



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 : 5960](http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints ID : 5960)

To cite this version :

Villa, Laure. *Le statut thyroïdien du chien sain : étude expérimentale*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2012, 132 p.

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

LE STATUT THYROIDIEN DU CHIEN SAIN

Etude expérimentale

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

VILLA Laure

Née, le 7 août 1986 à Cosne-cours-sur-Loire (58)

Directeur de thèse : Mme Lydie BRET-BENNIS

JURY

PRESIDENT :

M. Philippe CARON

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEURS :

Mme BRET-BENNIS Lydie
Mme PRIYMENKO Nathalie

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

Mme SASCO Annie
Mme ROUCH-BUCK Petra

Docteur en Médecine (INSERM), MD, DrPH
Docteur Vétérinaire IRPH

**Ministère de l'Agriculture et de la Pêche
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : M. A. MILON

Directeurs honoraires M. G. VAN HAVERBEKE.
M. P. DESNOYERS

Professeurs honoraires :

M. L. FALIU	M. J. CHANTAL	M. BODIN ROZAT DE MENDRES NEGRE
M. C. LABIE	M. JF. GUELFY	M. DORCHIES
M. C. PAVAUX	M. EECKHOUTTE	
M. F. LESCURE	M. D.GRIESS	
M. A. RICO	M. CABANIE	
M. A. CAZIEUX	M. DARRE	
Mme V. BURGAT	M. HENROTEAUX	

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. AUTEFAGE André, *Pathologie chirurgicale*
M. BRAUN Jean-Pierre, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. CORPET Denis, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
M. ENJALBERT Francis, *Alimentation*
M. EUZEBY Jean, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. FRANC Michel, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. MARTINEAU Guy, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
M. PETIT Claude, *Pharmacie et Toxicologie*
M. REGNIER Alain, *Physiopathologie oculaire*
M. SAUTET Jean, *Anatomie*
M. TOUTAIN Pierre-Louis, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^o CLASSE

M. BERTHELOT Xavier, *Pathologie de la Reproduction*
Mme CLAUW Martine, *Pharmacie-Toxicologie*
M. CONCORDET Didier, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
M. DELVERDIER Maxence, *Anatomie Pathologique*
M. SCHELCHER François, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 2^o CLASSE

Mme BENARD Geneviève, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, *Pathologie de la Reproduction*
M. DUCOS Alain, *Zootchnie*
M. DUCOS DE LAHITTE Jacques, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie des ruminants*
Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. GUERRE Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme HAGEN-PICARD Nicole, *Pathologie de la Reproduction*
M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*
M. LIGNEREUX Yves, *Anatomie*
M. PICAUVET Dominique, *Pathologie infectieuse*
M. SANS Pierre, *Productions animales*

- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
M **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
M **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants.*
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme **PRIYENKO Nathalie**, *Alimentation*
Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*
M. **DASTE Thomas**, *Urgences-soins intensifs*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie*
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*
Mlle **TREVENNEC Karen**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
M **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur Philippe CARON

Professeur des Universités

Praticien Hospitalier

Endocrinologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,
Avec toute ma gratitude, hommages respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

A Madame le Docteur Lydie BRET-BENNIS

Maitre de conférences a l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Physique et Chimie biologiques et médicales

Qui nous a plus que fortement guidés dans l'élaboration de ce travail et permis de le réaliser. Merci pour votre disponibilité, votre gentillesse, vos nombreux conseils, et tous ces fous rires...

Très sincères remerciements

A Madame le Docteur Nathalie Priymenko

Maitre de conférences a l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Alimentation

Qui nous a fait le plaisir et l'honneur de participer à notre jury de thèse et qui nous a également beaucoup aidés dans la réalisation de ce travail.

Merci pour votre écoute et votre générosité

Très sincères remerciements.

A NOS INVITES

A Madame le Docteur Annie Sasco

Directrice de recherche Inserm, Médecin, Epidémiologie pour la prévention du cancer, Equipe VIH, cancer et santé globale

Inserm U397-Epidémiologie et biostatistiques

Université Bordeaux Segalon

Merci pour l'intérêt que vous portez à notre travail

A Madame le Docteur Petra Rouch-Buck

Docteur en médecine vétérinaire IRPH

Merci pour votre aide précieuse et votre implication dans ce travail

A tous les vétérinaires qui m'ont appris mon métier et plus particulièrement :

A la clinique vétérinaire de l'écluse à Vire dans le Calvados, pour votre accueil, votre sympathie, toutes ces choses apprises à vos côtés, même si Olivier est fortement déçu que ma thèse ne concerne pas les bovins...

A l'institut pasteur de Tunis et plus particulièrement au Dr. Ghram et à Mme Latifa : pour votre accueil, pour nous avoir fait visiter la vraie Tunisie, pour ce stage fantastique et ces repas gargantuesques !

A la clinique des docteurs Giardino et Jannet à Istres, pour m'avoir offert la chance d'effectuer mon premier assistantat chez eux.

Et enfin au Dr. Marambat, à sa femme Jeanne, à Monique et à Murielle : pour tous ce que vous m'apprenez au jour le jour depuis ces quelques mois, pour votre gentillesse, votre accueil, et parce que vive le Couserans et la tour d'argent!

Au laboratoire de virologie de l'Ecole Nationale vétérinaire de Toulouse, pour m'avoir hébergé pendant les dosages et m'avoir aidé à résoudre tous ces petits problèmes techniques, et ce même en plein mois d'Août.

Au laboratoire vétérinaire de l'école de Nantes, pour nous avoir aidé dans nos dosages.



A ma mère,

Pour ton amour, ta gentillesse et ton courage, pour tous ces bons moments, merci d'avoir fait de moi ce que je suis.

A mon père,

Pour ton amour, ton soutien dans toutes les situations bonnes comme mauvaises, tes nombreux conseils qui se révèlent toujours utiles même si je n'y crois pas trop au départ...
Pour toutes ces discussions au coin du feu, en Bourgogne comme en PACA.

A mon affreuse marâtre,

Pour ton aide, ton soutien, tes mots justes et tes conseils de fille, parce que tu écopes comme personne et qu'un jour on finira par découvrir ce qui se cache au « Matiti »...

A ma sœur Véronique et toute sa nouvelle petite famille.

A ma sœur Marie,

Parce qu'on en a vécu toutes les deux, parce que tu me manques énormément et que je pense à toi tous les jours.

A ma sœur Camille, dit « la blonde »,

Pour la blonde attitude, les discussions interminables et classées confidentielles, le shopping, la drague et les conseils matrimoniaux. Parce que je suis heureuse et fière que tu sois ma petite sœur.

A mon frère Loulou,

Parce qu'on ne t'a pas épargné, pour ton accent bourguignon si sexy, pour ta grandeur bien trop grande, pour nos footings où tu me mets la pâtée et pour ton déhanché digne de celui de Shakira.

A Rosinette, dit « la rousse »,

Pour tous ces fous rires, ces cours de danse dans la véranda et tes coiffures de star.

Je vous aime



A la mémoire de mon arrière grand-mère, Mamie Giana,

Pour toutes ces histoires que tu nous racontais, pour ta force et ton courage.

A ma grand-mère, « Mamie de Lyon »,

Pour tous ces mercredis midi endiablés de politique et de nettoyages de cuivres, pour toutes ces ballades au parc et ces ramassages de graines de Ginkgo qui puent, pour toutes les fois où j'ai essayé de t'expliquer comment marchait l'ordinateur, pour ton soutien et ta présence à mes côtés pendant toutes ces années. Tu es la mamie la plus exceptionnelle du monde.

A la mémoire de Mamette,

Pour ces après midi à Théoule à éplucher les albums photos de nos parents quand ils étaient plus jeunes.

A Pat,

Pour toutes ces magnifiques vacances d'été que tu nous a permis de vivre dans la maison de Théoule

A ma grande tante Mauricette,

Pour ces weekends à Salon qui m'ont permis de bien déstresser quand je travaillais à Istres, mais aussi pour toutes ces vacances passées chez toi et pour l'astuce que tu m'as donnée et qui me permet maintenant de ne plus jamais casser une biscotte quand je mets du beurre dessus.

A Claudine et Elodie, pour toutes ces supers vacances en Bretagne

A mon parrain, ma marraine et toute leur famille respective, merci de votre soutien et de votre aide.

A ma Tante Anne Leroy, ses enfants et Alain,

Pour m'avoir hébergé et sensiblement déstressé pendant mes oraux de concours, pour m'avoir changé les idées dans ce super restaurant mexicain à Paris.

A tous mes cousins et cousines, aussi nombreux, bien trop nombreux, soient ils, et plus particulièrement à Pauline, Juliette, Jean-Philippe et Flore, Florence et Nicolas.



A Clément,

A cette façon magique que tu as de m'aimer, de me soutenir, de me supporter et de me rendre heureuse tous les jours depuis deux ans, à tous ces moments géniaux passés ensemble et à tous ceux qui viendront, parce que je ne peux pas me passer de toi. Je t'aime.



A Pauline ma Co-thèse,

Pour ces ballades dans les élevages, ces après-midi prises de sang et surtout pour ton aide et tout ton travail sur cette thèse.

A mes amis de prépa, que je continue à vous voir ou qu'on se soit éloigné en s'éparpillant aux quatre coins de la France, vous avez tous été là pour moi à un moment ou à un autre :

A Jeannou, pour nos 2000km avec Jean-Jacques, pour les vacances à Coulans, pour les baignades à 8°C, les pétages de câbles sur Banana split

A Momo, pour notre voyage en Hollande chez le Scappa, pour nos petits weekends à Viriat, pour ta musique sur mes chansons, pour la mêlée « groupe de colles »

A JS, à la rock n roll attitude, parce que tu es sûrement le seul chercheur bluesman et bogoss français, à toutes nos discussions philosophiques

A Alex, au parquet flottant et aux booms de Lyon, à notre rencontre sans précédent au Riverside

A Jo, à phloème la tortue, à nos soirées révisions, merci d'avoir toujours été là, dans les bons moments comme dans les mauvais

A Coralie, à nos soirées à Lyon, à Nîmes et ailleurs

A Zozo, à ton courage, ta volonté, à notre amitié qui n'a que faire des kilomètres.

