

Le diagnostic des carences en sélénium et iode chez les bovins

GUYOT H., ROLLIN F.

Université de Liège, Faculté de Médecine vétérinaire, Département Clinique des Animaux de Production, Clinique des Ruminants, Boulevard de Colonster, 20, Bât. B42, 4000 Liège, Belgique

Correspondance : Dr. Hugues Guyot, e-mail : Hugues.Guyot@ulg.ac.be

RESUME : Les carences en sélénium et iode du bétail sont répandues en Europe, avec des répercussions sur la santé, la reproduction et les productions. Les carences chez l'animal ont également un impact sur la santé des êtres humains qui consomment leurs produits (lait, viande). Il y a lieu de diagnostiquer correctement ces carences, sans les méconnaître mais également sans poser de diagnostics abusifs. Bien que l'analyse de la ration puisse constituer une base intéressante dans ce cadre, de nombreuses interactions entre les nutriments sont possibles qui rendent incontournable le recours aux prélèvements sur l'animal. Les signes cliniques de carence en sélénium et iode sont rarement pathognomoniques, ce qui nécessite le recours à des examens de laboratoire afin de confirmer le diagnostic. La présente synthèse passe en revue les signes cliniques d'appel et la confirmation de la carence par le dosage des différents marqueurs nutritionnels et fonctionnels disponibles pour la bête bovine, que ce soit au niveau du sang, du lait, de l'urine ou des tissus. Un protocole pour le diagnostic de la carence en sélénium et iode est proposé.

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 appauvrir les sols et, à partir de là, les végétaux que consomment les ruminants. Les tables des teneurs en oligo-éléments dans les fourrages (Institut national de Recherche agronomique, 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 (Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture, 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 ; Wichtel *et al.*, 1996 ; Smith *et al.*, 1997 ; 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 (Herberg *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'hypothyroï-

die, 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.

Les objectifs de cette synthèse sont de faire le point sur les différentes méthodes de diagnostic des carences en Se et en I, tant au niveau du troupeau qu'au niveau individuel. Cette approche comprend les signes cliniques d'appel, les principaux examens complémentaires avec les seuils de carence ainsi que les avantages et limites des différentes méthodes. À l'issue de ce chapitre, un protocole permettant d'optimiser le diagnostic de carence en Se et I dans un troupeau de bovins sera proposé. Ce protocole tiendra compte des avancées techniques dans le dosage des oligo-éléments ainsi que des concepts épidémiologiques nécessaires pour cibler les animaux à prélever.

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

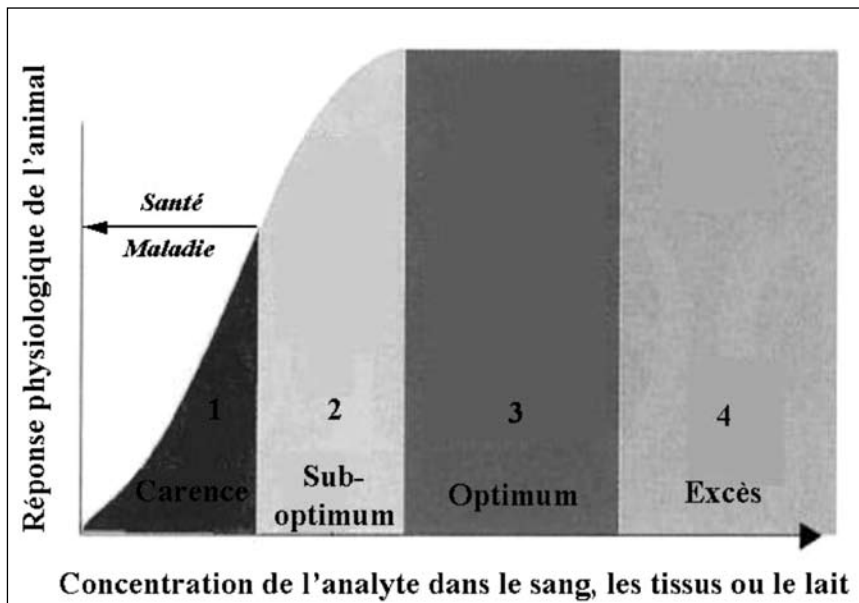
Lors de suspicion clinique de carence en oligo-éléments dans un troupeau bovin, le diagnostic se confirme sur base de prélèvements sanguins, urinaires, de lait ou de tissus. Il convient dès lors de respecter quelques règles concernant le choix et le nombre d'animaux à prélever.

