



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints> ID : 17452

To cite this version :

Raynaud, Lisa. *Statut minéral des vaches de race limousine : détermination des intervalles de référence et seuils de décision*.
Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2016, 103 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

Répartition des Enseignants-Chercheurs par Département.

Mise à jour : 06/09/2016

DIRECTRICE : ISABELLE CHMITELIN

ELEVAGE ET PRODUITS/SANTÉ PUBLIQUE VÉTÉRINAIRE	SCIENCES BIOLOGIQUES ET FONCTIONNELLES	SCIENCES CLINIQUES DES ANIMAUX DE COMPAGNIE, DE SPORT ET DE LOISIRS
<p>Responsable : M. SANS</p> <p><u>ALIMENTATION ANIMALE :</u> M. ENJALBERT Francis, PR Mme PRIYMENKO Nathalie, MC Mme MEYNADIER Annabelle, MC</p> <p><u>EPIDEMIOLOGIE :</u> Mathilde PAUL, MC</p> <p><u>MALADIES REGLEMENTEES-ZOONOSES-MEDECINE PREVENTIVE DES CARNIVORES DOMESTIQUES-DROIT VETERINAIRE :</u> M. PICAUVET Dominique, PR</p> <p><u>PARASITOLOGIE-ZOOLOGIE :</u> M. FRANC Michel, PR M. JACQUIET Philippe, PR M. LIENARD Emmanuel, MC Mme BOUHSIRA Emilie, MC</p> <p><u>HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS :</u> M. BRUGERE Hubert, PR M. BAILLY Jean-Denis, PR Mme BIBBAL Delphine, MC Mme COSTES Laura, AERC Mme DAVID Laure, MCC</p> <p><u>PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION :</u> M. BERTHELOT Xavier, PR M. BERGONIER Dominique, MC Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, PR Mme HAGEN-PICARD Nicole, PR M. NOUVEL Laurent-Xavier, MC Mme MILA Hanna, MC</p> <p><u>PATHOLOGIE DES RUMINANTS :</u> M. SCHELCHER François, PR M. FOUCRAS Gilles, PR M. CORBIERE Fabien, MC M. MAILLARD Renaud, MC M. MEYER Gilles, PR</p> <p><u>PRODUCTION ET PATHOLOGIE AVIAIRE ET PORCINE :</u> Mme WARET-SZKUTA Agnès, MC M. JOUGLAR Jean-Yves, MC M. GUERIN Jean-Luc, PR M. LE LOC'H Guillaume, MC</p> <p><u>PRODUCTIONS ANIMALES AMELIORATION GENETIQUE ECONOMIE :</u> M. DUCOS Alain, PR M. SANS Pierre, PR M. RABOISSON Didier, MC</p>	<p>Responsable : Mme GAYRARD</p> <p><u>ANATOMIE :</u> M. MOGICATO Giovanni, MC M. LIGNEREUX Yves, PR Mme DEVIERS Alexandra, MC</p> <p><u>ANATOMIE PATHOLOGIQUE - HISTOLOGIE :</u> M. DELVERDIER Maxence, PR Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, MC Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, PR Mme LACROUX Caroline, PR</p> <p><u>BIOLOGIE MOLECULAIRE :</u> Mme BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle, MC</p> <p><u>MICROBIOLOGIE – IMMUNOLOGIE - MALADIES INFECTIEUSES :</u> M. MILON Alain, PR M. BERTAGNOLI Stéphane, PR M. VOLMER Romain, MC Mme BOULLIER Séverine, MC Mme DANIELS Héléne, MC</p> <p><u>BIOSTATISTIQUES :</u> M. CONCORDET Didier, PR M. LYAZRHI Faouzi, MC</p> <p><u>PHARMACIE-TOXICOLOGIE :</u> M. PETIT Claude, PR Mme CLAUW Martine, PR M. GUERRE Philippe, PR M. JAEG Philippe, MC</p> <p><u>PHYSIOLOGIE –PHARMACOLOGIE THERAPEUTIQUE :</u> M. BOUSQUET-MELOU Alain, PR Mme GAYRARD-TROY Véronique, PR Mme FERRAN Aude, MC M. LEFEBVRE Hervé, PR</p> <p><u>BIOCHIMIE :</u> Mme BENNIS-BRET Lydie, MC</p> <p><u>ANGLAIS :</u> M. SEVERAC Benoît, PLPA Mme MICHAUD Françoise, PCEA</p>	<p>Responsable : Mme CADIERGUES</p> <p><u>ANESTHESIOLOGIE</u> M. VERWAERDE Patrick, MC</p> <p><u>CHIRURGIE :</u> M. AUTEFAGE André, PR M. ASIMUS Erik, MC M. MATHON Didier, MC Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, MC Mme PALIERNE Sophie, MC</p> <p><u>MEDECINE INTERNE :</u> Mme DIQUELOU Armelle, MC M. DOSSIN Olivier, MC Mme LAVOUE Rachel, MC Mme GAILLARD-THOMAS Elodie, MCC</p> <p><u>OPHTALMOLOGIE :</u> M. DOUET Jean-Yves, MC</p> <p><u>DERMATOLOGIE :</u> Mme CADIERGUES Marie-Christine, PR</p> <p><u>IMAGERIE MEDICALE</u> M. CONCHOU Fabrice, MC</p> <p><u>BIOLOGIE MOLECULAIRE :</u> Mme TRUMEL Catherine, PR</p> <p><u>PATHOLOGIE DES EQUIDES :</u> M. CUEVAS RAMOS Gabriel, MC Mme PRADIER Sophie, MC Mme LALLEMAND Elodie, AERC</p>

REMERCIEMENTS

À Monsieur le Professeur Jean Parinaud,

Professeur des Universités,
Praticien Hospitalier,
Biologie de la reproduction,

Qui a nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,
Nos hommages respectueux.

À Monsieur le Professeur Francis Enjalbert,

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Alimentation,

Qui a soutenu ce projet et nous a accompagnés dans notre travail,
Nos plus sincères remerciements.

À Madame le Docteur Nathalie Priymenko,

Maître de conférences hors classe à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Alimentation,

Qui nous a fait l'honneur de prendre part à ce jury,
Qu'elle soit assurée de notre grande reconnaissance.

À Madame le Docteur Christelle Roy,

Docteur Vétérinaire,
Directrice du Groupement Corrèzien de Défense Sanitaire,

Pour être à l'initiative de ce projet et m'avoir proposé ce sujet. Mais aussi
pour son accueil en Corrèze et l'envie de partager ses connaissances.
Profonde gratitude.

À ceux qui ont contribué à la réalisation de cette étude :

- Aux éleveurs corrèziens qui m'ont accueillie dans leurs exploitations et ont eu la patience de répondre à mes questions,
- Aux vétérinaires corrèziens pour leur aide et leurs conseils,
- Au personnel du laboratoire départemental d'analyse de la Corrèze pour leur rapidité et leur adaptation à nos souhaits,
- Aux salariés de Bovin Croissance Corrèze pour leur précieuse aide dans le choix des élevages,
- Au personnel du Groupement Corrèzien de Défense Sanitaire pour leur accueil.

TABLE DES MATIERES

Table des figures	3
Table des tableaux	5
Liste des abréviations	7
Introduction	8

Partie I. Partie bibliographique

1. INTÉRÊT ET MÉTHODE DE DÉTERMINATION D'UN INTERVALLE DE RÉFÉRENCE ET DE VALEURS SEUILS EN BIOLOGIE MEDICALE	10
1.1. VALEURS DE REFERENCE	10
1.2. VALEUR SEUIL.....	13
2. RÉGULATION ET FACTEURS DE VARIATION DES TENEURS SANGUINES EN MINÉRAUX MAJEURS	17
2.1. LA CALCEMIE	17
2.2. LA PHOSPHATEMIE	21
2.3. LA MAGNESEMIE	25
3. ÉVALUATION DU STATUT EN OLIGO-ÉLÉMENTS PAR DOSAGES SANGUINS	29
3.1. ÉVALUATION DU STATUT EN CUIVRE PAR LA CUPREMIE PLASMATIQUE	29
3.2. ÉVALUATION DU STATUT EN ZINC PAR LE DOSAGE DU ZINC PLASMATIQUE	36
3.3. ÉVALUATION DU STATUT EN SELENIUM PAR LE DOSAGE DE LA GLUTATHION PEROXYDASE ERYTHROCYTAIRE (GSH-PXE)	41
3.4. ÉVALUATION DU STATUT EN IODE PAR LE DOSAGE DE LA THYROXINE (T ₄)	47
3.5. IMPACT D'UNE CARENCE.....	52
4. FACTEURS DE VARIATION DES TENEURS SANGUINES	54
4.1. VARIATIONS PRE-ANALYTIQUES LIEES AU PRELEVEMENT SANGUIN	55
4.2. VARIATIONS ANALYTIQUES	55

Partie II. Partie expérimentale

1. MATERIEL ET METHODE	59
1.1. CADRE ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE	59
1.2. SELECTION DES SUJETS A PRELEVER	60
1.3. REALISATION DES PRELEVEMENTS ET ANALYSES	65
1.4. ANALYSE DES DONNEES	67
2. RÉSULTATS	68
2.1. CARACTERISTIQUES DE L'ÉCHANTILLON DE REFERENCE	68
2.2. INTERVALLE DE REFERENCE DES DOSAGES DES MINERAUX	73
2.3. INTERVALLE DE REFERENCE ET VALEUR SEUIL DES OLIGO-ELEMENTS OU DE LEUR MARQUEUR	76
3. DISCUSSION	82
3.1. METHODE DE SELECTION DES ECHANTILLONS	82
3.2. LES FACTEURS PRE-ANALYTIQUES ET ANALYTIQUES	84
3.3. EFFET ELEVAGE ET EFFET INDIVIDUEL	85
3.4. COMPARAISON AVEC LES SEUILS DETERMINES DANS LA LITTERATURE.....	86
Conclusion	93
Références bibliographiques	94

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Choix de valeurs seuils à l'aide d'une courbe ROC (DELACOUR 2005)	16
Figure 2 : Schéma simplifié de l'homéostasie phosphocalcique (MESCHY 2010)	18
Figure 3 : Variation de la phosphatémie avant le vêlage pour deux groupes de vaches laitières supplémentées à 2 niveaux (2,1 à 3,1 ou 4,4 g de P/kg de matière sèche) (SUTTLE 2010). ...	23
Figure 4: Variation de la phosphatémie sérique chez des vaches laitières de race Holstein selon le rang de lactation durant l'été (LAGER et al 2012).....	24
Figure 5 : Relation entre les apports de magnésium et l'excrétion urinaire selon l'importance de l'apport en potassium (SUTTLE 2010).	27
Figure 6 : Variation de la magnésémie avec l'âge chez des vaches allaitantes (SUTTLE 2010).	27
Figure 7: Relation entre l'apport de cuivre et le stockage hépatique chez des veaux (SUTTLE 2010).....	33
Figure 8 : Représentation chronologique des évènements associés à un manque d'apport en oligo-éléments (SUTTLE 2010)	52
Figure 9 : Variation d'une mesure en dehors de toute perturbation pathologique (ACHARD 2005).....	54
Figure 10 : Résultats d'analyse d'un même sérum canin par différents laboratoires (ACHARD 2005).....	57
Figure 11 : Répartition moyenne des périodes de vêlages	69
Figure 12 : Destination des veaux vendus dans les élevages de référence sur la saison 2015 - 2016.....	69
Figure 13 : Répartition du délai par rapport à la dernière mise bas.....	70
Figure 14 : Répartition de l'âge des vaches de l'échantillon	70
Figure 15 : Taux moyen dans les élevages de référence pour certains paramètres de santé.	71
Figure 16 : Histogramme de distribution de la calcémie (mg/dL)	74
Figure 17 : Box-plot des valeurs de calcémie	74
Figure 18 : Histogramme de distribution de la phosphatémie (mg/dL)	74

Figure 19 : Box-plot des valeurs de phosphatémie.....	75
Figure 20 : Histogramme de distribution des valeurs de magnésémie (mg/dL).....	75
Figure 21 : Box-plot des valeurs de magnésémie	75
Figure 22 : Histogramme de distribution des valeurs de cuprémie (µg/dl).....	77
Figure 23 : Box plot des valeurs de cuprémie (µg/dl)	77
Figure 24 : Histogramme de distribution des valeurs de zincémie (µg/dl).....	78
Figure 25 : Box-plot des valeurs de zincémie (µg/dl).....	78
Figure 26 : Histogramme de distribution des valeurs de GSH-Pxe (U/g Hb)	78
Figure 27 : Box-plot des valeurs de GSH-Pxe (U/g Hb)	78
Figure 28 : Histogramme de distribution des valeurs de T4 (nmol/L)	79
Figure 29 : Box-plot des valeurs de T4 (nmol/L)	79
Figure 30 : Distribution normale de la GSH-Pxe des populations de référence et "avec problématique"	80
Figure 31 : Courbe ROC des valeurs seuils de GSH-Pxe	81
Figure 32 : Comparaison entre différentes valeurs de référence de la calcémie	86
Figure 33 : Comparaison entre différentes valeurs de référence de la phosphatémie.....	86
Figure 34 : Comparaison entre différentes valeurs de référence de la magnésémie	87
Figure 35 : Comparaison des différentes valeurs de cuprémie	89
Figure 36 : Comparaison des différentes valeurs de zincémie	90
Figure 37 : Comparaison des valeurs de GSH-Pxe.....	90
Figure 38 : Comparaison des valeurs de T4	90

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Analyse bibliographique des valeurs de référence de la calcémie chez les bovins	20
Tableau 2 : Analyse bibliographique des valeurs de référence de la phosphatémie chez les bovins	24
Tableau 3 : Analyse bibliographique des valeurs de référence de la magnésémie chez les bovins	28
Tableau 4 : Analyse bibliographique des valeurs de référence et/ou valeurs seuil de la cuprémie chez les bovins	35
Tableau 5 : Analyse bibliographique des valeurs de référence de la zincémie chez les bovins	40
Tableau 6 : Analyse bibliographique de la relation GSH-Pxe et sélénémie chez les bovins	43
Tableau 7 : Analyse bibliographique des valeurs de référence et/ou valeurs seuil de la GSH-Pxe chez les bovins.....	46
Tableau 8 : Analyse bibliographique des valeurs de référence et/ou valeurs seuil de la T4 chez les bovins.....	51
Tableau 9 : Paramètres et seuils choisis comme critères d'exclusion (source : LDA 19).....	63
Tableau 10 : Techniques d'analyse et unités utilisées par le LDA 19.....	66
Tableau 11 : Caractéristiques des élevages de l'échantillon de référence comparées à la moyenne dans le département de la Corrèze (source : recensement agricole 2010)	68
Tableau 12 : Comparaison pour certains indicateurs de croissance et de reproduction entre notre échantillon et la moyenne de la race (BELVEZE et al 2012)	71
Tableau 13 : Moyennes et écarts- type des paramètres dosés sur les individus de référence	72
Tableau 14 : Statistiques descriptives des variables calcémie, magnésémie et phosphatémie	73
<i>Tableau 15 : Intervalle de référence et intervalles de confiance des limites, définies par notre échantillon de référence</i>	<i>76</i>

Tableau 16 : Statistiques descriptives des valeurs de cuprémie, zincémie, GSH-Pxe et T4	77
Tableau 17 : Intervalle de référence et intervalle de confiance des bornes par analyte	79
Tableau 18 : Comparaison des moyennes entre échantillon de référence et "avec problématique" par analyte	80
Tableau 19 : Méthodologie des études utilisées comme comparaison des valeurs de référence en minéraux.....	88

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- ASVCP : American Society for Veterinary Clinical Pathology
- AUC : area under curve (aire sous la courbe)
- GDS 19 : Groupement de Défense Sanitaire de la Corrèze
- GLDH : glutamate déshydrogénase
- GSH-Px : glutathion peroxydase érythrocytaire
- IFCC – CLSI : International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine – Clinical Laboratory and Standards Institute
- LDA 19 : Laboratoire Département d'Analyse de la Corrèze
- ROC : Receiver – operating characteristic
- T3 : triiodothyronine
- T4 : thyroxine

INTRODUCTION

Les minéraux et oligo-éléments sont étudiés depuis maintenant plus de 30 ans. Depuis la première étude en 1973 où Lamand et Perigaud ont montré que le foin était déficitaire en cuivre, cobalt, zinc et sélénium d'autres ont suivi dans l'objectif de maîtriser les apports en minéraux et oligo-éléments (ENJALBERT et al 2006).

En effet, une carence affecte progressivement les fonctions physiologiques. Mais avant l'apparition de signes cliniques, des effets économiques sur les performances et la santé peuvent être moins évidents.

Les analyses sanguines sont les analyses les plus utilisées pour déterminer le statut d'un animal vis-à-vis de ces éléments. Elles présentent l'avantage de représenter un bon compromis entre la facilité de réalisation et la sensibilité aux variations.

Les dosages sanguins sont couramment utilisés pour diagnostiquer une maladie. On peut alors classer le résultat en positif ou négatif, « malade » ou « non malade ». Cependant, dans le cas de l'analyse nutritionnelle, le résultat obtenu peut être placé sur une échelle avec plusieurs gradations entre un état allant de déficient à adéquat. Cette évaluation peut échouer sans intervalle de référence et/ou seuil de décision adapté (CHAPUIS 1991).

Dans ce souci, le Groupement Corrèzien de Défense Sanitaire a souhaité mettre à jour les valeurs de référence des dosages sanguins de trois minéraux majeurs : calcium, phosphore, magnésium et quatre oligo-éléments (ou leur marqueur) : cuivre, zinc, sélénium (glutathion peroxydase érythrocytaire) et iode (thyroxine ou T4). Ces valeurs seraient ainsi adaptées à la population cible : les vaches de race limousine dans le département de la Corrèze et aux méthodes d'analyse du laboratoire départementale d'analyse de la Corrèze.

Partie I. Partie bibliographique

1. INTÉRÊT ET MÉTHODE DE DÉTERMINATION D'UN INTERVALLE DE RÉFÉRENCE ET DE VALEURS SEUILS EN BIOLOGIE MEDICALE

Pour interpréter des valeurs d'analyse de sang, il faut les confronter à une « normalité » qu'il est possible de définir de plusieurs façons. Un intervalle de référence représente l'étendue des valeurs considérées comme physiologiques. Une valeur seuil est un critère opérationnel de décision. Le choix de l'un ou l'autre à utiliser dépend de l'analyse et de la question initialement posée.

1.1. Valeurs de référence

1.1.1. Définitions

Le concept de valeurs de référence est utilisé de façon claire depuis les années 1970 après avoir été introduit par Grasbeck and Saris. L'objectif était de remplacer la notion plus floue de valeurs usuelles ou valeurs « normales ». Depuis, des recommandations à l'échelle internationale en médecine humaine ont été publiées dans une série d'articles par *l'International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC)* et le *Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)*. Une adaptation pour la médecine vétérinaire a été proposée par *l'American Society for Veterinary Clinical Pathology (ASVCP)*. Plusieurs définitions ont été établies par ces organismes (GEFFRÉ et al 2009).

Une valeur de référence est la valeur obtenue par l'observation ou la mesure d'un analyte sur un individu de référence. Celui-ci est sélectionné par des critères d'inclusion et d'exclusion bien définis. Par la distribution des valeurs dans la population de référence ou le groupe de référence, on obtient la distribution de référence. L'intervalle de référence est alors l'intervalle entre les deux valeurs limites de références, incluant ces limites.

Ainsi il est aujourd'hui communément admis que la notion de valeurs de référence décrit : « les fluctuations interindividuelles ou au sein d'une population de référence de sujets « en bonne santé » » (GEFFRÉ et al 2009). De même, un intervalle de référence est l'intervalle des valeurs de référence dont les bornes sont les limites inférieure et supérieure de référence.

1.1.2. Méthode de détermination

Plusieurs méthodes ont été proposées par les organismes cités précédemment (IFCC, CLSI et ASVCP) afin de déterminer un intervalle de référence :

- La méthode de détermination *de novo*
- Le transfert d'un intervalle préexistant lorsque la méthode ou une technique a changé
- La validation d'intervalle précédemment établie.

Dans les parties suivantes, nous étudierons uniquement la méthode de détermination *de novo* publiée par l'IFCC-CLSI dans la recommandation C28-A3 (GEFFRÉ et al 2009).

1.1.2.1. *Détermination de facteurs de variations pré-analytiques et analytiques*

La première étape consiste à déterminer les facteurs de variations pré-analytique, analytique et biologique pour chaque analyte grâce à une recherche bibliographique. Ces recherches regroupent les facteurs de variation liés à la fois aux prélèvements (site, contention par exemple), à la méthode d'analyse (analyseur, test utilisés) et aux individus de référence (gestation, stress, cycle sexuel, âge par exemple).

Ces facteurs peuvent devenir alors des critères d'inclusion, d'exclusion ou de distinction entre groupes qu'il est nécessaire de définir à ce moment-là. Il est nécessaire de définir ces critères de façon très rigoureuse car ils servent de point de repère pour le choix des individus de référence. L'évaluation objective de certains critères (comme le stress par exemple) au moment du prélèvement n'est pas toujours facile.

1.1.2.2. Choix de l'échantillon de référence

Le choix de l'échantillon de référence est une étape primordiale à l'établissement d'un intervalle de référence. Le nombre d'individus de référence doit être approprié. Il dépend essentiellement de l'intervalle de confiance que l'on veut obtenir. Une population de 120 individus de référence est le minimum recommandé pour un groupe car c'est la plus petite valeur avec laquelle il est possible d'obtenir un intervalle de confiance de 90% avec une méthode non paramétrique (FRIEDRICHS et al 2012, GEFFRÉ et al 2009). Il est parfois difficile pour plusieurs raisons (coût, disponibilité des animaux ...) d'avoir ce minimum de 120 prélèvements et dans ce cas il est conseillé d'utiliser le nombre le plus important possible d'échantillons.

1.1.2.3. Réalisation des prélèvements

La méthode de préparation de collecte et d'analyse des échantillons doit être standardisée pour chaque échantillon. Une description précise de toutes les étapes nécessaires à l'obtention du résultat (depuis la préparation des animaux au traitement des spécimens) est nécessaire (FRIEDRICHS et al 2012, GEFFRÉ et al 2009). Tout échantillon pour lequel le protocole n'a pas pu être suivi doit être rejeté.

1.1.2.4. Analyse des résultats

Enfin, la répartition des données obtenues peut être visualisée grâce à un histogramme de distribution. Les valeurs aberrantes peuvent être mises en évidence par des tests statistiques. Les méthodes de Tukey et de Dixon sont les deux méthodes les plus communément utilisées mais d'autres méthodes existent (test de Grubbs par exemple) (FRIEDRICHS et al 2012, GEFFRÉ et al 2009).

Afin de déterminer un intervalle de référence, il est ensuite nécessaire de sélectionner une méthode statistique.

L'utilisation de méthodes non paramétriques est recommandée par l'ASVCP lorsque le nombre d'échantillon de référence est supérieur à 120. Elles englobent 95% des valeurs autour de la moyenne. Les limites inférieure et supérieure sont respectivement définies en utilisant le 2,5^{ème} et le 97,5^{ème} percentiles. Cependant, 5% des sujets en bonne santé ont des valeurs en dehors de l'intervalle de référence. On définit également l'intervalle de confiance à 90% de chaque valeur limite qui estime l'imprécision de ces valeurs par l'échantillonnage. Ainsi la vraie limite de référence a 90% de chances de se situer dans l'intervalle de confiance. Une distribution gaussienne des données n'est pas nécessaire.

Les méthodes Robust sont recommandées lorsque 20 à 120 échantillons de référence sont disponibles. Un processus itératif estime alors la médiane et la dispersion de la distribution. Elle nécessite une distribution de référence symétrique avec ou sans transformation Box-cox des données (FRIEDRICHS et al 2012).

Les méthodes paramétriques sont utilisables uniquement si les données suivent ou peuvent être transformées en distribution gaussienne. Elles englobent un peu plus de 95% des valeurs observables autour de la moyenne. Les limites inférieure et supérieure sont établies respectivement à moyenne - 2 écarts-type et moyenne + 2 écarts-type.

1.2. Valeur seuil

1.2.1. Définition

Un test de laboratoire a classiquement pour objectif de classer un résultat en positif ou négatif (malade ou non malade, carencé ou non carencé). La capacité d'un test à fournir cette information dépend de sa précision et de la limite utilisée pour déterminer le résultat. A l'inverse de l'intervalle de référence qui est défini par une méthode statistique rigoureuse au sein d'une population, le seuil de décision est défini par consensus et peut être différent entre sous-groupes au sein de la population (FRIEDRICHS et al 2012).

La limite décisionnelle ou valeur seuil ou seuil décisionnel est définie comme étant le seuil utilisé pour classer les patients entre un état malade et non malade ou identifier si une action médicale ou nutritionnelle doit être mise en place (GEFFRÉ et al 2009).

1.2.2. Méthode de détermination

L'ASVCP dans son document adaptant les lignes directrices pour la détermination d'intervalle de référence, propose une méthode par étape pour produire une valeur seuil. Cette méthode est résumée dans les paragraphes ci-dessous.

1.2.2.1. *Définition de la question initiale*

La question initialement posée doit l'être au regard de plusieurs facteurs :

- Certaines caractéristiques de la population cible (âge, sexe...) et de la « maladie » (fréquence, durée...)
- Les décisions prises selon les résultats obtenus
- Le rôle du test dans la prise de décision

1.2.2.2. *Sélection des animaux*

Le choix de l'échantillon à tester consiste à sélectionner des animaux dont on suppose qu'une partie seront négatifs et l'autre positifs. Une étude statistique préalable peut déterminer le nombre d'animaux nécessaire à l'expérimentation.

