entre LISe et HISe ($P<0,05$)

Gras: Différence significative entre T0 et T120 ($P<0,05$)

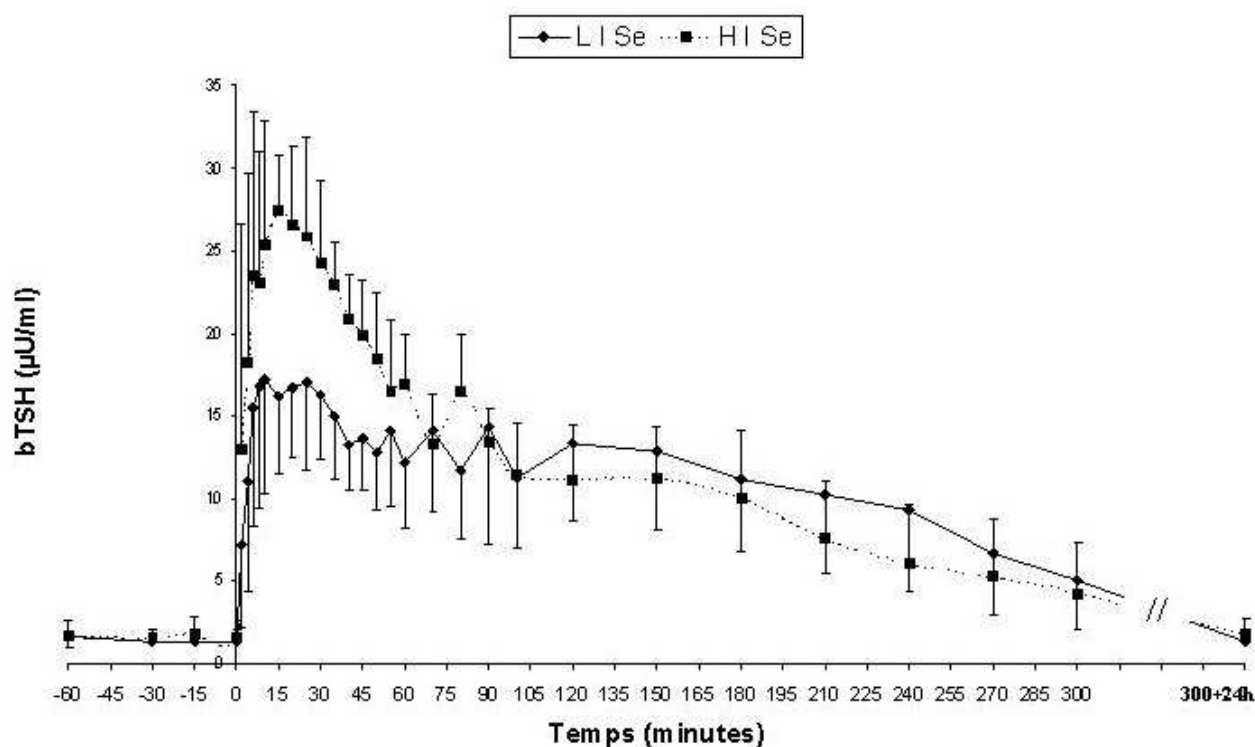


Figure 6. Test de stimulation à la TRH chez 4 vaches des groupes LISe et HISe.

Tableau 14. Comparaison des concentrations sanguines en IIP, bTSH, T4 et T3, de l'activité de la GPX et de la concentration en I dans l'allantoïde, l'amnios et le colostrum chez les mères au vêlage et les veaux à la naissance dans les groupes HISe et LISe.

	VACHES		VEAUX	
	LISe (n=6)	HISe (n=6)	LISe (n=6)	HISe (n=6)
IIP (µg/L)	23 ± 7	275 ± 116*	48 ± 28	921 ± 350*
bTSH (µU/ml)	5,09 ± 2,10	2,13 ± 1,09*	5,52 ± 2,55	2,12 ± 0,74*
T4 (nmol/L)	47 ± 14	51 ± 25	143 ± 27	141 ± 54
T3 (nmol/L)	1,14 ± 0,22	0,96 ± 0,20	4,04 ± 1,83	2,75 ± 2,18
rT3 (nmol/L)	<i>N.D.</i>	<i>N.D.</i>	7,48 ± 0,85	5,99 ± 2,23
T4/T3 (ratio)	42 ± 13	54 ± 29	40 ± 12	64 ± 21*
GPX (UI/gHb)	<i>N.D.</i>	<i>N.D.</i>	375 ± 32	372 ± 57
I allantoïde (µg/L)	66 ± 27	818 ± 980*	/	/
I amnios (µg/L)	157 ± 75	1605 ± 1142*	/	/
I colostrum (µg/L)	87 ± 21	333 ± 192*	/	/

N.D. : non déterminé

* Différence significative entre les groupes LISe et HISe ($P < 0,05$)

Gras: Différence significative entre les mères et leur veau ($P < 0,05$)

3.4.4 DISCUSSION

Les vaches du groupe LISe ont reçu les quantités d'I recommandées par le N.R.C. (2001) mais seulement la moitié des recommandations pour le Se. Les vaches du groupe HISe, quant à elles, ont reçu presque 10 fois les recommandations du N.R.C. pour l'I et 1,5 fois celles pour le Se. Le design de notre étude a limité au maximum les variations physiologiques des concentrations hormonales telles que les variations circadiennes et la lactation. Bien qu'une chute des concentrations en hormones thyroïdiennes soit décrite en péri-partum chez les bovins (Nikolic et al., 2003), elle est provisoire et ne s'étale que sur quelques jours avant et après le vêlage. Dans notre étude, les vêlages se sont produits entre T45 et T90. Dès lors, les concentrations sanguines en hormones thyroïdiennes et en bTSH à T0 et T120 n'ont pas été affectées par le vêlage.

Les hormones thyroïdiennes et la bTSH sont restées dans des intervalles normaux durant toute l'étude, pour chaque groupe, indiquant qu'une carence en I à long terme n'était pas présente dans ces deux groupes. Néanmoins, le Se plasmatique et l'IIP sont restés sous les valeurs seuils définies par Gerloff (1992) (Se <70 µg/L) et McCoy et collaborateurs (1997) (IIP <50 µg/L) durant tout l'étude pour le groupe LISe, bien que la GPX était au-delà du seuil de carence défini par Enjalbert et collaborateurs (2006) (GPX <220 UI/gHb) à la fin de l'étude.

Les modifications des taux d'hormones thyroïdiennes durant l'étude dans le groupe HISe peuvent être attribuées à la supplémentation en Se. Wichtel et collaborateurs (1996) et Awadeh et collaborateurs (1998) ont démontré chez les bovins qu'une supplémentation en Se avait un rôle sur l'enzyme désiodase de type I (responsable de la transformation de T4 en T3, l'hormone métaboliquement active), ce qui se traduit par une augmentation de la T3 et une diminution de la T4. La diminution de la bTSH dans le groupe HISe provient sans doute du rétro-contrôle négatif au niveau de l'hypophyse induit par la T3. En effet, des travaux ont montré que la T3, plus que la T4, agissait au niveau de ce rétro-contrôle (Obregon *et al.*, 1980).

L'utilisation des hormones thyroïdiennes totales plutôt que libres repose sur plusieurs arguments. La seule méthode de dosage qui peut être utilisée chez un animal pour la fraction libre de T4 ou T3 est la dialyse à l'équilibre, qui est une méthode lourde, onéreuse et chronophage. Les principaux dosages des hormones libres disponibles en routine sont des dosages qui ne fonctionnent à priori que chez l'homme. Si un dosage des hormones libres était validé chez le bovin, il ne le serait que pour des bovins en bonne santé. En effet, dès que la concentration en protéines de transport est perturbée (par exemple en cas de maladie), le dosage des hormones libres n'est plus valable. Il n'existe de toute façon pas actuellement de

dosage à l'équilibre des hormones libres chez les bovins. Il n'en reste pas moins vrai que la fraction libre plasmatique de T4 et de T3 est effectivement la seule responsable de l'effet biologique, car elle est la seule à pouvoir diffuser en dehors des vaisseaux sanguins. En revanche, cette fraction voit sa concentration fluctuer de façon très rapide, sur une cinétique horaire, pour s'adapter précisément aux demandes physiologiques des tissus. Cette concentration est beaucoup moins stable que celle de la fraction totale, dont la concentration est mille fois plus élevée (nM au lieu de pM), qui est la forme de réserve stable. Par conséquent, la détermination du statut thyroïdien sur un prélèvement isolé est mieux réalisée par la concentration totale stable que par la concentration libre fluctuante.

Bien que la supplémentation en I et en Se ait augmenté l'IIP et l'activité de la GPX, le Se plasmatique est resté bas pendant toute la durée de l'étude. Cela est en contradiction avec la cinétique attendue du Se plasmatique suite à une supplémentation en Se. Une hypothèse pourrait être qu'une partie du Se entre dans la GPX et qu'une autre soit incorporée dans les autres sélénio-enzymes dont les désiodases, quittant ainsi le plasma. L'augmentation de la T3 plasmatique supporte d'ailleurs cette hypothèse bien que le dosage des désiodases devrait être effectué pour la valider. A ce propos, Pavlata et collaborateurs (2005) ont observé chez des chevreaux que le statut en Se (Se et GPX) était plus bas chez des chevreaux supplémentés en I, comparativement à des chevreaux qui ne recevaient pas d'I. Ces auteurs ont suggéré que la supplémentation en I pourrait interférer avec le métabolisme du Se mais ils n'ont pas apporté d'éléments scientifiques validant cette hypothèse.

Les apports en Se et en I des mères, qu'ils soient marginaux ou très élevés (selon les recommandations du N.R.C. 2001) n'ont eu aucune influence sur les hormones thyroïdiennes des veaux. La bTSH était plus haute dans le groupe LISe mais les valeurs de bTSH étaient dans la fourchette de normalité dans les deux groupes de veaux.

Enfin, la supplémentation en Se et en I n'a pas affecté la réactivité de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien, comme précédemment constaté dans d'autres études (Convey *et al.*, 1978).

3.4.5 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Etant donné qu'aucune maladie n'a été constatée durant l'étude, que la réactivité de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien était correcte, que les taux d'hormones étaient dans les normes et que la GPX, marqueur à long terme du statut en Se, était également dans les normes à la fin de l'étude, les apports en I et Se (selon le N.R.C., 2001) pouvaient être considérés comme adéquats dans le groupe LISe. Il semblerait qu'une carence majeure et peut-être à plus

long terme soit nécessaire afin de faire varier les concentrations hormonales (bTSH, T4, T3) et l'activité de la GPX. Toutefois, les animaux étudiés n'étaient pas en lactation et une moitié seulement d'entre eux était gestante. Ces animaux n'avaient donc pas des besoins très élevés. Néanmoins, sur base de l'IIP et du Se plasmatique, le groupe LISe était déficient en I et en Se à la fin de l'étude alors que les vaches du groupe HISe étaient également carencées en Se à la fin de l'étude. L'IIP reflète correctement la supplémentation en I. Néanmoins, des valeurs seuils d'IIP pour la carence en I devraient être redéfinies. Concernant le Se plasmatique, il convient de tenir compte, lors de l'interprétation des résultats, d'une interaction possible avec une supplémentation importante en I. D'autres études sur les interactions du Se et de l'I sont nécessaires afin de pouvoir utiliser de manière optimale les marqueurs du statut en Se et en I chez les bovins. De même, l'influence de la forme de Se ou d'I dans la ration sur les marqueurs du statut en Se et I devrait être envisagée. L'étude suivante concerne précisément le comportement de la GPX et du Se plasmatique lors d'une supplémentation en Se sous deux formes et deux doses différentes.

3.5 ETUDE 5 : REPONSES COMPAREES DE VACHES BLANC-BLEU BELGES ET DE LEUR VEAU SUITE A UNE SUPPLEMENTATION EN SELENIUM ORGANIQUE ET EN SELENITE DE SOUDE

Guyot H., Spring P., Andrieu S., Rollin F. Comparative responses to sodium selenite and organic selenium supplements in Belgian Blue cows and calves. *Livestock Science* 111 (2007) 259-263.

3.5.1 INTRODUCTION

La race BBB est la plus musclée au monde. Du fait de sa conformation cularde, cette race a des besoins élevés en Se et est donc plus susceptible de développer une carence en Se.

Pour faire face à ces besoins en Se, les rations des bovins sont fréquemment supplémentées en Se. Jusqu'il y a peu, seules des formes inorganiques de Se (comme le sélénite de soude) étaient utilisées en Europe pour supplémenter les bovins mais depuis décembre 2006, l'Union Européenne a autorisé une souche de levures sélénée (forme organique de Se contenant majoritairement de la séléno-méthionine). Une biodisponibilité supérieure des formes organiques par rapport aux formes inorganiques a été démontrée chez l'homme et les animaux (Fairweather-Tait, 1997 ; Pehrson *et al.*, 1999 ; Rayman, 2004).

Le but de cette dernière étude était d'évaluer l'effet de la supplémentation en Se à différentes doses (0,1 et 0,5 ppm) et formes (levure sélénée et sélénite de soude) chez des vaches BBB gestantes et carencées en Se sur leur statut en Se dans le sang, le colostrum et le lait d'une part, et sur la santé, les performances et le statut en Se dans le sang de leur veau, d'autre part.

3.5.2 MATERIEL ET METHODES

L'étude a été réalisée en double-aveugle sur 60 vaches BBB gestantes dans deux fermes carencées en Se en Belgique. Dans chaque ferme, les animaux ont été répartis dans 3 groupes homogènes, recevant chacun une supplémentation en Se de forme et dose différentes. Les premier et deuxième groupes ont reçu respectivement 0,1 ppm (Na-Se 0,1) et 0,5 ppm de Se (Na-Se 0,5) sous forme de sélénite de soude alors que le troisième groupe a reçu 0,5 ppm (Y-Se 0,5) de Se organique (Se produit par *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060 : Sel-plex[®], Alltech[®]). Dans chaque groupe, le minéral distribué contenait également d'autres oligo-éléments pour arriver à un apport journalier en Zn, Cu, Co, I, Vitamines A, D et E équivalent à, respectivement, 55 ppm, 8 ppm, 0,3 ppm, 1 ppm, 13.600 UI/kg MS, 1.360 UI/kg MS et 34

UI/kg MS. La supplémentation commençait au minimum 2 mois avant le vêlage et continuait au minimum 2 mois après le vêlage.