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 san-

guines 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.

Lorsqu'une valeur seuil est définie, on peut considérer le diagnostic de carence selon plusieurs méthodes. À 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

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).



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.

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 WinEpiscopie 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. À 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.

OUTILS DE DIAGNOSTIC DE LA CARENCE EN SELENIUM

Signes cliniques d'appel

Productions

Au niveau des 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 retard 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).

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).

Santé

La carence en Se chez la mère a également des conséquences chez 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 ; Züst *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 ; Züst *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 têter (muscles masséter et de la langue touchés par la myopathie) (Foucras *et al.*, 1996 ; Züst *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).

Examens complémentaires

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 (tableau I), 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 I 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.

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. À 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 exis-

tent 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.

Analyses sur l'animal : sang

La mesure du statut sélénié 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. À titre d'exemple, une valeur seuil de 250 UI/g d'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).

Sélénium

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 séléniée) de Se, en plus du sélénite de soude (forme inorganique) qui était déjà utilisé. À 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 séléno-méthionine (à partir de protéines de levures digérées) dans les protéines et tissus tels que les muscles squelettiques, les érythrocytes et l'albumine,

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 ^{e,f}	0,1 ^{b,e,f} 0,3 ^c
Veaux	0,3 ^c	0,1 ^d 0,3 ^c

*a*N.R.C., 2001 ; *b*N.R.C., 2000 ; *c*Puls, 1994 ; *d*Lamand, 1991 ; *e*INRA, 1988 ; *f*Lamand, 1987

à partir desquels il peut y avoir un relargage dans le sang par catabolisme afin de maintenir le statut sélénique 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/plasmatisque et le *pool* érythrocytaire de Se où le Se se trouve principalement sous forme de 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/plasmatisque 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 (Hidiroglou *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 *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.

Glutathion peroxydase érythrocytaire

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,

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

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.

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

^a 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.*, 2006

ⁱ Koller *et al.*, 1983

^j Guyot *et al.*, 2007^a

^k Juniper *et al.*, 2006

^l Conrad et Moxon, 1979

^m Knowles *et al.*, 1999

ⁿ Puls, 1994

^o Ouweltjes *et al.*, 2007

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. À 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). À ce moment, la GPX peut à 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).

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 femelles 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 femelles 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 femelles 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 sélénémies plus élevées mais des activités de GPX comparables par rapport à des animaux ayant ingéré une forme inor-

ganique 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 interlaboratoire 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.

Étant 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). À 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 µg/L *versus* 88 ± 11 µg/L pour le Se, et 713 ± 153 µkat/L *versus* 484 ± 125 µkat/L pour la GPX) chez des chevaux recevant environ 350 µg d'I par jour, en comparaison avec des chevaux ne recevant que 140 µg d'I par jour. La concentration en Se dans la ration était identique dans les deux lots.

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 II 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 µg Se/L lors d'ingestion de Se inorganique et à 33 µg 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 sélénique 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). À 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 sélénées) 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.

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.

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 (Combs *et al.*, 1982 ; Avram *et al.*, 1998). Dans ces conditions, il serait de plus très difficile de déterminer des valeurs de référence. 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.

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).

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.

OUTILS DE DIAGNOSTIC DE LA CARENCE EN IODE

Préambule : bref rappel de physiologie

L'I est nécessaire à la synthèse des hormones thyroïdiennes que sont la thyroxine (T4) et la triiodothyronine (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 re-largage 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 oxydé et combiné aux résidus tyrosine de la tyroglobuline pour former de la diiodotyrosine et de la monoiodotyrosine. La thyroperoxydase accomplit le couplage des iodotyrosines en triiodothyronine (T3) et thyroxine (T4). La T4 est la forme physiologique inactive de l'hormone, alors que 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 déiodination 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 séléno-dépendantes (Arthur *et al.*, 1988 ; 1990 ; Larsen et Berry, 1995). La T4 peut également être convertie en reverse-T3 (rT3) qui est métaboliquement inactive (Chopra *et al.*, 1975a ; 1975b).

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).

Signes cliniques d'appel

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 ; 1999b). 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).

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 ; 1999b). 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).

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.

Examens complémentaires

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 III 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. Des normes sont donc variables selon l'état physiologique de l'animal. Considérant ces données, les recommandations du National Research Council (2000 et 2001) 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 recommanda-

tions 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.