A Emilie, à l'internat et les pauses « clopes + citations de philo ».

A Marion, aux mojitos et à toutes ces soirées déguisées.

A Tonio, pour ta sympathie et tes bons conseils.

A Mathieu, pour ta joie de vivre, tes pseudos Facebook incompréhensibles et ton intelligence surhumaine.



Aux véto :

A Marie, pour ton amitié inestimable, pour tout ce que tu as fait pour moi, pour notre futur voyage à Tequila-Disney, pour notre stage en Tunisie, pour toutes les fois où j'ai frappé à ta porte, pour ta capacité à me déstresser et à me calmer, pour tes conseils, pour avoir réussi à me faire aimer le céleri, pour tout ça et pour bien d'autres choses merci ma poulette.

A Clémence, à nos révisions, nos discussions jusqu'à point d'heure, parce qu'on a revisité U2 et Jet, à notre discours mythique à la remise des diplômes, aux schtroumfs, et parce que « de toute façon il ressemblait à un clochard ».

A Angel, dit « la cougar », à nos cafés/lessives, nos sorties en ville, nos plans drague pourris et nos nuits d'ivresse, à tous les poulots que tu as traumatisé. Tu nous manque à Toulouse.

A Popo, à nos petits apéros en tête à tête, à nos performances sportives, à nos après-midi piscine/boulot et à ta gigantesque gentillesse.

A Marion Jelinek, à ton rire tonitruant

A Pauline Lafforgue, parce que sans toi je serais la seule warrior de fin de boom, à tes brushings trop longs, ton rire et tes salades.

A Claire, à la rhubarbe, au tapioca et aux raviolis, à notre Zizou véto et notre presque victoire au premier tournoi de beer-pong.

A Marion Zbic, à nos pauses thé, au piston, au percutos obligatoire, à nos boom dehors et parce que tu es MA poulotte.

A Deb, pour tous ces bons moments passés avec toi en première année.

A Vincent, pour le pays, la daube, le pastis, les tours en pointu, la pêche, les sauvetages aux arènes, les voyages dans Edmond, et pour avoir été mon grand-frère de l'ENVT.

A Mathieu, aux coups de fils paniqués de rempla et pour toutes ces fois où tu m'as bien aidée, à ton don pour la récup et le bricolage, à notre amitié.

A Romain, à nos cafés en bas des bâtiments et pour m'avoir appris tant de choses et coaché aux cliniques.

A Lulu, parce qu'on pense tous à toi, même si tu te ballade aux quatre coins du monde depuis 2 ans.

A Thomas et Ninoune, pour toutes ces soirées et ces bons moments passés ensemble.

A tous mes docteurs, et plus particulièrement à Gazou.

A mes premiers poulots : Bla, Charles, Alix (oui presque), Alexia, Jeanne, Chouin, Chole, PE, TPM, Ragotte, Alma, Gus, Thibaut, Carole, Oliv, Claire, Marion, Soai, Charlotte, Aude, Pauline, Doui, Amandine : je vous adore !

Au Bloc : Céline, Mathieu, Bastien, Alexis : merci pour votre accueil, votre gentillesse, les après-midi à cuisiner et surtout la vaisselle.

A mes deuxièmes poulots : Jennifer, Lulu, Quentin, Sandra, Maëlle et Bibou.

A mes danseuses : Crakers, Florence, Agnes, Elodie et Solène.

A la mémoire de Lucien Beychelier, pour avoir été le grand-père de tous les élèves de l'école, pour tes « zinzins » et tes « ptits café ». Tu nous manque.

A Colette, bonne retraite !

A mes plus vieux amis : Manue, Isa, Med, Geff, Math et la famille Glomond.

A Katia, Jean-luc et Noah : pour votre accueil, votre générosité et votre gentillesse.

A Grouillote, Tatouille et Mykeul

A Pinsout, Etna, Mormine, Chaussette (j'ai hésité), Eden, Corona, Kill, Djazzi et Bibou

A Jean-Charles le ukulélé

A ma Brenda

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ABREVIATIONS.....	p.17
TABLE DES ILLUSTRATIONS	p.19
INTRODUCTION	p.21
PARTIE I :	p.23
LE STATUT THYROÏDIEN DU CHIEN : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. Présentation de la glande thyroïde et structure des hormones thyroïdiennes iodées	p.24
II. Production et devenir des hormones thyroïdiennes iodées	p.27
1) Précurseurs et synthèse des hormones thyroïdiennes iodées	p.27
2) Transport des hormones thyroïdiennes iodées	p.29
3) Métabolisme et élimination des hormones thyroïdiennes iodées	p.30
III. Régulation des hormones thyroïdiennes iodées.....	p.31
1) Régulation par l'axe thyroïdarien	p.31
2) Variation de la désiodation périphérique	p.34
3) Régulation par la concentration sanguine d'iode	p.35
4) Autres facteurs de régulation	p.35
a. Innervation, nyctémère et saisons	
b. Interférences hormonales	
c. Interférences médicamenteuses	
d. Facteurs alimentaires	
e. Facteurs génétiques	
f. Activité physique	
g. Obésité	

IV. Principes d'évaluation du statut thyroïdien chez le chien	p.46
1) Valeurs usuelles des concentrations des hormones thyroïdiennes iodées	p. 46
2) Dosage des formes totales ou libres des hormones thyroïdiennes iodées	p.47
3) Dosage de la TSH canine	p.50
V. Indices de régulation	p.51

PARTIE II :	p.53
--------------------------	------

**ETUDE EXPERIMENTALE DU STATUT THYROIDIEN DU CHIEN
APPAREMMENT SAIN**

I. Matériel et méthode	p.54
1) Population des chiens étudiés et prélèvements sanguins	p.54
a. Critères utilisés	
b. Caractéristiques épidémiologiques de la population étudiée	
2) Analyses biochimiques	p.62
3) Analyses statistiques	p.63
II. Résultats	p.63
1) Qualités métrologiques des dosages biochimiques	p.63
a. Cas des dosages hormonaux	
b. Dosage des concentrations plasmatiques de triglycérides et de cholestérol	
2) Distribution des paramètres biochimiques dans la population canine	p.70
a. Répartition des valeurs	
b. Corrélations établies entre les différentes variables quantitatives	
3) Effets des facteurs épidémiologiques sur la distribution des paramètres biochimiques et thyroïdiens de la population étudiée de chiens sains	p.75
a. Sur le statut lipidique des chiens étudiés	
b. Sur le statut thyroïdien des chiens étudiés	
c. Sur les indices de régulation de la fonction thyroïdienne	
4) Etablissement de profils particuliers de la fonction thyroïdienne	p.83

III. Discussion	p.89
1) Caractéristiques épidémiologiques, biais éventuels, cas du groupe en surpoids	p. 89
2) Détermination du statu lipidique.....	p. 91
a. Valeurs usuelles de la triglycémie et de la cholestérolémie	
b. Effets des critères épidémiologiques sur la cholestérolémie et la triglycémie	
3) Détermination du statut thyroïdien et de sa régulation.....	p. 93
a. Valeurs usuelles des concentrations hormonales de l'axe thyroïdien (TT ₃ , FT ₄ et TSH)	
b. Valeurs biologiques des indices de régulation	
c. Interprétation des profils thyroïdiens établis	
d. Effets des critères épidémiologiques	
e. Relations entre statut thyroïdien et statut lipidique	
 CONCLUSION	 p.107
 BIBLIOGRAPHIE	 p.109
 ANNEXE 1	 p.121
Questionnaire rempli par les propriétaires et les éleveurs des 179 chiens étudiés	
ANNEXE 2	p.124
Notice descriptive du kit de dosage immunométrique de la TSH (Immulite canine TSH©, UK)	
ANNEXE 3	p.128
Notice descriptive du kit ELISA de dosage de la FT ₄ par compétition en phase solide (Calbiotech©, USA)	
ANNEXE 4	p.130
Notice descriptive du kit ELISA de dosage de la TT ₃ par compétition en phase solide (Calbiotech©, USA)	
ANNEXE 5	p.132
Présentation des deux trousse de dosage colorimétrique du cholestérol et des triglycérides (Respectivement Trousses Randox© CH3810 et TR38)	

TABLE DES ABREVIATIONS

AINS : Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens
AIS : Anti-inflammatoires Stéroïdiens
AMPc : Adénosine Mono Phosphate Cyclique
ATP : Adénosine Tri Phosphate
BCS : Body Condition Score
Chol : Cholestérolémie
CV : Coefficient de variation
DIT : Di-iodo-tyrosyl
DO : Densité optique
ELISA : Dosage Immuno-Enzymatique
FSH : Hormone Folliculo-Stimulante
FT₄ : Fraction libre de la T₄
FT_{4c} : Fraction libre de la T₄ divisée par 100
FT₃ : Fraction libre de la T₃
GABA : Acide Gamma Amino Butyrique
GH : Growth Hormone ou Hormone de croissance
HCG : Gonadotropine chorionique humaine
HDL : Lipoprotéine de haute densité
HTI : Hormones Thyroïdiennes Iodées
I₂ : Iode Minéral
I⁻ : Ion iodure
I_{BL} : Indice Bennett Like
IL₁ : Interleukine de type 1
IL₂ : Interleukine de type 2
INF γ : Interféron γ
I_{QL} : Indice Quick Like
IRMA : Dosage Immuno-Radiométrique
LH : Hormone de Lutéinisation
MIT : Mono-iodo-tyrosyl
Na⁺ : Ions sodium
p : p-value
PKA : Phospho Kinase AMPc dépendante

RIA : Dosage Radio-Immunologique
r : coefficient de corrélation
rT₃ : Reverse Tri-iodotyronine
SNC : système nerveux central
T₃ : Tri-iodothyronine ou 3,5,3'-tri-iodothyronine
T₄ : Tétrai-iodothyronine ou 3,5,3',5'- tétra-iodothyronine ou Thyroxine
TT₄ : T4 totale (fraction libre + fraction liée)
TT₃ : T3 totale (fraction libre + fraction liée)
TBG : Thyroid Binding Globulin
TBPA : Thyroid Binding Pro-Albumine
TG : Triglycérides
TMB : Tétraméthylbenzidine
TNF α : Facteur de nécrose tumorale
TRH : Thyrotropin Releasing Hormone
TSH : Thyroid Stimulating Hormone
cTSH : Thyroid Stimulating Hormone canine
UK : United Kingdom
USA : United States of America
VLDL : lipoprotéine de très basse densité
VU : valeur usuelle