Des prélèvements sanguins ont été effectués sur les vaches à T0, T15, T30, T60, T90 et T120 jours (=T final). Le Se plasmatique, l'activité de la GPX et l'IIP ont été analysés. La teneur en Se dans le colostrum et dans le lait a été mesurée. Le sang des veaux a été prélevé après ingestion de colostrum et au 15^{ème}, 45^{ème} et 75^{ème} jour de vie afin de déterminer la concentration plasmatique de Se ainsi que l'activité de la GPX. Les veaux ont été pesés à la naissance et à l'âge de 2 mois afin de calculer leur gain de poids. Un examen clinique standardisé (Jackson et Cockcroft, 2002) a été réalisé chez les veaux tous les 15 jours.

3.5.3 RESULTATS

La concentration en Se plasmatique ainsi que l'activité de la GPX des vaches et de leur veau au cours de l'étude, ainsi que la teneur en Se dans le colostrum et le lait sont présentées dans les tableaux 15 et 16. L'évolution du Se plasmatique et de l'activité de la GPX durant l'étude chez les vaches est présentée dans les figures 7 et 8.

Concernant le Se plasmatique, une différence significative ($P < 0,01$) entre les groupes recevant 0,5 ppm de Se par rapport au groupe recevant 0,1 ppm a été constatée dès T15. Il a par contre fallu attendre T60 avant de constater une différence significative ($P < 0,01$) entre les 3 groupes de vaches. Le groupe Na-Se 0,1 est toutefois resté sous le seuil de carence (70 $\mu\text{g/L}$: Gerloff, 1992) durant toute l'étude. La GPX a montré une évolution différente de celle du Se plasmatique. Ce n'est qu'à partir de T90 qu'une différence significative ($P < 0,01$) est apparue pour les 2 groupes recevant 0,5 ppm de Se, en comparaison avec le groupe recevant 0,1 ppm de Se. Pendant toute l'étude, il n'a pas été noté de différence significative, en ce qui concerne la GPX, pour les 2 groupes recevant 0,5 ppm de Se. La teneur en Se dans le colostrum et le lait était significativement plus grande dans le groupe Y-Se 0,5 ppm par rapport aux 2 autres groupes. Les 2 groupes recevant du Se sous forme Na-Se n'ont pas montré de différence significative quant à leur teneur en Se dans le colostrum et le lait. Les concentrations en IIP n'étaient pas significativement différentes entre les groupes à T0 et à T120, et entre T0 et T120. L'IIP était de $30 \pm 20 \mu\text{g/L}$ à T0 et $27 \pm 20 \mu\text{g/L}$ à T120.

Les concentrations plasmatiques en Se étaient plus importantes à la naissance et 75 jours plus tard chez les veaux dont les mères consommaient 0,5 ppm de Se sous forme organique par rapport aux veaux des autres groupes. La GPX n'a quant à elle pas montré de différence significative chez les veaux, quelle que soit la forme ou la dose de Se ingérée par leur mère. Dans tous les groupes, le Se plasmatique des veaux à la naissance était significativement plus

bas que le Se plasmatique de leur mère au vêlage ($P<0,01$). Les veaux du groupe Y-Se 0,5 ont eu un gain de poids de 715 ± 45 g/jour, qui était plus élevé ($P=0,06$) que celui du groupe Na-Se 0,5 (556 ± 72 g/jour) et plus élevé ($P<0,01$) que celui du groupe Na-Se 0,1 (510 ± 76 g/jour). La diarrhée était la pathologie la plus représentée chez les veaux. Durant les 15 premiers jours de vie, la seule différence significative d'incidence de diarrhée entre les groupes de veaux existait entre le groupe Y-Se 0,5 et le groupe Na-Se 0,1 ($P<0,05$), avec une incidence plus élevée dans ce dernier groupe de veaux. L'incidence de la diarrhée envisagée sur la durée totale de l'étude (75 jours) a abouti aux mêmes conclusions statistiques.

Tableau 15. Evolution du statut en Se dans les 3 groupes de vaches et leur veau en fonction de la dose et de la forme de Se distribuée.

	Se plasmatique ($\mu\text{g/L}$)			GPX (UI/gHb)		
	Y-Se 0,5	Na-Se 0,5	Na-Se 0,1	Y-Se 0,5	Na-Se 0,5	Na-Se 0,1
Mères						
T0	41 ± 8	42 ± 6	57 ± 11	101 ± 21	99 ± 35	133 ± 21
T15	$76 \pm 15^*$	$71 \pm 16^*$	58 ± 10	115 ± 33	124 ± 40	145 ± 25
T30	$89 \pm 9^*$	$82 \pm 7^*$	53 ± 10	159 ± 41	163 ± 47	174 ± 39
T60	$124 \pm 18^{*\circ}$	$91 \pm 12^*$	56 ± 9	248 ± 41	228 ± 77	209 ± 41
T90	$119 \pm 10^{*\circ}$	$89 \pm 10^*$	65 ± 6	$308 \pm 55^*$	$294 \pm 93^*$	246 ± 39
T120	$118 \pm 12^{*\circ}$	$82 \pm 17^*$	59 ± 7	$354 \pm 22^*$	$338 \pm 61^*$	247 ± 44
Veaux						
T0	$98 \pm 4^{*\circ}$	$63 \pm 4^*$	44 ± 6	410 ± 47	445 ± 47	333 ± 62
T15	$78 \pm 9^{*\circ}$	$54 \pm 7^*$	39 ± 4	393 ± 171	369 ± 138	303 ± 52
T45	$71 \pm 9^{*\circ}$	46 ± 6	54 ± 12	510 ± 98	432 ± 45	345 ± 50
T75	$75 \pm 4^{*\circ}$	53 ± 4	45 ± 6	501 ± 72	408 ± 11	371 ± 29

* Différence significative ($P<0,01$) entre les doses de Se (0,5 ppm \gg 0,1 ppm)

\circ Différence significative ($P<0,01$) entre les formes de Se (Y-Se \gg Na-Se)

En gras : différence significative ($P<0,01$) entre T0 et T final

Tableau 16. Concentrations en Se dans le colostrum et le lait dans les 3 groupes de vaches en fonction de la dose et de la forme de Se distribuée.

	Se ($\mu\text{g/L}$)		
	Y-Se 0,5	Na-Se 0,5	Na-Se 0,1
Colostrum	200 \pm 40* ^o	100 \pm 40	80 \pm 20
Lait	130 \pm 70*^o	30 \pm 20	20 \pm 5

* Différence significative ($P < 0,01$) entre les doses de Se (0,5 ppm \gg 0,1 ppm)

^o Différence significative ($P < 0,01$) entre les formes de Se (Y-Se \gg Na-Se)

En gras : différence significative ($P < 0,01$) entre le colostrum et le lait

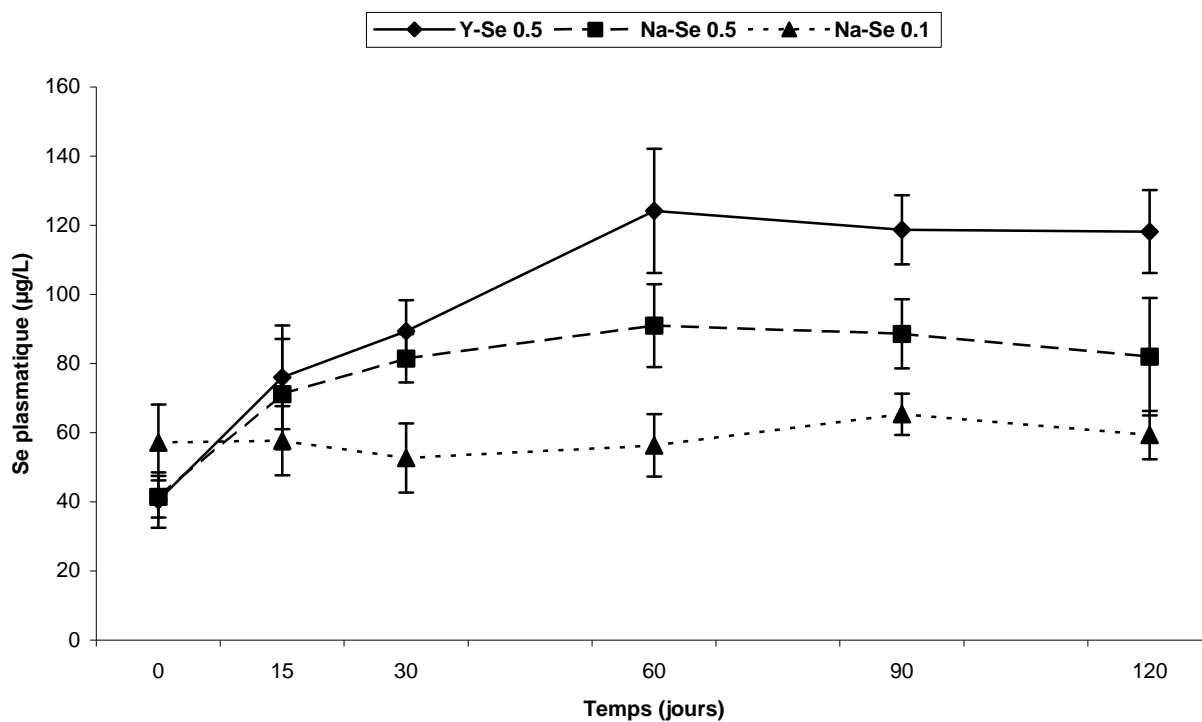


Figure 7. Evolution du Se plasmatique chez les vaches des 3 groupes au cours de l'étude en fonction de la dose et de la forme de Se distribuée.

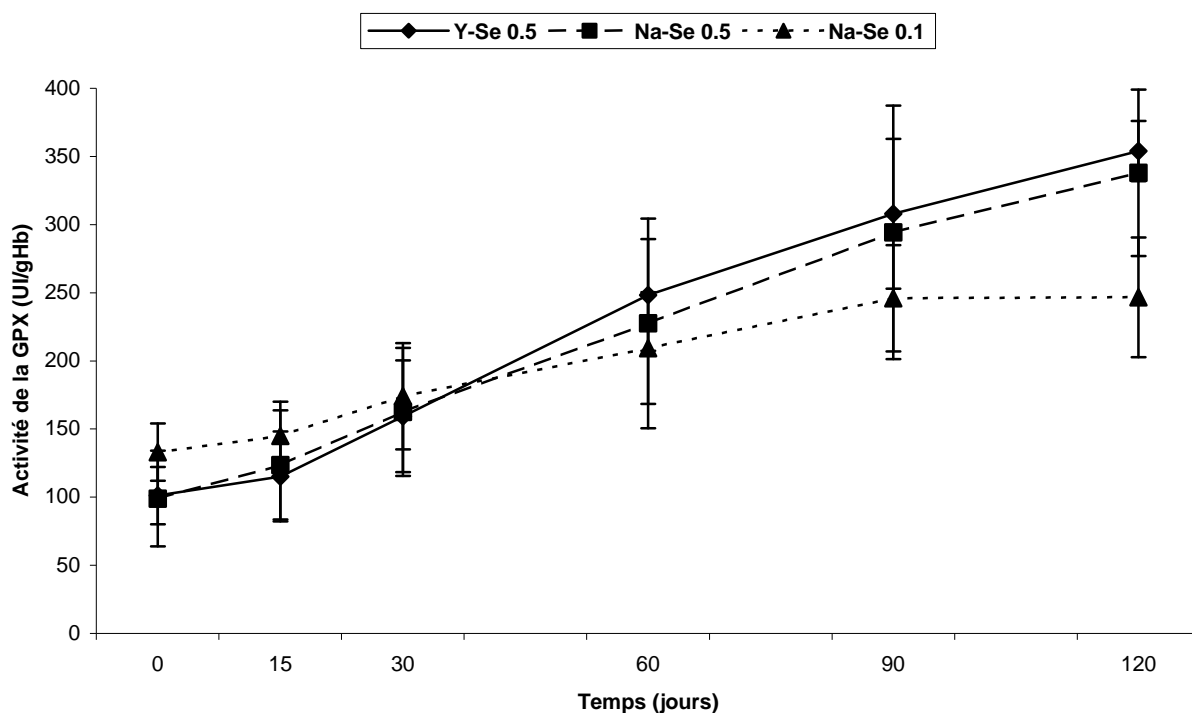


Figure 8. Evolution de l'activité de la GPX chez les vaches des 3 groupes au cours de l'étude en fonction de la dose et de la forme de Se distribuée.

3.5.4 DISCUSSION

3.5.4.1 Statut des vaches en Se

Sur base du Se plasmatique, nourrir les vaches avec du Se organique, comparativement à du sélénite du soude, résulte en un meilleur statut en Se chez les vaches et leur veau.

De nombreux auteurs (Backall et Scholz, 1979 ; Koller *et al.*, 1984a ; Counotte et Hartmans, 1989) ont démontré la bonne corrélation entre le Se sanguin et l'activité de la GPX, faisant de la GPX un bon moyen pour déterminer le statut en Se des bovins. Néanmoins, cette relation entre Se sanguin et GPX peut se modifier durant une supplémentation en Se, tel qu'observé dans notre étude. En effet, une différence significative a été observée entre la concentration du Se plasmatique des vaches du groupe Y-Se 0,5 et celle des vaches du groupe Na-Se 0,5, alors qu'il n'y avait pas de différence pour la GPX. Cela est probablement dû au fait que le Se mesuré dans le plasma est le Se libre ainsi que le Se lié à l'hémoglobine et aux enzymes. Chez des femmes recevant un supplément oral de Se, Butler et collaborateurs (1991) ont montré que la plus grande partie du Se est liée à l'hémoglobine quand le Se ingéré l'est sous forme organique alors que le Se est distribué de manière égale entre la GPX et l'hémoglobine lorsque le Se ingéré l'est sous forme inorganique. La concentration plasmatique de Se reflète mieux les changements récents dans les apports en Se comparativement à l'activité de la GPX

qui dépend du temps nécessaire à l'incorporation du Se dans les globules rouges lors de l'érythropoïèse. Parce que l'activité de la GPX est sensible à la forme, la dose et la durée de la supplémentation en Se, la mesure de la GPX pour déterminer le statut en Se ne doit être utilisée que chez des vaches qui ne reçoivent pas de supplémentation en Se ou dans les cas où la concentration plasmatique en Se a atteint un plateau.