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 (National Research Council, 2000 ; 2001). Il existe plusieurs catégories de substances goitrogènes :

- les glucosides cyanogéniques qui vont être détoxifiés par l'organisme en thiocyanates. Ces derniers captent 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 facile-

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

ment contourné en augmentant la dose d'I dans la ration.

La goîtrine, les thiouraciles et les disulfides 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). Toutefois, les concentrations en chlore et nitrates dans l'eau de distribution en Belgique sont en dessous des seuils recommandés par l'Organisation mondiale de la Santé. Le chlore et les nitrates, aux concentrations présentes dans l'eau de distribution, ne devraient pas induire de dommages au niveau de la glande thyroïde chez les bovins. 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.

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-trempeage. 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 médicaments oraux 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 IV reprend les principaux dosages réalisables en pratique ainsi que les valeurs seuils les plus pertinentes des marqueurs biochimiques du statut en I. Les valeurs seuils pro-

posées dans le tableau IV 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 I afin de définir un seuil adéquat et un seuil de carence.

Marqueur nutritionnel : iode inorganique plasmatique

Le dosage de l'iode inorganique plasmatique (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. À 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 inorganiqué 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 pré-

cipitation de protéines et séparation de l'I organique reste indispensable.

Marqueur nutritionnel : iode total

L'I total (IT) 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

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 ICP-MS	< 25 ^b < 51 ^d	<25-50 ^b 51-104 ^d	> 51-380 ^b > 105 ^{di} 40-60 ^c	µg/L µg/L 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 1.3-13.0 ^y 3.8-26.9 ^f (NN) 2.0-5.0 ^m 0.5-1 ^g 0.5-1.7 ^h	µU/ml µU/ml µU/ml µU/ml ng/ml ng/ml
T4 Totale (TT4)	Plasma/Sérum	Hép./Sec	Idem IIP	RIA	(NN) 6-142 ^l < 20 ⁿ (NN) 39-195 ^o < 30 ^e (NN) < 15 ^y	-	(NN) 232-373 ^l 64-116 ^l (NN) 112-372 ^o 30-129 ^e (NN) 84-283 ^y 25-95 ^y 62-80 ^j ; 46-120 ^k	nmol/L nmol/L nmol/L nmol/L nmol/L 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) 0,62-12,37 ^l	-	(NN) 2,3-15 ^o ; 4,95-6,93 ^m (NN) 6,49-9,28 ^l 0,93-1,7 ^l 1,86-2,13 ^j 0,88-4,05 ^k	nmol/L nmol/L nmol/L nmol/L 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 Sandell-Kolthoff ^p	< 25 ^{e,q} < 30 ^s	-	> 100 ^r 30-300 ^{e,s}	µg/L µg/L
IT	Urine	Sec	Frais ou congelé	Idem IT lait	< 50 ^t	50-100 ^t	> 100 ^{es,t}	µg/L
Poids	Thyroïde	-	Frais	Balance	(NN) >30 ^{v,w} ; >13 ^x	NN 10-13 ^s	(NN) 5-12 ^v ; 12 ^v ; <10 ^x	g.

^a Aumont et Tressol, 1987

^b Mee et Rogers, 1994

^c Grace et Waghorn, 2005

^d Rogers, 1992

^e Kincaid, 2000

^f Goret *et al.*, 1974

^g Elsasser *et al.*, 1992

^h Stewart *et al.*, 1994

ⁱ Hemingway *et al.*, 2001

^j Akasha *et al.*, 1987

^k Nixon *et al.*, 1988

^l Takahashi *et al.*, 2001

^m Cabello, 1980

ⁿ Whitaker, 1999

^o Ghergariu et Roca, 1995

^p Aumont et Tressol, 1986

^q Alderman et Stranks, 1967

^r Swanson *et al.*, 1990

^s Puls, 1994

^t Herzig *et al.*, 1996

^v Hernandez *et al.*, 1972

^w Seimiya *et al.*, 1991

^x Smyth *et al.*, 1996

^y Wilson, 1975

^z Guyot *et al.*, 2007^b

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.