Plusieurs points sont à prendre en compte. La diversité au sein de l'échantillon augmente la précision des résultats. Si la question concerne la présence ou l'absence de maladie, une partie de l'échantillon doit être atteint de la maladie. A l'inverse si la question concerne la détermination de la sévérité ou du pronostic, l'échantillon en entier doit comprendre des

animaux malades avec un panel de toutes les sévérités. Afin de prévenir certains biais, le choix des animaux à prélever doit être indépendant des résultats du test.

1.2.2.3. *Réalisation des prélèvements et examens complémentaires*

Lors de la réalisation des prélèvements, il serait préférable que le manipulateur ne soit pas en connaissance du statut (par rapport au test réalisé) des animaux qu'il prélève. De plus, si l'on cherche à comparer les performances de plusieurs analyses, les prélèvements devraient être exécutés sur tout l'échantillon au même moment ou au même stade de la maladie. Si plusieurs tests sont réalisés sur un même sujet, ils doivent l'être sur le même prélèvement. Si la stabilité des prélèvements le permet, il est préférable de tester tous les prélèvements pour un même analyte en une seule fois afin de minimiser les variations analytiques entre lots.

Des examens complémentaires doivent être utilisés pour établir le vrai statut de l'individu testé : malade ou non malade. A l'inverse pour les tests qui étudient le pronostic ou la sévérité de la maladie, un classement, une mise en scène ou un *scoring* standardisé doivent être mis en place.

1.2.2.4. *Analyse des résultats*

A l'issue des analyses, il est possible de créer une courbe *Receiver-operating characteristic* (ROC). Celle-ci est la représentation graphique de la relation entre la sensibilité et la spécificité d'un test, calculée pour les valeurs seuils possibles (DELACOUR 2005). La sensibilité (Se) d'un test est la probabilité que le test soit positif si l'individu est malade. La spécificité (Sp) est la probabilité que le test soit négatif si l'individu est sain. Cette courbe doit

permettre d'évaluer la performance diagnostique du test et de sélectionner la valeur seuil répondant le mieux à la problématique posée initialement (Figure 1).

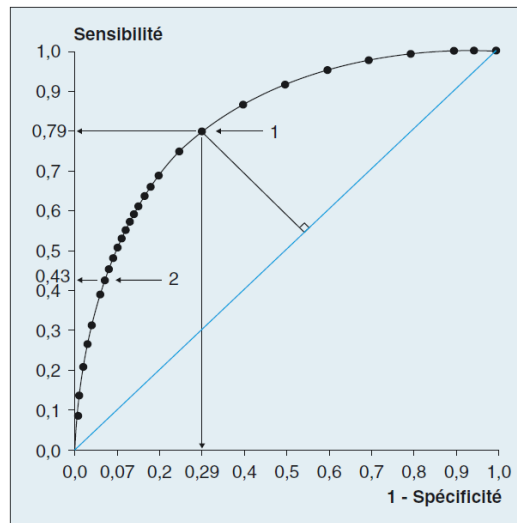


Figure 1 : Choix de valeurs seuils à l'aide d'une courbe ROC (DELACOUR 2005)

Ainsi, l'aire sous la courbe (AUC) est le reflet des performances diagnostiques d'un test. Pour un test parfait, c'est-à-dire lorsque les distributions des résultats des deux populations comparées sont clairement distinctes, l'AUC est égale à 1. A l'inverse, pour un test d'apport nul dans lequel les distributions des résultats des sujets malades et sains se superposent parfaitement, la sensibilité est toujours égale à 1 – spécificité. Dans ce cas, la représentation graphique est une droite reliant l'extrémité inférieure gauche et l'extrémité supérieure droite du graphique. L'AUC vaut alors 0,5. Les valeurs intermédiaires prises par l'AUC permettent de définir un test peu informatif (entre 0,5 et 0,7), moyennement informatif (entre 0,7 et 0,9) et très informatif (entre 0,9 et 1) (FRIEDRICHS et al 2012).

Deux indicateurs permettent de définir une valeur seuil. L'indice de Youden mesure, par une droite verticale, la distance entre la diagonale et la courbe selon la formule $Y = Se + Sp - 1$. De même, on peut noter d , la distance entre la courbe et le point de coordonnées (1 ;1) défini comme le test parfait (sensibilité et spécificité de 100%). On recherche alors le maximum de l'indice de Youden et le minimum pour la distance d .

Dans l'exemple de la figure 1, la valeur seuil correspondant au point 1 est obtenue en recherchant l'indice de Youden maximum. Le point 2 implique un seuil avec une sensibilité et une spécificité différente. Il peut être choisi en prenant en compte des données épidémiologiques et médicoéconomiques par exemple.

2. RÉGULATION ET FACTEURS DE VARIATION DES TENEURS SANGUINES EN MINÉRAUX MAJEURS

2.1. La calcémie

Le calcium est présent dans l'organisme à hauteur de 1,6% du poids vif des animaux, c'est le minéral le plus abondant. Cependant, 99% de celui-ci est présent dans le squelette (avec un rôle plastique, constitutif), le reste est répartie dans les tissus. Il assure ainsi plusieurs rôles : transmission de l'influx nerveux, diminution de l'excitabilité musculaire, hémostase et perméabilité des membranes cellulaires.

Dans le sang, la moitié du calcium est lié à l'albumine, l'autre moitié est libre dans le plasma. Le calcium total dosé représente donc à la fois la partie liée et la partie libre.

2.1.1. Régulation de la calcémie

Le métabolisme phosphocalcique est finement régulé par la teneur plasmatique en calcium (calcémie). En effet, un mécanisme hormonal complexe se met en place après toute variation de la calcémie. Cette variable est donc quasi constante et apporte une information clinique. Elle ne représente pas le reflet des apports nutritionnels.

Lors d'hypocalcémie, deux hormones hypercalcémiantes entrent en jeu. La sécrétion de parathormone par la glande parathyroïde augmente ce qui a pour conséquence une stimulation de la mobilisation de calcium osseux. De plus, le calcium est réabsorbé au niveau rénal afin de limiter son excrétion. La vitamine D (plus précisément son dérivé hydroxylé 25-(OH)vit D) est activée en calcitriol (1,25-(OH)₂vit D) par la parathormone et favorise la mobilisation du calcium osseux, l'absorption intestinale de calcium et limite son excrétion rénale.

L'absorption intestinale de calcium se déroule dans la partie proximale de l'intestin grêle. Il s'agit d'un phénomène actif sous dépendance du calcitriol. Celle-ci déclenche la synthèse de la Calcium binding protein (CaBP) qui transfère le calcium dans les entérocytes. L'efficacité de l'absorption de calcium est ainsi modulée par l'équilibre besoin / apport chez les ruminants.

Un transport passif est également possible si la concentration en calcium dans l'intestin est supérieure à 1 mmol/L (ROUSSEAU 2004, SUTTLE 2010). Dans ces circonstances, le calcium peut être absorbé au niveau du rumen (SUTTLE 2010).

A l'inverse, lors d'une hypercalcémie, les cellules C de la thyroïde sécrètent plus de calcitonine, hormone hypercalcémiante. Cette hormone a pour rôle d'entraîner la fixation de calcium au niveau osseux. Elle favorise également l'élimination rénale de calcium.

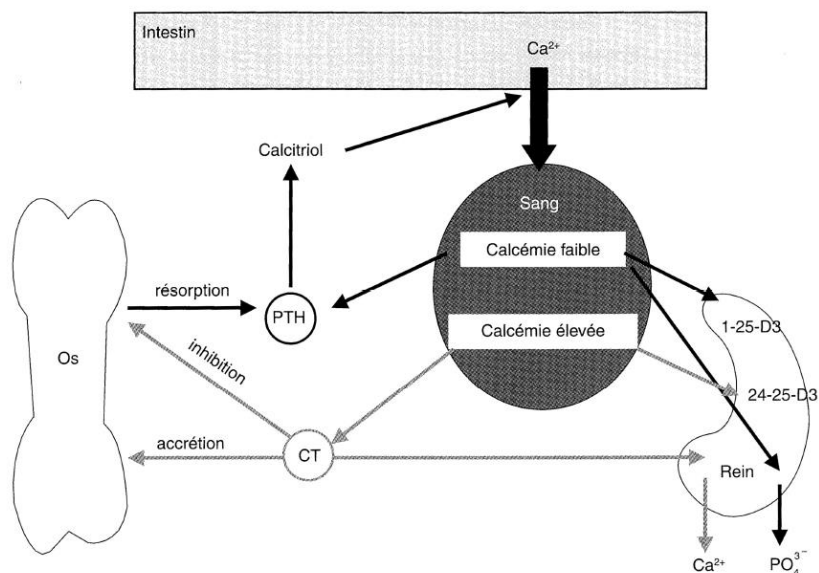


Figure 2 : Schéma simplifié de l'homéostasie phosphocalcique (MESCHY 2010)

2.1.2. Facteurs de variation

La régulation de la calcémie est soumise à une régulation très fine. Ce phénomène a été abordé dans le paragraphe précédent. Dans ce paragraphe, nous étudierons donc uniquement les facteurs initiaux qui font varier la calcémie avant qu'intervienne le mécanisme

de régulation. Ainsi, seront détaillés ici les apports et l'élimination de calcium et leurs facteurs de variation.

2.1.2.1. Variations des arrivées de calcium dans le sang

Les sources primaires de calcium sanguin sont l'alimentation et la résorption osseuse.

L'absorption de calcium peut varier selon certains facteurs liés à l'animal et aux apports. En effet, elle est liée à l'âge : très élevée chez le jeune non sevré (> 90%) (ROUSSEAU 2004), elle diminue chez le ruminant adulte (20 à 55 % voire maximum 68 %) selon le type d'aliment (ROUSSEAU 2004, SUTTLE 2010). D'autres facteurs influencent l'efficacité de l'absorption comme le rapport phosphocalcique, la forme chimique de calcium ou l'ingestion simultanée de magnésium (ROUSSEAU 2004).

La résorption osseuse est un phénomène obligatoire autour de la mise-bas et durant la lactation car l'apport alimentaire de calcium ne peut couvrir le besoin en calcium de l'organisme. Ainsi jusqu'à un cinquième du calcium contenu dans le squelette est mobilisé durant cette période (SUTTLE 2010).

2.1.2.2. Variations des sorties de calcium du sang

L'excrétion urinaire et fécale de calcium joue un rôle mineur dans le maintien de l'homéostasie calcique. Les pertes endogènes fécales ne sont pas affectées par une modification de la supplémentation en calcium (SUTTLE 2010).

Le flux de calcium vers le squelette joue un rôle important dans la régulation de la circulation du calcium. En effet, les mammifères naissent avec une faible minéralisation du squelette. Durant la phase lactée, l'apport de calcium n'est pas suffisant pour minéraliser complètement le squelette. Après le sevrage, la minéralisation augmente de façon progressive

stimulée par l'exercice et l'augmentation du poids (SUTTLE 2010), ce qui implique une « sortie » de calcium de la circulation sanguine assez importante.

Durant le dernier tiers de gestation et la lactation, respectivement 2 à 7 g/j et 1,25 g par litre de lait sont exportés (ROUSSEAU 2004). De même, lors de la mise-bas, une vache peut perdre jusqu'à 23 g de calcium pour 10 kg de colostrum en 24 h, alors que la circulation sanguine en contient seulement 3 g au total (SUTTLE 2010).

2.1.3. Valeurs de référence du calcium sérique dans la bibliographie

Résultat produit	Source	Animaux testés	Valeurs définies	
			en mg/dL	en mmol/L
Intervalle de référence	SUTTLE 2010	VL * ¹ proche mise bas	5,2 – 8,0	1,3 – 2,0
	LAGER et al 2012	VL	8,2 – 10,5	2,1 – 2,6
	PIAO et al 2015	Vaches en début de gestation * ²	8,5 – 11,5	2,1 – 2,9
	CHURCH et al 1978	VA * ³	8,0 – 10,5	2,0 – 2,6
Moyenne ± écart type	LEE et al 1978	VL en lactation	9,6 ± 1,0	2,4 ± 0,3
	BIDE 1978	VA	10,2 ± 0,5	2,5 ± 0,1
	HIRIROGLOU et al 1992	VA en gestation	10,2 ± 1,2	2,5 ± 0,3

*¹ VL : vaches laitières ; *² : entre 1 et 95 jours de gestation ; *³ VA : vaches allaitantes

Tableau 1 : Analyse bibliographique des valeurs de référence de la calcémie chez les bovins

2.2. La phosphatémie

Le phosphore est présent dans l'organisme à hauteur de 0,7 à 0,9 % du poids vif. Son rôle plastique explique sa répartition à 80% dans le tissu osseux. Les 20% restant ont d'autres fonctions dans l'organisme. Il est notamment un composant des acides désoxyribonucléiques (ADN), de l'adénosine triphosphate (ATP) et des phospholipides membranaires.

2.2.1. Régulation de la phosphatémie

La régulation de la phosphatémie est indirecte puisqu'elle dépend des hormones régulatrices de la calcémie. Toute modification de l'homéorhèse calcique aura une action sur l'homéostasie du phosphore. Les variations de calcémie sont le véritable moteur de la régulation phosphocalcique. La phosphatémie est en cela un meilleur reflet des apports alimentaires en minéraux.

En effet, la parathormone par son action ostéolytique libère du calcium et du phosphore puisque ceux-ci sont liés dans le cristal d'hydroxyapatite. Au niveau rénal, elle stimule l'excrétion urinaire du phosphore. De plus, la parathormone permet l'activation de la vitamine D, ce qui améliore l'efficacité de l'absorption intestinale du phosphore et accentue la mobilisation osseuse. Enfin, l'action du calcitriol se traduit également par une augmentation de la phosphatémie. La calcitonine est quant à elle une hormone hypophosphatémiant.

2.2.2. Facteurs de variation

La régulation de la phosphatémie est ainsi sous dépendance de la régulation de la calcémie. Les concentrations sanguines en phosphore sont donc plus variables chez les animaux en bonne santé que les concentrations sanguines en calcium.

2.2.2.1. Variations des arrivées de phosphore dans le sang

L'absorption de phosphore se fait principalement dans le duodénum et le jéjunum (ainsi que dans le rumen et le gros intestin) par un transport actif ou une diffusion passive. Ce dernier mécanisme prédomine lorsque les apports sont suffisants. On observe alors une relation quasi linéaire entre les quantités de phosphore ingérées et absorbées.

Parmi les facteurs de variation de l'absorption de phosphore, le plus important est la nature de l'apport alimentaire (MESCHY 2010). Certaines interactions avec d'autres nutriments modifient l'absorption de phosphore. L'efficacité de l'absorption diminue avec l'apport de fer ou d'aluminium. Le taux d'absorption est également légèrement variable selon l'âge. Le phosphore phytique est absorbé chez le jeune non sevré à hauteur de 68 à 80%, et chez le ruminant adulte à hauteur de de 60 à 75% (SUTTLE 2010).

La résorption osseuse de calcium a principalement lieu autour de la mise-bas et pendant la lactation ; les deux minéraux étant liés dans le cristal d'hydroxyapatite, ce phénomène est semblable pour le phosphore.

2.2.2.2. Variations des sorties de phosphore du sang

Lors de la minéralisation du squelette, un flux de phosphore vers celui-ci est nécessairement mis en place.

La mesure du flux de phosphore dans l'organisme est compliquée par le phénomène de recyclage salivaire. Celui-ci peut aller de 30 à 90 g par jour de phosphore absorbé. En effet, la sécrétion de phosphore salivaire est largement sous dépendance de la concentration plasmatique en phosphore (SUTTLE 2010).

L'excrétion fécale est majoritaire (90 – 95 % de l'excrétion totale) (MESCHY 2010). L'excrétion urinaire (2-12 g/j) s'observe si les apports sont excessifs ou si la ration comprend une forte proportion d'aliments concentrés.

Enfin durant le dernier tiers de gestation et la lactation, l'exportation de phosphore atteint respectivement 4 à 10 g/j et 10 à 70 g/ j (ROUSSEAU 2004). En effet, un apport important en phosphore ne peut combler le besoin autour de la mise bas (figure 3) (SUTTLE 2010). Certains auteurs ont montré que la phosphatémie était la plus basse une semaine après vêlage (figure 4) (LAGER et al 2012).

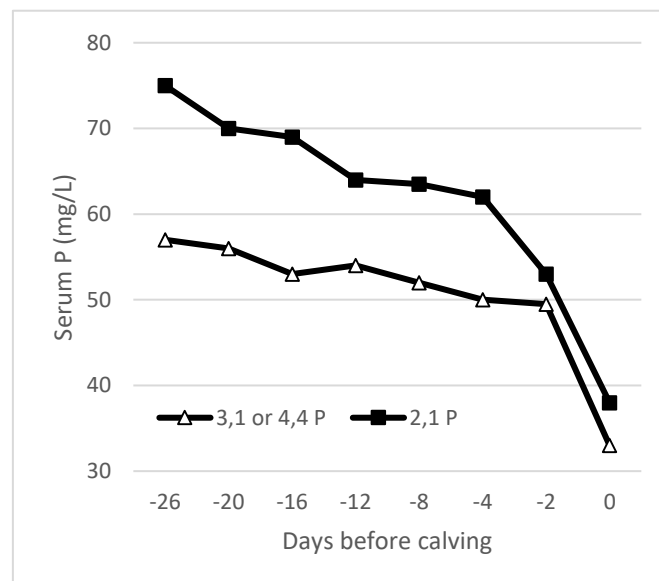


Figure 3 : Variation de la phosphatémie avant le vêlage pour deux groupes de vaches laitières supplémentées à 2 niveaux (2,1 à 3,1 ou 4,4 g de P/kg de matière sèche) (SUTTLE 2010).

2.2.2.3. Autres facteurs de variation

Différents facteurs individuels peuvent faire varier la phosphatémie. Le stress peut provoquer une diminution de celle-ci (SUTTLE 2010). L'âge est également un facteur de variation. Des agneaux et veaux non sevrés ont une phosphatémie plus haute que leur mère jusqu'au sevrage (> 1,7 mmol/L) (SUTTLE 2010). A l'âge adulte, il n'existe pas de différence significative de la phosphatémie selon le rang de lactation et donc l'âge (figure 4) (LAGER et al 2012).

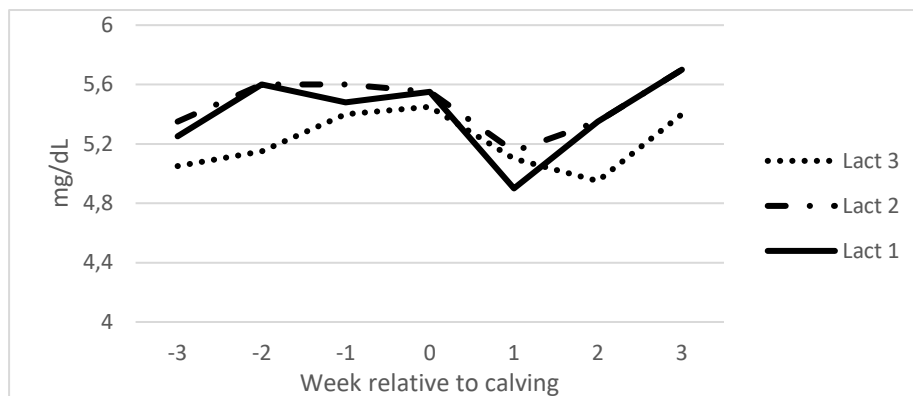


Figure 4: Variation de la phosphatémie sérique chez des vaches laitières de race Holstein selon le rang de lactation durant l'été (LAGER et al 2012)

2.2.3. Valeurs de référence de la phosphatémie dans la bibliographie

Résultat produit	Source	Animaux testés	Matrice	Valeurs définies	
				en mg/dL	en mmol/L
Intervalle de référence	SUTTLE 2010	VL* ¹ proche mise bas	Plasma	3,0 – 4,6	0,8 – 1,2
	WHITAKER 2004	Bovins	Plasma	4,2 – 7,3	1,1 – 1,8
	LAGER et al 2012	VL	Sérum	4,8 – 7,4	1,2 – 1,9
	PULS 1988	Vaches début de gestation* ²	Sérum	3,2 – 10,8	0,8 – 2,7
	CHURCH et al 1978	VA	Sérum	4,0 – 7,0	1,0 – 1,8
Moyenne ± écart type	HIRIROGLOU et al 1992	VA* ³ en gestation	Plasma	5,1 ± 0,2	1,3 ± 0,1
	LEE 1978	VL en lactation	Sérum	5,8 ± 1,1	1,5 ± 0,3
	BIDE 1978	VA	NC	4,6 ± 1,4	1,2 ± 0,4

*¹ VL : vaches laitières ; *² : entre 1 et 95 jours de gestation ; *³ VA : vaches allaitantes

Tableau 2 : Analyse bibliographique des valeurs de référence de la phosphatémie chez les bovins

2.3. La magnésémie

Le magnésium est lui aussi un composant du tissu osseux à hauteur de 60 à 70 % du magnésium de l'organisme (SUTTLE 2010). Il participe de plus, à la régulation des flux ioniques entre les cellules et le liquide interstitiel, permettant la contraction musculaire et la transmission de l'influx nerveux. Il est également le cofacteur de nombreuses réactions enzymatiques.

Le plasma contient en temps normal environ 1 mmol/L de magnésium soit 23 mg/L réparti sous deux formes : une liée aux protéines (32%), l'autre libre sous forme ionisée (68%).

2.3.1. Régulation de la magnésémie

La concentration sanguine de magnésium est principalement influencée par l'absorption et l'excrétion rénale de magnésium. En effet, il n'y a pas de système hormonal spécifique de contrôle de la magnésémie. Un jeûne provoque rapidement une diminution de la magnésémie tandis qu'un tarissement soudain entraîne une hausse (SUTTLE 2010).

Cependant la parathormone a un effet sur le métabolisme du magnésium par modulation de la réabsorption rénale de celui-ci. Une hypomagnésémie interfère ainsi avec la libération de parathormone et l'activation de vitamine D dans le rein (LAPORTE URIBE 2005). La magnésémie serait également influencée de façon indirecte par la calcitonine, l'aldostérone, la thyroxine et l'insuline (SUTTLE 2010).

2.3.2. Facteurs de variation

2.3.2.1. *Variations des arrivées de magnésium dans le sang*

L'absorption de magnésium a majoritairement lieu au niveau du rumen par une combinaison de transports actif et passif (SUTTLE 2010).

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'absorption de magnésium.

Un des facteurs de variation de l'efficacité de l'absorption de magnésium est le pH du rumen par son action sur la solubilité de celui-ci. Ainsi après une modification de la ration, qui a pour conséquence une augmentation du pH du rumen de 5,6 à 7,2, la concentration en magnésium absorbable dans le rumen diminue de 6 à moins de 0,5 mmol/L (SUTTLE 2010). La quantité d'énergie disponible est, de plus, positivement corrélée à l'absorption. Enfin, un apport trop important en potassium diminue l'efficacité de l'absorption de magnésium même si les apports en magnésium sont très hauts. En effet, l'augmentation de la concentration en potassium dans le rumen implique un accroissement de la différence de potentiel transmembranaire qui inhibe le transport actif de magnésium (MESHY 2010).

L'efficacité de l'absorption est différente selon l'âge des animaux : elle passe de 87 % à 2-3 semaines d'âge à 32 % à 7-8 semaines (SUTTLE 2010).

2.3.2.2. *Variation des sorties de magnésium du sang*

L'excrétion de magnésium est majoritairement urinaire et proportionnelle aux apports (figure 5). Le rein est un acteur principal de la régulation de la magnésémie. Le magnésium se comporte comme une substance à seuil et celui n'est plus réabsorbé quand sa concentration plasmatique dépasse 0,92 mmol/l (SUTTLE 2010) ou 0,7 – 0,8 mmol/L (LAPORTE URIBE 2005).

Les autres « sorties » de magnésium sont l'excrétion dans le lait et la fixation osseuse.

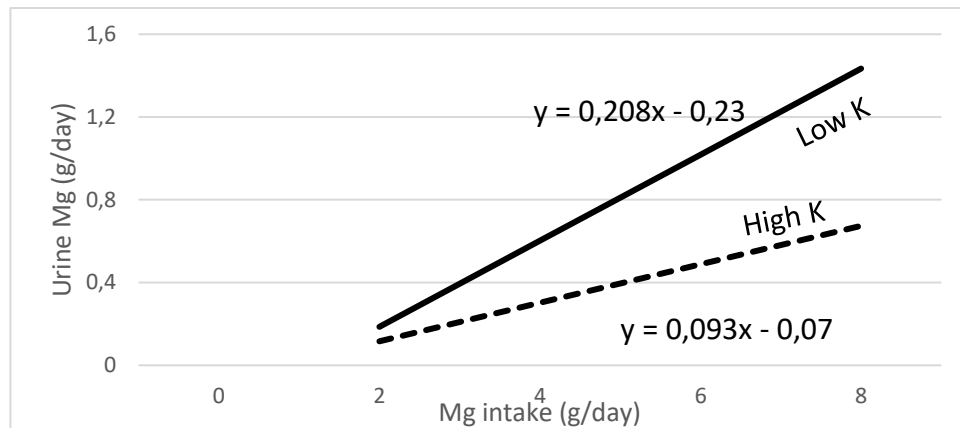


Figure 5 : Relation entre les apports de magnésium et l'excrétion urinaire selon l'importance de l'apport en potassium (SUTTLE 2010).

2.3.2.3. Autres facteurs de variation

Certains paramètres individuels peuvent être des facteurs de variation de la magnésémie. En effet, autour de la mise-bas la magnésémie augmente de 25% par rapport à la valeur normale.

De plus l'âge est également un facteur de variation, on observe une diminution de la magnésémie même si un déficit chronique « cumulatif » peut contribuer à cet effet (figure 6) (SUTTLE 2010).