Il est apparu dans notre étude que la dose de 0,1 ppm de Se, sous forme inorganique, n'était pas suffisante pour assurer un statut en Se adéquat chez les mères supplémentées de cette façon et leur veau. Par conséquent, la dose recommandée par le N.R.C. (2000) pour le bétail viandeux semble insuffisante pour du bétail hyper-musclé tel que le BBB.

3.5.4.2 *Se dans le colostrum et le lait*

Dans notre étude, un meilleur transfert du Se dans le colostrum et le lait a été constaté lorsqu'une forme organique de Se était consommée par les vaches, comparativement à la forme inorganique (sélénite de soude). Cela suggère que les formes organiques privilégient le transfert du Se de la mère au veau, notamment par le colostrum et le lait, en plus du transfert placentaire. De plus, cela corrobore les observations faites par Ortman et Pehrson (1997 et 1999) chez des vaches laitières en lactation.

3.5.4.3 *Statut des mères en I*

Selon McCoy et collaborateurs (1997) et Hemingway et collaborateurs (2001), les valeurs d'IIP à T0 et T120 indiquent un apport insuffisant en I dans la ration. Pourtant, la dose d'un ppm d'I apportée dans la ration est au-dessus des recommandations du N.R.C. (2000) pour le bétail viandeux.

Pavlata et collaborateurs (2005) ont constaté un statut en Se plus faible chez des chevreaux recevant une supplémentation importante en I, comparativement à des chevreaux ne recevant pas d'I. Des résultats semblables avaient été constatés dans l'étude 4 chez des vaches recevant ou non une supplémentation en I et en Se. Dans notre dernière étude, le statut plus faible en I, malgré des apports corrects en I dans la ration, pourrait donc provenir de la supplémentation en Se. Cette constatation amène l'hypothèse que les voies métaboliques du Se et de l'I sont inter-dépendantes.

3.5.4.4 *Statut des veaux en Se*

Comme écrit précédemment, nourrir les mères avec du Se organique conduit à un meilleur statut en Se des mères mais également de leur veau, comparativement à une même dose de Se

sous forme inorganique (sélénite de soude). Il semble que le transfert du Se de la vache à son veau se fasse principalement par voie trans-placentaire et dans une moindre mesure *via* le colostrum et le lait, ainsi que l'attestent les résultats de notre dernière étude et ceux de Abdelrahman et Kincaid (1993) et Enjalbert et collaborateurs (1999). En effet, malgré que la majorité des veaux du groupe Y-Se 0,5 ait été nourri avec un lactoreemplaceur (faible teneur en Se), leur statut en Se en fin d'étude était toujours supérieur à celui des veaux des autres groupes.

3.5.4.5 Santé et performances des veaux

Dans notre étude, la croissance des veaux avait tendance ($P=0,06$) à être supérieure dans le groupe Y-Se 0,5 comparativement au groupe Na-Se 0,5. Cependant, davantage de mâles étaient présents dans le group Y-Se. Par contre, dans le groupe Y-Se, la majorité des veaux a reçu un lactoreemplaceur, qui est moins riche en protéines et énergie que le lait entier de vache. Enfin, les veaux du groupe Y-Se ont moins souffert de diarrhée que les veaux des autres groupes. Or, il est connu qu'une plus grande incidence de maladies a un effet négatif sur la croissance. Ces diverses interactions rendent nécessaire l'élaboration d'une nouvelle étude standardisée sur les performances des veaux.

3.5.5 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Le statut en Se des vaches qui reçoivent 0,5 ppm de Se par rapport à des vaches recevant 0,1 ppm de Se est augmenté quelle que soit la forme de Se ingérée. Néanmoins, à dose égale de Se, la forme organique conduit à un meilleur statut en Se (sur base du Se plasmatique). Le transfert du Se de la mère au veau par le biais du placenta, colostrum et lait est meilleur lorsque la mère consomme une forme organique de Se. De meilleures performances et une meilleure santé sont constatées chez les veaux dont la mère consomme 0,5 ppm de Se sous forme organique, en comparaison avec les veaux dont la mère reçoit 0,1 ppm de Se sous forme de sélénite de soude. Ces résultats suggèrent également que la dose de 0,1 ppm de Se, recommandée par le N.R.C. (2000) pour les bovins viandeux, est insuffisante pour du bétail viandeux hyper-musclé tel que le BBB.

Le statut sanguin en Se est influencé par la forme et la dose de Se ingéré par les animaux. De plus, le statut en I semble influencé par la supplémentation en Se, de même que le statut en Se semblait être influencé par une supplémentation en I (voir étude 4).

Une évaluation de l'efficacité d'une supplémentation en I sous différentes formes pourrait également se concevoir, en portant son attention sur l'influence des formes d'I sur les outils

biochimiques d'évaluation du statut iodé tels que l'IIP, l'I dans le lait, les hormones thyroïdiennes et la bTSH.

4 DISCUSSION GENERALE, CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Abondamment décrites de par leurs conséquences cliniques (Graham, 1991) à l'échelle individuelle, les carences en Se et en I avaient été peu souvent envisagées à l'échelle du troupeau. Des études européennes avaient présenté un état des lieux des carences chez les bovins en Irlande (Mee et Rogers, 1994 et 1996) et en France (Enjalbert et al., 2006) sur base de prises de sang. En Belgique, des analyses de sols et de fourrages effectuées ces 10 dernières années au cours de visites d'exploitation (ULg-FMV, Clinique des Ruminants) ont révélé des teneurs pauvres en oligo-éléments. Ces résultats permettaient de prédire des carences chez les animaux consommant ces fourrages. En France, la situation n'est pas plus favorable. En effet, les tables des teneurs en oligo-éléments éditées par l'INRA (2007) montrent que les fourrages produits sur le sol français sont également pauvres en oligo-éléments. Oldfield a établi en 2002 une cartographie du Se au niveau mondial. Certaines régions arides des Etats-Unis mises à part, la plupart des contrées présente de faibles concentrations en Se dans les sols. Dès lors, notre étude en Wallonie dans des troupeaux sains et dans des troupeaux avec des pathologies en nombre trop important n'a fait que mettre en évidence une situation largement suspectée.

La distribution de CMV et de concentrés permet d'augmenter significativement les concentrations sanguines en oligo-éléments et d'atteindre ainsi un statut correct chez les bovins. Le statut sanguin en oligo-éléments des animaux recevant un CMV ou des concentrés était effectivement bien meilleur par rapport à des animaux ne consommant pas ce type d'aliments. Néanmoins, environ 40 % des troupeaux viandeux et 70 % des troupeaux laitiers « malades » recevaient malgré tout des concentrés et/ou des minéraux. La raison d'un statut déficient malgré une distribution de concentrés et minéraux peut trouver plusieurs origines. D'une part, les CMV et les concentrés se déclinent en une multitude de formules, plus ou moins riches en oligo-éléments présents sous des formes plus ou moins assimilables (formes organiques ou inorganiques). Dès lors, le choix d'un concentré et/ou d'un CMV dont la concentration en oligo-éléments est faible entraînera un statut en oligo-éléments insuffisant chez les animaux qui consomment ces aliments. D'autre part, une distribution inadéquate de ces aliments, notamment des quantités insuffisantes ou sur de trop courtes périodes, induira de la même façon un statut en oligo-éléments insuffisant chez les animaux recevant les concentrés et/ou le CMV. La différence de statut en oligo-éléments entre les troupeaux viandeux et laitiers provient de l'utilisation plus importante des CMV et des concentrés dans

les troupeaux laitiers. Si les éleveurs laitiers utilisent davantage de minéraux et de concentrés, c'est parce que ces aliments ont un impact direct sur la production laitière. La quantité et la qualité du lait produit sont des facteurs économiques que l'éleveur peut suivre quotidiennement et facilement. En élevage viandeux, les retombées économiques d'un investissement en CMV et en concentrés se font sentir plus tardivement et sont souvent moins évidentes.

La première étude décrite dans ce travail dans des troupeaux bovins wallons indique qu'une plus grande proportion de pathologies était présente chez les veaux par rapport aux adultes. Cette information démontre l'importance de compléter correctement les mères gestantes car le statut en oligo-éléments du veau dépend directement de celui de sa mère. Les vaches gestantes sont pourtant souvent considérées, à tort, comme ayant peu de besoins spécifiques en minéraux, vitamines et oligo-éléments.

Les tables du N.R.C. (2000 et 2001) ont établi des normes alimentaires pour le bétail viandeux et laitier. Toutefois, les exigences actuelles de la race BBB hyper-musclée dépassent sans doute les recommandations décrites dans ces tables. En effet, l'étude de Guyot et collaborateurs (2007a) a montré que la recommandation de 0,1 ppm de Se pour du bétail viandeux (N.R.C., 2000) était insuffisante pour du bétail BBB hautement performant. Il convient dès lors de redéfinir des normes de recommandations adaptées aux performances des races bovines actuelles.

Les marqueurs biochimiques utilisés pour établir les statuts en Se et en I dans ces troupeaux wallons ont été choisis en fonction de leur fréquence d'emploi dans les laboratoires de biologie clinique vétérinaire. Il a été démontré que la GPX est très bien corrélée au Se plasmatique (Counotte et Hartmans, 1989). L'avantage de la GPX par rapport au Se plasmatique est son coût plus faible (12-18 € pour la GPX contre 20-30 € pour le Se plasmatique). L'IIP et l'I dans le lait sont bien corrélés avec les apports alimentaires en I (Swanson *et al.*, 1990 ; Hemingway *et al.*, 2001) et c'est pourquoi ces marqueurs ont été choisis dans l'investigation du statut iodé. Néanmoins, l'IIP est un marqueur à très court terme. En effet, rapidement après l'arrêt d'une supplémentation, la concentration en IIP chute fortement (Swanson *et al.*, 1990). Chez des animaux ayant reçu une supplémentation correcte en I pendant plusieurs mois, la détermination de la concentration en IIP effectuée une ou deux semaines environ après l'arrêt de cette supplémentation indiquera des apports iodés très bas (carence). Néanmoins, dans ce cas, la détermination du statut thyroïdien (bTSH et hormones thyroïdiennes) sera intéressant car il permettra de déterminer si les apports en I ont été insuffisants pendant une longue période. En effet, une carence en I importante et de longue

durée (plusieurs mois) a des répercussions sur les taux sanguins des hormones thyroïdiennes (Potter *et al.*, 1982 ; Whitaker, 1999) et indirectement sur la bTSH. Une attention toute particulière quant aux apports en I, récents ou non, doit être portée lors de l'anamnèse avant de déterminer le statut sanguin en I ou le statut thyroïdien.

L'I est indispensable à la fabrication des hormones thyroïdiennes, celles-ci ayant de multiples rôles métaboliques essentiels chez les mammifères. Une carence sévère en I s'accompagne d'une diminution de la synthèse des hormones thyroïdiennes. Par un mécanisme de rétro-contrôle, des taux d'hormones thyroïdiennes bas entraînent une élévation des taux de TRH et TSH qui vont stimuler la glande thyroïde. Il en résulte dès lors une augmentation de la taille de la thyroïde (goitre) qui essaie de cette manière de compenser le déficit iodé. En cas de carence sévère, la captation de l'I par la thyroïde est également accrue (Lengemann et Swanson, 1957). Le goitre est toutefois présent dans deux cas de figure bien distincts, soit une diminution de la production des hormones thyroïdiennes (hypothyroïdie), soit une augmentation de la production de ces hormones (hyperthyroïdie) par des nodules sécrétants. Dans la plupart des cas chez les bovins, le goitre est associé à de l'hypothyroïdie (Wilson, 1975 ; McCoy *et al.*, 1997), provenant d'une carence initiale en I. Pour établir le diagnostic d'hypo- ou d'hyperthyroïdie, la détermination de la concentration sanguine en TSH est la méthode de référence chez l'homme (Elmlinger *et al.* 2001), le chien (Williams *et al.* 1996) et le cheval (Breuhaus, 2002). Le diagnostic d'hypothyroïdie est alors posé en présence d'une concentration sanguine très élevée en TSH. Des concentrations très basses en hormones thyroïdiennes apportent une confirmation supplémentaire.

Le dosage de la bTSH a ainsi été mis au point dans le but d'investiguer l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien chez les bovins et d'établir le diagnostic d'hypothyroïdie. Ce dosage s'est montré efficace dans le diagnostic d'hypothyroïdie chez des veaux nouveau-nés goitreux, en comparaison avec des veaux nouveau-nés cliniquement sains. Malgré le fait que la bTSH et les hormones thyroïdiennes présentent des taux très élevés à la naissance, et ne diminuent progressivement que 48 heures après la naissance (Davicco *et al.*, 1982 ; Takahashi *et al.*, 2001), la bTSH a permis une discrimination très précise des veaux sains par rapport aux veaux goitreux. Toutefois, parmi les veaux goitreux, tous n'étaient pas hypothyroïdiens. Certains d'entre eux avaient certes une bTSH élevée, mais toutefois moins élevée que les hypothyroïdiens. De plus, les concentrations en T4 et T3 étaient normales chez ces veaux goitreux non-hypothyroïdiens. L'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien chez ces veaux était sans doute en phase d'adaptation avant de basculer vers des troubles tels que l'hypo- ou

l'hyperthyroïdie. Dans l'étude de Guyot et collaborateurs (2007c), une valeur seuil de la bTSH (35 μ U/ml) pour le diagnostic d'hypothyroïdie chez des veaux nouveau-nés a été déterminée. Ce seuil a été calculé en tenant compte du fait que tous les animaux goitreux ne sont pas nécessairement hypothyroïdiens et que seule l'association des signes cliniques, d'une concentration en bTSH très élevée et de concentrations en hormones thyroïdiennes très basses peuvent conduire à un diagnostic de certitude. Dès lors, un dosage unique de bTSH supérieur à 35 μ U/ml pourrait avoir une valeur diagnostique d'hypothyroïdie suffisante chez les veaux nouveau-nés. La LMD relativement haute (1,3 μ U/ml) du dosage de bTSH ne permettait par contre pas d'envisager le diagnostic de l'hyperthyroïdie. Cependant, cette maladie est rarissime chez les bovins et est décrite essentiellement lors de protocoles expérimentaux d'induction d'hyperthyroïdie (Thrift *et al.*, 1999a). En raison des variations importantes des concentrations en hormones thyroïdiennes et en bTSH dans les premières 48 heures de vie (Davicco *et al.*, 1982 ; Takahashi *et al.*, 2001), des valeurs seuils de bTSH déterminées chez des veaux de 3 à 7 jours permettront un diagnostic sans doute plus fiable de l'hypothyroïdie. Il est également nécessaire de comparer la concentration en bTSH chez des bovins adultes souffrant d'hypothyroïdie à des bovins adultes cliniquement sains afin de déterminer, pour la bête bovine adulte, un seuil pour le diagnostic d'hypothyroïdie.