TABLE DES ILLUSTRATIONS

TABLE DES FIGURES

FIGURE 1 : Glande thyroïde du chien, vue ventrale. (p.25)

FIGURE 2 : Coupe histologique de la thyroïde d'un chien sain, indication des follicules et de la colloïde. (p. 25)

FIGURE 3 : Structure des hormones thyroïdiennes iodées T_4 , T_3 et rT_3 . (p.26)

FIGURE 4 : Schématisation du transport de l'iode, de ses transformations et de ses régulations jusqu'aux thyrocytes. (p.26)

FIGURE 5 : Déroulement de la synthèse des hormones thyroïdiennes dans le thyrocyte et la colloïde. (p.28)

FIGURE 6 : Axe thyroïdienne et Régulation de la production des hormones thyroïdiennes iodées T_3 et T_4 . (p.32)

FIGURE 7 : Représentation schématique de la distribution des concentrations de TT_4 chez les chiens sains et hypothyroïdiens. (p.49)

TABLE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : Principaux critères de détermination du BCS (le Body Condition Score) par inspection visuelle chez le chien. (p.56)

TABLEAU 2 : Description de la population étudiée (179 chiens apparemment sains) en fonction des critères épidémiologiques retenus. (p.59-60)

TABLEAU 3 : Comparaison des caractéristiques épidémiologiques entre les chiens en surpoids et les chiens présentant un BCS normal. (p.61)

TABLEAU 4 : Variations intra-essais et inter-essais des dosages des concentrations plasmatiques de FT_4 et de TT_3 par ELISA par compétition (Calbiotech©) chez le chien apparemment sain. (p.65)

TABLEAU 5 : Recouvrement (%) entre les concentrations observées (Cobs) et les concentrations attendues (Catt) en TT_3 et FT_4 dosées par ELISA par compétition (Calbiotech©, USA) lors des épreuves de dilution et d'enrichissement en hormones. (p.67)

TABLEAU 6 : Recouvrement (%) entre les concentrations observées (Cobs) et les concentrations attendues (Catt) en TSH canine lors des épreuves de dilution et d'enrichissement en TSH. (p.67)

TABLEAU 7 : Qualités métrologiques des dosages du cholestérol (trousse Randox CH 3810 ©, UK) et des triglycérides (trousse Randox TR3823©, UK) données par le fabricant. (p.69)

TABLEAU 8 : Statistiques descriptives de la distribution des paramètres biochimiques et endocriniens étudiés chez les 179 chiens sains. (p.72)

TABLEAU 9 : Corrélations établies à l'aide du test de Pearson entre les paramètres biochimiques et endocriniens et certains facteurs épidémiologiques (BCS, âge). (p.74)

TABLEAU 10 : Influence des facteurs épidémiologiques (sexe, âge, taille, groupe racial, BCS, activité et type de nourriture) sur le statut lipidique (concentrations plasmatiques en triglycérides et cholestérol) des chiens sains de la population étudiée (n = 179), en nombre de chien (et en pourcentage de la population totale). (p.77)

TABLEAU 11 : Influence des facteurs épidémiologiques (sexe, âge, taille, groupe racial, BCS, activité et type de nourriture) sur le statut thyroïdien (concentrations plasmatiques en TT₃, FT₄ and TSH) chez les chiens sains de la population étudiée (n = 179). (p.79)

TABLEAU 12 : Influence des facteurs épidémiologiques (sexe, âge, taille, groupe racial, BCS, activité et type de nourriture) sur les indices reflétant la régulation de la sécrétion des HTI (TSH x FT_{4c}, TSH/FT_{4c}, I_{BL} and I_{QL}) chez les 179 chiens sains étudiés. (p.81)

TABLEAU 13 : Variations du statut thyroïdien et lipidique de 5 races prédominantes dans la population étudiée. (p.82)

TABLEAU 14 : Critères d'établissement de profils particuliers de la fonction thyroïdienne (en considérant au moins trois marqueurs endocriniens situés en dehors des valeurs seuils définies préalablement) au sein de la population étudiée de chiens sains (n = 179). (p.84)

TABLEAU 15 : Répartition des autres paramètres biochimiques (concentrations plasmatiques de TT₃, Triglycérides et cholestérol) dans les groupes de chiens sains présentant un profil particulier de la fonction thyroïdienne. (p.86)

TABLEAU 16 : Caractéristiques épidémiologiques des groupes de chiens sains présentant un profil particulier de la fonction thyroïdienne. (p.87)

TABLEAU 17 : Valeurs usuelles des concentrations circulantes de triglycérides, de cholestérol et des hormones de l'axe thyroïdienne chez le chien. (p.95)

INTRODUCTION

Le statut thyroïdien du chien se définit comme l'évaluation, à un instant donné, de l'état de fonctionnement de la glande thyroïde. Si ce statut n'est pas altéré, le chien est dit euthyroïdien. La principale altération du statut thyroïdien du chien correspond à une diminution du fonctionnement de la glande thyroïde : l'hypothyroïdisme. L'évaluation du statut thyroïdien est rendue possible par des dosages hormonaux dont les résultats doivent être interprétés avec justesse, en corrélation avec les caractères épidémiologiques de l'animal.

En médecine vétérinaire, l'hypothyroïdie (situation d'imprégnation insuffisante de l'organisme en hormones thyroïdiennes iodées) apparaît comme la principale dysendocrinie canine diagnostiquée à l'heure actuelle. Chez l'Homme, il semble que l'on observe aujourd'hui de nombreux cas de dysthyroïdies, et notamment d'hypothyroïdisme (concentration de TSH augmentée et concentration de T₄ dans les valeurs usuelles ou un peu abaissée, mais sans signe clinique). En effet, 3 à 8% de la population humaine présente un hypothyroïdisme (33, 112). De plus, les problèmes d'obésité chez le chien ont une fréquence accrue. Or, il est clairement montré en médecine humaine que l'hypothyroïdie est associée à une prise de poids et un engraissement (26, 62).

Il est donc intéressant d'étudier de près le statut thyroïdien du chien, animal domestique par excellence, afin de rechercher d'éventuels cas d'hypothyroïdisme dans cette espèce et également de démontrer une éventuelle relation entre un dysfonctionnement thyroïdien et un problème d'obésité.

Cette étude expérimentale a comme premier but celui d'évaluer le statut thyroïdien de chiens sains (n = 179) présentés en consultation de médecine préventive à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse ou de chiens sains provenant d'élevages de la région Toulousaine. Le deuxième but de cette étude est d'établir des liens possibles entre certains facteurs épidémiologiques et le statut thyroïdien, afin de pouvoir définir éventuellement des profils subcliniques d'hypothyroïdisme ou d'hyperthyroïdisme. Ainsi, dans ce travail, seront étudiés des facteurs biologiques comme l'âge, le sexe, la stérilisation, la race et le type racial, mais aussi des facteurs environnementaux tels que le style de vie, l'alimentation et l'activité physique.

Pour réaliser ce travail, il est nécessaire dans un premier temps de rappeler brièvement la structure des HTI, leur production et leurs principes de régulation.

PARTIE 1 : LE STATUT THYROIDIEN DU CHIEN
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Présentation de la glande thyroïde et structure des hormones thyroïdiennes iodées

La thyroïde est une glande endocrine bilobée, située sur la face ventrale du larynx chez le chien, et qui sécrète les hormones thyroïdiennes iodées (HTI) et la calcitonine (82, 106). Elle est composée de deux lobes qui se situent de part et d'autre de la trachée (figure 1).

La glande thyroïde est divisée en plusieurs lobules thyroïdiens, séparés par du tissu conjonctif assurant leur vascularisation. Ces lobules sont des collections de petites glandes individuelles appelées follicules thyroïdiens, qui sont des entités sphériques et cavitaires bordées par un épithélium simple constitué à 99% de thyrocytes reposant sur une lame basale et faisant partie intégrante de la production des hormones thyroïdiennes iodées (106) (figure 2). Cette couche de thyrocytes entoure une lumière remplie de colloïde, essentiellement constituée par la thyroglobuline, glycoprotéine de haut poids moléculaire, monocaténaire et dont la structure primaire contient de très nombreux résidus tyrosyles (15). La thyroglobuline est synthétisée par les thyrocytes de leur pôle basal à leur pôle apical où elle subit alors une exocytose vers la colloïde.

A l'aide de l'iode circulant et du contenu de la colloïde, les thyrocytes vont permettre la synthèse et la libération dans la circulation générale des hormones thyroïdiennes iodées :

- la 3,5,3',5'-tétra-iodothyronine (T_4 ou thyroxine) en très forte proportion (environ 90%)
- la 3,5,3'-tri-iodothyronine (T_3) et la 3,3',5'-tri-iodothyronine (rT_3) pour les 10% restant

La T_4 est considérée comme une pro-hormone permettant le transport, la distribution et le stockage de l'hormone la plus active, T_3 , qui est obtenue à partir de la T_4 par une réaction de désiodation en 5' catalysée par la 5' désiodase. La rT_3 (reverse T_3) quant à elle résulte de la désiodation en 5 de la T_4 par la 5-désiodase et est une forme biologiquement inactive (15) (figure 3).