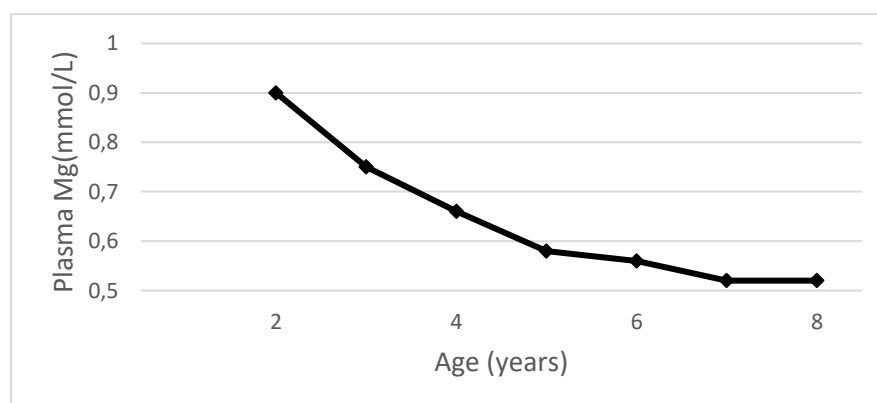


Figure 6 : Variation de la magnésémie avec l'âge chez des vaches allaitantes (SUTTLE 2010).

2.3.3. Valeurs de référence de la magnésémie dans la bibliographie

Résultat produit	Source	Animaux testés	Matrice	Valeurs définies	
				en mg/dL	en mmol/L
Intervalle de référence	SUTTLE 2010	VL* ¹	Sérum	1,2 – 1,8	0,5 - 0,8
	LAGER et al 2012	VL	Sérum	2,2 – 3,8	0,9 – 1,6
	PULS 1988	Vaches en début de gestation* ²	Sérum	2,2 – 3,3	0,9 – 1,4
	WHITAKER 2004	Bovins	Plasma	2,0 – 3,2	0,8 – 1,3
	CHURCH 1978	VA* ³	Sérum	1,2 – 3,5	0,5 – 1,4
Moyenne ± écart type	LEE 1978	VL en lactation	Sérum	2,2 ± 0,3	0,9 ± 0,1
	HIRIROGLOU et al 1992	VA en gestation	Plasma	2,2 ± 0,03	0,9 ± 0,01

*¹ VL : vaches laitières ; *² : entre 1 et 95 jours de gestation ; *³ VA : vaches allaitantes

Tableau 3 : Analyse bibliographique des valeurs de référence de la magnésémie chez les bovins

3. ÉVALUATION DU STATUT EN OLIGO-ÉLÉMENTS PAR DOSAGES SANGUINS

L'évaluation du statut de quatre oligo-éléments sera présentée dans cette partie : le cuivre, le zinc, le sélénium (via la glutathion peroxydase érythrocytaire) et l'iode (par la thyroxine). Les dosages de ces quatre éléments réalisés ces dernières années par le Groupement de Défense Sanitaire de la Corrèze, la fréquence des carences en cuivre, zinc et sélénium et les possibilités de dosages du laboratoire ont motivé ce choix.

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour évaluer le statut en oligo-élément d'un ruminant : l'analyse de ration, le dosage sanguin, dans le lait, dans l'urine, sur prélèvement de foie, dans les poils, la laine ou les sabots. Parmi ceux-ci, le dosage sanguin est très fréquemment utilisé car bien relié au statut en oligo-élément (LAGER et al 2012) et peu invasif.

3.1. Évaluation du statut en cuivre par la cuprémie plasmatique

Le cuivre est un élément trace essentiel présent comme composant structurel de plusieurs enzymes et de macromolécules : céruléoplasmine, tyrosinase, cytochrome oxydase, superoxyde dismutase, etc... Celles-ci assurent des fonctions essentielles à l'organisme comme la respiration cellulaire, la protection contre le stress oxydatif et le transport de fer mais aussi la pigmentation et le développement du tissu nerveux.

3.1.1. Métabolisme du cuivre

L'ajustement des fluctuations de la cuprémie produites par la variation des apports en cuivre dans l'alimentation est régulé par le contrôle de l'absorption de cuivre, l'excrétion de cuivre et surtout le stockage hépatique. Ces trois facteurs diffèrent en importance selon l'espèce animale.

Chez les ruminants, le contrôle du statut cuprique par l'absorption est mineur par rapport au contrôle par l'accumulation de cuivre hépatique, au contraire des espèces non ruminantes. Ainsi dans les paragraphes suivants, parmi les facteurs de variation abordés nous verrons ceux de l'absorption et du stockage hépatique.

L'élimination de cuivre principalement par voie fécale (à moindre degré par voies urinaire et mammaire) n'est pas un facteur de régulation chez les ruminants et ne sera donc pas abordée par la suite. Elle comprend le cuivre issu de la desquamation des cellules et le cuivre éliminé par voie biliaire. La sécrétion biliaire de cuivre a pour objectif de limiter le stockage hépatique lors d'apport en cuivre très élevé (SUTTLE 2010). Elle participe pour 8 à 10% à l'élimination de cuivre capté par le foie (AUZA 1983). L'excrétion urinaire est faible, stable et non affectée par les apports en cuivre (AUZA 1983, SUTTLE 2010).

3.1.2. Intérêt du dosage de la cuprémie plasmatique

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour évaluer le statut en cuivre. Elles peuvent être regroupées en méthodes directes et indirectes. Les dosages du cuivre dans le foie et du cuivre plasmatique constituent des méthodes d'évaluation directe. Parmi les méthodes indirectes, on trouve le dosage de la superoxyde dismutase, de la céruléoplasmine, le dosage du cuivre sous l'action de l'acide trichloracétique (TCA) ainsi que le ratio céruléoplasmine / cuivre plasmatique.

Le choix du cuivre plasmatique a été fait en raison du caractère peu invasif du prélèvement (par rapport à une biopsie hépatique) et des possibles comparaisons avec les valeurs de cuivre plasmatique précédemment dosées par le laboratoire. La céruléoplasmine et la superoxyde dismutase présentent une bonne corrélation avec le cuivre sérique mais le coût de leurs dosages est plus élevé (BRULLE 2008). L'intérêt des deux dernières méthodes d'évaluation est assez controversé.

Comme il a été vu précédemment, le foie joue le rôle de régulateur de l'homéostasie. Une fois ses réserves épuisées, on observe une baisse des teneurs en cuivre dans le compartiment sanguin (BRULLE 2008). On peut donc en déduire que le cuivre plasmatique est un indicateur

de carence marginale dans le sens où sa diminution traduit un dysfonctionnement de l'organisme, indicateur d'un état de carence (BRULLE 2008). Il n'est ainsi pas le reflet des apports récents mais plutôt des apports sur le long terme.

3.1.3. Facteurs de variation de la cuprémie

3.1.3.1. *Variations de l'absorption de cuivre*

Les sites d'absorption les plus importants sont le duodénum et l'iléon (MESCHY 2010). L'absorption de cuivre y est régie par deux protéines de transports présentes dans la muqueuse de l'intestin : une protéine spécifique Ctr1 (copper-transporting protein) et une protéine non spécifique DMT (divalent metal transport) dont la forme est régulée principalement par le besoin (SUTTLE 2010). Puis le cuivre est pris en charge par une protéine la métallothionéine. Après absorption, le cuivre est capté par le foie ou les reins où il est incorporé dans la céruléoplasmine et la métallothionéine. A partir de la céruléoplasmine, il est relargué dans la circulation et transporté aux cellules (SLAVIK et al 2006).

La forme chimique du cuivre dans l'aliment peut faire varier l'absorption, les oxydes étant moins disponibles que le sulfate et le carbonate (AUZA 1983, MESCHY 2010).

Chez les jeunes ruminants, le coefficient d'absorption du cuivre est de 0,70 à 0,85 alors que chez l'adulte sevré, il est de moins de 0,10 (SUTTLE 2010).

Enfin, l'absorption de cuivre peut être inhibée par la présence d'autres minéraux.

Dans le rumen, le molybdène se combine avec le soufre réduit pour former du thiomolybdate qui se lie au cuivre et diminue son absorption (CHAPPUIS 1991, KINCAID 2000, ROLLIN 2002). De plus, les thiomolybdates sont en partie absorbés dans le sang et se lient au cuivre endogène le rendant inutilisable (CHAPPUIS 1991, KINCAID 2000). Ils empêchent également la fixation

hépatique de cuivre (CHAPPUIS 1991). Présent dans le plasma, le molybdène augmente l'excrétion urinaire de cuivre même si les complexes cuivre-molybdène s'accumulent dans les reins (KINCAID 2000).

Un apport de zinc en grande quantité réduit la concentration plasmatique et hépatique de cuivre (KINCAID 2000). Le zinc interfère avec l'absorption intestinale de cuivre en provoquant une synthèse supérieure de métallothionéine dans l'entérocyte. Celle-ci se lie au cuivre le rendant ainsi indisponible (CHAPPUIS 1991).

Enfin, le calcium et le fer interagissent avec l'absorption du cuivre. Le calcium diminue la rétention de cuivre chez les ruminants. Celle-ci devient négative si la concentration de calcium dans la ration est supérieure à 8 g/kg. De même, le fer en trop grande quantité dans la ration provoque à la fois une diminution des réserves hépatiques et une diminution de l'activité des enzymes cuprodépendantes (CHAPPUIS 1991).

3.1.3.2. Variations de la cuprémie selon l'état des réserves hépatiques

La cuprémie est le résultat des apports alimentaires de cuivre mais aussi de l'état des réserves hépatiques (figure 7). Ce phénomène est pour le cuivre le principal facteur de régulation de l'homéostasie.

Pour maintenir une cuprémie normale pendant plusieurs semaines voire mois en cas d'insuffisance des apports, une libération des stocks de cuivre par le foie se produit. Ainsi une cuprémie basse est un indicateur d'apports alimentaires insuffisant et/ou d'épuisement des réserves hépatiques. La cuprémie commence à diminuer quand la concentration hépatique en cuivre est inférieure à 35 (ROLLIN 2008) ou 40 mg/kg (KINCAID 2000).

Ainsi, certains auteurs ont montré qu'il existait une corrélation ($r=0,57$, $P < 0,01$) entre la concentration hépatique et plasmatique en cuivre quand la concentration hépatique de cuivre est inférieure à 33 mg/kg. D'autres suggèrent qu'une cuprémie inférieure ou égale à 50 µg/dl (8 µmol/L) indique un niveau de stockage hépatique faible (KINCAID 2000).



Figure 7: Relation entre l'apport de cuivre et le stockage hépatique chez des veaux (SUTTLE 2010)

3.1.3.3. Variations individuelles de la cuprémie

Des facteurs de variations individuelles de la cuprémie plasmatique ont été mis en évidence :

- L'âge : les nouveau-nés ont une cuprémie 50% plus basse que celle des adultes. Elle augmente ensuite durant la première semaine de vie (BRULLE 2008). De plus, des bovins de moins de 4 ans ont une cuprémie plus basse que des adultes (SMART et al 1992).

- Le statut physiologique : durant l'œstrus, la cuprémie est significativement plus élevée, de façon plus importante chez les primipares par rapport aux multipares (BRULLE 2008, KINCAID 2000). De plus, la cuprémie baisse significativement le jour du vêlage (BRULLE 2008) mais atteint sa valeur la plus basse cinq semaines avant la mise bas (KINCAID 2000).

- L'état sanitaire : lors de stress, d'inflammation ou de toute stimulation du système immunitaire, la synthèse de céruléoplasmine augmente puisqu'il s'agit d'une protéine de la phase aiguë de l'inflammation. Or 70-90% du cuivre sanguin est contenu dans cette enzyme (BRULLE 2008), on peut donc observer une augmentation de la cuprémie lors de phénomène

inflammatoire. Il est ainsi nécessaire de mettre un résultat de cuprémie en parallèle de résultat d'haptoglobine ou de zinc plasmatique. On ne prendra alors pas en compte pour l'établissement de valeurs de référence des valeurs de cuprémie plasmatique supérieure à 18 $\mu\text{mol/L}$ (ENJALBERT et al 2006).

- La génétique : des différences significatives concernant le métabolisme du cuivre ont été montrées entre certaines races d'ovins (KINCAID 2000). De même, des veaux sevrés et des génisses de race Simmental ont une cuprémie plus basse que des veaux sevrés et des génisses de race Angus et Hereford (SMART et al 1992). On peut supposer qu'il existe de même des différences entre d'autres races de bovins.

- La saison : des valeurs plus basses de cuprémie ont été rapportées en février et mars alors que les plus hautes valeurs seraient au mois d'août et septembre. Ces fluctuations peuvent avoir un lien avec l'apport alimentaire à ces différentes périodes sans que la concentration hépatique de cuivre ne varie (SMART et al 1992).

3.1.3.4. Variations selon la matrice utilisée

La teneur en cuivre est supérieure de 10 à 20% dans le plasma par rapport au sérum. La perte d'une partie de la céruléoplasmine dans le caillot est responsable de cette variation. Cependant, certains auteurs ont montré que la proportion de céruléoplasmine perdue dans le caillot pouvait être très variable et comprise entre 8 et 59 %. L'utilisation de sérum pour doser la cuprémie est donc déconseillée (BRULLE 2008, DORÉ et al 2007, ROUSSEAU 2004).

3.1.4. Valeurs de référence et seuil de cuprémie dans la bibliographie

Résultat produit	Source	Animaux testés	Matrice	Statut adéquat	
				en µg/dL	en µmol/L
Intervalle de référence	DORÉ et al 2007	Vaches allaitantes	Plasma	95,0 – 126,6	15,0 – 20,0
	KINCAID 2000	Bovins adultes	Plasma	69,6 – 113,9	11,0 – 18,0
	SMART et al 1992	Bovins adultes	Plasma	73,4 – 119,6	12,6 – 18,9
	HERDT 2011	Bovins adultes et veaux en croissance	Sérum	60 - 110	9,6 – 17,6
	ROLLIN 2002	Bovins	Plasma	88,6 – 113,9	14,0 – 18,0
Seuil décisionnel	DORÉ et al 2007	Vaches allaitantes	Plasma	> 82,3	> 13,0
	WHITAKER 2004	Bovins	NC*	> 59,5	> 9,3
	SUTTLE 2010	Bovins adultes	Plasma	> 19,0 – 57,0	> 3,0 – 9,0

* NC : non communiqué

Tableau 4 : Analyse bibliographique des valeurs de référence et/ou valeurs seuil de la cuprémie chez les bovins

3.2. Évaluation du statut en zinc par le dosage du zinc plasmatique

Le zinc est un oligo élément nécessaire à plus de 300 enzymes et un nombre très important de protéines fonctionnelles (SUTTLE 2010). Parmi les fonctions remplies par ces molécules, on peut citer notamment l'expression des gènes, le contrôle de l'appétit, l'absorption des lipides et la défense antioxydante.

3.2.1. Métabolisme du zinc

Comme pour le cuivre, aucun système hormonal ne permet la régulation de la zincémie dans l'organisme. Ainsi, celle-ci est régulée par trois paramètres d'importance différente. C'est l'absorption qui est le facteur déterminant de la régulation de la zincémie. Nous aborderons les facteurs de variation de l'absorption dans les paragraphes suivants.

Il existe tout de même un certain stockage de zinc sans localisation spécifique. Dans l'organisme, on retrouve du zinc dans les os, le système nerveux central, les érythrocytes, les muscles, le pancréas, les reins et la rate (SLAVIK 2006). Mais la capacité de l'organisme à stocker le zinc sous une forme qui peut être mobilisée rapidement en cas de déficience est assez limitée. Ainsi le stockage de zinc est très faible et s'épuise en 24 heures après un passage à une ration déficitaire en zinc (MC DOWELL 1992). Selon KINCAID (2000), un régime alimentaire contenant moins de 1,2 mg/kg de Zn (apport recommandé entre 50 et 60 mg/kg de MS selon MESCHY 2010) provoque une chute de la zincémie plasmatique en 36 heures. Pour d'autres, une baisse de zincémie est observée en 10 à 15 jours après une diminution des apports (BRULLE 2008, SUTTLE 2010). La métallothionéine est la forme majeure de stockage de zinc dans le foie et est mobilisée en cas de besoin. Cependant, la concentration de zinc dans le foie est variable selon l'âge de l'animal. En effet, les veaux augmentent facilement leur absorption et la teneur en zinc sous forme de métallothionéine dans le foie en réponse à une augmentation des apports de zinc (KINCAID 2000). De même, une supplémentation de 600

mg/kg de zinc donnée à des veaux provoque une augmentation du taux de zinc hépatique de 600% mais n'affecte pas celui de vaches adultes (KINCAID 2000).

Enfin l'excrétion de zinc constitue un troisième paramètre de régulation même si cette régulation est minime. La voie majoritaire d'excrétion est la voie fécale. La fraction excrétée comprend le zinc inabsorbable et le zinc endogène (issu des sécrétions gastro-intestinale, pancréatique et biliaire). La régulation de l'excrétion fécale endogène de zinc est limitée (SUTTLE 2010) mais augmente avec les apports (MC DOWELL 1992). Cependant, cette variation de l'excrétion de zinc endogène est influencée par les besoins de l'animal en lien avec l'absorption de celui-ci. Seulement une faible partie du zinc est excrétée par voie urinaire et celle-ci n'est pas régulée (MC DOWELL 1992, SUTTLE 2010).

3.2.2. Intérêt du dosage de la zincémie plasmatique

De même que pour le cuivre, il existe plusieurs méthodes pour évaluer le statut en zinc. Le zinc plasmatique représente le pool de transport qui est en équilibre avec les autres tissus. Ainsi une valeur basse de zinc plasmatique est le reflet précoce d'apport déficient.

Les autres méthodes permettant l'évaluation du statut en zinc sont : le dosage dans le foie, les os et d'autres tissus et le dosage des enzymes à zinc ou des métallothionéines.

Le choix du dosage de la zincémie a été fait en raison du caractère peu invasif du prélèvement par rapport à la biopsie de foie ou d'os. Les dosages d'enzyme à zinc ou de métallothionéines ont été écartés en raison des coûts et de la disponibilité de ces analyses.

3.2.3. Facteurs de variation

3.2.3.1. *Variations de l'absorption*

Le zinc est absorbé de la lumière intestinale en fonction du besoin par un processus actif saturable, dans des conditions d'apports normaux. L'absorption a principalement lieu

dans le duodénum. L'absorption de zinc est réalisée par deux mécanismes : un transport actif saturable et une diffusion passive qui prédomine lorsque les apports deviennent plus importants (MESCHY 2010, SUTTLE 2010).

L'efficacité de l'absorption de zinc est sensible aux apports alimentaires. Elle peut varier de 10 % si l'alimentation contient une forte teneur en zinc, à 75% (SUTTLE 2010) voire 80% (MESCHY 2010) en cas de carence. Dans les conditions normales d'alimentation, un taux moyen de 15% chez les bovins adultes peut être retenu (MESCHY 2010). L'inhibition de l'absorption de zinc lorsque les apports sont plus importants ou au contraire l'augmentation de l'absorption lors d'une diminution des apports a lieu en une semaine (SUTTLE 2010). Lors d'apport excessif, l'absorption est réduite et une partie de la quantité absorbée est séquestrée dans l'épithélium intestinal sous forme de complexe avec une protéine, la métallothionéine (HERDT et al 2011). Celle-ci soustrait ainsi le zinc au pool fonctionnel et semble être alors un élément clé de l'homéostasie (HERDT 2011, LAGER et al 2012).

Les glucocorticoïdes et les cytokines diminuent la zincémie en augmentant la captation de zinc par le foie par augmentation de la synthèse de métallothionéine (SUTTLE 2010).

Certains minéraux ont une influence sur l'absorption de zinc. L'effet négatif d'un apport élevé de calcium sur l'absorption de zinc décrit chez les monogastriques n'a pas été clairement confirmé chez les ruminants. Le fer peut quant à lui gêner l'absorption de zinc puisqu'ils utilisent le même site d'absorption. Le cuivre pour les mêmes raisons peut entrer en compétition avec le zinc. Il peut également saturer la métallothionéine de la cellule intestinale (CHAPPUIS 1991). L'excès de soufre peut diminuer l'utilisation digestive du zinc (MESCHY 2010). Enfin, l'absorption est également réduite par la présence d'oxalates, de tannins et un niveau trop important de cadmium (CHAPPUIS 1991).

3.2.3.2. *Facteurs de variation individuels*

La concentration plasmatique de zinc, globalement comprise entre 12 et 20 $\mu\text{mol/L}$ (soit 80 à 133 $\mu\text{g/L}$) peut varier selon certains paramètres liés directement à l'animal :

- l'âge : la zincémie plasmatique est très élevée chez les nouveaux nés (230 µg/dl ou 36,8 µmol/L) puis diminue à 120 µg/dl (19,2 µmol/L) et jusqu'à 12 semaines d'âge (BRULLE 2008, KINCAID 2000). Elle augmente ensuite chez les sujets âgés.

- le stade physiologique : la teneur en zinc plasmatique diminue sensiblement autour de la mise-bas et de façon plus prononcée chez les génisses (BRULLE 2008) et lors de vêlage dystocique (BRULLE 2008, SUTTLE 2010). En effet, 18 à 24 heures après un vêlage non dystocique, la zincémie est comprise entre 0,45 et 0,91 mg/L. Lors de mise-bas dystocique, la zincémie se situe entre 0,24 et 0,52 mg/L (SUTTLE 2010). Cette baisse est maintenue pendant environ deux mois après la mise-bas. Il semblerait que celle-ci soit due au stress oxydatif du vêlage et du début de lactation et à l'exportation de zinc dans le lait et le colostrum (BRULLE 2008).

- l'état sanitaire : lors d'état inflammatoire ou de stress, la zincémie diminue sensiblement (BRULLE 2008, ENJALBERT 2006, HERDT et al 2011, SUTTLE 2010) puis retourne à des valeurs normales quelques jours après (KINCAID 2000). Cette diminution serait due à une augmentation de la captation de zinc par le foie en cas d'inflammation (HERDT et al 2011). La zincémie sérique est aussi diminuée par une hyperthermie, une cétose, et augmentée en cas de mammite (KINCAID 2000). Ainsi, on ne prendra pas en compte des valeurs plasmatiques de zinc inférieure à 10 µmol/L (ENJALBERT et al 2006). De plus, en cas d'hypoalbuminémie, la zincémie est diminuée puisque les deux tiers du zinc plasmatique sont liés à l'albumine (HERDT 2011). Il est ainsi nécessaire de mettre un résultat de zincémie en parallèle de résultat d'haptoglobine ou de cuivre plasmatique.

3.2.3.3. *Facteurs de variation pré-analytique et analytique*

Il n'existe que peu de différence entre la valeur de zincémie sérique et plasmatique car le fibrinogène ne contient presque pas de zinc (BRULLE 2008).

La qualité du prélèvement est un facteur de variation important puisqu'un prélèvement hémolysé montrera une augmentation artéfactuelle de la zincémie plasmatique. En effet, les érythrocytes contiennent la grande majorité (80-90%) du zinc contenu dans la circulation sanguine (SUTTLE 2010). Les contaminations sont également possibles lors du prélèvement lorsque le bouchon des tubes est en caoutchouc. En effet, cette matière peut contenir beaucoup de zinc (BRULLE 20008, HERDT et al 2011).

Enfin, si le sérum est laissé en contact avec le caillot trop longtemps, le zinc peut s'échapper des érythrocytes et ainsi faire augmenter la zincémie. La séparation du culot doit donc être faite entre 4 et 6 heures après le prélèvement au maximum (HERDT et al 2011).

3.2.4. Valeurs de référence et seuil dans la bibliographie

Résultat produit	Source	Animaux testés	Matrice	Statut adéquat	
				en µg/dL	en µmol/L
Intervalle de référence	DORÉ et al 2007	Vaches allaitantes	Plasma	96,7 – 136,7	14,5 – 20,5
	KINCAID 2000	Bovins adultes	Plasma	80,0 – 140,0	12,0 – 21,0
	ROLLIN 2002	Bovins adultes	Plasma	100,0 – 120,0	15,0 – 18,0
	HERDT et al 2011	Bovins adultes et veaux en croissance	Sérum	60,0 – 190,0	9,0 – 30,4
Seuil décisionnel	DORÉ et al 2007	Vaches allaitantes	Plasma	> 83,4	> 12,5
	SUTTLE 2010	Bovins adultes	Plasma	40 - 60	6,0 – 9,0
	ENJALBERT et al 2006	Bovins laitiers et allaitants	Plasma	> 73,4	> 11

Tableau 5 : Analyse bibliographique des valeurs de référence de la zincémie chez les bovins

3.3. Évaluation du statut en sélénium par le dosage de la glutathion peroxydase érythrocytaire (GSH-Pxe)

Toutes les fonctions physiologiques du sélénium n'ont pas encore été établies de façon précise. Chez les mammifères, le sélénium est un composant essentiel d'au moins 15 enzymes (HERDT et al 2011, SUTTLE 2010). Parmi celles-ci, on retrouve 5 glutathion peroxydases (GSH-PX) qui ont un rôle prépondérant dans la protection des cellules face au stress oxydatif. Trois autres sélénoprotéines sont des désiodases ayant pour fonction la conversion de thyroxine (T4) et triiodothyronine (T3) (SUTTLE 2010).

3.3.1. Métabolisme du sélénium

Dans le cas de la séléniémie, c'est l'excrétion fécale, urinaire et mammaire qui permet l'homéostasie. Aucune régulation de l'absorption ni du stockage n'a été identifiée ni supposée à ce jour (HERDT et al 2011).