Dans l'étude de Guyot et collaborateurs (2007c), la relation directe entre le niveau d'apports iodés à la mère et l'apparition de goitre congénital chez le veau nouveau-né n'a pas pu être démontrée. A la naissance, certains veaux, en raison de la gravité de leurs signes cliniques, ont en effet reçu un traitement à base d'I à haute concentration (Orodine, 420 mg KI), ce qui est de nature à perturber l'interprétation des résultats. De plus, aucune donnée concernant la supplémentation récente ou non des mères n'était disponible. Chez l'être humain, le statut iodé n'est pas le seul responsable de l'hypo- ou l'hyperthyroïdie. En effet, des causes auto-immunes (anticorps empêchant ou stimulant la production d'hormones thyroïdiennes) ont une place importante dans l'étiologie de ces maladies chez l'être humain. Toutefois, chez la bête bovine, la présence de ces anticorps n'a encore jamais été mise en évidence. La présence de goitrogènes dans la ration des bovins lors de l'étude de Guyot et collaborateurs (2007c) n'a malheureusement pas pu être investiguée. Or, certains goitrogènes bloquent la synthèse des hormones thyroïdiennes en présence d'apports corrects en I. De plus, une augmentation des apports en I ne permet pas toujours de restaurer la synthèse thyroïdienne en présence de ces goitrogènes dans l'alimentation.

Enfin, il s'est avéré que le dosage de la bTSH mis au point par Guyot et collaborateurs (2007b) était suffisamment sensible et spécifique que pour évaluer l'axe hypothalamo-

hypophyso-thyroïdien, quel que soit le moment de la journée. Les valeurs légèrement plus hautes la journée, au contraire de l'homme (Patel *et al.*, 1972), s'expliquent sans doute par un rythme circadien adapté au comportement nocturne des bovins.

L'étude du statut en Se et en I, lorsque des vaches reçoivent des rations normalement pourvues ou enrichies en Se et en I, a permis de constater que la supplémentation en Se et en I entraîne une modification de certains paramètres biochimiques mais pas d'autres. L'IIP a été le marqueur le plus pertinent, réagissant précisément et rapidement lors de la supplémentation. Le Se plasmatique, par contre, a montré une évolution inattendue suite à la supplémentation. En effet, il n'a pas augmenté alors que la GPX a augmenté dans les deux groupes. Pavlata et collaborateurs (2005) ont constaté des résultats à peu près similaires chez des chevreaux qui recevaient ou non une supplémentation en I. Chez ces animaux, la supplémentation en I a entraîné des teneurs sanguines en Se et GPX plus faibles par rapport aux chevreaux ne recevant pas d'I. L'I aurait donc un rôle sur la métabolisme du Se mais aucune étude jusqu'à présent n'a pu expliquer précisément ce phénomène. Une partie de la réponse (hypothétique) pourrait venir de la mobilisation du Se dans les enzymes désiodases, transformant la T4 en T3. La supplémentation en Se et I a en effet engendré une diminution de la bTSH et de la T4, ainsi qu'une augmentation de la T3. Ces éléments plaident pour une intervention du Se (par le biais des enzymes désiodases qui sont Se-dépendantes) dans le métabolisme des hormones thyroïdiennes, tel que décrit dans d'autres études chez les bovins (Wichtel *et al.*, 1996 ; Awadeh *et al.*, 1998b). Afin de cerner précisément les interactions entre le Se et l'I, il aurait fallu former 4 groupes d'animaux, avec des supplémentations séparées en Se et en I. De plus, les enzymes désiodases auraient dû également être dosées dans chacun de ces groupes. Notre étude n'aura permis que de suspecter la présence de ces interactions sans toutefois les prouver formellement.

La supplémentation en Se semble avoir eu davantage d'influence sur les concentrations en hormones thyroïdiennes que la teneur en I dans la ration. Cet élément plaide en faveur des auteurs décourageant l'utilisation de la concentration en hormones thyroïdiennes pour évaluer le statut iodé. Cependant, les animaux utilisés dans notre étude étaient en bonne santé, et bien que l'IIP était en-dessous du seuil de carence pour un des 2 groupes, les taux de bTSH, T4 et T3 étaient dans les normes durant toute l'étude qui a duré plusieurs mois. Il faut donc considérer ces animaux comme euthyroïdiens et non carencés en I, malgré qu'un des groupes avait reçu une ration avec des apports marginaux en Se et I, comme l'a indiqué très précisément l'IIP. Donc, en l'absence de carence en I sévère et durable, il n'y avait aucune

raison que les concentrations en hormones thyroïdiennes ou en bTSH ne basculent en dessous des seuils de normalité. Notre étude apporte une suspicion supplémentaire qu'une carence profonde et de longue durée en I est nécessaire afin que les hormones thyroïdiennes puissent être utilisées comme marqueur du statut iodé.

Enfin, notre quatrième étude a également montré que le statut en I du veau est conditionné par celui de sa mère. Les différentes corrélations entre l'IIP des mères et de leur veau, ou encore entre l'I dans les liquides fœtaux et l'IIP des veaux confirment ce transfert de statut iodé de la mère au veau. De plus, les concentrations plus élevées en IIP chez les veaux par rapport à leur mère laisse penser qu'une priorité est donnée au veau lorsque la mère consomme de l'I. Des études approfondies quant aux concentrations en I et en hormones thyroïdiennes dans les liquides fœtaux en fonction des apports en I chez la mère sont à envisager.

L'étude de Guyot et collaborateurs (2007a) sur les formes et les doses de supplémentation en Se chez des bovins BBB carencés a permis d'aboutir à deux conclusions. La première est que la supplémentation des animaux avec du Se organique (Selplex[®] : constitué majoritairement de séléno-méthionine) engendre un meilleur statut en Se, déterminé par le Se plasmatique et le Se dans le colostrum et le lait chez les vaches. Les veaux issus des mères complémentées avec le Se organique ont également un meilleur statut sanguin en Se (Se plasmatique). Ces constatations avaient déjà été faites chez des vaches laitières par Ortman et Pehrson (1997 et 1999) et Pehrson et collaborateurs (1999). Plusieurs applications pratiques en découlent. D'une part, une dose moins importante de Se, sous forme organique, serait nécessaire afin d'atteindre un statut adéquat, par rapport à du Se inorganique. D'autre part, chez les veaux dont les mères ont reçu du Se organique, les statuts sanguins en Se à la naissance et 75 jours plus tard sont plus élevés que chez les veaux des autres groupes, indiquant sans doute un meilleur passage trans-placentaire. Toutefois, les mères de ces veaux avaient également un meilleur statut en Se. Une autre hypothèse est que le Se sous forme de séléno-méthionine est incorporé dans les protéines structurelles de l'animal qui constituent une réserve importante de Se en cas de besoin. La supplémentation des vaches gestantes en Se organique a en outre l'avantage d'amener des quantités plus importantes de Se dans le colostrum et le lait par rapport à des animaux ayant consommé du sélénite de soude. Ceci est particulièrement intéressant chez des veaux au pis, étant donné qu'ils continueront à recevoir des quantités non négligeables de Se lors de l'allaitement maternel. Le lait enrichi en Se pourrait être également un atout en nutrition humaine. La deuxième conclusion est que la dose quotidienne de 0,1 ppm de Se recommandée par le N.R.C. (2001) est insuffisante pour du bétail viandeux hyper-

musclé tel que le BBB. Cette affirmation repose sur de meilleures performances zootechniques, moins de maladies et un statut en Se supérieur chez des veaux dont les mères consommaient 0,5 ppm de Se par rapport aux veaux dont les mères ne recevaient que 0,1 ppm. Toutefois, la différence ne s'est montrée significative que pour les animaux ayant reçu 0,5 ppm sous la forme organique du Se. Une combinaison de l'effet « dose » et de l'effet « forme » ne permet donc pas d'affirmer catégoriquement qu'il suffit d'augmenter la dose pour améliorer les performances des animaux. Cependant, l'affirmation selon laquelle la dose de 0,1 ppm est insuffisante pour du bétail BBB de bonne conformation reste valable. Enfin, la capacité d'ingestion moindre des animaux BBB par rapport à celle d'autres races conditionne également une ingestion journalière en Se moindre. Une forme mieux absorbée telle que le Se organique a certainement un intérêt de ce point de vue en race BBB.

L'évaluation du statut sanguin en Se se fait par le dosage du Se plasmatique ou de l'activité de la GPX. En effet, la bonne corrélation qui existe entre ces deux paramètres (Counotte et Hartmans, 1989) permet d'utiliser l'un ou l'autre indifféremment. Le Se plasmatique et la GPX ne donnent par contre pas exactement les mêmes informations sur le statut en Se des animaux. La GPX étant formée en même temps que la synthèse des érythrocytes, son dosage donne une idée des apports en Se sur une période correspondant plus ou moins à la durée de vie d'un érythrocyte (entre 100 et 150 jours) (Whitaker, 1997 ; Herdt *et al.*, 2000). La GPX est donc le reflet du statut à moyen terme en Se alors que le Se plasmatique donne une idée du statut en Se à court terme (Thompson *et al.*, 1991 ; Ellis *et al.*, 1997 ; Villar *et al.*, 2002) si toutefois une importante supplémentation en I n'est pas effectuée en même temps. Pour ces raisons, lors d'une supplémentation en Se, le Se plasmatique augmente beaucoup plus rapidement que ne le fait la GPX. Dès lors, la corrélation qui existe entre ces deux paramètres peut ne plus être valide le temps que la concentration en Se plasmatique (30-60 jours) et l'activité de la GPX (environ 120 jours) se stabilisent et atteignent un plateau. Si une supplémentation récente en Se s'est produite, le Se plasmatique reflètera plus fidèlement les apports alimentaires en Se que la GPX. Par contre, la GPX permettra d'expliquer éventuellement pourquoi des pathologies liées à une carence en Se sont apparues alors que le statut en Se, sur base du Se plasmatique, semblait correct. Il faut également souligner le fait que la forme de Se rend également encore un peu plus complexe l'utilisation du Se plasmatique et de la GPX dans l'évaluation du statut en Se des bovins. En effet, à dose égale mais forme différente, la concentration en Se plasmatique est supérieure si les bovins consomment du Se organique, alors que l'activité de la GPX est identique, même après plus de 120 jours de supplémentation. Les études réalisées antérieurement ont jusqu'alors tenu

compte de la corrélation entre la GPX et la séléniémie lorsque les animaux recevaient du sélénite de soude. D'autres études devraient à présent préciser cette corrélation lorsque les vaches consomment du Se organique.

CONCLUSIONS

1) Les carences en oligo-éléments sont fréquentes et souvent associées entre elles. Elles interviennent de manière importante comme étiologie des troubles multifactoriels constatés dans les exploitations bovines. Il n'est dès lors pas surprenant de constater une augmentation du nombre de pathologies dans des troupeaux où les statuts en oligo-éléments sont inadéquats. La consommation d'aliments tels que des concentrés et un CMV permet la plupart du temps d'acquérir un statut en oligo-éléments adéquat. Cela se traduit par une fréquence de pathologies beaucoup moins importante dans les troupeaux consommant ces aliments.

2 et 3) Le dosage de la bTSH s'est avéré très sensible et spécifique pour poser le diagnostic d'hypothyroïdie chez des nouveau-nés. La concentration en bTSH a également permis de déterminer chez ces veaux un pronostic. Le dosage de la bTSH s'est aussi montré suffisamment précis que pour mesurer une large gamme de concentrations physiologiques, telles que celles observées lors d'un test de stimulation à la TRH ou lors de l'étude des variations circadiennes, et de concentrations pathologiques, lors de goitre. Cependant, ce dosage ne peut pour l'instant être utilisé pour de faibles concentrations en bTSH telles que décrites lors d'hyperthyroïdie dans d'autres espèces.

3 et 4) Le diagnostic des carences en Se et en I passe par des analyses sanguines sur les animaux. Les marqueurs tels que le Se plasmatique ou l'IIP sont des marqueurs nutritionnels qui reflètent les apports en Se et en I à court terme, par exemple lors de supplémentation. Ils ont l'avantage de pouvoir être utilisés à l'échelle du troupeau. La détermination de l'activité de la GPX est par contre plus utile lors de diagnostic à moyen et long terme du statut en Se. Le dosage sanguin des hormones thyroïdiennes et de la bTSH servent à la détermination du statut thyroïdien. A l'exception d'une carence sévère et de longue durée en I, la détermination de ce statut ne sert qu'au diagnostic individuel des maladies liées à la carence en I plutôt qu'à l'évaluation du statut nutritionnel des animaux dans un troupeau. Enfin, la supplémentation simultanée en Se et en I peut modifier l'interprétation du statut nutritionnel en I et Se ainsi que le statut thyroïdien.

5) La forme de Se apportée dans la ration influence le statut en Se des animaux qui consomment cette ration. Une supériorité de la forme organique de Se (séléno-méthionine) a été constatée en ce qui concerne le statut sanguin des mères et de leur veau. De même, des

concentrations supérieures en Se ont été constatées dans le colostrum et le lait de mères consommant la forme organique de Se par rapport à la forme inorganique. Enfin, une ration contenant 0,1 ppm de Se sous forme de sélénite de soude semble ne pas être adéquate chez des vaches BBB gestantes, en regard des statuts sanguins insuffisants chez ces vaches et leur veau, ainsi que des performances zootechniques et de santé constatées chez ces mêmes veaux.

PERSPECTIVES

Les différentes études menées lors de ce travail ouvrent de très nombreuses perspectives, tant au niveau pratique que fondamental. Des études supplémentaires concernant le diagnostic et la correction des carences en oligo-éléments doivent encore être élaborées.

Le seuil sanguin fixé pour poser un diagnostic de carence en oligo-éléments doit absolument dépasser la simple volonté de prévention des signes cliniques de carence pure. Il doit en outre permettre à l'animal d'exprimer pleinement ses performances zootechniques et son potentiel génétique tout en participant à la prévention des principales maladies multifactorielles observées dans les exploitations bovines laitières ou viandeuses. La détermination de ces seuils devrait être reconsidérée selon la race et les performances des animaux étudiés mais également en fonction de la forme d'oligo-éléments ingérée par ces animaux. En outre, les recommandations d'apport doivent être revues en fonction des performances zootechniques de races hyper-productives telles que le BBB. Pour le Se, la dernière étude de ce travail a d'ailleurs clairement montré que les recommandations d'apports en Se du N.R.C. (2000) étaient insuffisantes pour du bétail BBB hypermusclé.