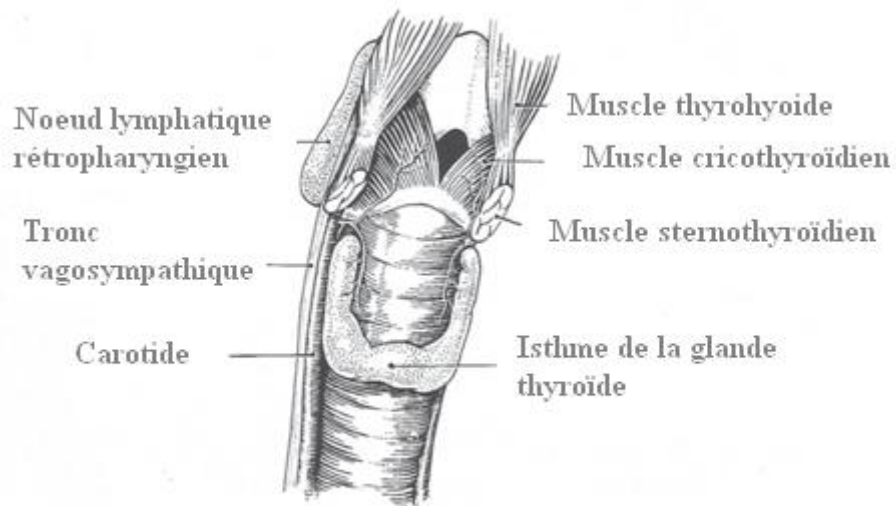


Figure 1 : Glande thyroïde du chien, vue ventrale (d'après 31)

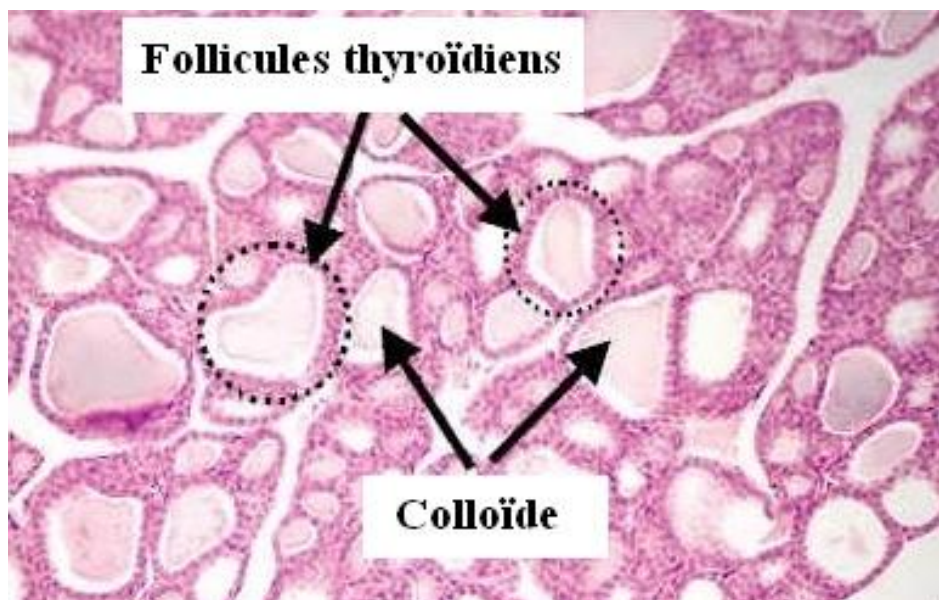


Figure 2 : Coupe histologique de la thyroïde d'un chien sain, indication des follicules et de la colloïde (grossissement $\times 40$) (D'après 89)

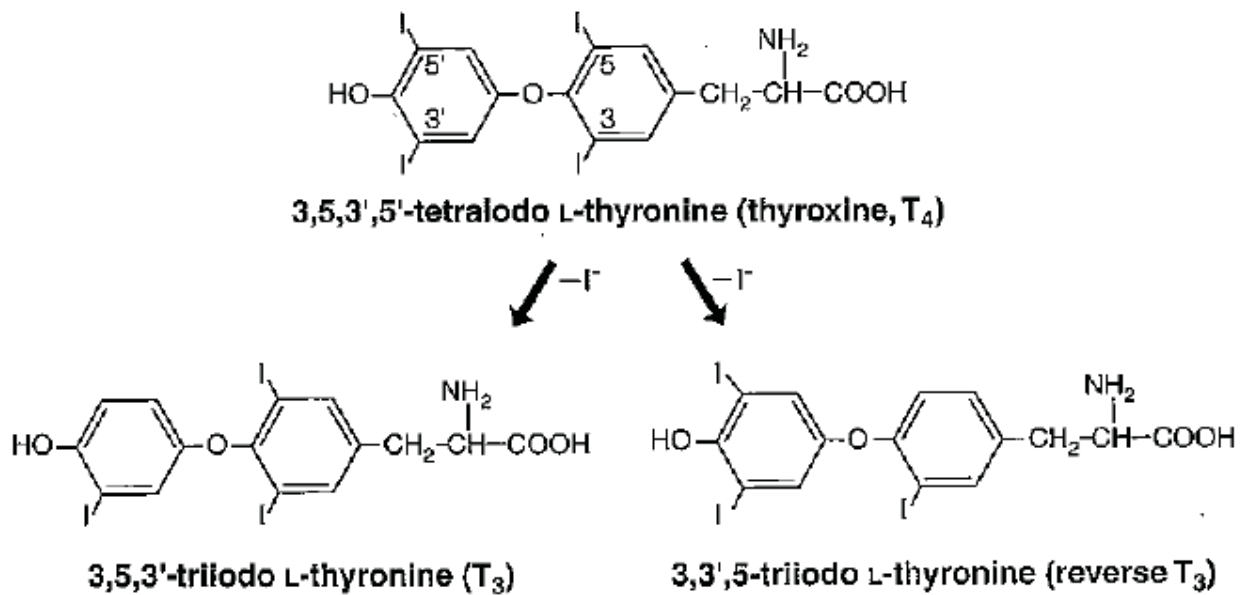


Figure 3 : Structure des hormones thyroïdiennes iodées T₄, T₃ et rT₃ (D'après 38)

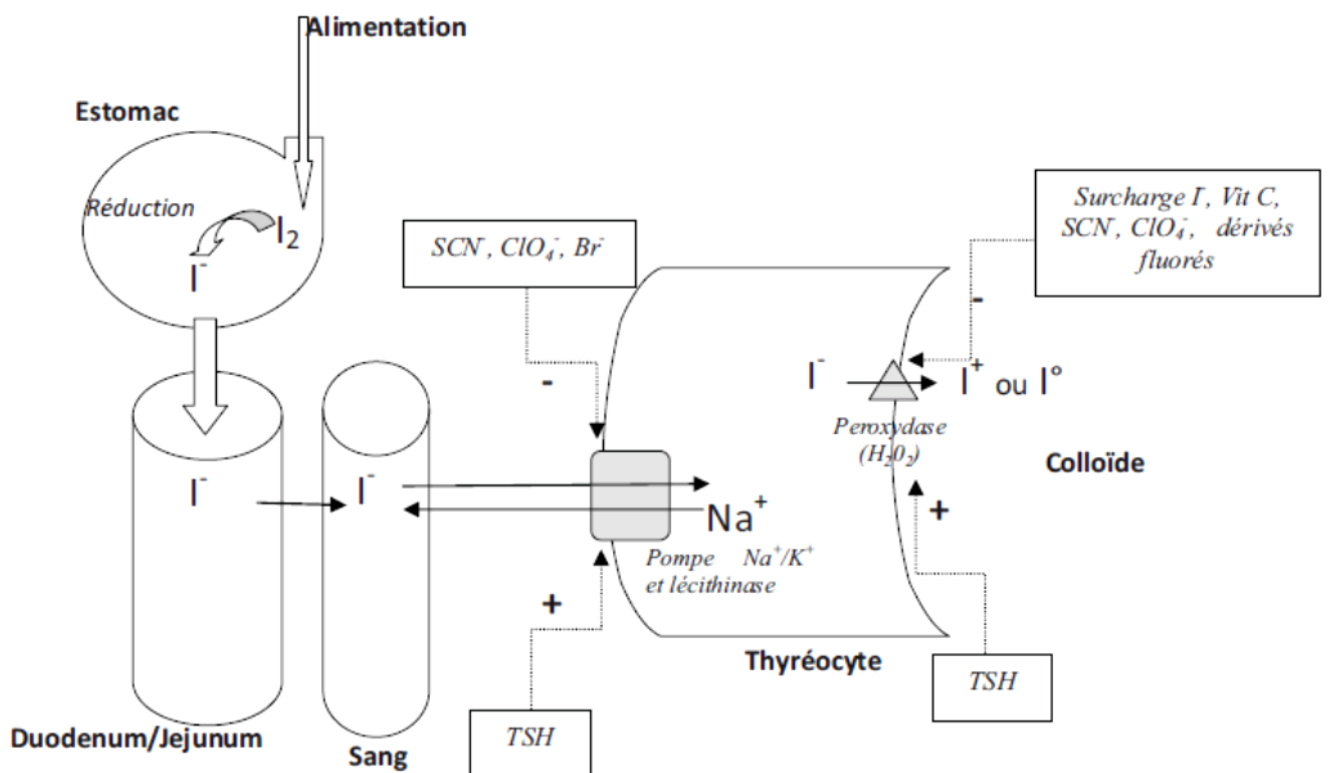


Figure 4 : Schématisation du transport de l'iode, de ses transformations et de ses régulations jusqu'aux thyrocytes (D'après 106)

(Avec SCN⁻ : ions thiocyanates, Br⁻ les ions bromures, I⁻ les ions iodures, Vit pour vitamine, I² pour l'iode minérale, I⁰ ion iodure transformé en radicaux libres par l'oxydation, I⁺ ion iodonium, Na⁺ ion sodium et K⁺ ion potassium, ClO₄⁻ ion perchlorate)

II. Production et devenir des hormones thyroïdiennes iodées

1) Précurseurs et synthèse des hormones thyroïdiennes iodées

L'iode minéral (I_2), issu de l'alimentation, est réduit en I^- et absorbé au niveau de la muqueuse gastro-intestinale. Ce dernier est ensuite transporté par l'albumine sérique vers différents organes : la thyroïde principalement mais aussi l'estomac, les mamelles, les glandes salivaires et la peau (15, 106) (figure 4).

Les thyrocytes expriment un antiport membranaire I^-/Na^+ , ATP dépendant, qui permet la capture des ions I^- . Cet antiport est notamment stimulé par la Thyroid Stimulating Hormone (TSH) antéhypophysaire. Une peroxydase située sur la membrane apicale des thyrocytes catalyse l'oxydation des iodures en espèces électrophiles (radical libre I° ou iodonium I^+) qui rejoignent la colloïde des follicules thyroïdiens. Ces espèces moléculaires hautement réactives réalisent des réactions de substitution électrophile sur les positions en ortho des noyaux phénols des nombreux résidus tyrosyles portés par la thyroglobuline. On obtient alors du mono-iodo-tyrosyl (MIT) ou plus fréquemment du di-iodo-tyrosyl (DIT) couplés à la thyroglobuline : c'est l'étape de l'organification de l'iode, première étape de la synthèse des hormones thyroïdiennes iodées (15).