3.3.1.1. *Absorption de sélénium*

L'absorption du sélénium a lieu dans le duodénum, le cæcum n'est qu'une zone d'absorption secondaire (GUYOT 2008). Le taux d'absorption est d'environ 35% (compris entre 10 et 50%) (ENJALBERT et al 2006, GUYOT 2008, SUTTLE 2010). Cette plage d'absorption a pour origine la réduction de sels inorganiques oxygénés en séléniures moins disponibles et l'incorporation de sélénium aux corps bactériens (MESCHY 2010).

Le mode d'absorption varie selon la forme du sélénium. En effet, le sélénite de sodium et la sélélocystine subissent une diffusion passive tandis que la sélénométhionine et le sélélate sont absorbés de façon active (HERDT 2000, SUTTLE 2010). Le transport actif de sélénium est effectué grâce à une pompe à sodium.

L'absorption est influencée par différents éléments s'ils sont présents dans le tube digestif. Le soufre, le plomb, l'arsenic diminuent fortement l'absorption de sélénium tandis que la vitamine C la favorise. Pour le calcium, il existe un taux optimum de calcium dans les aliments (8%) qui permet une absorption optimale de sélénium (MACRAE 2006, DUCREUX 2003).

3.3.1.2. Transport et stockage du sélénium

Une fois absorbé au niveau de l'intestin, le sélénium est rapidement capté par le foie et les globules rouges. Le sélénium est ensuite distribué vers les tissus cible : le foie, les reins, le pancréas, les parois stomacale et intestinale sous forme organique, les muscles, les os, la rate et les poumons. Le stockage a lieu dans le foie et les reins et dans une moindre mesure dans la rate et le pancréas sous forme de sélénométhionine. Le sélénium est aussi stocké dans les globules rouges et incorporé dans la globine (DUCREUX 2003). L'homéostasie est ainsi assurée par les réserves hépatique et rénale.

3.3.1.3. Excrétion de sélénium

L'excrétion de sélénium peut se faire par plusieurs voies différentes : urinaire, fécale, respiratoire, colostrale et lactée. Elle est principalement fécale puis urinaire lorsque le sélénium est administré par voie orale contrairement à la voie parentérale où l'inverse se produit (DUCREUX 2003).

3.3.2. Relation entre la GSH-Pxe et le sélénium

La glutathion peroxydase est une métallo-enzyme ubiquiste. Elle est constituée de 4 sous unités polypeptidiques comprenant chacune un atome de sélénium sous forme de

sélocystéine. Son rôle consiste à détoxifier des peroxydes et catalyser la réduction du peroxyde d'hydrogène ce qui permet de maintenir l'intégrité des membranes. Chez les bovins adultes, l'activité de la GSH-Px se trouve à 98% dans les érythrocytes (90% chez les veaux avant sevrage) (DUCREUX 2003, GUYOT 2008).

De nombreuses études ont montré qu'il existe une corrélation positive étroite entre la teneur sanguine en sélénium et l'activité de la GSH-Pxe (tableau 6). Cependant pour des séléniémies très basses (autour de 10 µg/L), cette relation devient imprécise (DUCREUX 2003). Les variations importantes des coefficients directeurs des équations peuvent être expliquées par la différence des unités d'expression : en µg/ml pour ANDERSON et al (1978) et SHOLT et al (1979) et en µg/L pour les autres.

Matrice	N ^a	Equation de régression	Corrél.	Val. testées ^d (µg/L)	Source
Sang total	99	GSH-Px ^c = 35,2 x Se ^b - 4,32	0,83	5 - 66	CHAUVAUX et al 1977
Erythrocytes	94	GSH-Pxe = 6,69 x Se - 2,08	NC ^e	13 - 192	WILSON et al 1976
	191	GSH-Pxe = 297 x Se - 7,26	NC	NC	ANDERSON et al 1978
	146	GSH-Pxe = 261 x Se - 0,55	0,96	20 - 32	SHOLT et al 1979
	668	GSH-Pxe = 11,9 x Se - 190	0,98	20 - 250	CARLSTROM et al 1979
	112	GSH-Pxe = 2,88 x Se + 0,6	0,69	5 - 103	ENJALBERT et al 2006

^a : Nombre d'animaux utilisés dans l'étude ; ^b : Valeur de séléniémie en µg/L de sérum

^c : Valeur de la GSH-Pxe en Unités/g d'hémoglobine ; ^d : Valeurs de séléniémie testées ; ^e : Non communiqué

Tableau 6 : Analyse bibliographique de la relation GSH-Pxe et séléniémie chez les bovins

Dans les érythrocytes, la forme principale de sélénium est comprise dans la GSH-Px, qui est formée au moment de la différenciation des érythrocytes. Ainsi, l'activité de la GSH-Px correspond aux apports perçus au moment de la formation des érythrocytes. Ceux-ci ont une demi vie d'environ 120 à 150 jours (BRULLE 2008, ENJALBERT et al 2006, MUSNIER 2007).

La GSH-Pxe est un marqueur fonctionnel du statut en sélénium. Il sera affecté en cas d'apport insuffisant après une période correspondant plus ou moins à la durée de vie d'un érythrocyte.

A l'inverse, le sélénium sérique (ou plasmatique) est un bon indicateur des apports alimentaires récents. Après une supplémentation, on constatera une augmentation de la séléniémie en 2 à 6 jours (BRULLE 2008).

3.3.3. Facteurs de variation du taux de GSH-Pxe

3.3.3.1. *Variations liées à l'alimentation*

La supplémentation des ruminants avec du sélénium organique augmente la concentration du sélénium dans le sang et les tissus et augmente l'activité de la GSH-Pxe par rapport au sélénium inorganique (GUYOT 2008).

Cependant, il faut compter un délai d'au moins 4-5 semaines entre le début de la supplémentation en sélénium et la détection d'une modification de l'activité de la GSH-Pxe (ROLLIN 2002). En effet, comme vu précédemment, après modification des apports alimentaires en sélénium, la valeur de la GSH-Pxe ne peut changer plus vite que le taux de renouvellement des érythrocytes. Des résultats normaux peuvent masquer une carence débutante en sélénium. Il est déconseillé d'utiliser la GSH-Pxe pour vérifier l'efficacité d'une supplémentation.

De plus, une supplémentation en iode peut avoir un effet sur le métabolisme du sélénium. En effet, la séléniémie et l'activité de la GSH-Pxe étaient réduites chez des chevreux recevant environ 350 µg d'iode par jour, en comparaison avec des chevreux ne recevant que 140 µg d'iode par jour. La concentration en sélénium dans la ration était identique dans les deux lots. Ainsi, la concentration ou la quantité d'iode fournie ont eu un certain effet négatif sur l'absorption ou le métabolisme du sélénium sans qu'aucune hypothèse explicative n'ai pu être émise par les auteurs (PAVLATA et al 2005).

3.3.3.2. *Variations individuelles*

Comme pour les autres oligo-éléments, il existe des facteurs de variations pré analytiques individuels :

- l'âge : les nouveaux nés sont généralement anémiés et un taux d'hémoglobine bas peut masquer une valeur de la GSH-Pxe basse. Le niveau d'hémoglobine adulte est atteint à l'âge de 3 mois. A partir de là, la valeur de la GSH-Pxe peut être interprétée classiquement, en dehors de tout processus pathologique (BRULLE 2008).

- le statut physiologique : Autour de la mise bas, les besoins en sélénium sont plus importants et les valeurs de référence doivent être adaptées (BRULLE 2008). En effet, à partir de la mi-gestation, le sélénium est prioritairement dirigé vers le fœtus.

- l'état sanitaire : de par son rôle, lors de pression oxydative, une variation de la GSH-Pxe peut être observée. Une augmentation de sa valeur est induite par une pression oxydative forte chez un animal sain alors que sa valeur reste basse lorsque l'animal est carencé (AUZA 1983, BEGUIN 2006). Une anémie peut masquer une GSH Pxe basse. En effet, si le taux d'hémoglobine est anormalement bas, la valeur de la GSH-Pxe ne peut être interprétée. Il est intéressant d'exprimer la GSH-Pxe en unités par gramme d'hémoglobine plutôt que par litre de sang.

3.3.3.3. *Variation analytique*

Le prélèvement pour dosage de la GSH-Pxe doit être analysé dans les plus brefs délais car l'enzyme n'est pas stable. Son activité est tout de même constante pendant 7 jours à 4°C (BRULLE 2008, GUYOT 2008).

Le dosage de la GSH-Pxe n'est pas standardisé et les variations des valeurs entre laboratoires sont grandes (GUYOT 2008).

3.3.1. Valeurs de référence et seuil de GSH-Pxe dans la bibliographie

Résultat produit	Source	Animaux testés	Statut adéquat en Unité/g Hb
Intervalle de référence	DORÉ et al 2007	Vaches allaitantes	150 - 600
	OUWELTJES et al 2007	Vaches laitières en lactation	120 - 600
	ENJALBERT et al 2006	Bovins adultes	150 - 600
Seuil décisionnel	DORÉ et al 2007	Vaches allaitantes	> 150
	WHITAKER 2004	Bovins adultes	> 50
	ROLLIN 2002	Bovins adultes	> 250
	ENJALBERT et al 2006	Bovins adultes	> 150

Tableau 7 : Analyse bibliographique des valeurs de référence et/ou valeurs seuil de la GSH-Pxe chez les bovins

3.4. Évaluation du statut en iode par le dosage de la thyroxine (T₄)

Le seul rôle connu de l'iode est de constituer un élément essentiel dans la composition des hormones secrétées par la glande thyroïde : la thyroxine (T₄) et la triiodothyronine (T₃). Celles-ci jouent un rôle dans le métabolisme cellulaire et les processus de croissance et développement des organes.

3.4.1. Métabolisme de l'iode

3.4.1.1. *Absorption et excrétion*

L'absorption d'iode alimentaire, majoritairement sous forme d'iodures, est très efficace et de l'ordre de 80-90% (MESCHY 2010). Le rumen et le feuillet se partagent inégalement l'absorption, respectivement 90 et 10%. Il existe également une absorption transdermique qui peut avoir une importance lors de l'utilisation de produits iodés (trempage des trayons).

Les substances goitrogènes ou précurseurs de goitrogènes peuvent influencer l'absorption et ou l'utilisation de l'iode par l'animal (GUYOT et al 2007a, MESCHY 2010, SUTTLE 2010). On retrouve ces substances dans différents aliments : les brassicacées (navets, moutardes) les graines de lin, le trèfle blanc ...

D'autres facteurs peuvent influencer l'absorption de l'iode. 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 et des perchlorates (GUYOT 2008). Enfin la carence en sélénium, perturbe la transformation de T₄ en T₃.

L'iode est ensuite capté par la glande thyroïde pour être intégré dans les hormones thyroïdiennes. La thyroxine est ensuite stockée sous forme de thyroglobuline.

L'élimination de l'iode se fait majoritairement par voie urinaire. Deux autres voies d'excrétion sont possibles : la voie fécale et l'excrétion dans le lait. En effet, il existe une relation linéaire entre les apports d'iode et la concentration dans le lait.

3.4.1.2. Régulation

Le taux de captation de l'iode par la glande thyroïde varie selon les besoins et dépend du taux circulant de deux hormones, la thyrotropin-releasing hormone (TRH) et la thyroid-stimulating hormone (TSH). La TRH produite par l'hypothalamus stimule la sécrétion de TSH par l'hypophyse qui stimule la sécrétion d'hormones thyroïdiennes. De plus, les hormones thyroïdiennes participent au contrôle de la sécrétion de TSH par un mécanisme de rétrocontrôle négatif sur l'hypophyse.

Il ne semble pas y avoir d'homéostasie rénale (MESCHY 2010).

En cas de carence en iode, deux mécanismes de régulation entrent en jeu transitoirement. Le taux de capture de l'iode par la thyroïde est augmenté par stimulation des transporteurs. De plus, le rendement de la synthèse hormonale par atome d'iode est optimisé (MESCHY 2010).

3.4.2. Lien entre l'iode et la T₄

L'iode capturé par la thyroïde est oxydé et combiné aux résidus tyrosine de la thyroglobuline pour former de la diiodotyrosine et de la monoiodotyrosine. Une enzyme, la thyroperoxydase permet le couplage des iodotyrosines en T3 et T4. La T4 est la forme physiologiquement inactive de l'hormone à l'inverse de la T3. La grande majorité de cette dernière est formée par déiodination de la T4 grâce à l'action de 3 enzymes sélénodépendantes.

Afin de déterminer le statut en iode à partir d'un prélèvement de sang, plusieurs dosages sont possibles. Il est possible de regrouper ces dosages en deux groupes : les marqueurs nutritionnels et les marqueurs fonctionnels.

Les marqueurs nutritionnels reflètent la présence d'iode en relation avec la quantité d'iode dans la ration. On retrouve ainsi parmi eux, l'iode total (IT) qui est un indicateur à la fois de l'iode inorganique et de l'iode lié aux hormones. Il est alors difficile d'interpréter la part de chacun dans le résultat. L'iode inorganique plasmatique (IIP) quant à lui est le reflet des apports d'iode à court terme. En effet, une augmentation des apports implique une augmentation de l'IIP en quelques heures alors qu'une diminution des apports conduit à une diminution de l'IIP en quelques jours (BRULLE 2008, GUYOT et al 2007a). Ces deux paramètres sont donc plus indiqués que les marqueurs fonctionnels dans le contrôle d'une supplémentation car leur variation est rapide.

Les marqueurs fonctionnels représentent la fonction majeure de l'iode dans l'organisme c'est-à-dire la synthèse d'hormones thyroïdiennes. Il est possible de doser la TSH mais ce dosage ne se fait pas en routine chez les bovins à ce jour. La T4 et la T3 sont les deux indicateurs les plus fréquemment dosés. Une diminution des taux sanguins de T4 et T3 est le reflet d'une insuffisance thyroïdienne à long terme mais est peu spécifique de la nutrition iodée. En effet, plusieurs auteurs ont noté un manque de corrélation entre les hormones thyroïdiennes et le taux d'iode dans le sang, l'urine ou le lait (GUYOT et al 2007a). Seule une carence sévère et prolongée peut donc modifier la concentration circulante d'hormones thyroïdiennes. Néanmoins, une valeur de T4 inférieure à 20 nmol/L est considérée par certains comme un bon indicateur d'apport insuffisant d'iode à long terme (GUYOT et al 2007a).

3.4.3. Facteurs de variation de la T₄

Il existe plusieurs facteurs de variation de la T₄ :

- l'âge : chez le nouveau-né, les hormones thyroïdiennes augmentent fortement dans les heures qui suivent le vêlage et leur concentration diminue jusqu'à 5 -10 jours après la naissance (GUYOT et al 2007a, SUTTLE 2010). Les taux hormonaux sont plus élevés chez les nullipares que chez les primipares (ARNAUDIES 2009, GUYOT et al 2007a).

- le statut physiologique : autour du vêlage les hormones thyroïdiennes chutent pour revenir à des valeurs normales en 5 jours (ARNAUDIES 2009). En fin de gestation, l'incorporation d'iode dans les hormones thyroïdiennes est de 1,5 mg/jour alors qu'en lactation il est de 4 à 4,5 mg/jour (GUYOT et al 2007a). Durant la lactation, les taux de T₄ baissent en début (en raison d'un bilan énergétique négatif) puis augmentent vers le milieu et chutent en fin de lactation (GUYOT et al 2007a, SUTTLE 2010).

- la saison : ce paramètre serait également un facteur de variation puisque les besoins en hormone thyroïdienne seraient accrus lorsque les températures diminuent fortement (GUYOT et al 2007a, SUTTLE 2010). En effet, la régulation de la température corporelle des animaux lorsque les températures sont basses est permise par une activité plus importante de la glande thyroïde (ARNAUDIES 2009). Cependant, certains considèrent que la variation saisonnière du taux d'hormones thyroïdiennes serait plus due au stade de lactation qu'à la saison (GUYOT et al 2007a).

- le rythme circadien : on note une certaine oscillation journalière de la T₄. En effet, le nadir se situe au lever du soleil et le pic dans la soirée (ARNAUDIES 2009). Les deux extrêmes sont espacés de 12 heures (ARNAUDIES 2009, GUYOT et al 2007a).

- l'état sanitaire : une hypoprotéinémie peut entraîner une diminution de la valeur de la T4. En effet, la T4 est liée de façon covalente à des protéines de transport. Ces protéines sont la thyroxine binding globulin (TGB), l'albumine et le thyroxine binding prealbumin (TBP). La concentration en hormones thyroïdiennes est dépendante du taux de protéines de transport. Toutes causes d'hypoprotéinémie ou hypoalbuminémie peut donc cacher une valeur normale de T4. Parmi ces causes on retrouve une perfusion excessive, des pertes sanguines, des ulcères et une infestation parasitaire très élevée, une malnutrition chronique, une atteinte rénale, une salmonellose. De plus, lors de stress oxydatif ou d'inflammation, la valeur de la T4 est diminuée (BRULLE 2008, MUSNIER 2008).

3.4.4. Valeurs de référence et seuil de T4 dans la bibliographie

Résultat produit	Source	Type d'animaux	Statut adéquat En nmol/L
Intervalle de référence	KINCAID 2000	Bovins	25,7 – 128,7
	MESCHY 2010	Bovins	25,7 – 64,6
	TAKAHASHI et al 2001	Bovins adultes	64 – 116
	AKASHA et al 1987	Vaches laitières	62 – 80
	GUYOT et al 2007b	Vaches allaitantes	31 - 97
	NIXON et al 1988	Bovins adultes	46 - 120
	BRULLE 2008	Vaches laitières	20 - 65
Seuil	WHITAKER et al 1976	Bovins	> 25,7

Tableau 8 : Analyse bibliographique des valeurs de référence et/ou valeurs seuil de la T4 chez les bovins

3.5. Impact d'une carence

La relation entre la diminution des apports et les conséquences sur l'organisme suit un schéma général. Dans ce paragraphe, nous étudierons uniquement les conséquences des carences sur les formes d'oligo-éléments présents dans l'organisme et non les conséquences cliniques des apports.

Deux types de carences peuvent être distinguées. Les carences primaires sont la conséquence d'un manque d'élément dans la ration. A l'inverse, les carences secondaires sont consécutives à une interaction avec d'autres éléments. Pour l'une comme pour l'autre, les pools d'oligo-éléments diminuent successivement dans l'organisme : stockage, transport et fonctionnel (figure 8).

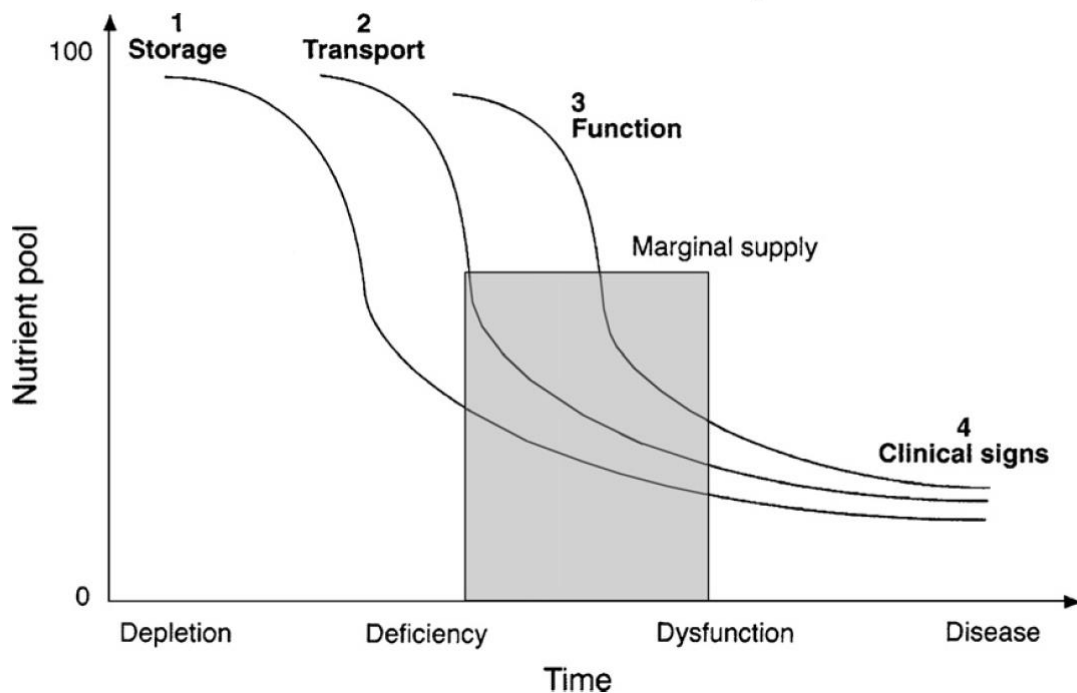


Figure 8 : Représentation chronologique des événements associés à un manque d'apport en oligo-éléments (SUTTLE 2010)

Cette approche indique que pendant des périodes de carence, les pools de stockage et de transport sont affectés en premier avant le développement d'une dysfonction ou d'une maladie avec présence de signe clinique. Dans le cas général, les dosages réalisés dans le sang représentent le statut en oligo-élément du pool transport ou du pool fonctionnel (HERDT 2011). Ainsi une diminution de celles-ci est un indicateur de déficience marginale ou de dysfonction.

Il existe cependant des variations à ce schéma général. En effet, le cuivre, le zinc et l'iode répondent bien à cet enchaînement à l'inverse du sélénium.

En effet, il n'y a pas de pool de stockage à proprement parler même si le sélénium érythrocytaire et hépatique peuvent être considérés comme des formes de stockage dans l'organisme. Les courbes transport et stockage sont inversées dans le sens où c'est le pool de transport qui diminue précocement puis les formes de stockage et enfin le pool fonctionnel que représente la GSH-Pxe.

4. FACTEURS DE VARIATION DES TENEURS SANGUINES

Les variations d'un résultat de laboratoire peuvent être divisées en deux parties, elles-mêmes subdivisées en plusieurs sous parties (figure 9).

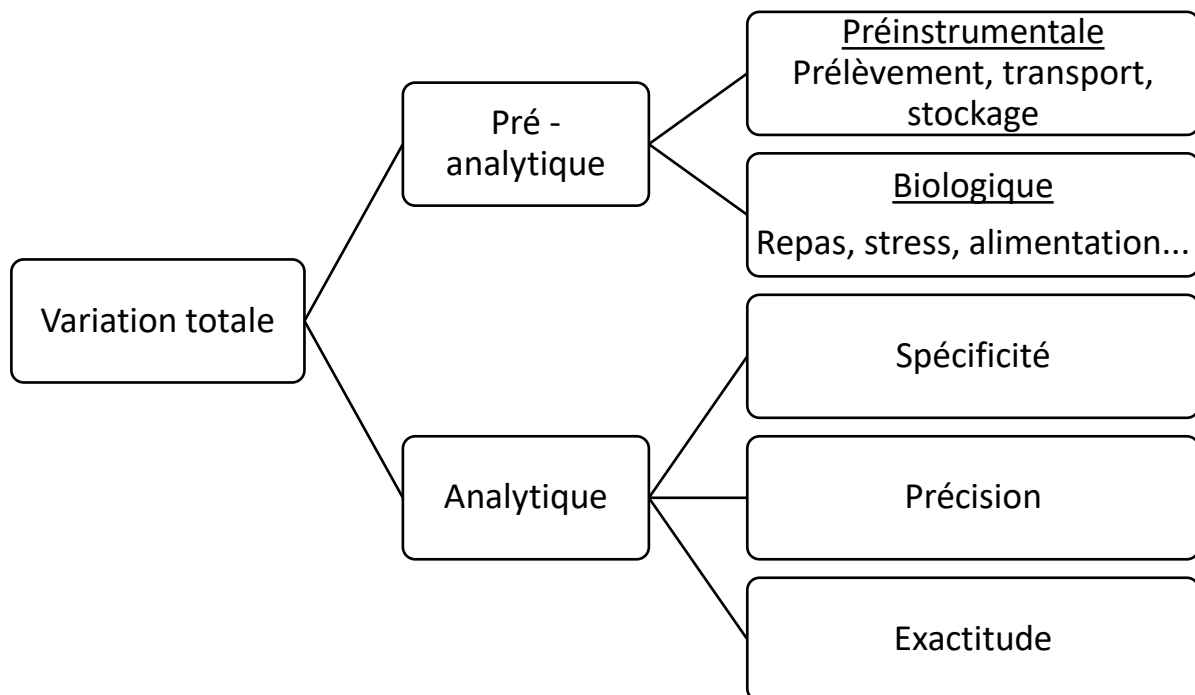


Figure 9 : Variation d'une mesure en dehors de toute perturbation pathologique (ACHARD 2005)

Dans les parties précédentes, les différents facteurs de variation des dosages sanguins des minéraux et oligo-éléments ont été détaillés élément par élément. Ces éléments de variations correspondent à la sous partie biologique de la partie pré-analytique. Ainsi, dans les paragraphes suivants, nous verrons donc uniquement les variations pré-analytiques pré-instrumentales et analytiques imputables à tout dosage.

4.1. Variations pré-analytiques liées au prélèvement sanguin

Plusieurs paramètres sont susceptibles d'influencer le résultat de l'analyse :

- La qualité du prélèvement entre en jeu notamment en cas d'hémolyse à laquelle la zincémie est sensible.

- Le choix du matériel de prélèvement. Il est toujours préférable d'utiliser le matériel fourni par le laboratoire. Il faut également respecter le trait de jauge pour les tubes contenant un anticoagulant pour que la dilution prévue soit adaptée.

- Le traitement de l'échantillon. La question de la stabilité de l'analyte est primordiale pour déterminer la durée et les conditions de stockage, de transport. La plupart des analytes dans le plasma ou le sérum sont stables à quelques heures à température ambiante et quelques jours à -4°C.

4.2. Variations analytiques

4.2.1. Spécificité

La spécificité de la technique d'analyse est sa capacité à mesurer un et un seul analyte dans un milieu complexe. Les principales causes d'interférence sont les médicaments, la couleur du plasma et la qualité de l'analyseur.