Le diagnostic des carences en oligo-éléments sur base de prélèvements sanguins individuels coûte cher. Après avoir testé leurs précision et sensibilité dans des pools, on pourrait envisager de mesurer le statut en oligo-éléments d'un troupeau en prenant, par exemple, un échantillon de lait de tank dans les troupeaux laitiers pour y doser le Se et l'I. De la même manière, un pool de sang pourrait être réalisé dans des lots de bovins viandeux d'élevage afin d'y doser le Se et l'IIP.

Le dosage de la bTSH pourrait être implémenté par un laboratoire de biologie clinique vétérinaire afin de pouvoir le proposer en routine aux vétérinaires praticiens sur le terrain. Cet outil serait très intéressant pour le praticien confronté à des animaux goitreux et suspects d'hypothyroïdie. A côté du diagnostic d'hypothyroïdie, la détermination de la concentration en bTSH devrait s'avérer très utile pour comprendre davantage la physiopathologie de maladies telles que le syndrome de détresse respiratoire du veau nouveau-né à terme, les veaux faibles ou encore les mortinatalités d'origine inconnue. La bTSH a d'ailleurs déjà été

partiellement investiguée dans d'autres pathologies (syndrome de la vache couchée, étude en cours).

L'amélioration du dosage de la bTSH dans les concentrations basses est à envisager, en utilisant une autre technique comme l'IRMA. Une limite de détection plus faible permettrait de mieux préciser l'intervalle de référence de la bTSH. En effet, dans l'état actuel du RIA, une représentation graphique des valeurs de référence de la bTSH ne montre pas un schéma classique de distribution normale. Cela pourrait être le cas si effectivement toutes les valeurs de bTSH, des plus élevées aux plus faibles, pouvaient être mesurées. Cependant, l'intérêt pratique d'un dosage très sensible dans les concentrations basses est limité au diagnostic de l'hyperthyroïdie, qui est semble-t-il peu probable chez les bovins. Toutefois, l'existence et la prévalence de cette pathologie restent à déterminer chez les bovins.

Chez l'être humain et le chien, la carence en I n'est pas la seule responsable de l'hypothyroïdie. Des anticorps anti-thyroglobuline ou anti-thyroperoxydase peuvent être responsables d'hypothyroïdies auto-immunes chez ces espèces. Cela n'a encore jamais été décrit chez le bovin. Une recherche de ces anticorps pourrait être menée dans tous les cas d'hypothyroïdie, après avoir mis au point un test de détection (ELISA) de ces anticorps, afin de déterminer l'existence de ces maladies auto-immunes de la thyroïde chez les bovins.

Toujours chez l'être humain, la taille de la thyroïde, déterminée par mesure échographique, a été mise en relation avec le statut nutritionnel iodé (WHO & ICCIDD, 1997 ; Delange *et al.*, 2002 ; Rasmussen *et al.*, 2002b). La mesure échographique permet en outre de vérifier l'intégrité de la glande thyroïde en notant la présence ou non de nodules ou de kystes. L'échographie est une technique simple et applicable sur le terrain en médecine vétérinaire. Elle devrait être développée, validée et comparée avec le statut iodé (IIP, I dans le lait ou l'urine) chez des bovins adultes et des veaux nouveau-nés. L'échographie permettrait une mesure directe sur un animal vivant. Des travaux permettant la détermination du poids normal de la thyroïde chez des veaux nouveau-nés ont déjà été effectués au préalable. De plus, la technique d'échographie de la thyroïde chez la bête bovine a déjà été validée chez des vaches adultes (Braun *et al.*, 1994). Une expérience similaire a été entamée sur des veaux au sein de la Clinique des Ruminants de l'Université de Liège. Une standardisation et une validation de la technique restent à faire.

D'une manière plus fondamentale, le dosage des enzymes désiodases, catalysant la transformation de T4 en T3, de T4 en rT3 ou encore de T3 en T2, serait intéressant afin d'étudier en profondeur la régulation de la synthèse des hormones thyroïdiennes chez les bovins. Le dosage des désiodases permettrait notamment de mieux quantifier l'implication

respective du Se et de l'I dans la synthèse des hormones thyroïdiennes et leur régulation. Ce dosage permettrait également d'observer comment la synthèse des hormones thyroïdiennes est régulée lors de maladie.

De la même manière que pour le Se, des formes organiques de Zn, Cu ou I existent et pourraient être étudiées. Une comparaison des statuts sanguins ainsi qu'une comparaison des répercussions zootechniques ou sur la santé pourraient être effectuées en fonction de la forme de l'oligo-élément consommée par les animaux. A l'heure actuelle, des formes organiques sont autorisées en Europe pour le Se, le Cu et le Zn. En ce qui concerne l'I, il n'en existe pas encore. Une forme organique ayant une capacité de stockage dans les tissus est sans doute à développer chez les bovins.

Enfin, la détermination de l'IIP et des hormones thyroïdiennes chez la mère, chez son fœtus et dans les liquides fœtaux, en fonction de différents modes de supplémentation en I, permettrait de déterminer si les liquides fœtaux peuvent constituer un réservoir d'I en faveur du fœtus.

La supplémentation des bovins en oligo-éléments est importante non seulement pour le bien-être des animaux étant donné les répercussions néfastes sur la santé en cas de carence, mais également pour l'éleveur qui pourra bénéficier d'une meilleure productivité de ses animaux et donc de meilleurs revenus si le statut en oligo-éléments des animaux est adéquat. De plus, conscients de l'importance des carences en oligo-éléments dans la population humaine et du rôle joué par ceux-ci sur leur santé, les consommateurs pourraient exiger des produits laitiers ou de la viande ayant un label « enrichi en I et en Se ».

*Que la mort ne guide jamais la main de cet homme qui
produit votre nourriture*



Le laboureur et la mort : Holbein (1497-1543)

5 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABDELRAHMAN M.M., KINCAID R.L. Deposition of copper, manganese, zinc, and selenium in bovine fetal tissue at different stages of gestation. *J. Dairy Sci.*, 1993, **76**, 3588-3593.

ABDELRAHMAN M.M., KINCAID R.L. Effect of selenium supplementation of cows on maternal transfer of selenium to fetal and newborn calves. *J. Dairy Sci.*, 1995, **78**, 625-630.

ABEND S.L., FANG S.L., ALEX S., BRAVERMAN L.E., LEONARD J.L. Rapid alteration in circulating free thyroxine modulates pituitary type II 5' deiodinase and basal thyrotropin secretion in the rat. *J. Clin. Invest.*, 1991, **88**, 898-903.

AKASHA M.A., ANDERSON R.R., ELLERSIECK M., NIXON D.A. Concentration of thyroid hormones and prolactin in dairy cattle serum and milk at three stages of lactation. *J. Dairy Sci.*, 1987, **70**, 271-276.

ALAIS C. Sciences du lait - principes des techniques laitières. Société d'Édition et de Promotion Agro-Alimentaires Industrielles et Commerciales : Paris, 1984, 814 p.

ALDERMAN G., STRANKS M.H. The iodine content of bulk herd milk in summer in relation to estimated dietary iodine intake of cows. *J. Sci. Food Agric.*, 1967, **18**, 151-153.

ALLCROFT R., SCARNELL J., HIGNETT S.L. A preliminary report on hypothyroidism in cattle and its possible relationship with reproductive disorder. *Vet. Rec.*, 1954, **66**, 367-371.

ANDREWS E.D., HARTLEY W.J., GRANT A.B. Selenium-responsive diseases of animals in New Zealand. *N. Z. Vet. J.*, 1968, **16**, 3-17.

ARCHER J.A., JUDSON G.J. Selenium concentrations in tissues of sheep given a subcutaneous injection of barium selenate or sodium selenate. *Aust. J. Exp. Agr.*, 1994, **34**, 581-588.

ARTHUR J.R., MORRICE P.C., BECKETT G.J. Thyroid hormone concentrations in selenium deficient and selenium sufficient cattle. *Res. Vet. Sci.*, 1988, **45**, 122-123.

ARTHUR J.R., NICOL F., BECKETT G.J. Hepatic iodothyronine 5'-deiodinase : the role of selenium. *Biochem. J.*, 1990, **272**, 537-540.

AUMONT G., TRESSOL J.-C. Improved routine method for the determination of total iodine in urine and milk. *Analyst*, 1986, **111**, 841-843.

AUMONT G., TRESSOL J.-C. Rapid method for the direct determination of inorganic iodine in plasma using ion-exchange chromatography and the Sandell and Kolthoff reaction. *Analyst*, 1987, **112**, 875-878.

AUMONT G. Milk iodine residues after a post-milking iodophor teat-dipping. *Ann. Rech. Vet.*, 1987, **18**, 375-378.

AUSTIN A.R., WHITEHEAD D.C., Le DU Y.L., BROWNLIE J. The influence of dietary iodine on iodine in the blood serum of cows and calves in the perinatal period. *Res. Vet. Sci.*, 1980, **28**, 128-130.

AVRAM N., SERDARU M., MEHEDINTU C., TANASESCU V. Status of some trace elements (Fe, Cu, Zn, Se) in farm animals and nutritional biological markers. *Stud. Res. Vet. Med.*, 1998, **6**, 41-50.

AWADEH F.T., ABDELRAHMAN M.M., KINCAID R.L., FINLEY J.W. Effect of selenium supplements on the distribution of selenium among serum proteins in cattle. *J. Dairy Sci.*, 1998a, **81**, 1089-1094.

AWADEH F.T., KINCAID R.L., JOHNSON K.A. Effect of level and source of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves. *J. Anim. Sci.*, 1998b, **76**, 1204-1215.

BACKALL K.A., SCHOLZ R.W. Reference values for a field test to estimate inadequate glutathione peroxidase activity and selenium status in the blood of cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 1979, **40**, 733-738.

BANTLE J.P., DILLMANN W.H., OPPENHEIMER J.H., BINGHAM C., RUNGER G.C. Common clinical indices of thyroid hormone action: relationships to serum free 3,5,3'-triiodothyronine concentration and estimated nuclear occupancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1980, **50**, 286-293.

BARKER P.M., STRANG L.B., WALTERS D.V. The role of thyroid hormones in maturation of the adrenaline-sensitive lung liquid reabsorptive mechanism in fetal sheep. *J. Physiol.*, 1990, **424**, 473-485.

BEILSTEIN M.A., WHANGER P.D. Glutathione peroxidase activity and chemical forms of selenium in tissues of rats given selenite or selenomethionine. *J. Inorg. Biochem.*, 1988, **33**, 31-46.

BELSTEN J.L., WRIGHT A.J. European Community-FLAIR common assay for whole-blood glutathione peroxidase (GSH-Px); results of an inter-laboratory trial. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1995, **49**, 921-927.

BERG J.N., PADGITT D., McCARTHY B. Iodine concentrations in milk of dairy cattle fed various amounts of iodine as ethylenediamine dihydroiodide. *J. Dairy Sci.*, 1988, **71**, 3283-3291.

BERNAL A., DeMORAES G.V., THRIFT T.A., WILLARD C.C., RANDEL R.D. Effects of induced hypothyroidism on ovarian response to superovulation in Brahman (*Bos indicus*) cows. *J. Anim. Sci.*, 1999, **77**, 2749-2756.

BIRK E., TYNDALL M.R., ERICKSON L.C., RUDOLPH A.M., ROBERTS J.M. Effects of thyroid hormone on myocardial adrenergic beta-receptor responsiveness and function during late gestation. *Pediatr. Res.*, 1992, **31**, 468-473.

BITMAN J., KAHL S., WOOD D.L., LEFCOURT A.M. Circadian and ultradian rhythms of plasma thyroid hormone concentrations in lactating dairy cows. *Am. J. Physiol.*, 1994, **266**, R1797-R1803.

BORETTI F.S., REUSCH C.E. Endogenous TSH in the diagnosis of hypothyroidism in dogs. *Schweiz Arch. Tierheilkd.*, 2004, **146**, 183-188.

BRAND A., NOORDHUIZEN J.P.T.M., SCHUKKEN Y.H. Herd Health and Production Management in Dairy Practice. Wageningen Pers: Wageningen, 1996, 543 p.

BRASELTON W.E., STUART K.J., MULLANEY T.P., HERDT T.H. Biopsy mineral analysis by inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy with ultrasonic nebulization. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1997, **9**, 395-400.

BRAUN U., FÖHN J., PUSTERLA N. Ultrasonographic examination of the ventral neck region in cows. *Am. J. Vet. Res.*, 1994, **55**, 14-21.

BREUHAUS B.A. Thyroid-stimulating hormone in adult euthyroid and hypothyroid horses. *J. Vet. Intern. Med.*, 2002, **16**, 109-115.

BRUNN J., BLOCK U., RUF G., BOS I., KUNZE W.P., SCRIBA P.C. Volumetric analysis of thyroid lobes by real-time ultrasound. *Dtsch. Med. Wochenschr.*, 1981, **106**, 1338-1340.

BUTLER J.A., THOMSON C.D., WHANGER P.D., ROBINSON M.F. Selenium distribution in blood fractions of New Zealand women taking organic or inorganic selenium. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1991, **3**, 748-754.

CABELLO G. Relationship between thyroid function and pathology of the newborn calf. *Biol. Neonate*, 1980, **37**, 80-87.

CAMPBELL J.R., JIM G.K., BOOKER C.W., GUICHON P.T. A survey of the selenium status of beef cows in Alberta. *Can. Vet. J.*, 1995, **36**, 698-702.

CAWLEY G.D. Selenium and weak calf syndrome. *Vet. Rec.*, 1987, **120**, 47.

CHOPRA I.J., SACK J., FISHER D.A. Circulating 3,3', 5'-triiodothyronine (reverse T3) in the human newborn. *J. Clin. Invest.*, 1975a, **55**, 1137-1141.

CHOPRA I.J., SACK J., FISHER D.A. 3,3',5'-Triiodothyronine (reverse T3) and 3,3',5'-triiodothyronine (T3) in fetal and adult sheep: studies of metabolic clearance rates, production rates, serum binding, and thyroidal content relative to thyroxine. *Endocrinology*, 1975b, **97**, 1080-1088.