Marqueur fonctionnel

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 qui est commune pour toutes les hormones glycoprotéiques et la sous-unité 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 (Breuhauser, 2002) et le chien (Williams *et al.*, 1996 ; Boretta 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. À l'exception des valeurs proposées par Guyot et collaborateurs (2007b), les seuils proposés dans le tableau IV 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^{re} génération de RIA). Jusqu'à présent, il n'existe pour l'espèce bovine que des tests RIA de 1^{re} 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^e, 3^e, voire 4^e génération. Ces méthodes permettent d'investi-

guer 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 pulsatilité de la sécrétion de TSH peut occasionner un biais lorsque la concentration en TSH de plusieurs individus est comparée. La pulsatilité 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-hypophysiothyroïdien. 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.

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 thyroïdémie 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 IV 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 séléno-dépendante. Dès lors, une carence en Se peut mimer une symptomatologie d'hypothyroï-

die 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 ; 1975b). 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 plasma-

tique 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 thyroxinémie (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.

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 IV 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 san-

guin (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. À 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).

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 IV 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 goitrogènes (glucosides cyanogéniques ou thiouracils), 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.

Analyses sur l'animal : tissus

Le principal tissu intéressant à prélever dans le cadre de l'investigation des apports iodés est la thyroïde. À 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.

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.

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).

Dosage de l'iode 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).

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 longueurs, largeur et profondeur maximales de chaque lobe de la thyroïde. Le volume d'un lobe se calcule selon la formule :

Longueur x largeur x profondeur x 0,479 où la longueur correspond au diamètre crânio-caudal, la largeur au diamètre médio-latéral, la profon-

deur 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 ; International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders, 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.

CONCLUSIONS

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 si 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. Quoi qu'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.

Dans les troupeaux laitiers, on peut se contenter de prélever un échantillon de lait de tank, qui permettra une estimation des apports en Se et I de tout un troupeau. Bien entendu, cet échantillon ne permettra pas la distinction de certaines classes d'animaux telles que l'âge, la production laitière et le type d'alimentation qui peut être différent en fonction de la production laitière. De plus, des animaux malades peuvent dès lors être introduit dans la moyenne du troupeau et influencer l'interprétation des résultats. Un échantillon sanguin sur une petite dizaine d'animaux est également possible à la place du prélèvement de lait de tank. Les animaux, cliniquement sains, seront sélectionnés de manière homogène (âge, niveau de production laitière, stade de gestation). Un *pool* (mélange de sang) est envisageable sur ces animaux mais au risque de perdre des informations importantes, surtout si un animal présente une pathologie sub-clinique ou que le lot est hétérogène. Dans le cas de *pool*, le Se plasmatique et l'IIP seront investigués. L'interprétation des concentrations sanguines en bTSH et en hormones thyroïdiennes, et de l'activité de la GPX ne peut se faire qu'au niveau individuel. Dès lors, le sang ne peut pas être mélangé (*pool*) pour réaliser ces analyses. Dans les troupeaux viandeux, les prises de sang sont à effectuer selon le même procédé. Chez des vaches allaitantes, du lait peut également être prélevé de manière individuelle ou par *pool*, avec les mêmes restrictions d'interprétation précédemment énoncées.

Sélénium

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 (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.

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.

À 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.

SUMMARY

Selenium and iodine deficiencies are frequently present in cattle in Europe with a negative impact on animal health, reproduction and production. Deficiencies in animals also influence human health owing to consumption of their products. These deficiencies must be correctly diagnosed in order to avoid lack of diagnosis or wrong diagnosis. Since there are many interactions between nutrients, a nutritional approach only is of limited interest. Therefore, the diagnosis based on samples obtained on the animals is more reliable. Clinical signs of selenium and iodine deficiencies are rarely pathognomonic. Laboratory analyses are thus necessary to confirm the diagnosis. The present review relates the principal clinical signs of selenium and iodine deficiencies and the confirmation of the deficiency by the measurements of different nutritional and functional markers available for cattle, either on blood, milk, urine or tissues. Finally, a protocol for the diagnosis of selenium and iodine deficiencies is proposed.