4.2.2. Précision

La précision et l'exactitude sont également deux facteurs à prendre en compte dans la performance d'un test de laboratoire.

La précision correspond à la capacité de l'analyseur à donner des valeurs identiques en réalisant plusieurs analyses avec le même échantillon. La dispersion des valeurs obtenues constitue l'imprécision. Une distribution gaussienne est souvent obtenue dont la largeur peut être caractérisée par son coefficient de variation. Celui-ci se situe entre 10 et 20 % selon le dosage réalisé. Ainsi, tout résultat a une marge d'incertitude qu'il est nécessaire de considérer.

4.2.3. Exactitude

L'exactitude analytique est définie comme l'écart existant entre la valeur obtenue par une technique définie sur un analyte particulier et la véritable valeur. Afin de la déterminer, il est nécessaire de comparer les valeurs obtenues avec la méthode de référence avec le dosage de molécules pures en quantité connue avec cette même méthode. Le contrôle qualité est un moyen de s'assurer de la qualité des analyses effectuées.

Ainsi dans une étude conduite en 2000 par l'association des Laboratoires Vétérinaires (VLA) aux Etats-Unis, il a été montré que l'importance des variations qui pouvaient exister entre les résultats d'analyse d'un même sérum canin par différents laboratoires était conséquente et ce, même avec des méthodes de dosage identiques (figure 10). Par exemple, la phosphatémie varie de 4,8 à 6,8 mg/dl (1,2 à 1,7 mmol/L) toute méthode confondue. L'étendue des valeurs obtenues avec la même méthode et le même analyseur est de 0,5 mg/dl (0,12 mmol/L).

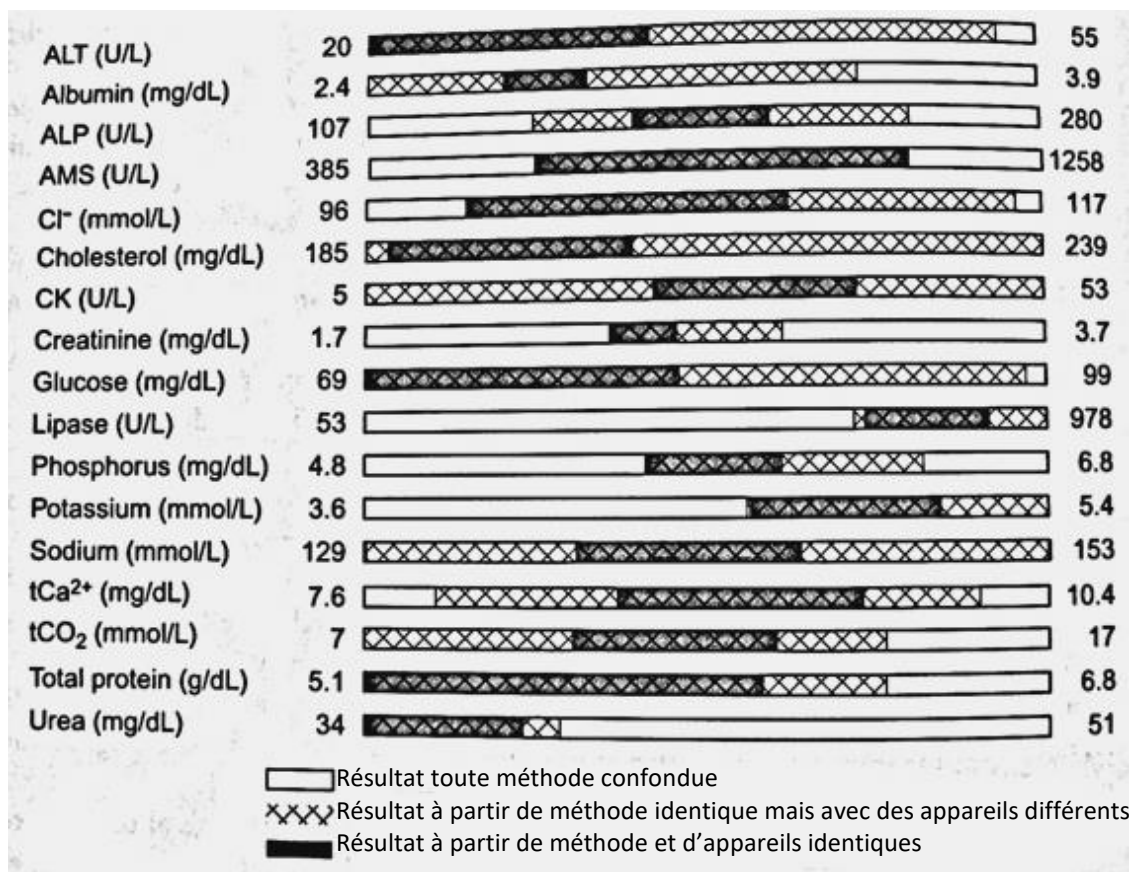


Figure 10 : Résultats d'analyse d'un même sérum canin par différents laboratoires (ACHARD 2005).

Les différences observées pour le dosage des enzymes par des appareils différents peuvent être expliquées, selon l'auteur, par la température à laquelle l'analyse a été réalisée, des écarts de concentration en substrat ou en cofacteur, la durée du stockage. Pour des dosages où les valeurs sont différentes toutes choses égales par ailleurs, la calibration des machines et la précision analytique sont les deux facteurs mis en causes.

La standardisation des méthodes d'analyse est considérée par certains comme une utopie. L'objectif est d'avoir une méthode précise pour un analyte définie.

Partie II. Partie expérimentale

1. MATERIEL ET METHODE

1.1. Cadre et objectifs de l'étude

Cette étude a pour initiative le Groupement de Défense Sanitaire de la Corrèze (GDS 19) et plus particulièrement sa directrice, le Dr Christelle Roy. La question initiale portait sur l'interprétation des profils métaboliques, en adéquation avec les animaux présents sur le secteur et les techniques utilisées par un laboratoire défini : le laboratoire départemental d'analyses de la Corrèze (LDA 19) qui a réalisé toutes les analyses.

L'objectif de cette étude est de déterminer des valeurs de référence et des seuils d'interprétation pour :

- des concentrations sanguines pour trois minéraux majeurs : calcium, phosphore, magnésium
- des concentrations pour quatre oligo-éléments ou leurs marqueurs : cuivre, zinc, GSH-Pxe (sélénium), et T4 (iode).
- des bovins de race limousine, femelles, adultes, en « bonne santé », issus d'élevages corréziens pour lesquels ces éléments ne sont pas facteurs limitants des performances de croissance, de reproduction et sanitaire. Ce dernier point a son importance pour la détermination de seuil d'interprétation.

Pour cela, des cheptels avec des performances de reproduction, croissance et sanitaire correctes ont été choisis parmi les élevages corréziens de bovins allaitants de race limousine.

Les valeurs ont été obtenues à l'issue de prélèvements sanguins effectués durant les mois de mars et avril 2016. Ces résultats ont été comparés à des profils métaboliques réalisés dans

des élevages qui ont présenté un épisode de maladie de troupeau (diminution des performances, passage infectieux ...) entre octobre 2014 et septembre 2016. Dans la suite du document, nous appellerons cette population « avec problématique » en comparaison avec la population de référence. Ces prélèvements ont été réalisés par la vétérinaire du GDS 19, Christelle Roy.

L'objectif a donc été, dans un premier temps, de définir un intervalle de référence pour chaque analyte étudié. Puis dans un deuxième temps, nous avons également tenté d'établir des valeurs seuils pour les oligo-éléments.

En effet, tous les animaux prélevés étaient en bonne santé au moment du prélèvement. Il nous était donc impossible de définir des valeurs seuils pour les minéraux majeurs. Seul l'échantillon de référence a été utilisé pour déterminer chaque intervalle de référence.

Pour les oligo-éléments, l'objectif était double : d'une part définir un intervalle de référence pour chaque analyte, d'autre part tenter de définir des valeurs seuils. Celles-ci seraient la limite entre des valeurs pour lesquelles les oligo-éléments peuvent être facteurs limitants des performances et des valeurs où ils ne le sont pas. En effet, les valeurs obtenues à l'issue des prélèvements des animaux de référence correspondraient à ce deuxième groupe. A l'inverse les résultats des prélèvements d'animaux sains mais issus d'élevages « avec problématique » correspondraient au premier groupe.

1.2. Sélection des sujets à prélever

1.2.1. Echantillon de référence : critères d'inclusion et taille de l'échantillon

Les critères d'inclusion ont été choisis afin de répondre au mieux à nos objectifs en prenant en compte certaines contraintes de terrain. Le choix de critères d'inclusion des élevages a été la première étape avant de définir ceux des animaux issus de ces élevages. Pour ces deux étapes, les critères peuvent être regroupés en deux groupes selon l'objectif à atteindre :

- Définir les caractéristiques biologiques et d'élevage de notre population de référence
- Tester des animaux « en bonne santé » ou avec de bonnes performances.

1.2.1.1. Choix des critères d'inclusion des élevages

Le premier critère d'inclusion des élevages était d'être situé dans le département de la Corrèze. Ainsi les élevages devaient tout d'abord être adhérents au GDS 19 puisque c'est cet organisme qui a financé entièrement notre étude pour ces adhérents. L'élevage devait avoir un atelier bovin allaitant de race limousine avec au moins une production de broutard.

De plus, nous avons sélectionné les élevages selon leurs performances à la fois sanitaires mais aussi zootechniques. Effectivement, l'objectif était de tester des animaux pour lesquels leurs statuts en oligo-éléments n'étaient pas facteurs limitants des performances.

Pour cela, plusieurs professionnels de l'élevage sont intervenus dans nos choix. Une sélection a été réalisée par des techniciens du syndicat Bovin Croissance 19. Ces derniers sont présents dans les élevages corréziens pour apporter un appui technique à l'éleveur à partir de la collecte des performances de croissance et de reproduction des animaux. Parmi leur base de données et sur tout le département, les élevages qui avaient les meilleures performances ont été triés. Les vétérinaires sanitaires ont également été consultés afin de vérifier l'absence de pathologie à grande échelle dans les élevages précédemment sélectionnés et proposer un certain nombre d'élevages non adhérents au syndicat.

Un dernier échelon a été la volonté de l'éleveur de participer à notre enquête.

La répartition équitable des élevages sur le territoire a été vérifiée a posteriori.

1.2.1.2. *Choix des critères d'inclusion et d'exclusion des animaux*

Dans ces élevages, la population que nous avons choisi de tester concerne les femelles génisses ou vaches, adulte (≥ 2 ans), de race limousine.

De plus, pour que celles-ci répondent au critère de « bonne santé », il a été demandé à l'éleveur d'écartier tout animal avec un historique sanitaire particulier ou ayant reçu un traitement récent (≤ 2 mois). De plus, comme il a été vu dans la première partie, les paramètres que nous cherchons à évaluer sont soumis à d'importantes variations autour de la mise-bas. Toutes les femelles qui se trouvaient dans une fenêtre de plus ou moins un mois autour du vêlage le jour du prélèvement ont été écartées. Les animaux répondant à ces critères d'exclusion ont été choisis au hasard pour faire partie des animaux prélevés.

Une vérification a été effectuée a posteriori sur l'état apparent de bonne santé des animaux. En effet, des critères d'exclusion ont été définis à partir des résultats de l'hémogramme et de dosages biochimiques. Tous les animaux qui présentaient des signes d'inflammation ou d'infection à l'issue de ces dosages ont été écartés de la population de référence. Nous avons défini un animal comme présentant des signes d'inflammation ou d'infection si plus de deux paramètres parmi ceux présentés dans le tableau suivant étaient en dehors des seuils définis par le LDA 19.

De plus, les valeurs de cuivre supérieures à $18 \mu\text{mol/L}$ ($114 \mu\text{g/dl}$) ont été exclues de l'étude car ces valeurs sont plus le reflet d'une inflammation ou d'une infection que d'une complémentation excessive. Pour la même raison, nous avons fait le choix de ne pas utiliser les valeurs de zinc inférieures à $10 \mu\text{mol/L}$ ($62 \mu\text{g/L}$) lorsqu'elles étaient associées à une valeur de cuprémie trop élevée.

Paramètres choisis	Seuils correspondants
Leucocytes	< 4.10 ³ /μL ou > 10.10 ³ /μL
Protéines totales	> 75 g/L
Albumine	< 26 g/L
Globulines	> 38 g/L
Haptoglobine	> 50 μg/mL

Tableau 9 : Paramètres et seuils choisis comme critères d'exclusion (source : LDA 19)

1.2.1.1. Nombre d'élevages et taille des échantillons dans l'élevage

Afin d'obtenir une certaine représentativité, il est nécessaire de tester une population d'au moins 120 animaux par groupe. Ce chiffre a donc constitué la limite inférieure du choix du nombre d'animaux à tester.

Le choix final a été dicté principalement par le budget alloué à notre étude en tenant compte d'une marge pour les animaux répondant aux critères d'exclusion.

Le laboratoire partenaire de notre étude proposait des kits diagnostics de 6 prélèvements par élevage. Ainsi, il a été choisi de tester 30 élevages en prélevant 6 animaux par élevage, ce qui représente un échantillon initial de 180 animaux.

Après avoir vérifié les critères d'exclusion concernant la biochimie et l'hémogramme, 4 animaux ont été exclus de l'étude. Après exclusion des valeurs de cuprémie trop hautes, 32 valeurs de cuivre n'ont pas été prises en compte. Le critère d'exclusion sur le zinc n'a permis d'exclure aucune valeur.

1.2.2. Echantillon « avec problématique » : critères d'inclusion, d'exclusion et taille de l'échantillon

La population « avec problématique » a été utilisée uniquement pour déterminer les valeurs seuils en oligo-éléments.

Cette population est constituée d'élevages pour lesquels une problématique globale (diarrhées et mortalités néonatales, retard de croissance, problème de reproduction) s'est posée à un moment donné. A l'issue d'une visite par la vétérinaire du GDS 19, des prélèvements sanguins ont donc été réalisés afin de tester plusieurs hypothèses dont un impact des carences en minéraux et oligo-éléments sur la problématique en question. Ceci constitue le premier critère d'inclusion à notre étude. Ce sont également des élevages de bovins avec au moins un atelier allaitant de race limousine, adhérent au GDS 19.

Les critères d'inclusion des animaux au sein des élevages sont les mêmes que ceux de la population de référence : femelle, adulte avec un intervalle prélèvement – mise-bas de plus d'un mois, sans historique sanitaire particulier. De même, les critères d'exclusion ont été appliqués en fonction des résultats de l'hémogramme et de certains paramètres biochimiques.

Nous avons choisi de nous limiter à 33 élevages au sein desquels entre 2 et 6 animaux ont été prélevés. Ceci représente une population de 180 animaux prélevés entre octobre 2014 et septembre 2016 pour cet échantillon.

Quatre animaux ont été exclus en fonction de leurs paramètres hématologiques et biochimiques et 32 valeurs de cuivre n'ont pas été prises en compte dans l'étude.

1.3. Réalisation des prélèvements et analyses

1.3.1. Prélèvement : site, technique, conditionnement et conservation

Les prélèvements ont été réalisés en ferme. Aucune préparation spécifique n'a été effectuée. La prise de sang a été réalisée dans la mesure du possible à la veine jugulaire en utilisant un système Vacutainer®. Pour chaque prélèvement, quatre tubes ont été collectés : un tube sec, un tube avec EDTA, un tube citrate et un tube hépariné, fournis par le laboratoire partenaire de notre étude.

Pour les individus de référence, les échantillons ont été récoltés entre le 21 mars et le 13 avril 2016. Chacun des échantillons a été ensuite stocké à 4°C avant d'être transmis au laboratoire en fin de journée. Toutes les analyses ont été réalisées en même temps à l'issue de la campagne de prélèvement des échantillons de la population de référence soit entre le 14 avril et le 02 mai 2016.

Pour l'échantillon « avec problématique », les prélèvements ont été effectués entre octobre 2014 et septembre 2016. Chacun a été transmis au laboratoire dans la journée ou le lendemain. Les analyses ont été réalisées dans les jours suivants.

1.3.2. Dosages réalisés et techniques d'analyse

Un hémogramme a été réalisé sur tous les animaux issus de l'échantillon de référence. Pour l'échantillon « avec problématique », un hémogramme est disponible pour 80 % (143/180) des prélèvements.

Des dosages biochimiques ont été effectués sur tous les prélèvements. Cependant, un profil complet n'a pas été réalisé sur chaque échantillon de la population « avec problématique ». Parmi les 180 animaux, nous disposons de 169 dosages de cuprémie, 168 de zincémie, 180 de GSH-Pxe et 29 de T4.

Les techniques et matrices utilisées par le LDA19 pour les différents dosages sont résumées dans le tableau suivant. Pour chaque paramètre, il est également indiqué l'unité utilisée dans tout le reste de notre étude et les facteurs de conversion en unité du système internationale (SI).

Paramètre	Unité	Facteur de conversion (unité SI)	Matrice	Technique
Calcium	mg/dL	0,25 (mmol/L)	sérum	Test photométrique en point final utilisant du Phosphonazo III
Phosphore	mg/dL	0,32 (mmol/L)	sérum	Test photométrique UV avec mesure en point final
Magnésium	mg/dL	0,41 (mmol/L)	sérum	Test photométrique avec utilisation de bleu de xylidyle
Cuivre	µg/dL	0,16 (µmol/L)	plasma déprotéinisé	Test photométrique au DiBr-PAESA
Zinc	µg/dL	0,15 (µmol/L)	plasma déprotéinisé	Test photométrique au Nitro-PAPS
GSH-Pxe	U/g Hb			Méthode de Paglia et Valentine
T4	nmol/L		sérum	Immunoenzymatique

* : coefficient multiplicateur pour convertir en unité du système internationale

Tableau 10 : Techniques d'analyse et unités utilisées par le LDA 19

1.4. Analyse des données

Pour chaque analyte auquel nous nous intéressons, un histogramme de distribution et un graphique de type box-plot ont été réalisés et visuellement inspectés. Les valeurs aberrantes ont été écartées par la méthode de Tukey.

La taille de notre échantillon étant pour chacun des analytes supérieur à 120, les intervalles de référence et les intervalles de confiance à 90% des limites des intervalles de référence ont été déterminés par une méthode non paramétrique, conformément aux recommandations de l'IFCC et de l'ASVCP. Ainsi les limites inférieure et supérieure sont respectivement obtenues en utilisant le 2,5^{ème} et le 97,5^{ème} percentile.

Tous les calculs ont été effectués avec le tableur Excel et le logiciel freeware Reference Value Advisor pour la détermination des intervalles de référence et des valeurs seuils.

2. RÉSULTATS

2.1. Caractéristiques de l'échantillon de référence

2.1.1. Caractéristiques des élevages et des individus de référence

Les intervalles de référence ont été déterminés à partir des résultats de dosages sanguins obtenus à l'aide d'un échantillon de référence de 180 bovins issus de 30 élevages. Les principales caractéristiques de ces élevages sont regroupées dans le tableau suivant. Parmi ceux-ci, 67 % (20/30) avaient uniquement une production de bovins en système allaitant. Dans le tableau suivant, on compare les caractéristiques des élevages de notre échantillon à la moyenne corrézienne en 2010.

Caractéristiques	Moyenne échantillon	Moyenne en Corrèze
SAU* ¹ (hectare)	133 ± 49	75
UTA* ²	2 ± 0,7	1,4
Nombre de mères	99 ± 41	58
Taux de renouvellement (%)	18 ± 0,1	NC

*1 : surface agricole utile ; *2 : unité de travail annuel ; NC : non connu

Tableau 11 : Caractéristiques des élevages de l'échantillon de référence comparées à la moyenne dans le département de la Corrèze (source : recensement agricole 2010)

La figure suivante illustre la répartition moyenne des vêlages au sein des élevages de notre échantillon. On retrouve une majorité de vêlages d'automne suivis par les vêlages de printemps.

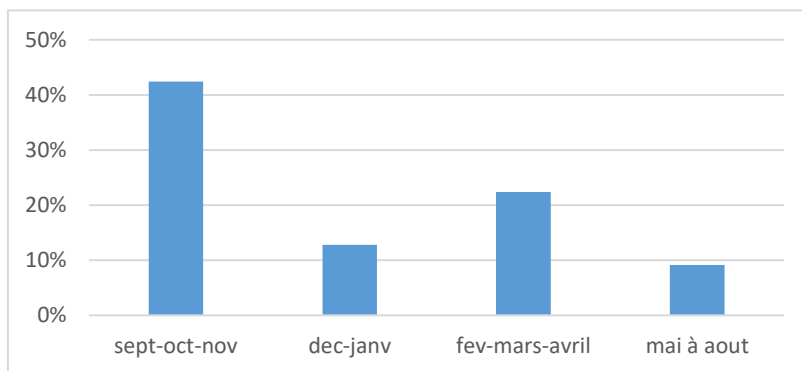


Figure 11 : Répartition moyenne des périodes de vêlages

Au sein de ces élevages, la production majoritaire était une production de veaux de type broutard puis la vente de reproducteurs. La répartition de la vente des veaux est illustrée dans le graphique suivant. En comparaison, la vente de broutard en Corrèze représente 59% des ventes, la vente de veau de lait 8% (BELVEZE et al 2012).

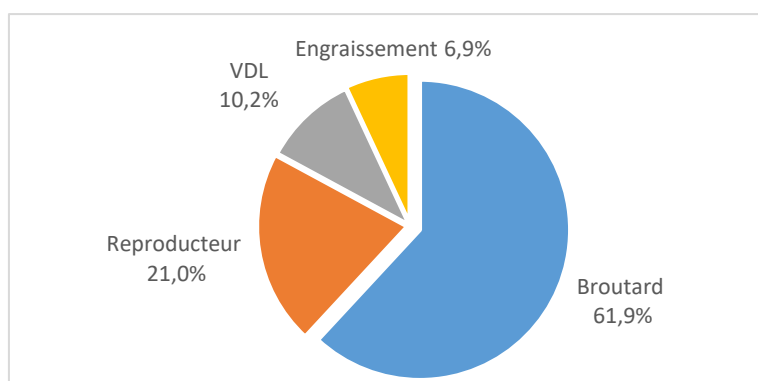


Figure 12 : Destination des veaux vendus dans les élevages de référence sur la saison 2015 - 2016

Au niveau individuel, 78% des prélèvements ont été effectués sur des vaches qui avaient vêlé depuis plus d'un mois (noté « après la mise-bas » dans le graphique suivant). Parmi ces animaux, la répartition du délai par rapport au vêlage est illustrée par la partie droite de la figure suivante. Ainsi, 59% des vaches prélevées au total ont vêlé à l'automne et sont donc à plus de 120 jours post mise-bas. 16 % des vaches n'avaient pas encore vêlé au moment du prélèvement (prévu au printemps mai et juin principalement). Enfin, 3 % des animaux n'ont pas encore vêlé.

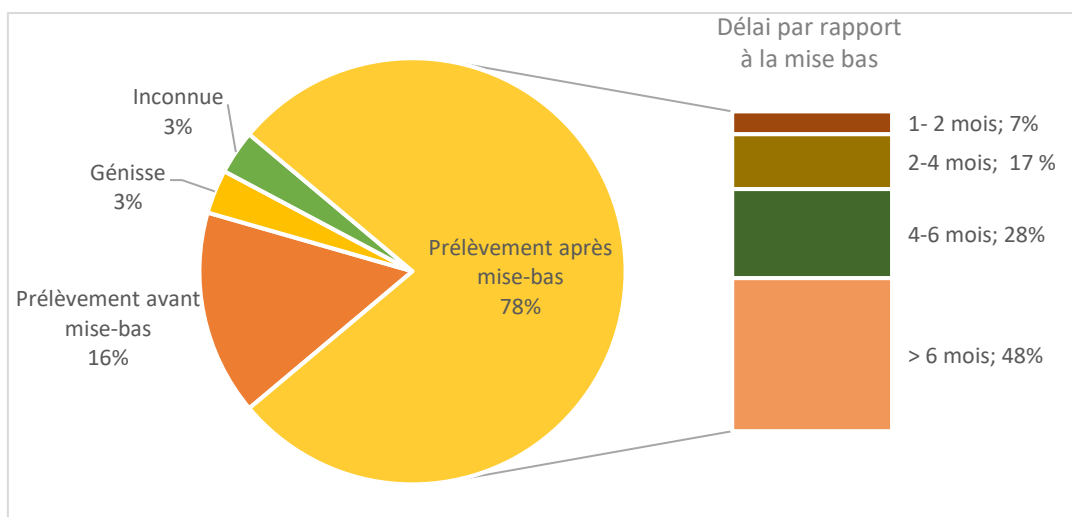


Figure 13 : Répartition du délai par rapport à la dernière mise bas

La répartition de l'âge des animaux prélevés est représentée dans la figure suivante. Cet indicateur était connu pour 167 vaches. L'âge des vaches prélevées est compris entre 2 et 13 ans. Cependant, la majorité des animaux ont entre 4 et 7 ans (68% ; 123/167).