CHUNG T.K. Make the most of vitamin supplementation. *Poultry international*, 2003, **1**, 28-32.

COMBS D.K., GOODRICH R.D., MEISKE J.C. Mineral concentrations in hair as indicators of mineral status : a review. *J. Anim. Sci.*, 1982, **54**, 391-398.

CONRAD H.R., MOXON A.L. Transfer of dietary selenium to milk. *J. Dairy Sci.*, 1979, **62**, 404-411.

CONTEMPRE B., DUMONT J.E., NGO B., THILLY C.H., DIPLOCK A.T., VANDERPAS J. Effect of selenium supplementation in hypothyroid subjects of an iodine and selenium deficient area: the possible danger of indiscriminate supplementation of iodine-deficient subjects with selenium. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1991, **73**, 213-215.

CONVEY E.M., CHAPIN L., THOMAS J.W., LEUNG K., SWANSON E.W. Serum thyrotropin, thyroxin, and tri-iodothyronine in dairy cows fed varying amounts of iodine. *J. Dairy Sci.*, 1978, **61**, 771-775.

CORAH L.R., IVES S. The effects of essential trace minerals on reproduction in beef cattle. *Veterinary Clinics of North America : Food Animal Practice*, 1991, **7**, 41-57.

COUNOTTE G.H.M., HARTMANS J. Relation between selenium content and glutathione-peroxidase activity in blood of cattle. *Vet. Q.*, 1989, **11**, 155-160.

CVEJIC D., SAVIN S., STOJIC V., SINADINOVIC J. Development of a bovine thyrotropin (TSH) radioimmunoassay and its application in thyroid function studies in cattle. *Acta Vet.-Beograd*, 1995, **45**, 195-202.

DABURON F., FAYART G., TRICAUD Y. Caesium and iodine metabolism in lactating cows under chronic administration. *Sci. Total. Environ.*, 1989, **85**, 253-261.

DAVICCO M.J., VIGOUROUX E., DARDILLAT C., BARLET J.P. Thyroxine, triiodothyronine and iodide in different breeds of newborn calves. *Reprod. Nutr. Develop.*, 1982, **22**, 355-362.

DEBSKI B., PICCIANO M.F., MILNER J.A. Selenium content and distribution of human, cow and goat milk. *J. Nutr.*, 1987, **117**, 1091-1097.

DE NAYER P., GLINOER D. Thyroid hormone transport and action. In: Delange, F.D., Malvaux P. (eds), Pediatric thyroidology. Karger : Basel, 1985, 57-74.

DELANGE F., BURGI H., CHEN Z.P., DUNN J.T. World status of monitoring of iodine deficiency disorders control programs. *Thyroid*, 2002, **12**, 915-924.

DELANGE F. Iodine deficiency in Europe anno 2002. *Thyroid international*, 2002, **5**, 3-18.

EDMONSON A.J., LEAN I.J., WEAVER L.D., FARVER T., WEBSTER G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1989, **72**, 68-78.

ELLIS R.G., HERDT T.H., STOWE H.D. Physical, hematologic, biochemical, and immunologic effects of supranutritional supplementation with dietary selenium in Holstein cows. *Am. J. Vet. Res.*, 1997, **58**, 760-764.

ELMLINGER M.W., KUHNEL W., LAMBRECHT H.G., RANKE M.B. Reference intervals from birth to adulthood for serum thyroxine (T4), triiodothyronine (T3), free T3, free T4, thyroxine binding globulin (TBG) and thyrotropin (TSH). *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2001, **39**, 973-979.

ELSASSER T.H., RUMSEY T.S., NORTON S.A. Relationships between the thyroid and somatotrophic axes in steers. I : effects of propylthiouracil-induced hypothyroidism on growth hormone, thyroid stimulating hormone and insulin-like growth factor I. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 1992, **9**, 261-271.

EMERSON C.H., LEW R., BRAVERMAN L.E., DeVITO W.J. Serum thyrotropin concentrations are more highly correlated with serum triiodothyronine concentrations than with serum thyroxine concentrations in thyroid hormone-infused thyroidectomized rats. *Endocrinology*, 1989, **124**, 2415-2418.

ENJALBERT F., LEBRETON P., SALAT O., SCHELCHER F.. Effects of pre- or postpartum selenium supplementation on selenium status in beef cows and their calves. *J. Anim. Sci.*, 1999, **77**, 223-229.

ENJALBERT F., LEBRETON P., SALAT O. Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: Retrospective study. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 2006, **90**, 459-466.

ERSKINE R.J., EBERHART R.J., HUTCHINSON L.J., SCHOLZ R.W. Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in dairy herds with high and low somatic cell counts. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1987, **190**, 1417-1421.

FAIRLIE W.D., STANTON P.G., HEARN M.T.W. The disulphide bond structure of thyroid-stimulating hormone β -subunit. *Biochem. J.*, 1996, **314**, 449-455.

FAIRWEATHER-TAIT S.J. Bioavailability of selenium. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1997, **51**, 20-23.

FINKELSTEIN D., ANDRIANKIS P., LUFF A.R., WALKER D. Effects of thyroidectomy on development of skeletal muscle in fetal sheep. *Am. J. Physiol.*, 1991, **261**, 1300-1306.

FISH R.E., SWANSON E.W. Effects of excessive intakes of iodine upon growth and thyroid function of growing Holstein heifers. *J. Dairy Sci.*, 1982, **65**, 605-610.

FOUCHER B., PINA G., DESJEUX G., PREVOSTO J.-M., CHAULET J.-F., CHEMINEL V. Influence of temperature and delayed centrifugation: stability studies of 28 analytes currently analysed. *Ann. Biol. Clin.*, 2005, **63**, 93-100.

FOUCRAS G., SCHELCHER F., VALARCHER J.F., ESPINASSE J. La dystrophie musculaire nutritionnelle chez les ruminants. *Point Vet.*, 1996, **172**, 841-846.

GERLOFF B.J. Effect of selenium supplementation on dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, 1992, **70**, 3934-3940.

GHERGARIU S., ROCA R. Clinical, epidemiological and hormonal studies in cattle in an area of endemic goitre in Romania. *Point Vét.*, 1995, **27**, 869-874.

GIRALT M., MARTIN J., IGLESIAS R., VINARS O., VILLARROYA F., MAMPEL T., Ontogeny and perinatal modulation of gene expression in rat brown adipose tissue. *Eur. J. Biochem.*, 1990, **193**, 297-302.

GITTER M., BRADLEY R., PEPPER R. Nutritional myodegeneration in dairy cows. *Vet. Rec.*, 1978, **103**, 24-26.

GIVENS D.I., ALLISON R., COTTRILL B., BLAKE J.S. Enhancing the selenium content of bovine milk through alteration of the form and concentration of selenium in the diet of the dairy cow. *J. Sci. Food Agric.*, 2004, **84**, 811-817.

GORET E.A., VANJONACK, JOHNSON H.D. Plasma TSH and thyroxine in six breeds of cattle. *J. Anim. Sci.*, 1974, **38**, 1335.

GRACE N.D., LEE J., MILLS R.A., DEATH A.F. Influence of Se status on milk Se concentrations in dairy cows. *N. Z. J. Agric. Res.*, 1997, **40**, 75-78.

GRACE N.D., ANKENBAUER-PERKINS K.L., ALEXANDER A.M., MARCHANT R.M. Relationship between blood selenium concentration or glutathione peroxidase activity, and milk selenium concentrations in New Zealand dairy cows. *N. Z. Vet. J.*, 2001, **49**, 24-28.

GRACE N.D., WAGHORN G.C. Impact of iodine supplementation of dairy cows on milk production and iodine concentrations in milk. *N. Z. Vet. J.*, 2005, **53**, 10-13.

GRAHAM T.W. Trace elements deficiencies in cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 1991, **7**, 153-215.

GREEN L.E., SCHUKKEN Y.H., GREEN M.J. On distinguishing cause and consequence: do high somatic cell counts lead to lower milk yield or does high milk yield lead to lower somatic cell count? *Prev. Vet. Med.*, 2006, **76**, 74-89.

GREENWOOD F.C., HUNTER W.M., GLOVER J.S. The preparation of ¹³¹I-labelled human growth hormone of high specific radioactivity. *Biochem. J.*, 1963, **89**, 14-23.

GRENIER B. Décision médicale : analyse et stratégie de décision dans la pratique médicale. Masson : Paris, 1993, 246p.

GUYOT H., ALIAOUI H., ROLLIN F. Trace elements deficiencies in the pathogenesis of respiratory distress syndrome in the mature newborn calf. In : *Proceedings of the 23rd World Buiatrics Congress*: Quebec, 2004, 20.

GUYOT H., SPRING P., ANDRIEU S., ROLLIN F. Comparative responses to sodium selenite and organic selenium supplements in Belgian Blue cows and calves. *Livest. Sci.*, 2007a, **111**, 259-263.

GUYOT H., SULON J., BECKERS J-F., CLOSSET J., LEBRETON P., ALVES DE OLIVEIRA L., ROLLIN F. Development and validation of a radioimmunoassay for thyrotropin in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2007b, **19**, *in press*.

GUYOT H., LEBRETON P., ALVES DE OLIVEIRA L., SULON J., BECKERS J-F., ROLLIN F. Thyrotropin in newborn calves as a tool for diagnosing hypothyroidism. *Cattle Pract.*, 2007c, *in press*.

HARRISON J.H., HANCOCK D.D., CONRAD H.R. Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 1984, **67**, 123-132.

HARTIKAINEN H. Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 2005, **18**, 309-318.

HEMINGWAY R.G., FISHWICK G., PARKINS J.J., RITCHIE N.S. Plasma inorganic iodine and thyroxine concentrations for beef cows in late pregnancy and early lactation associated with different levels of dietary iodine supplementation. *Vet. J.*, 2001, **162**, 158-160.

HEMKEN R.W. Iodine. *J. Dairy Sci.*, 1960, **53**, 1138-1143.

HEMKEN R.W., VANDERSALL J.H., OSKARSSON M.A., FRYMAN L.R. Iodine intake related to milk iodine and performance of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 1972, **55**, 931-934.

HEMKEN R.W. Milk and meat iodine content : relation to human health. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1980, **176**, 1119-1121.

HERCBERG S., GALAN P., PREZIOSI P., BERTRAI S., MENNEN L., MALVY D., ROUSSEL A.M., FAVIER A., BRIANCON S. The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch. Intern. Med.*, 2004, **164**, 2335-2343.

HERDT H.T. Variability characteristics and test selection in herd-level nutritional and metabolic profile testing. *Vet. Clin. N. Am.-Food A.*, 2000, **16**, 387-383.

HERDT H. T., RUMBEIHA W., BRASELTON W. E. The use of blood analyses to evaluate mineral status in livestock. *Vet. Clin. N. Am.-Food A.*, 2000, **16**, 423-444.

HERNANDEZ M.V., ETTA K.M., REINEKE E.P., OXENDER W.D., HAFS H.D. Thyroid function in the prenatal and neonatal bovine. *J. Anim. Sci.*, 1972, **34**, 780-785.

HERZIG I., RIHA J., PISARIKOVA B.. Urinary iodine level as an intake indicator in dairy cows. *Vet. Med.-Czech*, 1996, **41**, 97-101.

HERZIG I., PISARIKOVA B., KURSA J., RIHA J. Defined iodine intake and changes of its concentration in urine and milk of dairy cows. *Vet. Med.-Czech*, 1999, **44**, 35-40.

HIDIROGLOU M., JENKINS K.J. Factors affecting the development of nutritional muscular dystrophy in northern Ontario. *Can. J. Anim. Sci.*, 1968, **48**, 7-14.

HIDIROGLOU M., McALLISTER A.J., WILLIAMS C.J. Prepartum supplementation of selenium and vitamin E to dairy cows: assessment of selenium status and reproductive performance. *J. Dairy Sci.*, 1987a, **70**, 1281-1288.

HIDIROGLOU M., PROULX J., JOLETTE J. Effect of intraruminally administered, selenium soluble-glass boluses on selenium status in cows and their calves. *J. Anim. Sci.*, 1987b, **65**, 815-820.

HILL R. Rapeseed meal in the diet of ruminants. *Nutrition Abstracts and Reviews, Series B*, 1991, **61**, 139-155.

HOGAN J.S., WEISS W.P., SMITH K.L. Role of vitamin E and selenium in host defence against mastitis. *J. Dairy Sci.*, 1993, **76**, 2795-2803.

HOPKINS P.S., WALLACE A.L., THORBURN G.D. Thyrotrophin concentrations in the plasma of cattle, sheep and foetal lambs as measured by radioimmunoassay. *J. Endocrinol.*, 1975, **64**, 371-387.

HOTZ C.S., FITZPATRICK D.W., TRICK K.D., L'ABBE M.R. Dietary Iodine and selenium interact to affect thyroid hormone metabolism of rats. *J. Nutr.*, 1997, **127**, 1214-1218.

HUSZENICZA Gy, KULCSAR M., RUDAS P. Clinical endocrinology of thyroid gland function in ruminants. *Vet. Med.-Czech*, 2002, **47**, 199-210.

INGAR S.H. The thyroid gland. In : Wilson J.D. and Foster D.W. (Eds.), Williams Textbook of Endocrinology. Saunders : Philadelphia, 1985, 682-815.

INRA. Alimentation des bovins, ovins, caprins. R. JARRIGE Ed. : Paris, 1988, 476 p.

INRA. Alimentation des bovins, ovins et caprins – Besoin des animaux – Valeur des aliments. Editions Quae : Versailles, 2007, 307p.

IWARSSON K. Rapeseed meal as a protein supplement for dairy cows. I. The influence on certain blood and milk parameters. *Acta Vet. Scand.*, 1973, **14**, 570-594.

JACKSON P., COCKCROFT P. Clinical examination of farms animals. Blackwell Science Ltd.: Malden, 2002, 313 p.

JANOSI S., HUSZENICZA G., KULCSAR M., KORODI P. Endocrine and reproductive consequences of certain endotoxin-mediated diseases in farm mammals: a review. *Acta vet. Hung.*, 1998, **46**, 71-84.

JULIEN W.E., CONRAD H.R., MOXON A.L. Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. II. Prevention in commercial herds with prepartum treatment. *J. Dairy Sci.*, 1976, **59**, 1960-1962.