Le deuxième temps de cette biosynthèse correspond aux couplages lents et aléatoires de ces deux derniers composés, toujours dans la colloïde, libérant alors un résidu alanyl couplé à la thyroglobuline ainsi qu'une HTI couplée à la thyroglobuline. Cette HTI est une T_3 ou rT_3 par couplage d'un MIT avec un DIT, ou une T_4 par couplage de deux DIT, cas le plus fréquent puisque l'halogénéation des résidus tyrosyles de la thyroglobuline est la plus souvent complète (formation de DIT) (15).

Dans un troisième temps la thyroglobuline couplée aux HTI est réabsorbée par les thyrocytes sous contrôle positif de la TSH. Elle subit alors l'attaque d'endoprotéases libérant les résidus MIT et DIT qui sont recyclés, ainsi que les T_4 , T_3 et rT_3 qui sont libérées dans la circulation générale avec des proportions relatives de 90% pour la T_4 et 10% pour T_3 et rT_3 (15) (figure 5).

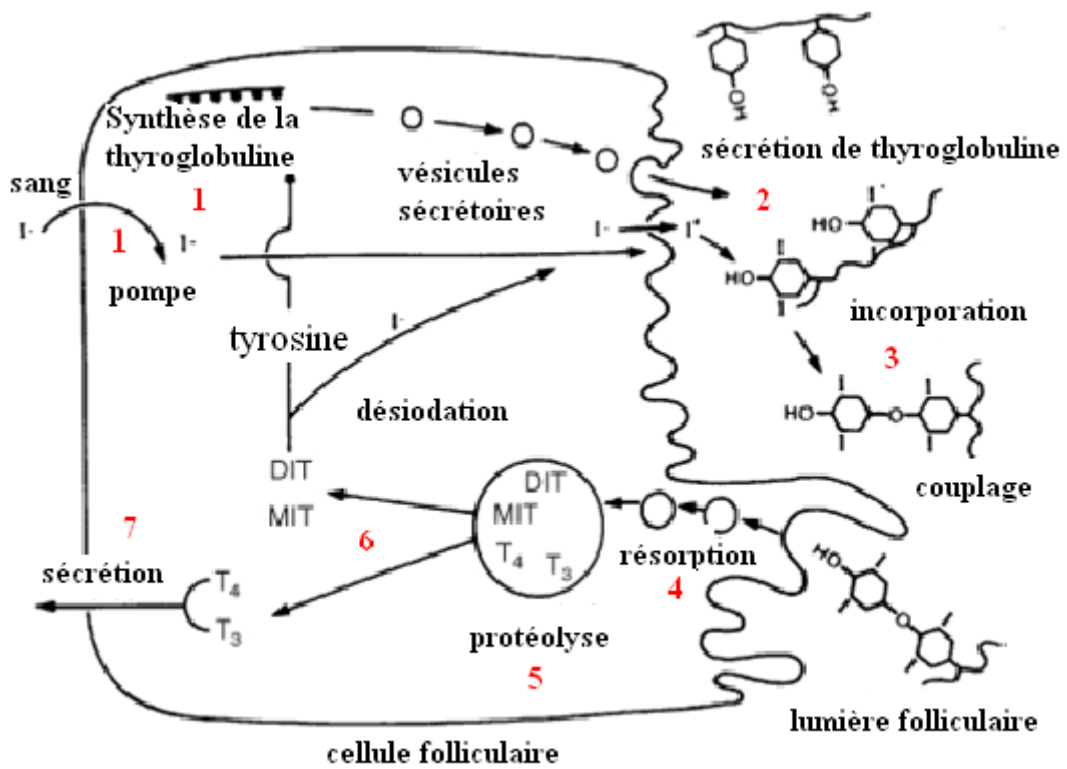


Figure 5 : Déroulement de la synthèse des hormones thyroïdiennes dans le thyrocyte et la colloïde (D'après 109)
(MIT = mono-iodothyrosyl ; DIT = di-iodothyrosyl).

2) Transport des hormones thyroïdiennes iodées

Les HTI sont des hormones liposolubles. De ce fait, elles ne peuvent circuler dans le sang qu'associées à des protéines de transport, plus ou moins spécifiques :

- L'albumine : elle possède une faible affinité pour T_3 et T_4 mais une forte capacité de transport car elle est présente en grande quantité dans le sang (15),
- La Thyroxin Binding Globulin ou TBG, très spécifique, capable de fixer essentiellement la T_4 mais aussi, dans une moindre mesure, la T_3 . Elle représente une faible capacité de transport car est présente en faible quantité dans le sang (15, 106),
- La Thyroxin Binding Pre-Albumine ou TBPA ou Transthyrétine prend en charge la T_4 uniquement, ainsi que le rétinol (vitamine A). Sa capacité de transport est faible (15),
- Les lipoprotéines de haut poids moléculaire : VLDL et HDL sont capables uniquement de prendre en charge la T_4 (76).

Dans l'espèce canine 60% de T_4 est liée à la TBG, 17% à la TBPA, 12% à l'albumine et 11% aux lipoprotéines de haut poids moléculaire (40).

Au bilan, toujours dans l'espèce canine, les formes liées des HTI (associées aux protéines de transport) sont majoritaires :

- 99,7% de la rT_3 ,
- 99,9% de la T_4 ,
- 99,6% de la T_3 ,

(15, 21).

Ces formes liées sont en équilibre avec les formes libres, présentes par conséquent en très faible quantité, mais les seules biologiquement actives car capables de traverser les membranes cellulaires (15).

Cette liaison quasi systématique aux protéines de transport permet donc la distribution des HTI dans tout l'organisme mais en aucun cas leur action. Pour exercer leurs effets, les HTI doivent tout d'abord être séparées de leurs protéines de transport pour pénétrer les membranes cellulaires. Aussi, T_3 , hormone biologiquement la plus active, est issue de la conversion de T_4 en T_3 dans les différents organes cibles.

3) Métabolisme et élimination des HTI

La conversion de T_4 en T_3 active peut s'effectuer dans tous les tissus de l'organisme mais se fait préférentiellement dans le foie, les reins, le système nerveux central, l'hypophyse et le placenta. Elle a lieu grâce à une sélénoprotéine enzymatique, la 5'-mono-désiodase, activée lors d'un accroissement des besoins énergétiques.

Une autre sélénoprotéine enzymatique, la 5-monodésiodase, est quant à elle capable de transformer T_4 en rT_3 inactive en cas de besoins énergétiques limités (absence d'activité physique ou lors de sommeil par exemple) (15).

La T_3 et la T_4 sont principalement éliminées dans le foie par le biais de biotransformations visant à augmenter leur hydrosolubilité. Les résidus de ces biotransformations sont alors rejetés dans la bile majoritairement, et de façon minoritaire dans les urines. L'élimination biliaire est accrue dans l'espèce canine car aucun cycle entéro-hépatique des HTI n'a été rapporté dans cette espèce, contrairement à l'espèce humaine (82).

III. Régulation des hormones thyroïdiennes iodées

1) Régulation par l'axe thyroïdienne

La régulation des HTI est en partie neuro-hormonale et est réalisée par l'axe thyroïdienne constitué par les noyaux neuro-endocriniens de l'hypothalamus, l'antéhypophyse et la glande thyroïde.

Les deux hormones clés de cette régulation sont :

- l'hormone hypothalamique : la TRH (Thyrotropin Releasing Hormone)
- l'hormone antéhypophysaire, la TSH (Thyroid Stimulating Hormone) ou thyrotropine