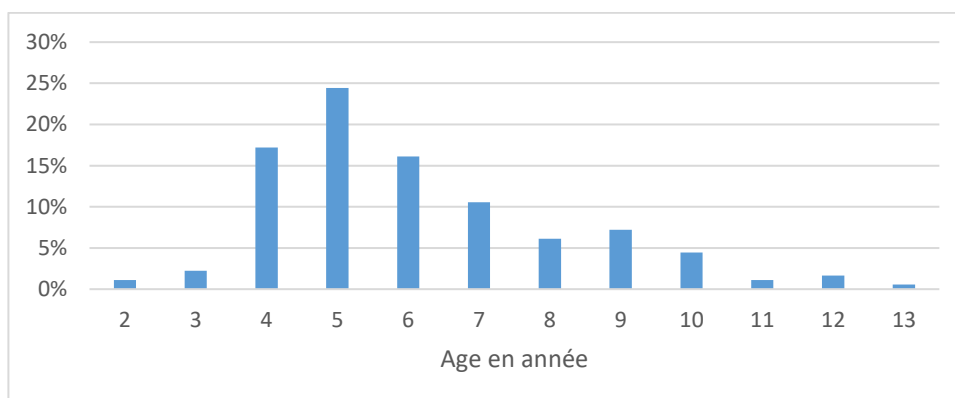


Figure 14 : Répartition de l'âge des vaches de l'échantillon

2.1.2. Evaluation des performances

Le tableau suivant compare les performances pour certains critères de croissance et de reproduction entre les élevages de référence (19 élevages pour lesquels ces critères sont

connus) et la moyenne de la race (BELVEZE et al 2012). Pour chacun des indicateurs connus la moyenne de l'échantillon est supérieure à la moyenne de la race.

Indicateur	Moyenne \pm écart type échantillon	Moyenne de la race
PAT 210 * ¹ mâle (kg)	302 \pm 18	290
PAT 210 femelle (kg)	273 \pm 14	261
IVV * ² (jours)	378 \pm 10	382
GMQ * ³ 0 – 210 j mâle (g)	1313 \pm 204	1186

*¹ : Poids âge type à 210 jours ; *² : Intervalle vêlage – vêlage ; *³ : Gain Moyen Quotidien

Tableau 12 : Comparaison pour certains indicateurs de croissance et de reproduction entre notre échantillon et la moyenne de la race (BELVEZE et al 2012)

Le graphique suivant illustre certains paramètres sanitaires dans les élevages de référence (N = 30). Le taux moyen pour chacune de ces maladies est inférieur à 5 % sauf pour les diarrhées néonatales (6%). Ces chiffres ont pour source les résultats du questionnaire auquel ont répondu les éleveurs le jour de la visite. Ce graphique présente seulement un état des lieux de la situation par rapport au début de la saison de vêlage fixé à septembre 2015.

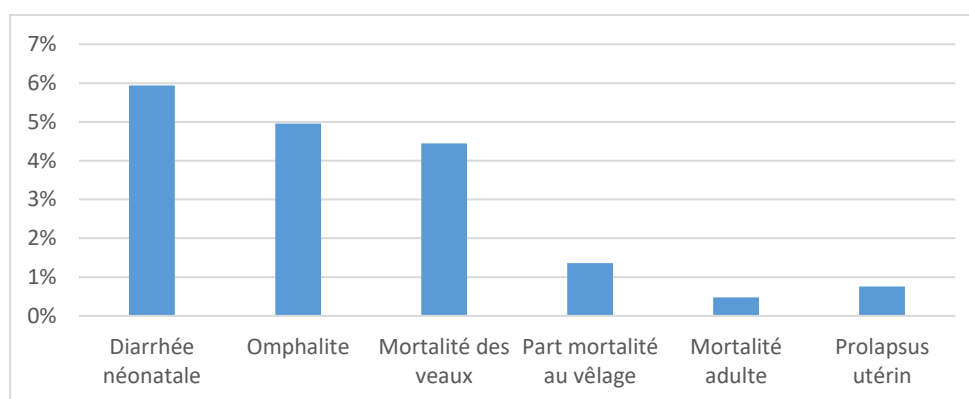


Figure 15 : Taux moyen dans les élevages de référence pour certains paramètres de santé

2.1.3. Rationnement des animaux

Au sein de l'échantillon, la composition globale de la ration hivernale était connue pour 26 élevages. Elle est connue avec précision pour seulement 8 élevages. Parmi ceux-ci, 11

rations étaient à base d'ensilage de maïs avec une distribution moyenne de 11 kg de matière brute (entre 7 et 20 kg) complétement avec un enrubannage d'herbe et / ou de foin. Les autres rations étaient composées majoritairement d'enrubannage d'herbe ou d'ensilage d'herbe avec souvent du foin à volonté. Une complémentation sous forme de concentré a été apportée dans 8 élevages.

Une complémentation en minéraux a été apportée pendant l'hiver par 100% des éleveurs. Deux éleveurs n'ont pas supplémente leurs animaux en oligo-éléments. La forme de complémentation majoritaire est la semoulette (63%) puis les bolus (21%) et enfin les blocs à lécher. Cependant, si les compositions des aliments complémentaires sont connues pour tous, les informations sur la quantité distribuée et la durée de la complémentation n'ont pas pu être obtenues précisément.

2.1.4. Evaluation de la santé globale des individus de référence

A l'issue de l'exclusion des animaux selon les critères définis dans le paragraphe 1.2.1.2, l'évaluation de la « bonne santé » des animaux est illustrée dans le tableau suivant.

	Analyte	Moyenne ± écart type échantillon	Norme LDA 19
Critères d'exclusion	Protéines totales (g/L)	69,8 ± 5,4	60 – 75
	Albumine (g/L)	36,2 ± 2,6	26 – 37
	Globuline (g/L)	33,6 ± 5,6	34 – 38
	Haptoglobine (µg/mL)	1,4 ± 11	0 - 50
Autres paramètres dosés	Glycémie (mg/dl)	61,1 ± 8,2	40 – 60
	Butyrate (mmol/L)	0,5 ± 0,2	0 – 1,4
	Urée (mg/dl)	20,2 ± 7,5	12 – 40
	GLDH* (U/L)	14,7 ± 8,2	0 - 10

* : Glutamate déshydrogénase

Tableau 13 : Moyennes et écarts- type des paramètres dosés sur les individus de référence

2.2. Intervalle de référence des dosages des minéraux

Pour chacun des minéraux, le tableau 14 résume les statistiques descriptives : moyenne, écart type, mode, médiane, coefficient d'asymétrie et d'aplatissement. Les distributions des résultats sont présentées à travers les histogrammes accompagnés de leurs courbes normales respectives et les box-plots dans les figures 15 à 20.

Enfin les intervalles de référence à 95% sont donnés dans le tableau 15 ainsi que l'intervalle de confiance à 90% de chaque valeur limite, comme expliqué dans le paragraphe 1.1.2.4 de la première partie.

	Calcémie	Phosphatémie	Magnésémie
Unité	mg/dL	mg/dL	mg/dL
Moyenne	8,99	6,19	2,26
Erreur type de la moyenne	0,04	0,05	0,02
Médiane	9,01	6,20	2,25
Mode	9,06	6,20	1,98
Variance	0,24	0,47	0,08
Ecart type	0,49	0,68	0,29
Kurtosis	-0,69	-0,16	-0,39
Coefficient d'assymétrie	-0,14	0,09	0,05
Minimum	7,77	4,50	1,56
Maximum	9,98	7,90	2,87
Plage	2,21	3,40	1,31
Nombre d'échantillon	155	166	172

Tableau 14 : Statistiques descriptives des variables calcémie, magnésémie et phosphatémie

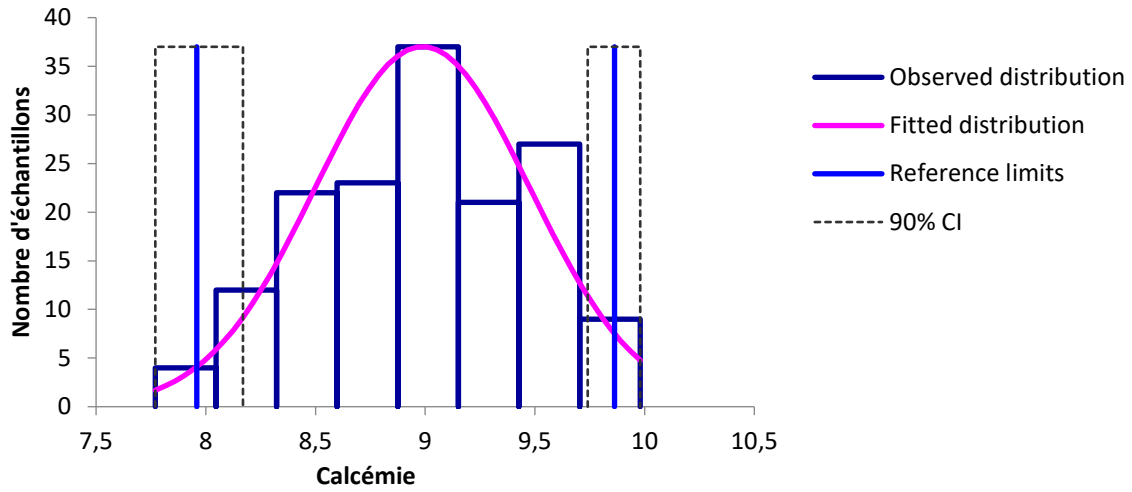


Figure 16 : Histogramme de distribution de la calcémie (mg/dL)

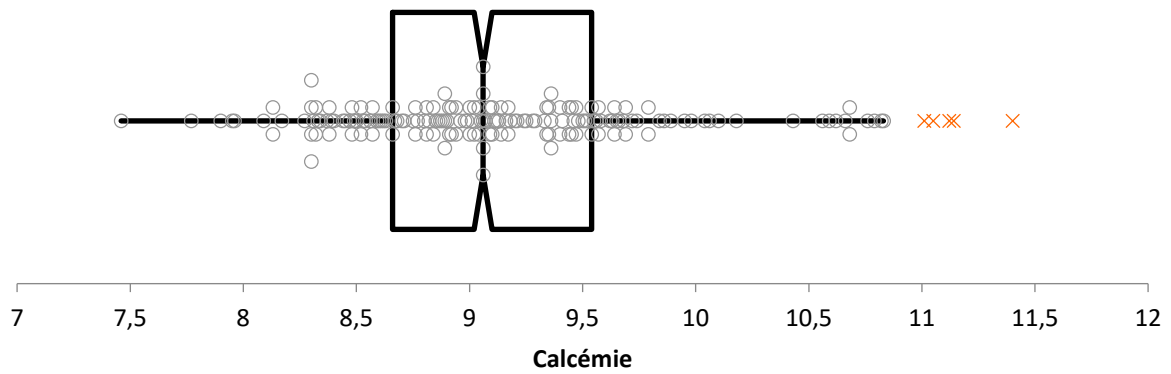


Figure 17 : Box-plot des valeurs de calcémie

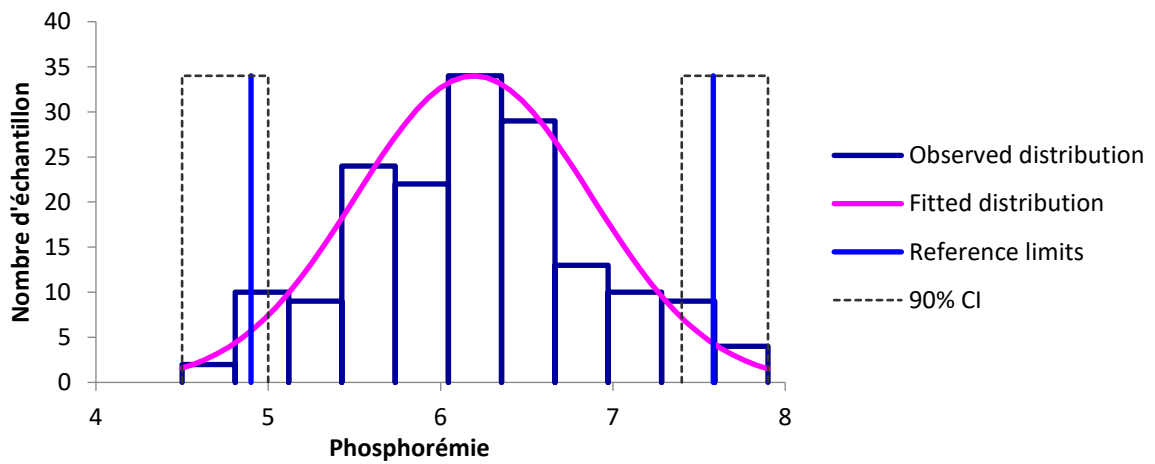


Figure 18 : Histogramme de distribution de la phosphatémie (mg/dL)

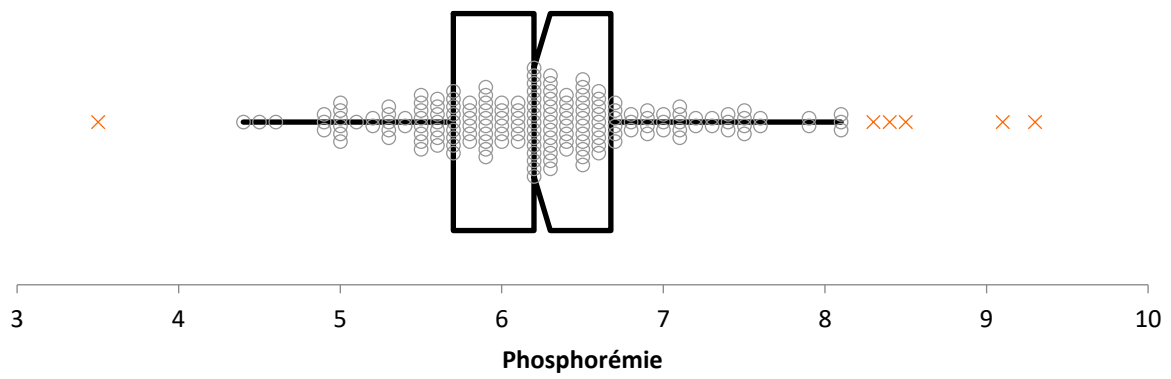


Figure 19 : Box-plot des valeurs de phosphatémie

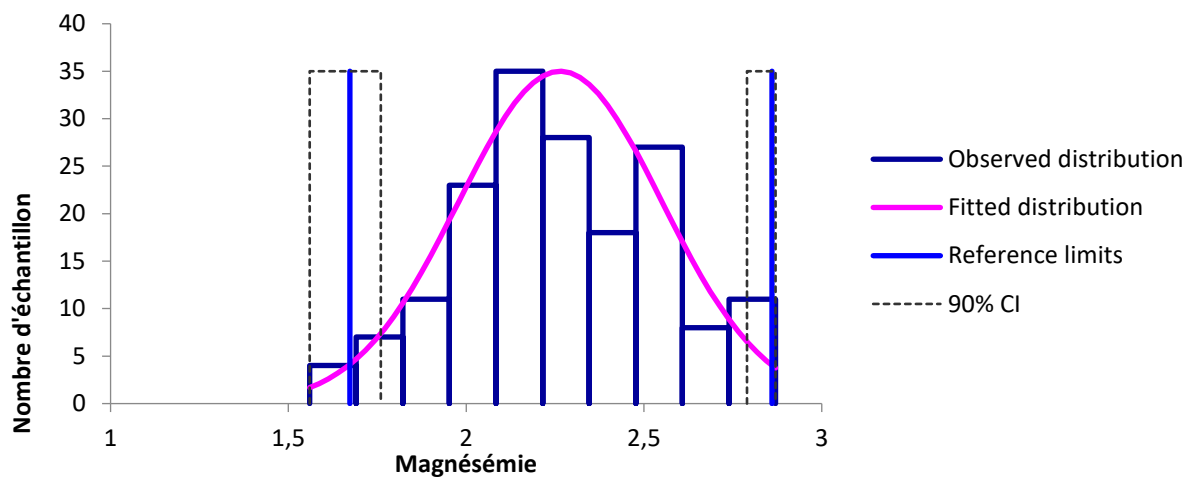


Figure 20 : Histogramme de distribution des valeurs de magnésémie (mg/dL)

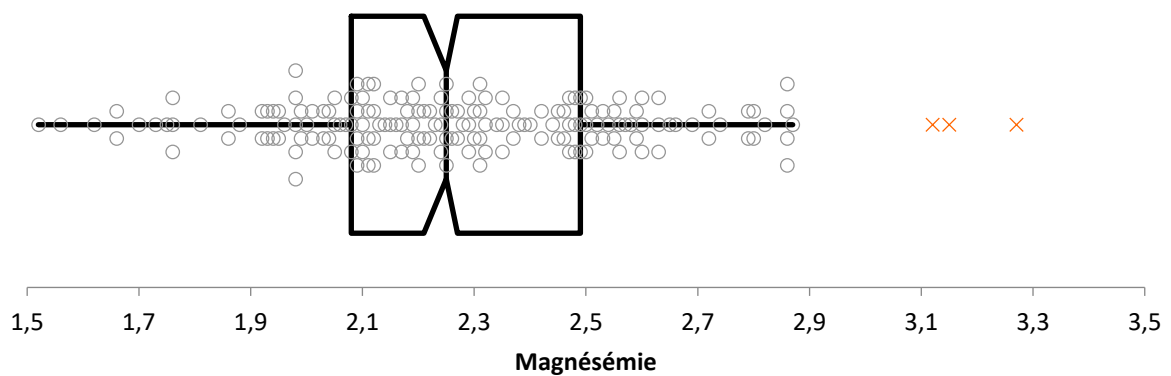


Figure 21 : Box-plot des valeurs de magnésémie

Chaque intervalle de référence est exprimé dans le tableau suivant accompagné de l'intervalle de confiance de ses limites. Toutes les valeurs sont exprimées en mg/dl.

	Intervalle de référence à 95%	Intervalle de confiance à 90%	
		Limite inférieure	Limite supérieure
Calcémie	8 – 9,9	7,8 – 8,2	9,7 - 10
Phosphatémie	4,9 – 7,6	4,5 – 5,0	7,4 – 7,9
Magnésémie	1,7 – 2,9	1,6 – 1,8	2,8 – 2,9

Tableau 15 : Intervalle de référence et intervalles de confiance des limites, définies par notre échantillon de référence

2.3. Intervalle de référence et valeur seuil des oligo-éléments ou de leur marqueur

2.3.1.1. Intervalle de référence

De la même façon, le tableau 16 résume les statistiques descriptives des oligo-éléments étudiés. Les distributions des résultats sont présentées à travers les histogrammes accompagnés de leurs courbes normales respectives et box-plot dans les figures 21 à 28.

Enfin les intervalles de référence sont donnés dans le tableau 17 ainsi que l'intervalle de confiance de chaque valeur limite.

	Cuprémie	Zincémie	GSH-Pxe	T4
Unité	µg/dL	µg/dL	U/g Hb	nmol/L
Moyenne	93,69	70,98	216,97	48,45
Erreur type de la moyenne	1,22	1,23	8,66	0,63
Médiane	97,65	69,50	198,30	48,29
Mode	95,10	64,20	NE*	49,98
Variance	205,35	248,90	12367,87	67,33
Ecart type	14,33	15,78	111,21	8,21
Kurtosis	-0,39	-0,49	-0,40	-0,01
Coefficient d'asymétrie	-0,74	0,34	0,62	0,51
Minimum	56,50	37,40	39,98	29,11
Maximum	113,80	106,70	499,15	70,18
Plage	57,30	69,30	459,17	41,07
Nombre d'échantillon	138	165	165	170

* NE : non évaluable

Tableau 16 : Statistiques descriptives des valeurs de cuprémie, zincémie, GSH-Pxe et T4

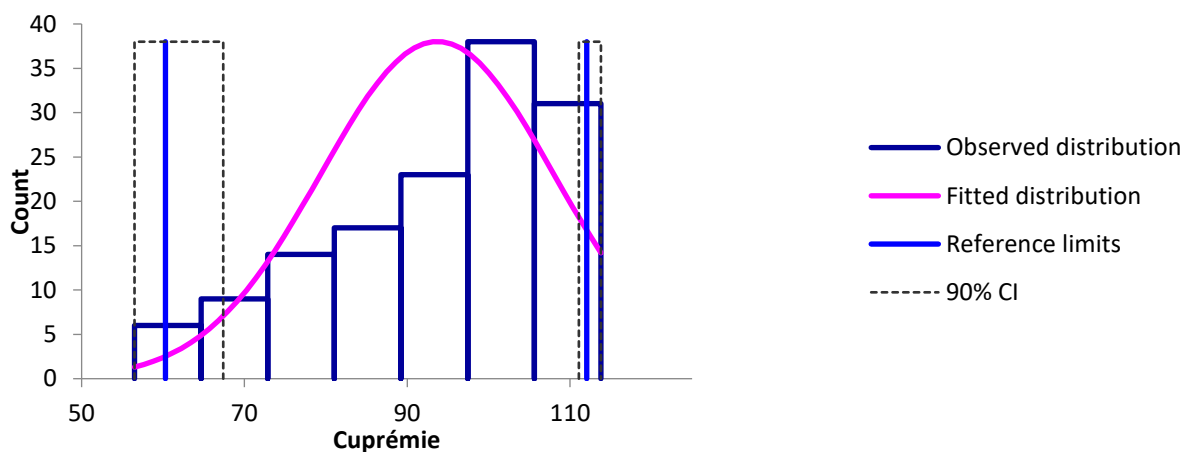


Figure 22 : Histogramme de distribution des valeurs de cuprémie (µg/dl)

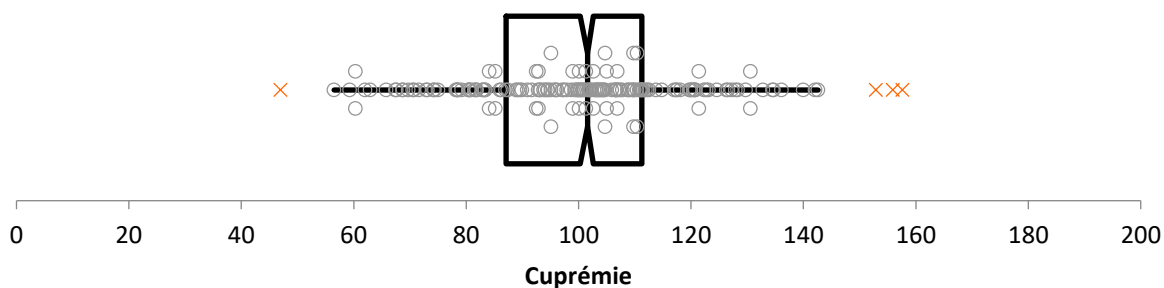


Figure 23 : Box plot des valeurs de cuprémie (µg/dl)

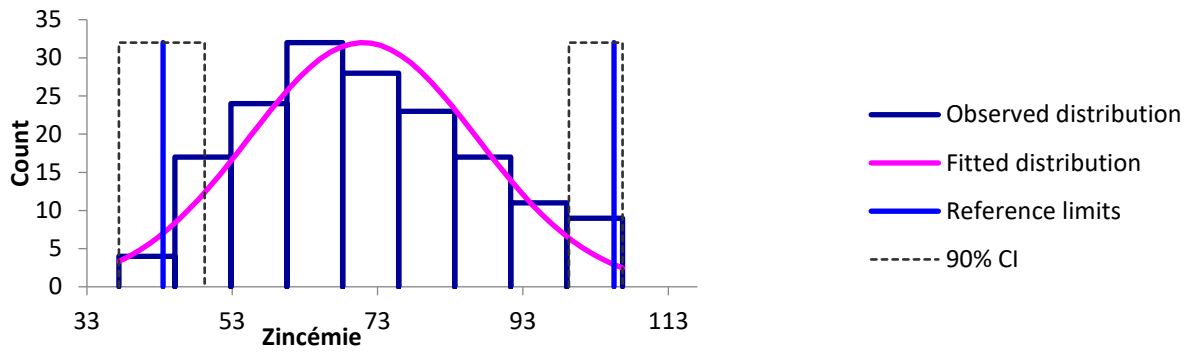


Figure 24 : Histogramme de distribution des valeurs de zincémie ($\mu\text{g/dl}$)

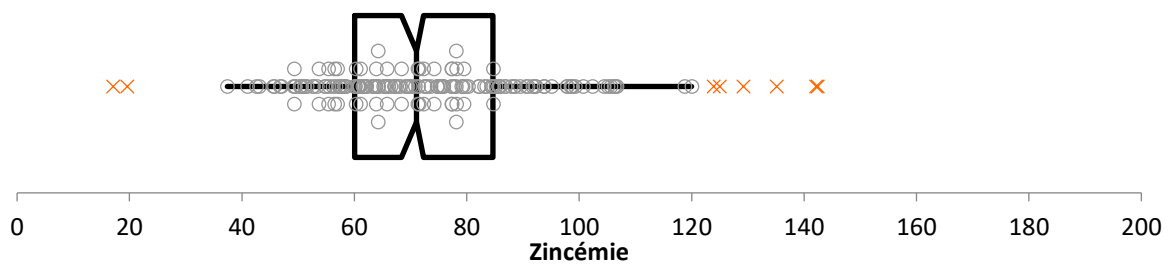


Figure 25 : Box-plot des valeurs de zincémie ($\mu\text{g/dl}$)

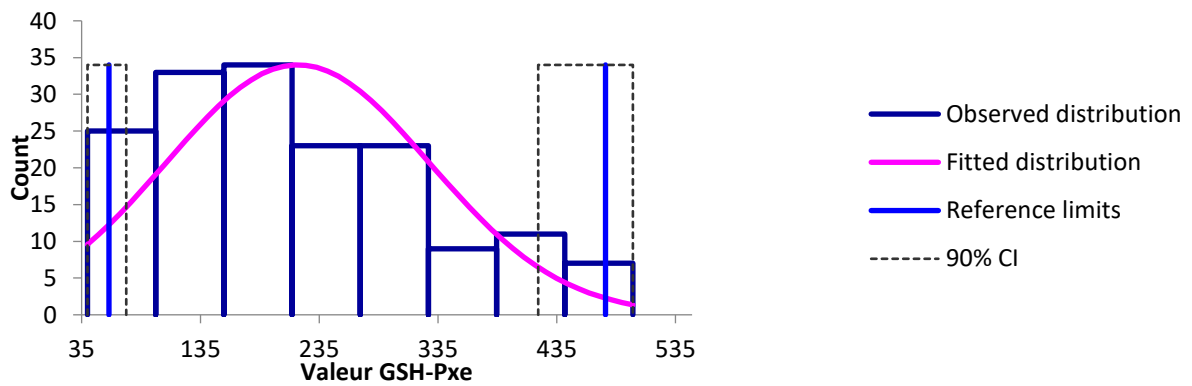


Figure 26 : Histogramme de distribution des valeurs de GSH-Pxe (U/g Hb)