JUNIPER D.T., PHIPPS R.H., JONES A.K., BERTIN G. Selenium supplementation of lactating dairy cows: effect on selenium concentration in blood, milk, urine, and feces. *J. Dairy Sci.*, 2006, **89**, 3544-3551.

KAPPEL L.C., INGRAHAM L.H., MORGAN E.B., DIXON J.M., ZERINGUE L., WILSON D., BABCOCK D.K. Selenium concentrations in feeds and effects of treating pregnant Holstein cows with selenium and vitamin E on blood selenium values and reproductive performance. *Am. J. Vet. Res.*, 1984, **45**, 691-694.

KASHIWAI T., ICHIHARA K., TAMAKI H., ENDO Y., KIMURA M., TAKEOKA K., AMINO N., MIYAI K. The stability of immunological and biological activity of human thyrotropin in buffer: its temperature-dependant dissociation into subunits during freezing. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1991, **51**, 417-423.

KHURANA M.L., MADAN M.L. Seasonal influence on thyroidal response to thyrotrophin-releasing hormone in cattle and buffaloes. *J. Endocrinol.*, 1986, **108**, 57-61.

KINCAID R.L., HODGSON A.S. Relationship of selenium concentrations in blood of calves to blood selenium of the dam and supplemental selenium. *J. Dairy Sci.*, 1989, **72**, 259-263.

KINCAID R.L. Assessment of trace mineral status of ruminants: a review. *J. Anim. Sci.*, 2000, 1-10.

KLEBANOFF S.J. Iodination of bacteria : a bactericidal mechanism. *J. Exp. Med.*, 1967, **126**, 1063-1078.

KLEIN A.H., FOLEY T.P., BERNARD B., HO R.S., FISHER D.A. Cord blood reverse T3 in congenital hypothyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1978, **46**, 336-338.

KNOWLES S.O., GRACE N.D., WURMS K., LEE J. Significance of amount and form of dietary selenium on blood, milk, and casein selenium concentrations in grazing cows. *J. Dairy Sci.*, 1999, **82**, 429-437.

KOLIAKOS G., GAITATZI M., GRAMMATICOS P. Stability of serum TSH concentration after non refrigerated storage. *Minerva Endocrinol.*, 1999, **24**, 113-115.

KOLLER L.D., SOUTH P.J., EXON J.H., WHITEBECK G.A. Selenium deficiency of beef cattle in Idaho and Washington and a practical means of prevention. *Cornell Vet.*, 1983, **73**, 323-332.

KOLLER L.D., SOUTH P.J., EXON J.H., WHITEBECK G.A., MAAS J. Comparison of selenium levels and glutathione peroxidase activity in bovine whole blood. *Can. J. Comp. Med.*, 1984a, **48**, 431-433.

KOLLER L.D., WHITEBECK G.A., SOUTH P.J. Transplacental transfer and colostral concentrations of selenium in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 1984b, **45**, 2507-2510.

KONOVA M., BEKEOVA E., LEVKUT M. The effects of chlorine intake on some morphometric parameters of the thyroid gland in lambs. *Acta Vet. Brno*, 1999, **68**, 191-195.

LAARVELD B., BROCKMAN R.P., CHRISTENSEN D.A. The effects of Tower and Midas rapeseed meals on milk production and concentrations of goitrogens and iodine in milk. *Can. J. Anim. Sci.*, 1981, **61**, 31-139.

LACETERA N., BERNABUCI U., RONCHI B., NARDONE A. Effects of selenium and vitamin E administration during a late stage of pregnancy on colostrum and milk production in dairy cows, and on passive immunity and growth of their offspring. *Am. J. Vet. Res.*, 1996, **57**, 1776-1780.

LAMAND M. Les acquisitions récentes sur les carences en oligo-éléments du sol aux ruminants. *Supplément du bulletin technique CRZV, Theix, INRA*, N° spécial, 1975, 90-94.

LAMAND M. Place du laboratoire dans le diagnostic des carences en oligo-éléments chez les ruminants. *Rec. Méd. Vét.*, 1987, **163**, 1071-1082.

LAMAND M. Absorption et métabolisme des oligo-éléments chez le veau. In : Le veau de boucherie face aux bouleversements de la filière. AFTAA : Paris, 1991, p11.

LARSEN P.R., BERRY M.J. Nutritional and hormonal regulation of thyroid hormone deiodinases. *Annu. Rev. Nutr.*, 1995, **15**, 323-352.

LARSSON B., TRAVEN M., HULTEN C., HARD AF SEGERSTAD C., BELAK K., ALENIUS S. Serum concentrations of thyroid hormones in calves with a transient or persistent infection with bovine viral diarrhoea virus. *Res. Vet. Sci.*, 1995, **58**, 186-189.

LENGEMANN F.W., SWANSON E.W. A study of the secretion of iodine in milk of dairy cows, using daily oral doses of ¹³¹I. *J. Dairy Sci.*, 1957, **40**, 215-222.

LOHUIS J.A., VERHEIJDEN J.A., BURVENICH C., VAN MIERT A.S. Pathophysiological effects of endotoxins in ruminants. 2. Metabolic aspects. *Vet. Q.*, 1988, **10**, 117-25.

LONGNECKER M.P., STRAM D.O., TAYLOR P.R., LEVANDER O.A., HOWE M., VEILLON C., McADAM P.A., PATTERSON K.Y., HOLDEN J.M., MORRIS J.S., SWANSON C.A., WILLET W.C. Use of selenium concentration in whole blood, serum, toenails, or urine as a surrogate measure of selenium intake. *Epidemiology*, 1996, **7**, 384-390.

LOTT J.A., SARDOVIA-IYER M., SPEAKMAN K.S., LEE K.K. Age-dependent cutoff values in screening newborns for hypothyroidism. *Clin. Biochem.*, 2004, **37**, 791-797.

LUMET L., NEGRIOLLI J. Dosage des oligo-éléments dans le sang par torche à plasma couplée à la spectrométrie de masse. *Bulletin des GTV*, 2007, **38**, 27-30.

MAAS J., GALEY F.D., PEAUROI J.R., CASE J.T., LITTLEFIELD E.S., GAY C.C., KOLLER L.D., CRISMAN R.O., WEBER D.W., WARNER D.W. The correlation between serum selenium and blood selenium in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1992, **4**, 48-52.

MAGDUB A., JOHNSON H.D., BELYEA R.L. Effect of environmental heat and dietary fiber on thyroid physiology of lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 1982, **65**, 2323-2331.

MAUS R.W., MARTZ F.A., BELYEA R.L., WEISS M.F. Relationship of dietary selenium to selenium in plasma and milk from dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1980, **63**, 532-537.

McCOY M.A., SMYTH J.A., ELLIS W.A., ARTHUR J.R., KENNEDY D.G. Experimental reproduction of iodine deficiency in cattle. *Vet. Rec.*, 1997, **141**, 544-547.

MEE J.F., ROGERS P.A.M. Base-line survey of blood trace element status of 50 dairy herds in the south of Ireland in the spring and autumn of 1991. *Irish Vet. J.*, 1994, **47**, 115-122.

MEE J.F., ROGERS P.A.M., O'FARREL K.J. Effect of feeding a mineral-vitamin supplement before calving on the calving performance of a trace element deficient dairy herd. *Vet. Rec.*, 1995, **137**, 508-512.

MEE J.F., ROGERS P.A.M. Prevalence of iodine, selenium, copper and cobalt deficiencies on Irish cattle farms. *Irish Vet. J.*, 1996, **49**, 160-164.

MEIKLE A., KULCSAR M., CHILLIARD Y., FEBEL H., DELAVAUD C., CAVESTANY D., CHILIBROSTE P. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*, 2004, **127**, 727-737.

MEYER U., WEIGEL K., SCHÖNE F., LEITERER M., FLACHOWSKY G. Effect of dietary iodine on growth and iodine status of growing fattening bulls. *Liv. Sci.*, 2007, *in press*.

MILANINO R., CASSINI A., CONFORTI A., FRANCO L., MARRELLA M., MORETTI V., VELO G.P. Copper and zinc status during acute inflammation : studies on blood, liver and kidneys metal levels in normal and inflamed rats. *Agents Action*, 1986, **19**, 215-223.

MILLER J.K., TILLAPAUGH K. Iodide medicated salt for beef cattle. *Cornell feed service*, 1967, **62**, 11.

MILLER J.K., SWANSON E.W., SPALDING G.E. Iodine absorption, excretion, recycling, and tissue distribution in the dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 1975, **58**, 1578-1593.

MILLER J.K., BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA E. Oxidative Stress, Antioxidants and Animal Function. *J. Dairy Sci.*, 1993, **76**, 2812-2823.

MILLER G.Y., BARTLETT P.C., ERSKINE R.J., SMITH K.L. Factors affecting serum selenium and vitamin E concentrations in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1995, **206**, 1369-1373.

MORGANTE M., BEGHELLI D., PAUSELLI M., DALL'ARA P., CAPUCCELLA M., RANUCCI S. Effects of Administration of Vitamin E and Selenium During the Dry Period on Mammary Health and Milk Cell Counts in Dairy Ewes. *J. Dairy Sci.*, 1999, **82**, 623-631.

MUNIZ-NAVEIRO O., DOMINGUEZ-GONZALES R., BERMEJO-BARRERA A., COCHO de JUAN J.A., FRAGA BERMUDEZ J.M., GORIS PEREIRAS A., LOPEZ SANTAMARINA A., MARTINEZ LEDE I., VALLEDOR PUENTE J., FERNANDEZ-COUTO GOMEZ L., BERMEJO-BARRERA P. Selenium content and distribution in cow's milk supplemented with two dietary selenium sources. *J. Agric. Food. Chem.*, 2005, **53**, 9817-9822.

MUTH O.H., OLDFIELD J.E., REMMERT L.F., SCHUBERT J.R. Effects of selenium and vitamin E on white muscle disease. *Science*, 1958, **128**, 1090.

NATHANIELSZ P.W.. Thyroid function in the fetus and newborn mammal. *Br. Med. Bull.*, 1975, **31**, 51-56.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient requirements of beef cattle. National Academy Press (7th revised edition): Washington DC, 2000, 248 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient requirements of dairy cattle. National Academy Press (7th revised edition): Washington DC, 2001, 408 p.

NELSON M., PHILLIPS D.I. Seasonal variations in dietary iodine intake and thyrotoxicosis. *Hum. Nutr. Appl. Nutr.*, 1985, **39**, 213-216.

NICOL F., LEFRANE H., ARTHUR J.R., TRAYHURN P. Characterization and postnatal development of 5'-deiodinase activity in goat perirenal fat. *Am. J. Physiol.*, 1994, **267**, 144-149.

NIKOLIC J.A., KULCSAR M., KATAI L., NEDIC O., JANOSI S., HUSZENNICZA G. Periparturient endocrine and metabolic changes in healthy cows and in cows affected by mastitis. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.*, 2003, **50**, 22-29.

NIXON D.A., AKASHA M.A., ANDERSON R.R. Free and total thyroid hormones in serum of Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 1988, **71**, 1152-1160.

NUNEZ J. Effects of thyroid hormones during brain differentiation. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 1984, **37**, 125-132.

OBREGON M.J., PASCUAL A., MALLOL J., MORREALE DE ESCOBAR G., ESCOBAR DEL REY F. Evidence against a major role of L-thyroxine at the pituitary level: studies in rats treated with iopanoic acid (telepaque). *Endocrinology*, 1980, **106**, 1827-1836.

OETZEL G.R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Vet. Clin. Food Anim.*, 2004, **20**, 651-674.

OLDFIELD J.E. Selenium World Atlas. Selenium-Tellurium Development Association (STDA): Grimbergen, 2002, 59 p.

OLIVA J.C., CASTELL M., QUERAZT J., CASTELLOTE C. Effect of chronic inflammation on copper and zinc metabolism. *Esp. Fisiol.*, 1987, **46**, 25-31.

OLSON J.D. The role of selenium and vitamin E in mastitis and reproduction of dairy cattle. *The Bovine Practitioner*, **28**, 1994, 446-452.

ORR C.L., HUTCHESON D.P., GRAINGER R.B., CUMMINS J.M., MOCK R.E. Serum Cu, Zn, Ca and P concentrations of calves stressed by bovine respiratory diseases and IBR. *J. Anim. Sci.*, 1990, **68**, 2893-2900.

ORTMAN K., PEHRSON B. Selenite and selenium yeast as feed supplements for dairy cows. *J. Vet. Med.*, 1997, **44**, 373-380.

ORTMAN K., PEHRSON B. Effect of selenate as a feed supplement to dairy cows in comparison to selenite and selenium yeast. *J. Anim. Sci.*, 1999, **77**, 3365-3370.

OUWELTJES W., de ZEEUW A.C., MOEN A., COUNOTTE G.H. Measurement of trace elements in liver biopsy samples from cattle. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 2007, **132**, 76-83.

PAGLIA D.E., VALENTINE W.N. Studies on quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, 1967, **70**, 158-169.

PATEL Y.C., ALFORD F.P., BURGER H.G. The 24-hour plasma thyrotrophin profile. *Clin. Sci.*, 1972, **43**, 71-77.

PATTERSON B.H., LEVANDER O.A., HELZLSOUER K., McADAM P.A., LEWIS S.A., TAYLOR P.R., VEILLON C., ZECH L.A. Human selenite metabolism: a kinetic model. *Am. J. Physiol.*, 1989, **257**, R556-567.

PAVLATA L., SLOSARKOVA S., FLEISCHER P., PECHOVA A. Effects of increased iodine supply on the selenium status of kids. *Vet. Med.-Czech*, 2005, **50**, 186-194.

PEHRSON B., ORTMAN K., MADJID N., TRAFIKOWSKA U. The influence of dietary selenium as selenium yeast or sodium selenite on the concentration of selenium in the milk of Suckler cows and on the selenium status of their calves. *J. Anim. Sci.*, 1999, **77**, 3371-3376.

PEZZI C., ACCORSI P.A., VIGO D., GOVONI N., GAIANI R. 5'-deiodinase activity and circulating thyronines in lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**, 152-158.

PHILLIPS D.I. Iodine, milk, and the elimination of endemic goitre in Britain: the story of an accidental public health triumph. *J. Epidemiol. Community Health*, 1997, **51**, 391-393.

POTTER B.J., MANO M.T., BELLING G.B., McINTOSH G.H., HUA C., CRAGG B.G., MARSHALL J., WELLBY M.L., HETZEL B.S. Retarded fetal brain development resulting from severe dietary iodine deficiency in sheep. *Neuropathol.Appl. Neurobiol.*, 1982, **8**, 303-313.