BIBLIOGRAPHIE

- 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.
- BELSTEIN 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.
- 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. *Poult. Int.*, 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, thyroxine, 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. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 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 Int.*, 2002, **5**, 3-18.
- 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 somatotropic 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 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 beta-subunit. *Biochem. J.*, 1996, **314**, 449-455.
- 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. **Goitre** chez les bovins : études épidémiologique et hormonale dans une zone endémique en Roumanie. *Point Vet.*, 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** (66th Annual Meeting of American Society of Animal Science) Abs N°64, 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.
- GRENIER B. Décision médicale : analyse et stratégie de décision dans la pratique médicale. Masson : Paris, 1993, 246 p.
- 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 City, Canada, July 11-16, 2004. World Association for Buiatrics, 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**, 643-651.
- 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., BERTRAIS 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.
- HERDTH T. Variability characteristics and test selection in herd-level nutritional and metabolic profile testing. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 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. North Am. Food Anim. Pract.*, 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. (Praha)*, 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. (Praha)*, 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. *Nutr. Abstr. Rev. 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.
- INGAR S.H. The thyroid gland. In: Wilson J.D. and Foster D.W. (Eds.), *Williams textbook of endocrinology*. Saunders: Philadelphia, 1985, 682-815.
- INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHEAGRONOMIQUE Alimentation des bovins, ovins et caprins : besoins des animaux - valeurs des aliments : tables INRA 2007. Quae : Versailles, 2007, 307 p.
- INTERNATIONAL COUNCIL FOR CONTROL OF IODINE DEFICIENCY DISORDERS (WORLD HEALTH ORGANIZATION) Recommended normative values for thyroid volume in children aged 6-15 years. *Bull. World Health Organ.*, 1997, **75**, 95-97.
- 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.
- 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.
- JARRIGE R. Alimentation des bovins, ovins, caprins. Institut national de recherche agronomique : Paris, 1988, 471 p.
- 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., ENDOY., KIMURA M., TAKEOKA K., AMINO N., MIYAI K. The stability of immunological and biological activity of human thyrotrophin 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.
- KLEINA.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 colostrum 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. Notions de digestibilité et teneurs recommandées dans la ration : prophylaxie et traitement. In : Les acquisitions récentes sur les carences en oligo-éléments du sol aux ruminants. *Bull. Techn. CRZV*, Theix, 1975, 90-94.
- LAMAND M. Place du laboratoire dans le diagnostic des carences en oligo-éléments chez les ruminants. *Rec. Med. Vet.*, 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. Association française des Techniciens de l'Alimentation et des Productions animales : Paris, 1991, 11.
- LARSEN P.R., BERRY M.J. Nutritional and hormonal regulation of thyroid hormone deiodinases. *Annu. Rev. Nutr.*, 1995, **15**, 323-352.
- LARSSONB., TRAVENM., 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.
- 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. Baseline 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.
- MEYERU., WEIGEL K., SCHÖNEF., LEITERER M., FLACHOWSKY G. Effect of dietary iodine on growth and iodine status of growing fattening bulls. *Livest. Sci.*, 2007, *in press*.
- MINISTERE DES CLASSES MOYENNES ET DE L'AGRICULTURE (BELGIQUE) Arrêté ministériel relatif au commerce et à l'utilisation des substances destinées à l'alimentation des animaux du 12 février 1999. *Monit. Belg.*, 1999, publié le 21/04/1999.
- 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 Actions*, 1986, **19**, 215-223.
- MILLER J.K., BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA E. Oxidative stress, antioxidants and animal function. *J. Dairy Sci.*, 1993, **76**, 2812-2823.
- MILLER J.K., TILLAPAUGH K. Iodide medicated salt for beef cattle. *Cornell Feed Serv.*, 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 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 SANTAMARINAA., 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 Nutrient requirements of beef cattle. 7th revised edition. National Academy Press : Washington, 2000, 248 p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL Nutrient requirements of dairy cattle 2001. 7th revised edition. National Academy Press : Washington, 2001, 450 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.
- 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. *Rev. Esp. Fisiol.*, 1987, **43**, 25-31.
- OLSON J.D. The role of selenium and vitamin E in mastitis and reproduction of dairy cattle. *Bovine Pract.*, **28**, 1994, 446-452.
- 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., LEVANDERO 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.*, 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. 2nd edition. Sherpa : Clearbrook, 1994, 356 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, Hanover, Germany, August 18-23, 2002. World Association for Buiatrics, 2002, 72.
- ROLLIN F. Detection of trace minerals deficiency in cattle. In: Proceedings of the European Meeting organized by the 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 of the American College of Veterinary Internal Medicine, June 1- 4, 2005, Baltimore, 2005.
- 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. 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.
- 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: International Atomic Energy Agency, Use of radioisotopes in animal biology and medical sciences. Academic Press : New-York, 1962, 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 Syndrome: 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. *Bovine Pract.*, 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 somatotrophic 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. 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.
- 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.