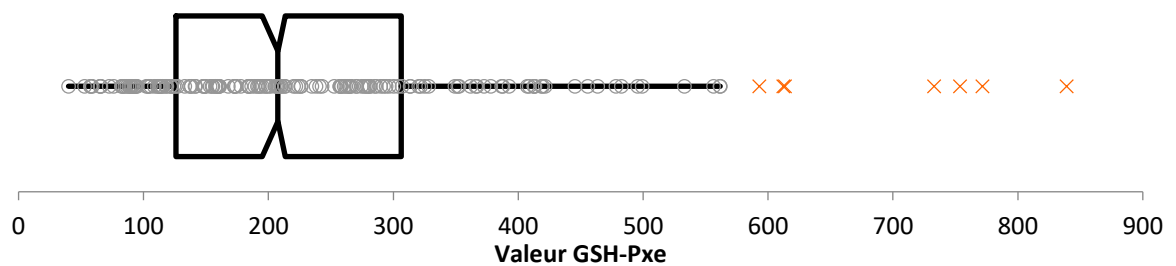


Figure 27 : Box-plot des valeurs de GSH-Pxe (U/g Hb)

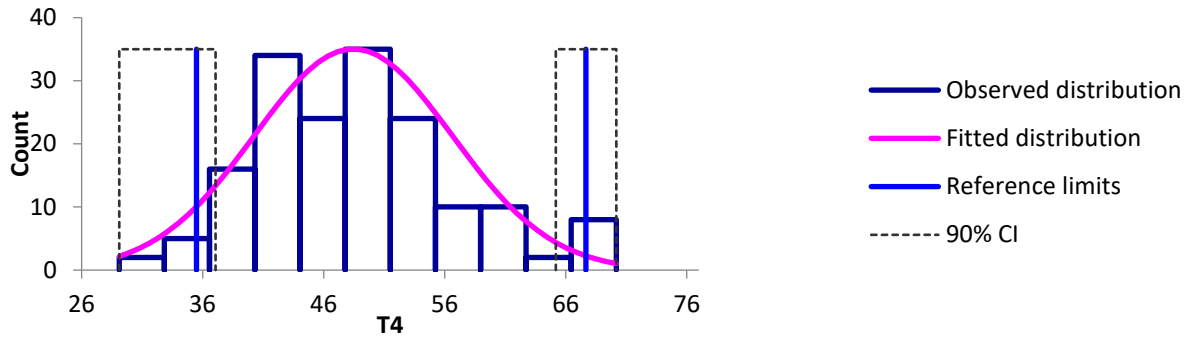


Figure 28 : Histogramme de distribution des valeurs de T4 (nmol/L)

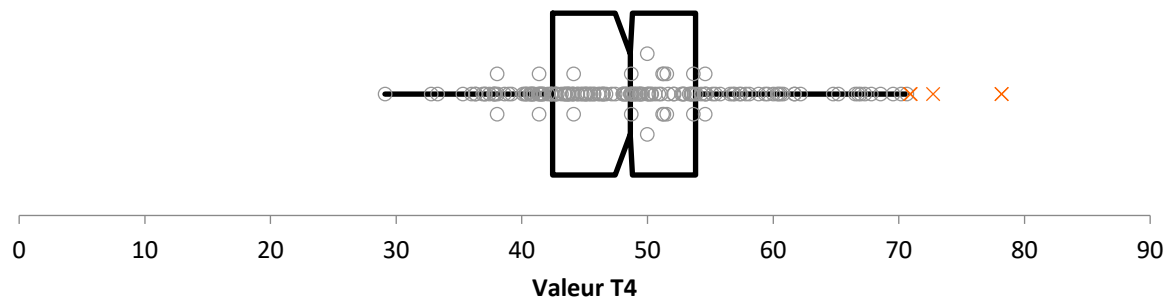


Figure 29 : Box-plot des valeurs de T4 (nmol/L)

Ainsi, ces résultats permettent de définir un intervalle de référence pour chaque analyte, illustré dans le tableau suivant accompagné de l'intervalle de confiance de chaque borne.

	Intervalle de référence à 95%	Intervalle de confiance à 90%	
		Limite inférieure	Limite supérieure
Cuprémie (µg/dl)	60 - 112	57 - 67	111 - 114
Zincémie (µg/dl)	43 - 105	37 - 49	99 - 107
GSH-Pxe (U/g Hb)	58 - 476	40 - 72	419 - 499
T4 (nmol/L)	35 - 68	29 - 37	65 - 70

Tableau 17 : Intervalle de référence et intervalle de confiance des bornes par analyte

2.3.2. Valeurs seuils

Le tableau suivant décrit par analyte la moyenne et l'écart type pour les échantillons de référence et « avec problématique ».

	Échantillon de référence			Échantillon « avec problématique »		
	Moyenne	Ecart type	Nombre	Moyenne	Ecart type	Nombre
Cuprémie	94	14	138	107	31	165
Zincémie	71	16	165	92	29	159
GSH-Pxe	217	111	165	163	124	162
T4	48	8	170	67	35	29

Tableau 18 : Comparaison des moyennes entre échantillon de référence et "avec problématique" par analyte

Ainsi, il est possible de définir une valeur seuil uniquement pour la GSH-Pxe. En effet, pour les trois autres analytes, les moyennes de l'échantillon de référence sont inférieures à celles de l'échantillon « avec problématique ». Dans ce cas, aucune valeur seuil avec une signification biologique ne peut être établie.

Les figures suivantes illustrent la distribution normale de la population de référence et de la population « avec problématique », ainsi que la courbe ROC correspondante pour les valeurs de GSH-Pxe.

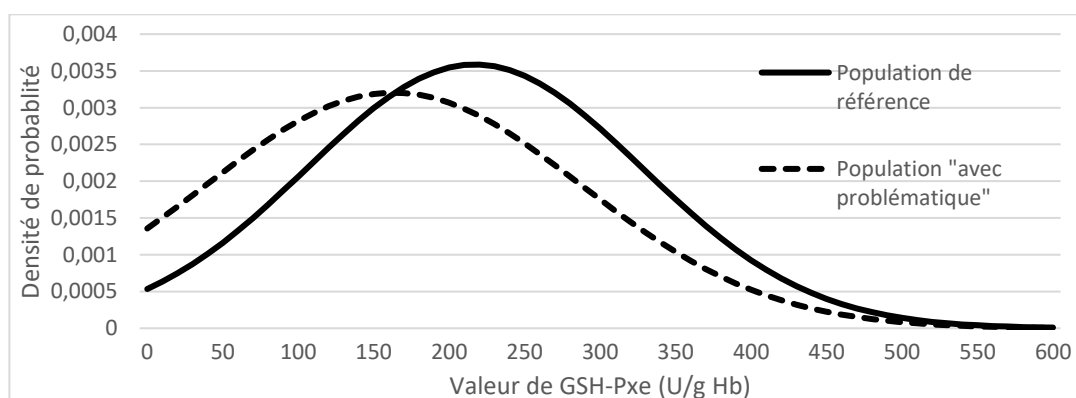


Figure 30 : Distribution normale de la GSH-Pxe des populations de référence et "avec problématique"

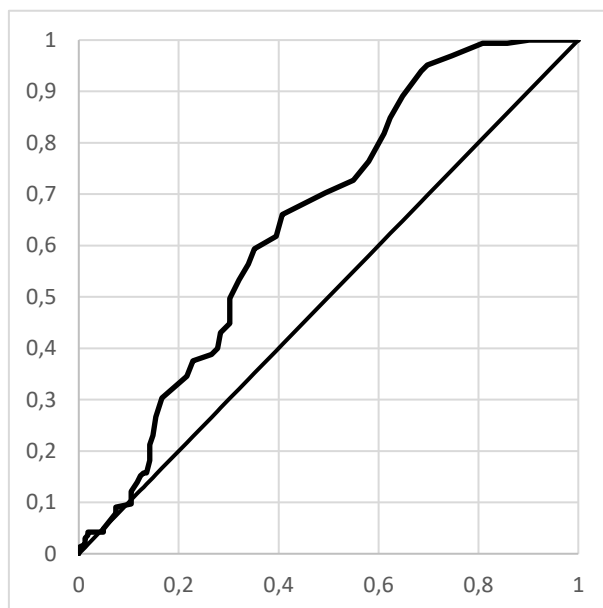


Figure 31 : Courbe ROC des valeurs seuils de GSH-Pxe

Ainsi, l'aire sous la courbe est de 0,66. Il s'agit d'un test peu informatif selon FRIEDRICHS et al (2012).

Plusieurs méthodes permettent de définir une valeur seuil. L'indice de Younden et la distance au point (0 ;1) indiquent une même valeur seuil de 149 U/g Hb. A ce seuil correspond une sensibilité de 68% et une spécificité de 59%.

3. DISCUSSION

3.1. Méthode de sélection des échantillons

La sélection des sujets est la tâche la plus difficile lors de l'établissement de valeur de référence. La sélection consiste à choisir des individus sains répondant à tous les critères d'inclusion définis. De plus, l'échantillon prélevé doit être suffisamment représentatif des animaux sur lesquels seront évaluées les valeurs définies.

3.1.1. Sélection de l'échantillon de référence

Il est possible de mettre en évidence certains biais dans la sélection des élevages constituant notre échantillon de référence. En effet, le choix a été fait selon plusieurs critères dont deux peuvent constituer des biais.

Tous les élevages devaient être adhérents au GDS 19 ce qui exclue automatiquement une certaine proportion d'éleveurs corréziens.

De plus, les élevages ont été choisis selon leurs performances principalement par présélection des techniciens d'un syndicat agricole. Un biais de sélection peut être présent ici. Cependant, 20 % des éleveurs de notre échantillon n'adhèrent pas à ce syndicat et celui-ci ne délivre pas de conseil sur l'alimentation. Les autres éleveurs ont été sélectionnés sur les conseils des vétérinaires sanitaires. De plus, le choix en fonction des performances de croissance et de reproduction est d'autant plus facile que celles-ci sont mesurées et comparées.

Ainsi, les élevages qui ont constitué notre enquête sont de taille plus importante que la moyenne corrézienne mais les productions et le mode de rationnement sont plutôt classiques de la région. Aucune sélection préalable n'a été faite sur la complémentation des animaux en

minéraux et oligo-éléments car nous avons fait le choix de sélectionner des élevages pour lesquels la supplémentation en minéraux et oligo-éléments n'était pas facteur limitant des performances. Cependant, en conséquence, la complémentation reçue par animal n'est pas connue avec précision.

Au niveau individuel, les animaux prélevés ont été choisis le plus souvent au hasard parmi ceux présents le jour du prélèvement après avoir expliqué à l'éleveur les critères d'inclusion. La répartition en fonction de l'âge montre un panel assez large. Le choix des critères d'exclusion se base sur la mise en évidence d'un état inflammatoire et/ou infectieux au moment du prélèvement. Il a été choisi d'exclure un animal si celui-ci présentait plus de deux paramètres en dehors des limites définies. Par cette méthode, seulement quatre animaux ont été exclus. D'autres choix auraient pu faire varier la population de base. En excluant, les animaux dont deux paramètres étaient en dehors des limites fixées, les prélèvements de vingt-six vaches n'auraient pas été utilisés.

3.1.2. Sélection des élevages « avec problématique »

Dans le cas des élevages « avec problématique », la question a été de définir le nombre d'échantillons ou la date à partir de laquelle les échantillons prélevés ces dernières années étaient utilisés. Le choix a été de prendre en compte les prélèvements réalisés à partir d'octobre 2014. Ainsi, le nombre d'échantillons était quasi identique à l'échantillon de référence. Aucune information sur la nature de la problématique ou des données d'élevage (nombre de mères, surface agricole utile, performances...) n'a été utilisé pour trier les résultats des élevages « avec problématique ». Ici, un tri par problématique plutôt que par date aurait peut-être pu permettre la mise en évidence de valeurs seuil.

Ainsi, la sélection des élevages et des animaux constituant les deux échantillons est un point clé de notre étude. Des biais dans cette sélection sont probablement en partie à l'origine

des écarts dans les valeurs de référence par rapport à la bibliographie et de l'impossibilité de déterminer des valeurs seuils pour trois des oligo-éléments.

3.2. Les facteurs pré-analytiques et analytiques

Le contrôle de facteurs pré-analytiques est essentiel afin de minimiser leurs effets sur les paramètres dosés. Mais il s'agit également d'un point difficile à maîtriser.

En effet, les apports en fer, aluminium, molybdène et en soufre sont susceptibles de modifier les paramètres dosés dans notre étude. Il nous était difficile de mesurer les apports en ces différents minéraux et oligo-éléments.

De même, le stress est un facteur difficile à maîtriser même si tous les prélèvements ont été réalisés de la même façon par le même opérateur. De même, les variations concernant la technique d'analyse, la durée de stockage et les variations analytiques peuvent être minimisés par le fait que tous les dosages ont été effectués avec la même méthode par le même laboratoire sur un laps de temps relativement court.

L'œstrus est également un critère qui n'a pas été pris en compte dans le choix des animaux pour des raisons pratiques.

Certains auteurs ont évoqué la saison comme facteur de variation de la cuprémie et de la T4. Selon eux, la cuprémie serait au plus bas en février et mars et la T4 plutôt dans des valeurs basses en hiver, ce qui correspond approximativement à notre période de prélèvement. Cependant, ce facteur de variation est controversé et pourrait être lié à la variation des apports ou au stade de lactation.

La proximité de la mise-bas est également un facteur de variation de certains paramètres. Nous avons choisi de ne prélever que les vaches dont la date de vêlage différait de plus d'un mois par rapport à la date de prélèvement. Ainsi dans l'échantillon testé, la majorité des vaches avait vêlé depuis plus de 120 jours (60%).

Enfin, comme indiqué dans le paragraphe 3.1.1, aucune donnée sur la complémentation n'a été prise en compte au préalable.

3.3. Effet élevage et effet individuel

La partition en sous-catégorie en fonction de différents critères d'élevage n'a pas été possible dans cette étude ou n'a pas montré de différence significative.

En effet, l'effet de la complémentation en minéraux et oligo-éléments n'a pas pu être évalué. Même si majoritairement, les concentrations en minéraux et oligo-éléments des aliments complémentaires utilisés par les éleveurs sont connues, d'autres données n'ont pas pu être obtenues avec précision. En effet, il a été difficile de connaître précisément la quantité et la durée de complémentation. Ainsi les estimations effectuées n'ont pas permis de mettre en évidence des différences entre élevages selon le niveau de complémentation.

Les effets d'autres paramètres d'élevage (performances zootechniques, géologie de la commune) et individuels (délai par rapport à la mise-bas, âge) ont été testés pour les oligo-éléments sans qu'aucun n'ait mis en évidence de différence entre les sous-groupes. L'absence d'effet, un nombre trop faible de prélèvements dans chaque sous-groupe ou des biais trop importants sont des explications possibles de ce résultat.

3.4. Comparaison avec les seuils déterminés dans la littérature

3.4.1. Valeurs de référence des minéraux

Les intervalles de référence en minéraux (calcémie, phosphatémie et magnésémie) déterminés dans notre étude sont assez semblables à ceux retrouvés dans la bibliographie et ceux auparavant utilisés par le LDA 19. Ainsi dans les graphiques suivants, nous retrouvons pour chaque source et pour notre étude, l'intervalle de référence défini.

Lorsque les auteurs ont défini des valeurs normales uniquement par une moyenne et un écart type, les limites de l'intervalle données dans les graphiques suivant ont été établies par moyenne + 2 écarts-type et moyenne - 2 écarts-type.

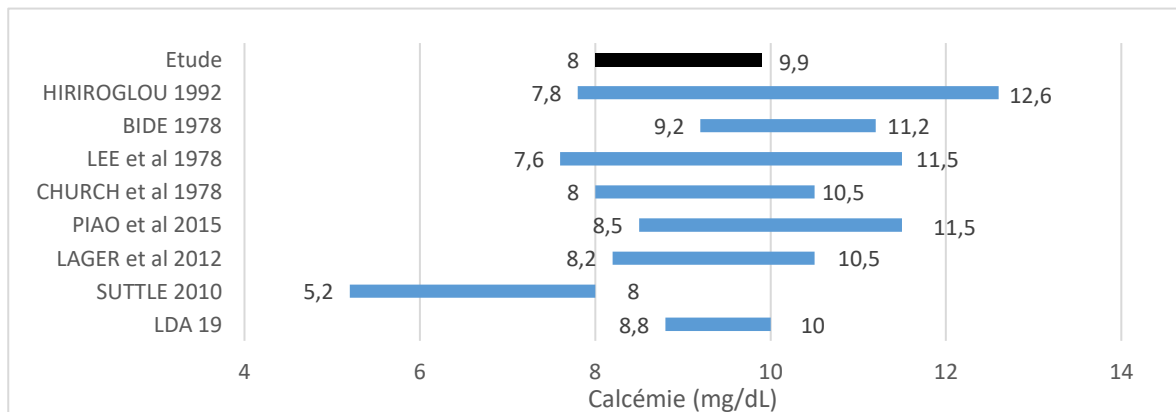


Figure 32 : Comparaison entre différentes valeurs de référence de la calcémie

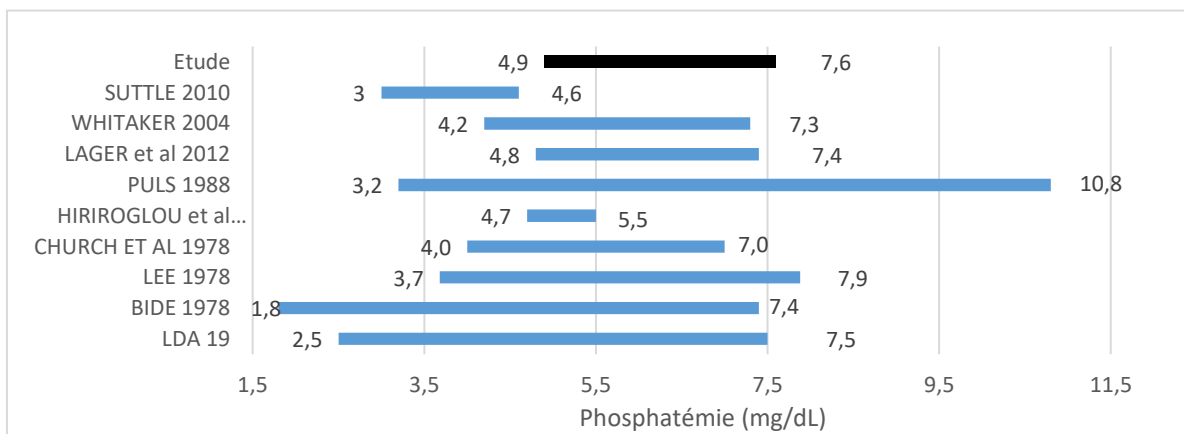


Figure 33 : Comparaison entre différentes valeurs de référence de la phosphatémie

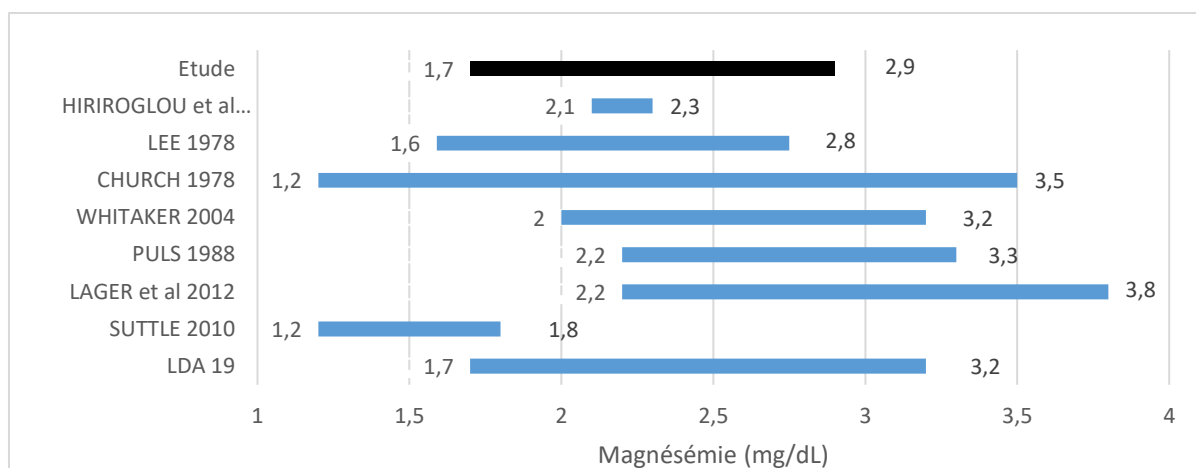


Figure 34 : Comparaison entre différentes valeurs de référence de la magnésémie

On peut retrouver dans le tableau suivant, quelques éléments permettant de réaliser des comparaisons entre les valeurs précédemment citées.

Source	Lieu	Objectif	Animaux	Analyse (matrice)
LEE et al 1978	Illinois	Valeurs normales : moyenne ± écart type	5 troupeaux « normaux », 14 vaches en lactation/ troupeau	NC* ¹ (sérum)
PIAO et al 2015	Corée du Sud	Intervalle de référence : selon CLSI	Plusieurs troupeaux, 2205 vaches saines début de gestation (0-95 jours), race Korean Hanwoo	Ca : OCPC* ² P, Mg : enzymatique UV (sérum)
LAGER et al 2012	Etats-Unis	Intervalle de référence moyen	Intervalle de référence moyen de 6 sources (Merck, Zinpro, Sprowls, Penn St University, Oregon St University), bovin	NC
SUTTLE 2010	Grande Bretagne	Intervalle avant risque de maladie ou valeurs optimales	Vaches laitières proche de la mise-bas	NC

WHITAKER 2004	Ecosse	Valeurs optimales	Valeurs modifiées issue de l'étude de Payne 1970 (2400 vaches)	NC
BIDE 1978	Canada	Valeurs normales : moyenne ± écart type	> 850 vaches de race Hereford de plus d'un an	NC
CHURCH et al 1978	Canada	Intervalle de référence	100 vaches allaitantes de plus de 2 ans	NC
HIRIROGLOU et al 1992	Canada	Valeurs normales : moyenne ± écart type	122 vaches allaitantes	NC

*1 NC : non communiqué ; *2 OCPC : O-Cresolphthalein Complexone

Tableau 19 : Méthodologie des études utilisées comme comparaison des valeurs de référence en minéraux

Pour les trois minéraux comparés, Suttle et al (2010) indique des valeurs plus basses que les autres références et que celles déterminées dans notre étude. Cependant, ces valeurs sont issues de prélèvement de vaches proche de la mise bas. L'objectif y est de déterminer un intervalle dans lequel le risque d'apparition de fièvre de lait est minime.

Lee et al. (1978) ont pour objectif d'établir des valeurs normales en utilisant des vaches laitières issues de 5 troupeaux « normaux ». Ils déterminent ainsi une moyenne et un écart type pour chaque dosage sans conclure sur l'étendue de l'intervalle de référence (plus ou moins un, deux ou trois écarts type).

La méthode d'analyse n'est communiquée que dans une seule étude.

L'intervalle de référence de la calcémie est assez proche de ceux retrouvés dans la bibliographie. L'écart entre les valeurs limites déterminées dans notre étude et celles de la bibliographie est compris entre 0,1 et 2,6 mg/dl. L'étendue des valeurs est plutôt faible et comparable à celle de LAGER et al 2012, CHURCH et al (1978) et BIDE (1978) (de 1,9 à 2,3 mg/dl) par rapport aux autres valeurs.

L'intervalle de référence de la phosphatémie est relativement plus restreint que celui précédemment utilisé par le laboratoire en gardant la même valeur haute. Il est très semblable

à deux références bibliographiques citées (LAGER et al 2012, WHITAKER 2004) avec des étendues similaires (entre 2,6 et 3). L'étendue des autres intervalles est plus importante (4,2 et 7,6) avec une exception pour l'étude de HIRIROGLOU et al (1992) qui présente un écart-type très faible (0,2).

Enfin, pour la magnésémie l'écart entre les valeurs limites de notre étude et celles de la bibliographie est plus restreint (entre 0,1 et 1,1). L'étendue des valeurs est aussi très similaire et compris entre 1,1 et 2,3 avec une exception pour l'étude de HIRIROGLOU et al (1992) qui présente un écart-type très faible de 0,03 mg/dl. Pour cet intervalle, nos valeurs sont très proches de celles du LDA 19 et de LEE et al (1978).

On peut expliquer cette relative similarité par le système de régulation phosphocalcique très rapide et efficace. De même pour le magnésium, l'absorption et l'excrétion permettent une régulation assez fine de cet analyte.

3.4.2. Valeurs de référence et valeur seuil des oligo-éléments

Les figures suivantes illustrent pour les différences sources citées dans la partie 1, les seuils ou les intervalles de référence définis.