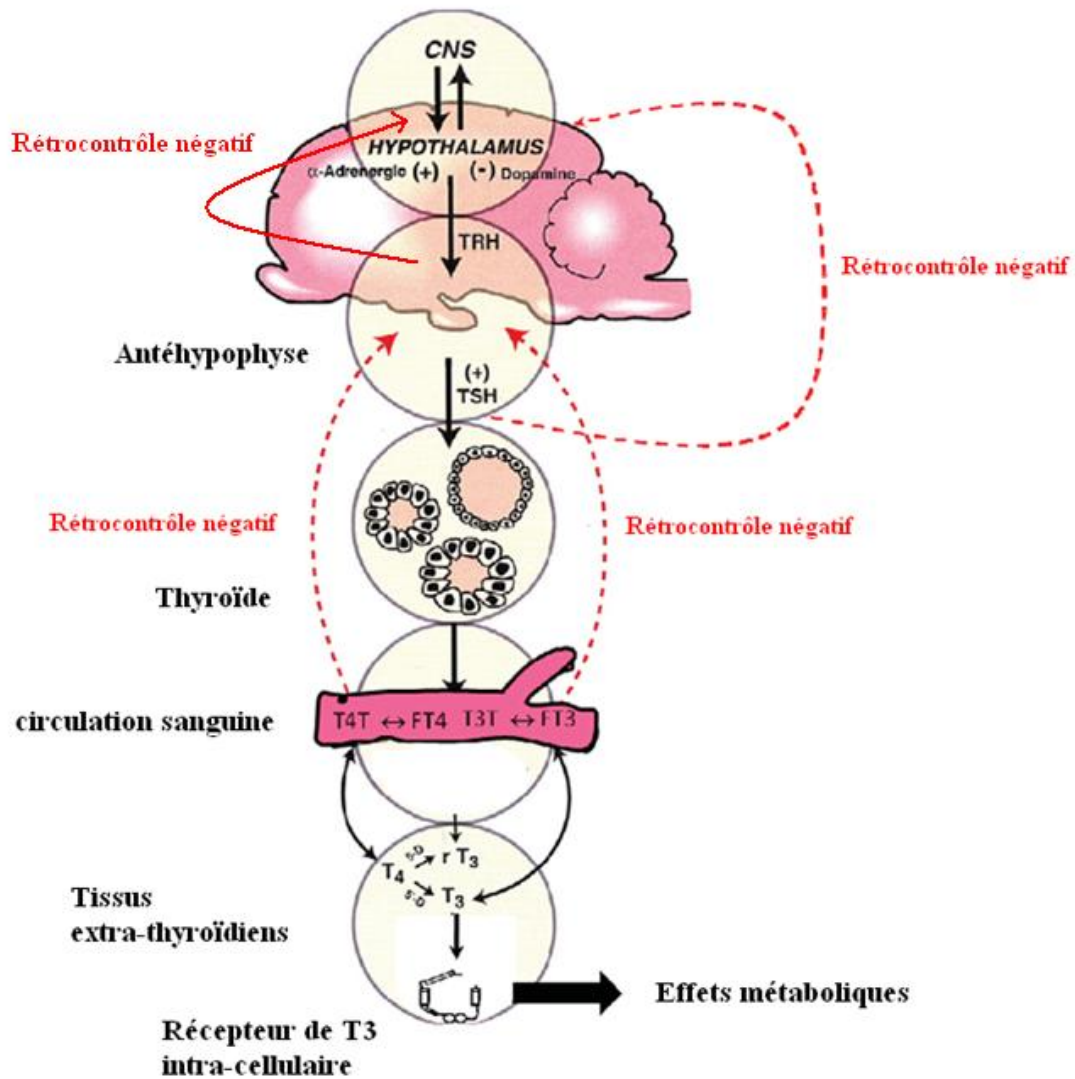


Figure 6 : Axe thyroïdienne et régulation de la production des hormones thyroïdiennes iodées T₃ et T₄ d'après (d'après 54)

(5-D : 5-désiodase, 5'-D : 5'-désiodase, T₄T : T₄ totale (fraction libre + fraction liée), T₃T : T₃ totale (fraction libre + fraction liée), FT₄ : fraction libre de T₄, FT₃ : fraction libre de T₃, TRH : Thyrotropin releasing hormone, TSH : thyroïd stimulating hormone, SNC : système nerveux central)

La TRH est un tripeptide (figure 6) formé dans l'hypothalamus à la suite de divers stimuli qui régulent sa libération (stimulation par les catécholamines et une baisse de température extérieure, inhibition par la dopamine et le GABA (γ Amino Butyric Acid)). Elle est libérée dans le système veineux porte hypophysaire et a une action sur des cellules de l'antéhypophyse très basophiles et spécialisées dans la sécrétion de TSH, les thyrotropes (15, 82, 106). Enfin, la TRH exerce un rétrocontrôle négatif ultracourt sur sa propre production, entraînant une sécrétion pulsée en continu (25).

La TSH est une hormone polypeptidique bicaténaire. Elle possède une chaîne α (commune aux deux autres hormones antéhypophysaires la FSH et la LH) et une chaîne β spécifique d'hormone (présente uniquement sur la TSH), d'action (c'est cette chaîne bêta qui est responsable de l'action de la TSH dans l'organisme car c'est elle qui est reconnue par les récepteurs présents sur différents organes) et d'espèce animale (en l'occurrence spécifique de l'espèce canine).

Elle est fixée par des récepteurs membranaires situés sur les thyrocytes, phénomène qui induit alors une activation de l'adénylate cyclase et la production d'AMPC. Ce messenger cellulaire va alors activer la Protéine kinase AMPC dépendante (PKA), responsable des effets de la TSH sur les thyrocytes : (15, 30, 106)

- augmentation de la capture de l'iode minéral par les thyrocytes,
- stimulation des différentes étapes de la synthèse des HTI,
- activation de la multiplication et de la différenciation des thyrocytes,
- augmentation de la synthèse et du stockage folliculaire de la colloïde.

Enfin, la TSH a un rétrocontrôle négatif dit « court » sur la libération de TRH par l'hypothalamus (39), alors que les HTI exercent un rétrocontrôle négatif dit « long » sur l'hypothalamus et l'antéhypophyse (25). Ainsi une diminution de la concentration plasmatique en HTI libres va diminuer le rétrocontrôle qu'elles exercent et donc augmenter les concentrations plasmatiques de TRH et de TSH, qui conduiront ultérieurement à un rétablissement des concentrations plasmatiques en HTI (figure 7).

2) Variation de la désiodation périphérique

Comme nous l'avons vu précédemment, la désiodation périphérique de la T_4 en T_3 ou en rT_3 est assurée par, respectivement, la 5'-monodésiodase et la 5-monodésiodase. Cette désiodation périphérique peut avoir lieu dans tous les tissus cibles des HTI, et plus particulièrement dans le foie (15).

Les concentrations plasmatiques en T_4 , T_3 et rT_3 varient en fonction de l'activité des désiodases et des besoins de l'organisme. En effet, quand les besoins énergétiques augmentent (hypothermie, exercice physique, stress), le métabolisme basal s'accroît et la production de T_3 augmente : la 5' monodésiodase alors activée convertit essentiellement la T_4 en T_3 (15). A l'inverse, quand les besoins énergétiques diminuent (sommeil, repos), le métabolisme basal est moindre et la 5-monodésiodase activée favorise la conversion de T_4 en rT_3 , ultérieurement désiodée en T_2 par la 5'-monodésiodase (3-3'-diiodotyronine), ces deux dernières étant biologiquement inactives. Grâce à cette autorégulation, en cas de défaillance de la glande thyroïde (par exemple en cas de thyroïdite lymphocytaire, d'atrophie idiopathique, de phénomène néoplasique ou d'atteinte iatrogène), la concentration plasmatique en T_3 est conservée, au détriment de la concentration plasmatique en T_4 , au moins pendant quelques temps (15, 40).

Il est également important de noter ici que d'autres facteurs ont une influence sur ces désiodases et peuvent moduler leur activité. Par exemple, lors de diabète sucré, de syndrome de Cushing, d'administration de produits de contraste iodés, ou de médicaments contenant du propylthiouracil ou du methimazole, on observe une diminution de l'activité de la 5' monodésiodase et donc de la conversion de T_4 en T_3 , entraînant une augmentation de la concentration plasmatique en rT_3 (15, 106).

En effet, l'ipodate ou l'acide iopanoïque, couramment utilisé comme produit de contraste, inhibent la 5'-désiodase responsable de la conversion de T_4 en T_3 . Ils sont donc à l'origine de la diminution de la concentration de T_3 ainsi que de l'augmentation de celle de T_4 et de rT_3 . Ces modifications ont lieu 48 heures après leur administration et sont réversibles (12, 40).

3) Régulation par la concentration sanguine d'iode

Les apports alimentaires en iode minéral influent sur le métabolisme thyroïdien : plus ils sont importants, moins la glande thyroïde produit des HTI.

En cas de carence en iode on observe :

- Une capture accrue de l'iode au niveau des thyrocytes entraînant une augmentation des composés MIT par rapport aux composés DIT et donc une augmentation de la production de T_3 dans la thyroïde,
- Une stimulation de la sécrétion de TSH par l'antéhypophyse et donc une stimulation des diverses étapes de la biosynthèse des HTI (14, 15).

En cas d'excès d'apports d'iode minéral par l'alimentation, on assiste aux effets de Wolff-Chaikoff qui aboutissent à une diminution de la production des HTI par le blocage de l'iodation de la thyroglobuline et la diminution de la réceptivité de la glande thyroïde à la stimulation par la TSH.

4) Autres facteurs de régulation

a. Innervation, nyctémère, saison

La glande thyroïde reçoit une innervation sympathique et parasympathique.

La stimulation des neurones sympathiques entraîne une diminution du débit sanguin thyroïdien, de la capture d'iode et une augmentation de la libération des hormones thyroïdiennes. La stimulation des neurones parasympathiques augmente également la libération des hormones thyroïdiennes (25).

Les études réalisées au sujet de l'influence du nyctémère sont peu nombreuses et leurs résultats variés.

En effet, en 1992, des auteurs californiens, en mesurant les concentrations plasmatiques totales de T_3 et T_4 toutes les 3h pendant 12h sur 57 chiens, ont montré qu'il existait des pics de concentration en T_3 et en T_4 en milieu de journée (84). Une étude plus récente publiée en 2006 par une équipe japonaise a confirmé qu'entre 11h et 14h les concentrations de TT_4 et de FT_4 étaient significativement plus élevées chez tous les chiens inclus dans leur étude, alors qu'aucune variation n'était observée pour la T_3 (60).

En 1998, Bruner et al. ont démontré qu'aucune variation des concentrations plasmatiques de TSH et de T_4 totale n'avait lieu dans la journée, aussi bien chez 6 chiens sains que chez 6 chiens hypothyroïdiens (induction expérimentale de l'hypothyroïdisme) (16).

Ainsi, même s'il n'existe aucun consensus à ce sujet et devant le peu d'études disponibles, on peut pour l'instant conclure que le moment de la journée auquel ont lieu les mesures de concentrations des HTI n'a pas de réelle influence sur les résultats obtenus.

Il est de plus probable que la température extérieure et la photopériode influencent la production des HTI. En effet, en 1995 en Slovaquie, Tuckova et al. ont mis en évidence une augmentation de la concentration de TT_4 en automne et une diminution en été (116).

En 2001, Oohashi et al. ont montré une diminution des concentrations de TT_4 en janvier et une augmentation de cette même hormone en mars, août et septembre chez les chiens sains au Japon. Ils ont également mis en évidence une augmentation de la concentration de FT_4 en janvier et en novembre, mais aucune variation saisonnière des concentrations de TSH (88).

Les divergences entre ces études sont vraisemblablement dues aux variations climatiques entre les deux zones géographiques dans lesquelles a été exploré le statut thyroïdien des chiens.

b. Interférences hormonales

Sexe et hormones stéroïdiennes sexuelles

Bien que peu d'études soient disponibles sur ce sujet, il apparaîtrait que le sexe affecterait peu ou pas les concentrations d'HTI (103).

Au cours d'une étude réalisée en 1984 (102), divers stades du cycle œstral auraient un impact sur les concentrations d'HTI. Les femelles en dioestrus ont des concentrations de T_4 et T_3 plus élevées que les femelles en anoestrus, en prooestrus ou en lactation, et que les mâles. De plus, les femelles gestantes présentent des concentrations de T_4 plus élevées alors que les valeurs de T_3 restent comparables à celles mesurées chez les femelles en anoestrus, en prooestrus, en lactation ou chez les mâles. Il semblerait donc que la présence de progestérone (dioestrus, lactation) est pour effet d'augmenter les concentrations en T_4 (102).