PRICHARD R.K., HENNESSY D.R., GRIFFITHS D.A. Endocrine responses of sheep to infection with *Trichostrongylus colubriformis*. *Res. Vet. Sci.*, 1974, **17**, 182-187.

PULS R. Mineral levels in animal health. Sherpa International: Clearbrook, 1994, 356 p.

RADOSTITS O.M. Herd Health – Food Animal Production Medicine. W.B. Saunders Company: New York, 2001, 884 p.

RASMUSSEN L.B., OVESEN L., BULOW I., JORGENSEN T., KNUDSEN N., LAURBERG P., PERTILD H. Dietary iodine intake and urinary iodine excretion in a Danish population: effect of geography, supplements and food choice. *Br. J. Nutr.*, 2002a, **87**, 61-69.

RASMUSSEN L.B., OVESEN L., BULOW I., JORGENSEN T., KNUDSEN N., LAURBERG P., PERTILD H. Relations between various measures of iodine intake and thyroid volume, thyroid nodularity, and serum thyroglobulin. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002b, **76**, 1069-1076.

RAYMAN M.P. The use of high-selenium yeast to raise selenium status : how does it measure up? *Br. J. Nutr.*, 2004, **92**, 557-573.

RANDHAWA C.S., RANDHAWA S.S. Epidemiology and diagnosis of subclinical iodine deficiency in crossbred cattle of Punjab. *Aust. Vet. J.*, 2001, **79**, 349-351.

RE R.N., KOURIDES I.A., RIDGWAY E.C., WEINTRAUB B.D., MALOOF F. The effect of glucocorticoid administration on human pituitary secretion of thyrotropin and prolactin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1976, **43**, 338-346.

REESE S., BREYER U., DEEG C., KRAFT W., KASPERS B. Thyroid sonography as an effective tool to discriminate between euthyroid sick and hypothyroid dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, 2005, **19**, 491-498.

ROBINSON M.F., THOMSON C.D., JENKINSON C.P., LUZHEN G., WHANGER P.D. Long-term supplementation with selenate and selenomethionine: urinary excretion by New Zealand women. *Br. J. Nutr.*, 1997, **77**, 551-563.

ROGERS P.A.M. Iodine deficiency in cattle. *Ir. Vet. News*, 1992, **9**, 14-17.

ROGERS P.A.M. Iodine supplementation of cattle. *Beef Prod. Series*, 1999, **20**, 3-34.

ROLLIN F., LEBRETON P., GUYOT H. Trace elements deficiencies in Belgian beef and dairy herds in 2000-2001. In: *Proceedings of the 22nd World Buiatrics Congress*: Hanovre, Allemagne, 2002, 72.

ROLLIN F. Detection of trace minerals deficiency in cattle. In: *Proceedings of the European Meeting organized by Société Française de Buiatrie* (From research to clinic): Paris, 2003, 83-98.

ROLLIN F., DANLOIS F., ALIAOUI H., GUYOT H. Respiratory Distress Syndrome in full-term newborn calves : clinical, laboratory and post-mortem findings. In: *Proceedings de l'ACVIM*: Baltimore, 2005.

ROMO G.A., ELSASSER T.H., KAHL S., ERDMAN R.A., CASPER D.P. Dietary fatty acids modulate hormone responses in lactating cows : mechanistic role for 5'-deiodinase activity in tissue. *Domest. Anim. Endocrin.*, 1997, **14**, 409-420.

ROTRUCK J.T., POPE A.L., GANTHER H.E., SWANSON A.B., HAFEMAN D.G., HOEKSTRA W.G. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 1973, **179**, 588-590.

SALIH Y., McDOWELL L.R., HENTGES J.F., MASON R.M., WILCOX C.J. Mineral content of milk, colostrum, and serum as affected by physiological state and mineral supplementation. *J. Dairy Sci.*, 1987, **70**, 608-612.

SANDERS D.E. Use of selenium in problem cattle herds. *Modern Vet. Practice*, 1984, **65**, 136-138.

SANZ ALAEJOS M., DIAZ ROMERO C. Urinary selenium concentrations. *Clin. Chem.*, 1993, **39**, 2040-2052.

SCALES G.H. Selenium and beef cow fertility. *N. Z. J. Exper. Agric.*, 1976, **4**, 297-298.

SCHOLZ R.W., HUTCHINSON L.J. Distribution of glutathione peroxidase activity and selenium in the blood of dairy cows. *Am. J. Vet. Res.*, 1979, **40**, 245-249.

SEGERSON E.C., MURRAY F.A., MOXON A.L., REDMAN D.R., CONRAD H.R. Selenium/vitamin E: role in fertilization of bovine ova. *J. Dairy Sci.*, 1977, **60**, 1001-1005.

SEIMIYA Y., OHSHIMA K., ITOH H., OGASAWARA N., MATSUKIDA Y., YUITA K. Epidemiological and pathological studies on congenital diffuse hyperplastic goiter in calves. *J. Vet. Med. Sci.*, 1991, **53**, 989-994.

SHOME B., BROWN D.M., HOWARD S.M., PIERCE J.G. 1968. Bovine, human and porcine thyrotropins : molecular weights, amino- and carboxyl-terminal studies. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1968, **126**, 456-468.

SIDDONS R.C., MILLS C.F. Glutathione peroxidase activity and erythrocyte stability in calves differing in selenium and vitamin E status. *Br. J. Nutr.*, 1981, **46**, 345-350.

SKELLEY D.S., BROWN L.P., BESCH P.K. Radioimmunoassay. *Clin. Chem.*, 1973, **19**, 146-186.

SMITH L.K., HOGAN J.S., WEISS W.P. Dietary Vitamin E and Selenium Affect Mastitis and Milk Quality. *J. Anim. Sci.*, 1997, **75**, 1659-1665.

SMYTH J.A., GOODALL E.A., McCOY M.A., ELLIS W.A. Stillbirth/perinatal weak calf syndrome : a study of calves with an abnormal thyroid gland. *Vet. Rec.*, 1996, **139**, 11-16.

SOLDIN O.P., TRACTENBERG R.E., PEZZULLO J.C. Do thyroxine and thyroid-stimulating hormone levels reflect urinary iodine concentrations? *Ther. Drug Monit.*, 2005, **27**, 178-185

SORENSEN P. Studies of thyroid function in cattle and pigs. In : Use of radioisotopes in animal biology and medical sciences. Academic Press : New-York, 1962, pp 455.

SPEARS J.W., HARVEY R.W., SEGERSON E.C. Effects of marginal selenium deficiency and winter protein supplementation on growth, reproduction and selenium status of beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 1986, **63**, 586-594.

SPENCER C., EIGEN A., SHEN D., DUDA M., QUALLS S., WEISS S., NICOLOFF J. Specificity of sensitive assays of thyrotropin (TSH) used to screen for thyroid disease in hospitalized patients. *Clin. Chem.*, 1987, **33**,1391-1396.

STAUBER E.H. Weak Calf Syndrom : a continuing enigma. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1976, **168**, 223-225.

STEWART R.E., STEVENSON J.S., MINTON J.E. Serum hormones during the estrous cycle and estrous behaviour in heifers after administration of propylthiouracil and thyroxine. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 1994, **11**, 1-12.

STRBAK V., TOMSIK F. Thyroid hormone levels in cow maternal and fetal sera during last trimester of pregnancy. *Endocrinol. Exp.*, 1988, **22**, 113-116.

SWANSON E.W., MILLER J.K., MUELLER F.J., PATTON C.S., BACON J.A., RAMSEY N. Iodine in milk and meat of dairy cows fed different amounts of potassium iodide or ethylenediamine dihydroiodide. *J. Dairy Sci.*, 1990, **73**, 398-405.

SWECKER W.S.Jr., EVERSOLE D.E., THATCHER C.D., BLODGETT D.J., SCHURIG G.G., MELDRUM J.B. Influence of supplemental selenium on humoral immune responses in weaned beef calves. *Am. J. Vet. Res.*, 1989, **50**, 1760-1763.

TAKAHASHI K., TAKAHASHI E., DUCUSIN R.J.T., TANABE S., UZUKA Y., SARASHINA T. Changes in serum thyroid hormones levels in newborn calves as a diagnostic index of endemic goiter. *J. Vet. Med. Sci.*, 2001, **63**, 175-178.

THOMAS A.L., ABEL M., NATHANIELSZ P.W. Variations in plasma thyrotrophin concentration in the neonatal calf and its relationship to circadian periodicity. *J. Endocr.*, 1974, **62**, 411-412.

THOMPSON K.G., ELLISON R.S., CLARK R.G. Monitoring selenium status – which test should we use? *N. Z. Vet. J.*, 1991, **39**, 152-154.

THOMSON C.D., ROBINSON M.F., BUTLER J.A., WHANGER P.D. Long-term supplementation with selenate and selenomethionine: selenium and glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) in blood components of New Zealand women. *Br. J. Nutr.*, 1993, **69**, 577-588.

THRIFT T.A., BERNAL A., LEWIS A.W., NEUENDORFF D.A., WILLARD C.C., RANDEL R.D. Effects of induced hypothyroidism or hyperthyroidism on growth and reproductive performance of Brahman heifers. *J. Anim. Sci.*, 1999a, **77**, 1833-1843.

THRIFT T.A., BERNAL A., LEWIS A.W., NEUENDORFF D.A., WILLARD C.C., RANDEL R.D. Effects of induced hypothyroidism on weight gains, lactation, and reproductive performance of primiparous Brahman cows. *J. Anim. Sci.*, 1999b, **77**, 1844-1850.

THRUSFIELD M., ORTEGA C., de BLAS I., NOORDHUIZEN J.P., FRANKENA K. WIN EPISCOPE 2.0: improved epidemiological software for veterinary medicine. *Vet. Rec.*, 2001, **148**, 567-572.

TRINDER N., HALL R.J., RENTON C.P. The relationship between the intake of selenium and vitamin E on the incidence of retained placentae in dairy cows. *Vet. Rec.*, 1973, **93**, 641-643.

ULLREY D.E. Biochemical and physiological indicators of selenium status in animals. *J Anim. Sci.*, 1987, **65**, 1712-1726.

VALE W., BURGUS R., GUILLEMIN R. Competition between thyroxine and TRF at the pituitary level in the release of TSH. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1967, **125**, 210-213.

VAN DAEL P., VLAEMYNCK G., VAN RENTERGHEM R., DEELSTRA H.. Selenium content of cow's milk and its distribution in protein fractions. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1991, **192**, 422-426.

VAN SAUN R.J., HERDT T.H., STOWE H.D. Maternal and fetal selenium concentrations and their interrelationships in dairy cattle. *J. Nutr.*, 1989, **119**, 1128-1137.

VILLAR D., ARTHUR J.R., GONZALEZ J.M., PALLARES F.J. Selenium status in cattle : interpretation of laboratory results. *The Bovine Practitioner*, 2002, **36**, 73-80.

VRIES L.S., De HECKMATT J.Z., BURRIN J.M., DUBOWITZ L.M.S., DUBOWITZ V. Low serum thyroxine concentrations and neural maturation in preterm infants. *Arch. Dis. Child.*, 1986, **61**, 862-866.

WALDNER C., CAMPBELL J., JIM G.K., GUICHON P.T., BOOKER C. Comparison of 3 methods of selenium assessment in cattle. *Can. Vet. J.*, 1998, **39**, 225-231.

WALSH D.M., KENNEDY G.D., GOODALL E.A., KENNEDY S. Antioxidant enzyme activity in the muscles of calves depleted of vitamin E or selenium or both. *Br. J. Nutr.*, 1993, **70**, 621-630.

WEISS W.P., COLENBRANDER V.F., CUNNINGHAM M.D., CALLAHAN C.J. Selenium/Vitamin E : role in disease prevention and weight gain of neonatal calves. *J. Dairy Sci.*, 1983, **66**, 1101-1107.

WEISS W.P., HOGAN J.S., TODHUNTER D.A., SMITH K.L. Effect of Vitamin E supplementation in Diets with a Low Concentration of Selenium on Mammary Gland Health of Dairy Cow. *J. Dairy Sci.*, 1997, **80**, 1728-1737.

WHITAKER D.A. Interpretation of Metabolic Profiles in Dairy Cows. *Cattle Pract.*, 1997, **50**, 498-501.

WHITAKER D.A. Trace elements, -the real role in dairy cow fertility? *Cattle Pract.*, 1999, **7**, 239-241.

WICHTEL J.J., CRAIGIE A.L., FREEMAN D.A., VARELA-ALVAREZ, H., WILLIAMSON N.B. Effect of selenium and iodine supplementation on growth rate and on thyroid and somatotropic function in dairy calves at pasture. *J. Dairy Sci.*, 1996, **79**, 1865-1872.

WILLIAMS D.A., SCOTT-MONCRIEFF C., BRUNER J., SUSTARSIC D., PANOSIAN-SAHAKIAN N., UNVER E., EL SHAMI A.S. 1996. Validation of an immunoassay for canine thyroid-stimulating hormone and changes in serum concentration following induction of hypothyroidism in dogs. *J. Vet. Med. Assoc.*, 1996, **209**, 1730-1732.

WILSON J.G. Hypothyroidism in ruminants with special reference to foetal goitre. *Vet. Rec.*, 1975, **97**, 161-164.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) & INTERNATIONAL COUNCIL FOR THE CONTROL OF IODINE DEFICIENCY DISORDERS (ICCIDD). Recommended normative values for thyroid volume in children aged 6-15 years. *Bull. World Health Organ.*, 1997, **75**, 95-97.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Assessment of the iodine deficiency disorders and monitoring their elimination. WHO, 2001, Genova (WHO/NHD/01.1).

ZAGRODZKI P., NICOL F., McCOY M.A., SMYTH J.A., KENNEDY D.G., BECKETT G.J., ARTHUR J.R. Iodine deficiency in cattle: compensatory changes in thyroidal selenoenzymes. *Res. Vet. Sci.*, 1998, **64**, 209-11.

ZIMMERMANN M.B., ITO Y., HESS S.Y., FUJIEDA K., MOLINARI L. High thyroid volume in children with excess dietary iodine intakes. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2005, **81**, 840-844.

ZUST J., HROVATIN B., SIMUNDIC B. Assessment of selenium and vitamin E in dairy herds and clinical disease in calves. *Vet. Rec.*, 1996, **139**, 391-394.