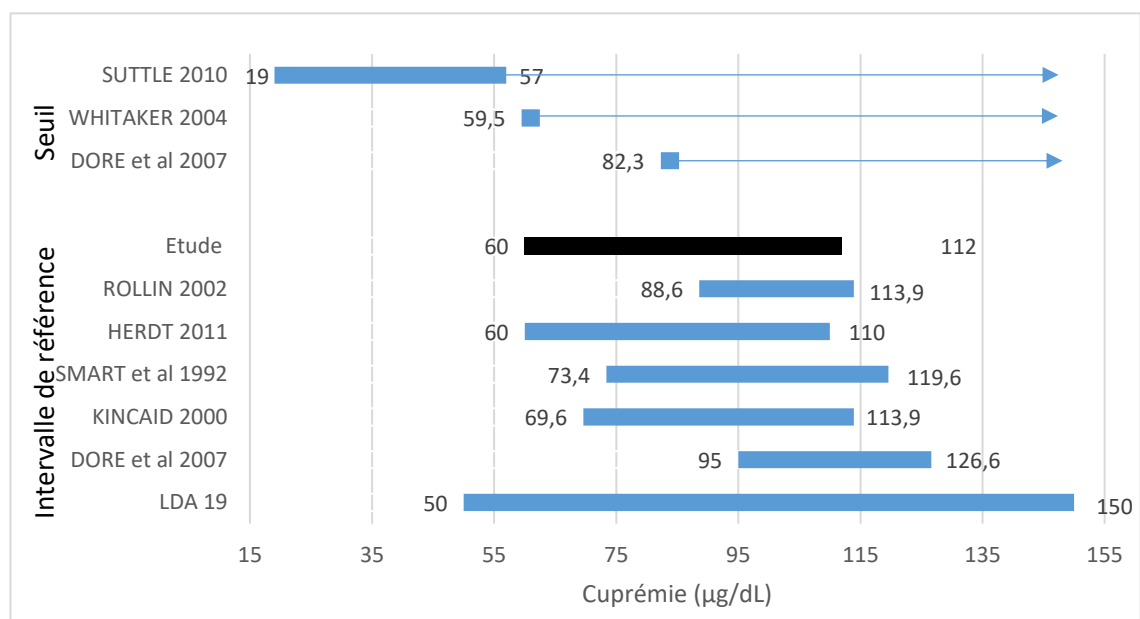


Figure 35 : Comparaison des différentes valeurs de cuprémie

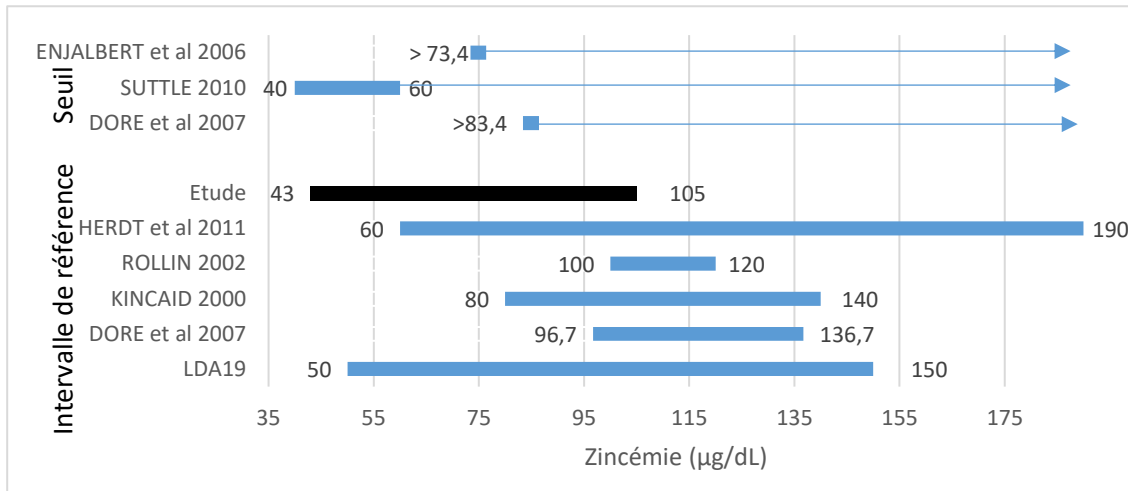


Figure 36 : Comparaison des différentes valeurs de zincémie

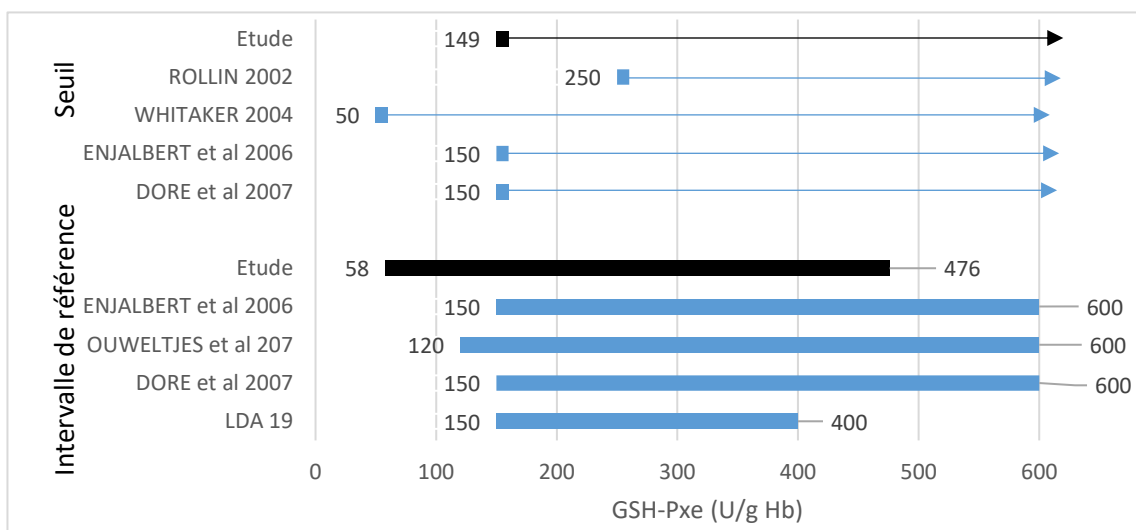


Figure 37 : Comparaison des valeurs de GSH-Pxe

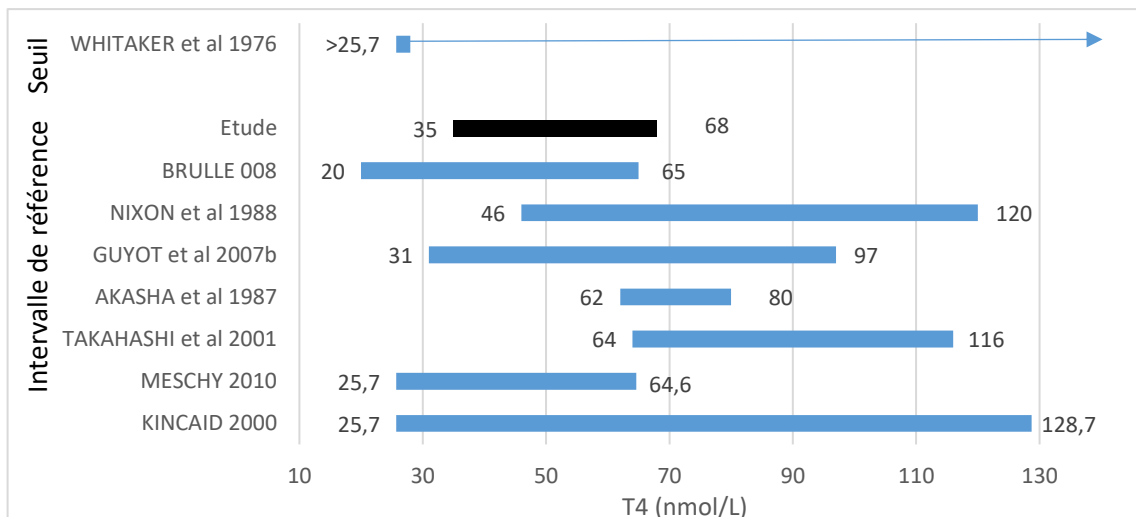


Figure 38 : Comparaison des valeurs de T4

Parmi ces différentes sources, peu d'entre elles indiquent avec précision les méthodes de sélection des animaux et d'analyse ainsi que les critères utilisés pour leur choix.

Selon DORÉ et al (2007), HERDT et al 2011 et NIXON et al (1988), les intervalles de référence ont été déterminés respectivement en utilisant moyenne plus ou moins deux écarts-type, 1,96 écart-type et les dixième et quatre-vingt dixièmes percentiles. Les seuils définis sont le plus souvent des seuils en dessous desquels une carence avec signe clinique peut apparaître mais aucune donnée n'est précisée sur la méthode de détermination. Pour plusieurs études (BRULLE 2008, DORÉ et al 2007, ENJALBERT et al 2006, HERDT et al 2011, ROLLIN 2002, SMART et al 1992), les auteurs ont utilisé des données précédemment établies par un laboratoire ou une étude précédente et ont testé ou modifiés ces valeurs. La méthode d'analyse utilisée par DORÉ et al (2007) est la spectrophotométrie d'absorption atomique (cuivre et zinc) ou moléculaire (GSH-Pxe) tandis que HERDT et al (2011) utilisent la technique ICP/MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry).

Ainsi pour la cuprémie, l'intervalle de référence déterminé dans notre étude a une étendue assez similaire à celles des autres sources exceptés les intervalles définis par le LDA 19 (plus grand) et ROLLIN (2002) (plus petit). Notre intervalle est assez proche des intervalles obtenus par HERDT (2011), KINCAID (2000) et SMART et al (1992). Aucune valeur seuil n'a pu être déterminée dans notre étude.

Pour la zincémie, l'intervalle de référence est nettement inférieur à ceux retrouvés dans la bibliographie et à celui du LDA 19. Cependant, les intervalles cités sont tous assez différents les uns des autres contrairement à ceux de la cuprémie et de la GSH-Pxe qui utilisent les mêmes sources. En effet, la valeur basse est comprise entre 50 et 100 µg/dl, tandis que la valeur haute se situe entre 120 et 190 µg/dl selon les sources. On peut supposer que la méthode d'analyse de la zincémie peut être différente parmi ces sources et impacter directement les valeurs de référence.

L'intervalle de référence de la GSH-Pxe est similaire à ceux de la littérature même si la valeur basse de notre intervalle y est inférieure de 50 unités en moyenne.

La valeur seuil pourrait ainsi ne pas être utilisable puisqu'aucune autre valeur seuil n'a pu être établie. Cependant, celle-ci correspond aux valeurs déterminées par deux sources différentes.

De plus, on peut observer qu'un des seuils se rapproche de la limite inférieure de notre intervalle. Ainsi, la distribution des valeurs de GSH-Pxe des populations à statut marginal et adéquat sont trop proches pour pouvoir les différencier.

Les intervalles de référence de la T4 déterminés par AKASHA et al (1987) et TAKAHASHI et al (2001) sont nettement supérieurs aux autres. Cependant, les individus testés dans l'étude de TAKAHASHI et al (2001) sont des veaux (18 vaches laitières pour AKASHA et al (1987)). Les autres intervalles sont plus similaires à celui de notre étude même si la valeur haute est parfois beaucoup plus élevée.

CONCLUSION

Pour chaque analyseur et pour chaque groupe d'individus bien caractérisés, un intervalle de référence devrait être établie. Les recommandations internationales de l'IFCC-CLSI décrivent une méthode permettant de créer de nouveaux intervalles de référence mais aussi de définir des seuils décisionnels.

Cette étude a été conduite sur 180 vaches limousines élevées dans le département de la Corrèze. Elle a pour objectif la détermination d'intervalles de référence pour des dosages sanguins en minéraux majeurs et oligo-éléments. Ainsi, la calcémie, la magnésémie, la phosphatémie mais aussi la cuprémie, la zincémie, la GSH-Pxe et la T4 ont été dosées par le laboratoire d'analyse de la Corrèze. Les prélèvements sanguins ont été réalisés durant les mois de mars et avril 2016 sur un échantillon de bovins issus d'élevages dont les dosages en minéraux et oligo-éléments ne sont pas facteurs limitants des performances de croissance, de reproduction et sanitaire.

De plus, un seuil décisionnel a pu être mis en évidence pour le dosage de la GSH-Pxe en comparant nos valeurs à celles d'un échantillon « avec problématique ». Ce dernier est issu des prélèvements réalisés par le Groupement de défense sanitaire de la Corrèze, organisme à l'initiative de cette étude, entre octobre 2014 et septembre 2016. Les élevages concernés ont présenté une problématique de troupeau qui a motivé les analyses. Des valeurs seuils pour les autres oligo-éléments n'ont pas pu être mises en évidence avec ces échantillons. En effet, les populations sont trop similaires pour établir un seuil opérationnel.

Même si des biais dans notre étude ont pu être mis en évidence, les intervalles de référence définies sont cohérents avec la littérature. Ainsi, ces intervalles pourront être utilisés par le laboratoire et le GDS. Une étude complémentaire sur la population « avec problématique » pourrait permettre de déterminer des seuils opérationnels.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ACHARD D.T. (2005). Exploration des affections hépatiques chez la vache laitière. Thèse doctorat vétérinaire, Nantes, pp. 104.

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

ANDERSON P.H., BERETT S., PATTERSON D.S.P. (1978). GPX activity in erythrocytes and muscles of cattle and its relationship to Se in Britain. *Journal of Comparative Pathology*, Vol. 88, pp. 181 – 187.

ARNAUDIES O. (2009). Hormones thyroïdiennes chez les bovins : variations physiologiques et relation avec l'iode et le sélénium. Thèse doctorat vétérinaire, Toulouse 3, pp. 92.

AUZA N. (1983). Le cuivre chez les ruminants : une revue. *Ann Rech Vet.*,14, 1, pp. 21–37.

BEGUIN J.M., SILIART B., MARTIN M. (2006). Mesure du statut iodé et oligo-éléments des vaches laitières complémentées en minéraux. *Renc. Rech. Ruminants*, Vol.13, pp. 126.

BELVEZE J., LAFON B. (2012). Performances des élevages Bovins Croissance. Les conférences de l'institut de l'élevage, 3 octobre 2012, Cournon d'Auvergne, pp. 44.

BIDE R.W. (1978). Metabolic profile of beef cattle. The littérature contains many studies and a great deal of data. *Canadian Veterinary Journal*, Vol. 19, pp. 344 – 345.

BRULLE L. (2008). Diagnostic des carences en oligo-éléments chez les bovins. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard Lyon 1, pp.142.

CARLSTROM G., JONSSON G. (1979). An evaluation of selenium status of cattle in Sweden by means of glutathion peroxydase. *Swedish Journal of Agricultural Reserch*, Vol. 9, pp. 43 -46.

CHAPPUIS P. (1991). Les oligo-éléments en médecine et biologie. Editions Lavoisier, Paris, p. 652. ISBN 978-2-85206-714-1.

CHAUVAUX G., LOMBA F., FUMIERE I., BIENFET V. (1977). Appréciation du niveau du sélénium sanguin par le dosage de la glutathion peroxydase. *Annales de Médecine Vétérinaire*, Vol. 121, pp. 11-115.

CHURCH T.L., BRUNER R.R., JANZEN E.D. (1978). A partial metabolic profile in a beef cow herd in which clinical hypocalcemia occurred. *Canadian Veterinary Journal*, Vol. 19, pp. 110-112

DELACOUR H., SERVONNET A., PERROT A., VIGEZZI J.F., RAMIREZ J.M. (2005). La courbe ROC (receiver operating characteristic) : principes et principales applications en biologie clinique. *Annales de Biologie Clinique*, Vol. 63, n°2, pp. 45-54.

DORÉ C., LACOURT A., PRODHOMME C., CORNILLEAU E. (2007). Cartographie des dosages plasmatiques d'oligo-éléments chez les bovins ; Contribution d'un laboratoire de routine : le LDA 35. *Bulletin des GTV* 38, pp. 37 – 43.

DUCREUX P. (2003). Le sélénium chez les bovins : rôles biologiques et manifestations de carences. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard Lyon 1, pp.152.

ENJALBERT F., LEBRETON P., SALAT O. (2006). Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds : retrospective study. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, Vol. 90, n ° 11-12, pp. 459-466.

FRIEDRICHS K.R., HARR K.E., FREEMAN K.P., SZLADOVITS B., WALTON R.M., BARNHART K.F., BLANCO-CHAVEZ J. et AMERICAN SOCIETY FOR VETERINARY CLINICAL PATHOLOGY (2012). ASVCP reference interval guidelines : determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Veterinary Clinical Pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology*, Vol. 41, n°4, pp. 441-453.

GEFFRÉ A., FRIEDRICHS K., HARR K., CONCORDET D., TRUMEL C. et BRAUN J.P. (2009). Reference values: a review. *Veterinary clinical pathology*, Vol. 38, n°3, pp. 288–298.

GUYOT H., ROLLIN F. (2007a). Le diagnostic des carences en Iode et Sélénium chez les bovins. In : *Annales de Médecine Vétérinaire*. Université de Liège. Pp. 166–191.

GUYOT H. (2008). Contribution au diagnostic et à la correction des carences en iode et sélénium chez les bovins. Thèse doctorat vétérinaire, Liège, pp. 125.

GUYOT H., SULON J., BECKERS J.F., CLOSSET J., LEBRETON P., ALVES DE OLIVEIRA L., ROLLIN F. (2007b). Development and validation of a radioimmunoassay for thyrotropin in cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, Vol. 19, pp. 643-651.

HERDT T.H. (2000). Variability characteristics and test selection in herd-level nutritional and metabolic profile testing. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, Vol. 16, n°2, pp. 387-403.

HERDT T.H., HOFF B. (2011). The Use of Blood Analysis to Evaluate Trace Mineral Status in Ruminant Livestock. *Veterinary Clinics of North America : Food Animal Practice*, Vol. 27, n° 2, pp. 255-283.

HIRIROGLOU M., IVAN M., PROULX J.G., DAVICCO M.J., COXAM V., BARLET J.P. (1992). Plasma 1,25-dihydroxyvitamin D, insulin-like growth factor-I, calcium, magnesium and phosphorus concentrations in pregnant beef cows and calves from a herd with a known history of congenital joint laxity and dwarfism. *Research In Veterinary Science*, Vol. 56, pp. 32-37.

KATAYEV A., BALCIZA C., DAVID W. (2010). Establishing reference intervals for clinical laboratory test results : Is there a better way ?. *American Journal of Clinical Pathology*, Vol. 133, pp. 180 – 186.

KINCAID R.L. (2000). Assessment of trace mineral status of ruminants : A review. *Journal of Animal Science*, Vol. 77, n° E-Suppl, pp. 1–10.

LAGER K. et JORDAN E. (2012). The metabolic profile for the modern transition dairy cow. In : *Mid-South Ruminant Nutrition Conference, 2012, Grapevine, Texas*, pp. 9–16.

LAPORTE URIBE J.A. (2005). Studies of magnesium metabolism in ruminants : a comparison of sheep and cattle. Thèse université. Université De Lincoln, pp. 140.

LEE A.J., TWARDOCK A.R., BUBAR R.H. HALL J.E., DAVIS C.L. (1978). Blood metabolic profiles : their use and relation to nutritional status of dairy cows. *Journal of Dairy Sciences*, Vol. 61, pp. 1652 – 1670.

MACRAE A.I., WHITAKER D.A., BURROUGH E., DOWELL A., KELLY J.M. (2006). Use of metabolic profiles for the assessment of dietary adequacy in UK dairy herds. *Veterinary Record. Journal of the British Veterinary Association*, Vol. 159, n° 20.

MARMONT A. (2013). Intérêts de la mesure du Ph urinaire et du dosage des macroéléments urinaires chez la vache : états des lieux des connaissances et étude de cas. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université Claude Bernard Lyon 1, pp. 70.

MC DOWELL L.R. (1992). Minerals in Animal and Human Nutrition, Second ed. Elsevier, The Netherlands, pp. 644. ISBN 978-0-444-51367-0.

MESCHY F. (2010). Nutrition minérale des ruminants. Editions Quae. Savoir-faire, pp. 208. ISBN 978-2-7592-0508-0.

MUSNIER L. (2008). Bovins : bien évaluer les carences en oligo-éléments. La dépêche vétérinaire, n°976.

NIXON D.A., AKASHA M.A., ANDERSON R.R. (1988). Free and total thyroid hormones in serum of Holstein cows. Journal of Dairy Science, Vol. 71, pp. 1152-1160.

NOUREDDINE J. (2010). Effet de la source du sélénium sur le statut du sélénium, de la GSH-Px et sur le système immunitaire des bovins de boucherie. Maître des Sciences en sciences vétérinaire, Université de Montréal, pp. 123.

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

PAVLATA L., SLOSARKOVA S., FLEISCHER P., PECHOVA A. (2005). Effects of increased iodine supply on the selenium status of kids. Veterinary Medicine, Vol. 50, n°5, pp. 186-194.

PEHRSON B., ORTMAN K., MADJID N., TRAFIKOWSKA U. (1999). 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. Journal of Animal Science, Vol. 77, pp. 3371–3376.

PIAO DA C., WANG T., LEE J.S., VEGA R.S., KANG S.K., CHOI Y.J. et LEE H.G. (2015). Determination of reference intervals for metabolic profile of Hanwoo cows at early, middle and late gestation periods. Journal of Animal Science and Biotechnology, Vol. 18, pp. 6-9.

ROCHER C. (2014). Particularités des intervalles de référence de la lipase, de la lipase spécifique pancréatique canine (CPLI) et de l'immunoréactivité de la trypsine et du

trypsinogène (TLI) chez le dogue de Bordeaux. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse 3, pp. 106.

ROLLIN F. (2002). Mise en évidence des carences en oligo-éléments dans les exploitations bovines. Congresso de Ciências Veterinárias ; Proceedings of the Veterinary Sciences Congress, 2002, SPCV, Oeiras, 10-12 Out., pp. 95-106. Disponible à l'adresse : <http://horta.0catch.com/congressospcv/7.pdf>

ROUSSEAU F. (2004). Le bilan alimentaire cations-anions (BACA) dans la fièvre vitulaire. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Toulouse 3, pp. 75.

SHOLT R.W., HUTCHINSON L.J. (1979). Distribution of glutathion-peroxydase activity and selenium in the blood of dairy cows. *American Journal of Veterinary Research*, Vol. 40, pp. 245-249.

SLAVÍK P., ILLEK J., ZELENÝ T. (2006). Zinc and Copper Status of Beef Cattle in the Šumava Region, Czech Republic. *Acta Veterinaria Brno*, Vol. 75, n° 4, pp. 485-488.

SMART M.E., CYMBALUK N.F., CHRISTENSEN D.A. (1992). A review of copper status of cattle in Canada and recommendations for supplementation. *Canadian Veterinary Journal*, Vol. 33, n° 3, pp. 163.

SUTTLE N.F. (2010). Mineral nutrition of livestock. 4th ed. Wallingford, Oxfordshire, UK ; Cambridge, MA : CABI, pp. 587. ISBN 978-1-84593-472-9.

TAKAHASHI K., TAKAHASHI E., DUCUSIN R.J.T., TANABE S., UZUKA Y., SARASHINA T. (2001). Changes in serum thyroid hormones levels in newborn calves as a diagnostic index of endemic goiter. *Journal of Veterinary Medical Science*, Vol. 63, pp. 175-178.

WHITAKER D.A. (2004). Metabolic profiles. In *Bovine medicine diseases and Husbandry of cattle*, Second Edition. Blackwell Science, pp. 804 -819. ISBN 0-632-05596-0.

WILSON T.M., JUDSON G.J. (1976). Glutathion peroxydase activity in bovine and ovine erythrocytes in relation to blood selenium concentration. *British Veterinary Journal*, Vol. 132, pp. 428 – 434.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, Francis ENJALBERT, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **RAYNAUD Lisa** intitulée « **Statut minéral des vaches de race limousine : détermination des intervalles de référence et seuils de décision.** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 22 novembre 2016
Professeur Francis ENJALBERT
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITEIN



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Jean PARINAUD



Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL

Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
Vice-Présidente de la CFVU



Régine ANDRE-OBRECHT

Melle RAYNAUD Lisa
a été admis(e) sur concours en : 2011
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 25/06/2015
a validé son année d'approfondissement le : 03/11/2016
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Toulouse, 2016

NOM : RAYNAUD

PRENOM : LISA

TITRE : Statut minéral des vaches de race limousine : détermination des intervalles de référence et seuils de décision

RESUME :

Initiée par le Groupement Corrèzien de Défense Sanitaire, cette étude a pour objectif la mise à jour des valeurs de référence des dosages sanguins de trois minéraux majeurs : calcium, phosphore, magnésium et quatre oligo-éléments (ou leur marqueur) : cuivre, zinc, sélénium (glutathion peroxydase érythrocytaire) et iode (thyroxine). L'échantillon de référence est constitué de 180 vaches de race limousine dans le département de la Corrèze. Les valeurs obtenues sont ainsi adaptées à la population cible et aux méthodes d'analyse du laboratoire départementale d'analyse de la Corrèze. Des intervalles de référence cohérents avec la littérature ont pu être obtenus en respectant au mieux les recommandations internationales. Un seuil de décision a pu être mis en évidence pour la glutathion peroxydase érythrocytaire à 149 U/g d'hémoglobine. Celui-ci a été déterminé en comparant la population de référence à une population avec problématique testée les années précédentes.

MOTS-CLES : intervalle de référence, seuil décisionnel, minéraux, oligo-éléments, vache, limousine.

TITLE : Mineral statut of Limousine cows : determination of reference intervals and decision thresholds

ABSTRACT :

The aim of this study was to update blood reference intervals for three major minerals : calcium, phosphorus, magnesium and four trace elements (or their marker) : copper, zinc, selenium (erythrocyte glutathione peroxidase activity) and iodine (thyroxine). The reference sample consists of 180 limousine cows in Corrèze. Obtained values are adapted to the target population and to the analysis methods of Corrèze departemental laboratory of analysis. Reference intervals have been obtained in accordance with international recommendations. A decision threshold has been identified for erythrocyte glutathione peroxidase at 149 U/g of hemoglobin. This was determined by comparing the population with a problematic population tested in the last few years.

KEY WORDS : reference intervals, decision threshold, minerals, trace element, limousine cow