Par ailleurs, le rapport T_4/T_3 établit pendant la gestation (40:1) est supérieur de 25% à celui établi lors de dioestrus (30:1), lui-même supérieur de 25% au rapport T_4/T_3 des chiens aux autres stades du cycle œstral ou des chiens mâles (20:1) (102). Ainsi on observe que la

vitesse de conversion de T₄ en T₃ et la clairance des hormones sont modifiées par le stade de reproduction, ceci pouvant expliquer les variations des concentrations observées (102).

D'après deux études (51, 102), la progestérone augmenterait les concentrations totales plasmatiques de T₃ et T₄, par le biais d'une augmentation de la synthèse des protéines de transport.

Les œstrogènes n'auraient pas d'influence significative sur la sécrétion des hormones thyroïdiennes (51, 102) mais ce sont des répresseurs de la synthèse des globulines spécifiques de transport telles que la TBG (15). Leur rôle n'est donc pas totalement défini.

De même, la testostérone ne jouerait pas de rôle dans la régulation des hormones thyroïdiennes (47), bien que les androgènes soient des activateurs de la synthèse des globulines de transport (15).

Cependant, une autre étude réalisée en 1992 (6) sur 58 chiens mâles et femelles de race Greyhound a montré qu'il n'existait pas de corrélation entre de mauvaises performances de reproduction et une concentration de T₄ basse (c'est-à-dire inférieure à la moyenne moins deux écart-types des valeurs usuelles précédemment établies dans cette étude sur 200 chiens témoins sains) ou une diminution de réponse à la TSH.

Influence de la GH (Growth Hormone), de l'âge et de la taille

L'hormone de croissance (GH) stimule la synthèse de la somatostatine, capable d'inhiber la sécrétion de TSH (25). Chez des chiens de même classe d'âge, la concentration plasmatique de GH peut varier. En effet, Favier et al. en 2001 ont évalué la concentration de GH entre 6 et 24 semaines chez des chiens de race moyenne (beagles) et chez des chiens de races géantes (danois). Ils ont montré qu'à cet âge les deux races présentaient une forte concentration plasmatique de GH mais que cette forte concentration persistait plus longtemps chez les chiens de race géante que chez les chiens de race moyenne. D'après cette étude, cette différence serait due à une maturation à retardement de l'effet inhibiteur de la somatostatine sur la sécrétion de la GH (rétrocontrôle négatif) par la glande pituitaire chez les chiens de grande race.

Il est clairement démontré que les concentrations de T₃ et T₄ varient en fonction de l'âge. En effet la concentration de T₄ est élevée chez les chiots allaités ($39,1 \pm 0,06$ nmol/L) et elle diminue après le sevrage ($24,9 \pm 0,06$ nmol/L), même si cette concentration reste élevée entre l'âge de six semaines et un an (103).

Puis, progressivement la concentration diminue avec l'âge. Elle est 50% plus basse pour un chien de 6 à 11 ans ($19,3 \pm 0,05$ nmol/L) que pour les chiots non sevrés.

Quant à la concentration sérique de T_3 , elle est plutôt basse lors de l'allaitement et du sevrage chez les chiots, puis elle augmente lors de la croissance. Enfin, chez le chien adulte, cette concentration diminue progressivement avec l'âge (103).

De même, d'autres auteurs ont démontré que la concentration de FT_4 est comprise entre 20 et 51 pmol/L chez le chien de moins de 2 ans, puis elle diminue entre 9 et 32 pmol/L chez le chien adulte (100).

Enfin, une étude de 1990 a montré que les chiens de petite taille (Beagles, schnauzers miniatures et caniches) présentent une concentration de T_4 plus élevée que les chiens de taille moyenne (Setters anglais, Pointers et Huskies sibériens) et de grande taille (Labrador retrievers, Doberman, et Berger allemand).

En parallèle, la concentration de T_3 est plus élevée chez les chiens de race moyenne (103).

c. Interférences médicamenteuses

Anti-inflammatoire non stéroïdiens

Ce sont des molécules très employées en médecine vétérinaire. Chez l'homme, il a été démontré qu'ils ont un réel impact sur la fonction thyroïdienne et qu'un dosage des HTI lors de traitements à base d'AINS peut mener à un diagnostic erroné d'hypothyroïdisme (83).

Ainsi, l'éventuel impact de ces molécules sur l'homéostasie thyroïdienne du chien a été étudié. Un traitement de 7 jours avec de l'acide acétylsalicylique (25 mg/kg toutes les 8h pendant 28 jours *Per Os*) a provoqué une diminution significative de la concentration sérique de TT_4 , alors que les concentrations sériques de FT_4 et TSH étaient peu altérées. Daminet et al (20) conseillent donc d'attendre 7 jours à la suite d'un traitement comportant un AINS, avant d'effectuer un dosage des hormones thyroïdiennes. Une autre étude (44) met en évidence une diminution modérée des concentrations sériques de TT_4 et TSH après 5 semaines de traitement anti-inflammatoire avec du carprofène. La diminution de la concentration de la TT_4 sans modification de celle de la FT_4 pourrait s'expliquer par un mécanisme de compétition des AINS avec les HTI sur les sites de fixation de l'albumine (23).

Anti-inflammatoire stéroïdiens (AIS)

Différents auteurs ont étudié l'effet de la prise de corticoïdes sur les concentrations sériques des hormones thyroïdiennes iodées, mais ils n'ont pas tous obtenu les mêmes résultats.

Dans une première étude en 1993, un traitement quotidien à base de prednisone à des doses anti-inflammatoires usuelles (1,1 mg/kg/j en 2 prises orales) a été administré à un groupe de 12 chiens pendant 4 semaines (86). Il s'est avéré que ce traitement n'a pas eu de répercussion sur la concentration de TT₄ alors que la concentration de TT₃ a diminué d'environ 40% à partir de 2 semaines de traitement. De plus, les auteurs ont montré que ce traitement a augmenté la sensibilité de la glande thyroïde à la TSH. Cependant, les variations se sont révélées réversibles à son arrêt.

Dans deux autres études parues en 1991 et 1999 (22, 115), des doses de 1 à 2 mg/kg ont entraîné une diminution rapide et importante des concentrations plasmatiques de TT₄, FT₄ et TT₃. De plus, il semblerait que la concentration de TT₃ ait été affectée plus tôt (6h avant) que les autres. Ces modifications ont été réversibles à l'arrêt du traitement après un temps de récupération variable (1 à 3 semaines) selon la dose et la durée du traitement.

Cet effet des corticoïdes sur les concentrations des HTI pourrait s'expliquer, d'après Daminet et al (22) et Torres et al (115), soit par une diminution de la synthèse et de la sécrétion des HTI par les thyrocytes, soit par une inhibition du transport des HTI notamment par la TBG, soit par une séquestration intracellulaire des HTI ou une inhibition de l'axe thyroïdote avec suppression de la sécrétion de TSH.

Cas de l'IL₂

Un traitement par l'interleukine de type 2 (IL₂) entraîne une diminution rapide et importante (de l'ordre de 60% pour la T₄ et 75% pour la T₃) des concentrations sanguines de T₃ et T₄ par rapport aux concentrations initiales avant le traitement. Il est décrit que chez l'Homme, des administrations répétées de IL₂ sont responsables d'un hypothyroïdisme primaire, certainement sous la forme d'une thyroïdite auto-immune (118).

En revanche, chez le chien, la diminution des concentrations d'hormones thyroïdiennes ne semble pas résulter d'un mécanisme auto-immun, car aucun type d'autoanticorps n'a pu être mis en évidence, et l'effondrement brutal des concentrations de T₃ et T₄ n'apparaît pas compatible avec le mécanisme connu chez l'Homme. Néanmoins, l'IL₂

pourrait altérer le fonctionnement de l'axe thyroïdienne, mais aussi interférer avec la conversion périphérique de T_4 en T_3 , ces deux mécanismes pouvant coexister (92).

In vivo, l'IL2 entraîne une augmentation significative des concentrations des autres cytokines inflammatoires (IL-1, $TNF\alpha$, $INF\gamma$). Ces dernières sont également augmentées lors de maladies systémiques non thyroïdiennes à l'origine d'un « euthyroid sick syndrom », c'est à dire lorsque la concentration de T_4 est dans les valeurs usuelles, celle de T_3 en général abaissée et celle de TSH augmentée, en l'absence d'atteinte de la thyroïde (106). L'augmentation de la quantité des cytokines inflammatoires pourrait expliquer la modification des concentrations des hormones thyroïdiennes, par leur effet négatif sur la conversion périphérique de T_4 en T_3 , sans affecter la production de T_4 (58).

Un traitement aux IL2 a les mêmes effets qu'un « euthyroid sick syndrom » sur les concentrations des hormones thyroïdiennes, à savoir de provoquer une diminution importante et rapide, notamment de T_3 (92).

L'association triméthoprime- sulfonamide

Le traitement antibiotique associant un sulfonamide à du triméthoprime est largement utilisé en médecine vétérinaire comme antibiothérapie à large spectre.

Par son action inhibitrice sur la thyroperoxydase, l'association triméthoprime-sulfonamide entraîne une baisse de la sécrétion de T_3 , T_4 et une augmentation de la sécrétion de TSH. Son effet est dose et temps dépendant : plus le traitement est long ou plus les doses sont fortes, plus l'impact sur les concentrations des HTI sera élevé, jusqu'à pouvoir déclencher une hypothyroïdie (45, 50, 54).

Influence des anesthésiques généraux volatiles

Dans une première étude en 1988, il a été démontré que lors d'une chirurgie sous anesthésie générale à l'halothane, les concentrations de T_4 , T_3 et rT_3 diminuaient (40).

De même, une étude plus récente de 2009 a montré qu'une intervention chirurgicale sous anesthésie générale maintenue avec de l'isoflurane provoque une diminution significative de la concentration de TT_4 dans les douze premières heures, puis 24h après la chirurgie la TT_4 augmente et se normalise en 48h. De plus, les concentrations de FT_4 et rT_3

augmentent significativement alors que la concentration de T_3 diminue jusqu'à 36h après l'anesthésie (121).

Enfin, une anesthésie au thiopental entraîne une diminution des concentrations de T_3 et T_4 car cet anesthésiant est un antithyroïdien qui inhibe l'organification de l'iode et la désiodation périphérique (40).

Autres

Le furosémide

Peu d'études sont disponibles mais le furosémide entraînerait chez le chien une altération du transport de T_4 par compétition sur les sites de fixation de l'albumine. Il en découlerait donc une diminution de la concentration de TT_4 et une augmentation de celle de FT_4 (41).

Les antidépresseurs tricycliques

La prise de clomipramine, antidépresseur tricyclique utilisé chez le chien en cas d'état d'anxiété lié ou non à un hyper-attachement, provoque une diminution de 30% des concentrations plasmatiques des hormones thyroïdiennes (TT_4 , FT_4 , rT_3). Le temps de retour à la normale des concentrations des HTI ainsi que le mécanisme de cet effet demeurent encore inconnus (54).

Les anticonvulsivants

Le phénobarbital est connu pour induire les enzymes hépatiques. Ainsi, toutes les molécules dégradées au niveau du foie vont être touchées par la prise de ce médicament, et notamment les HTI : leur clairance augmente, on a donc une absence de rétrocontrôle négatif sur l'antéhypophyse et la concentration sanguine de TSH augmente (46).

Le phénobarbital entraîne donc une diminution de TT_4 et FT_4 , ainsi qu'une légère augmentation de TSH, plus tardive. Après l'arrêt du traitement, le retour à la normale nécessite au minimum un mois chez le chien (46, 49, 87).

d. Facteurs alimentaires

Sélénium

Dans l'alimentation, le sélénium est apporté par les protéines animales (viande, poisson) et par les céréales (61). Nous ne disposons actuellement que d'études effectuées sur les rats pour évaluer l'influence du sélénium dans la production des HTI. Deux études, en 1987 et 1995, ont montré qu'une carence en sélénium induite chez les rats entraînait une augmentation de la concentration de T_4 sans affecter la concentration de T_3 (7, 75). L'augmentation de la concentration en T_4 s'explique par le fait que la 5'-monodésiodase chargée de convertir la T_4 en T_3 est séléno-dépendante. Concernant le maintien de la concentration en T_3 , Chanoine, en 1992, l'explique chez le rat par un recyclage entéro-hépatique actif (ce qui, rappelons le, n'existe pas chez le chien) et un temps de demi-vie plus long en cas de carences en sélénium (4, 20).

Le chlore

Peu d'études ont été effectuées sur l'influence du chlore d'origine alimentaire sur la production des HTI. Néanmoins en 1982 et 1986, Bercz et al. se sont intéressés à l'effet d'un désinfectant chloré de l'eau, le dioxyde de chlore, qui entraînerait, par des mécanismes encore non élucidés, une carence en iode et donc une diminution de la synthèse de HTI (9, 10).

Les aliments antithyroïdiens

Certains aliments contiennent des antithyroïdiens naturels. Par exemple, le chou, le navet, le colza contiennent des substances capables de créer des goitres dans le cas d'une consommation importante chez l'homme (17, 78). Les agents antithyroïdiens présents dans ces légumes sont des glucosinolates. Quand le végétal est lésé (donc simplement mastiqué), ces molécules subissent des hydrolyses et sont transformées en agents antithyroïdiens actifs tels que la goitrine ou le sénévol, qui sont capables d'inhiber l'organification de l'iode et la synthèse de la T_4 (17). Ces crucifères contiennent aussi d'autres antithyroïdiens tels que les thiocyanates, qui sont des inhibiteurs compétitifs du transport actif de l'iode vers les thyrocytes (27).

La prise alimentaire

La prise de poids d'un animal, liée à une alimentation mal gérée ou à volonté, entraîne une modification de l'homéostasie thyroïdienne : les concentrations de TSH, TT₃ et TT₄ augmentent significativement avec la prise de poids (65).

En cas de jeûne, l'activité de la 5'-monodésiodase diminue, et avec elle la concentration de T₃. La rT₃, quant à elle, reste inchangée ou bien diminue de façon transitoire selon les études (40). La concentration en T₃ diminue plus précocement que la concentration en T₄ (40). Dans un contexte de perte de poids chronique voire de cachexie (chez 83 chiens cancéreux ou non), on constate de même une diminution des concentrations plasmatiques en TT₃, TT₄ et FT₃ alors que la concentration plasmatique de FT₄ ne varie pas (117). Le jeûne induit donc un ralentissement du métabolisme basal et donc de la désiodation de la T₄, sauf dans le cerveau. En effet il existerait dans cet organe une 5'-désiodase non sensible au jeûne et qui continuerait son activité (40).

e. Facteurs génétiques

Les chiens de type lévriers et plus particulièrement les Greyhounds présentent des concentrations significativement plus basses de T₄ et de FT₄, jusqu'à 40% inférieures aux valeurs usuelles, quelque soit la nature de l'activité physique pratiquée (59).

Dans cette race, des valeurs de référence ont été spécifiquement établies (pour TT₄ : 2,1 - 25,7 nmol/L et pour FT₄ : 0 - 23,5 pmol/L) alors que les valeurs usuelles établies par le même laboratoire (Kansas State University-Gastrointestinal Endocrine Function Laboratory), sont beaucoup plus hautes pour les autres races (10 - 45,5nmol/L pour TT₄ et 3,9 - 39,9 pmol/L pour FT₄). En revanche, les concentrations de TSH sont situées dans les valeurs usuelles (47, 59).

De même, en Australie, il a été montré que les chiens de race Basenji présentent des concentrations de TT₄ significativement plus basses que les autres races de chiens alors que les valeurs de TSH sont dans les valeurs usuelles (110).

f. Activité physique

En 2001, l'influence de la course et de l'entraînement sportif sur les concentrations sériques d'hormones thyroïdiennes iodées des chiens de race Greyhounds a été étudiée par Hill et al. (59).

La concentration de TT_4 augmente significativement de façon très rapide (5 minutes) après un effort de courte durée (course de vitesse) et proportionnellement à l'augmentation de la concentration d'albumine. Pour des chiens entraînés, la concentration moyenne de TT_4 initiale est de $2,7 \pm 1,8$ nmol/L, et de $5,1 \pm 2,5$ nmol/L après la course. En revanche, les concentrations de FT_4 , FT_3 et TSH restent inchangées après cet effort anaérobie. On considère donc que l'augmentation de la concentration de TT_4 correspond à une augmentation du transport de l'hormone par l'albumine. En effet l'axe thyroïdien est peu affecté par un effort intense en anaérobiose (pas de modification des concentrations de la TSH).

Dans cette étude, les chiens entraînés présentaient une concentration moyenne initiale de TT_4 inférieure aux chiens non entraînés ($2,7 \pm 1,8$ nmol/L *versus* $7,2 \pm 2,5$ nmol/L), alors que les concentrations de FT_4 , FT_3 et TSH étaient identiques. L'entraînement a donc, comme l'effort anaérobie, un effet très limité sur la production thyroïdienne (59).

De plus, en 1992, une autre étude sur des chiens de race Greyhound n'a montré aucune corrélation entre les performances sportives des chiens et les concentrations basales d'HTI (6).

En revanche, les concentrations moyennes en TT_4 et en TT_3 dans une étude menée en 2003 (93), diminuent après une course d'endurance (3 à 5 km) chez des chiens de traîneaux entraînés (93). De plus, les concentrations de ces hormones sont, avant la course, inférieures aux valeurs usuelles chez ces chiens de type Alaskan. En conséquence, une activité physique en aérobie intervient dans le contrôle de la production des HTI chez les chiens de traîneaux. Lors des périodes d'entraînement, surtout dans le cas d'une période intensive (entre 150 et 200 km par semaine), les concentrations de TT_4 et de FT_4 sont significativement inférieures ($p < 0,001$) à celles obtenues en période de repos alors que les concentrations de TSH varient en sens inverse ($p < 0,001$) (32). Ces modifications du statut thyroïdien évoquent une diminution de la production hormonale thyroïdienne à l'origine d'une levée du rétrocontrôle négatif exercé sur l'adénohypophyse, d'où l'augmentation des concentrations plasmatiques de TSH. L'augmentation du métabolisme basal pourrait indirectement induire une inhibition de la 5'-désiodase et donc de la conversion périphérique de T_4 en T_3 , au profit de la formation de la rT_3 , biologiquement inactive (32).

Ces études montrent que l'activité physique, par augmentation du métabolisme basal, modifie l'homéostasie thyroïdienne et entraîne une augmentation de la concentration de T_4 après un effort physique intense en anaérobie, alors qu'en cas d'effort aérobie, on observe une diminution des concentrations de TT_4 et de FT_4 , ainsi qu'une augmentation de la concentration de TSH. De plus, les chiens sportifs entraînés au centre de ces études (des lévriers Greyhounds ou des chiens de traîneaux), présentent des concentrations de T_4 et T_3 basales situées dans les valeurs inférieures des intervalles de références classiques (106).

g. Obésité

Chez l'Homme, il existe une situation d'hypothyroïdisme caractérisé par une concentration élevée de TSH et des concentrations de T_4 , T_3 et FT_4 normales ou diminuées, sans atteinte de l'état général (112). L'hypothyroïdisme associé à l'obésité semble être un événement primaire et non secondaire à l'obésité (80).

Une étude de 2006 (80) a conclu que lors d'obésité canine, la fonction thyroïdienne est la fonction endocrinienne la plus perturbée. Cette étude regroupe 31 chiens obèses et apparemment sains. Les résultats montrent que 42% des chiens obèses ($BCS > 8$) présentent des résultats biochimiques compatibles avec un hypothyroïdisme, caractérisé par une concentration de TSH élevée et une concentration de T_4 basse ou dans les valeurs usuelles.

Ainsi, le traitement de l'obésité de tels chiens passe d'abord par un traitement des troubles thyroïdiens. Les auteurs insistent sur la recherche de dysendocrinie chez le chien obèse avant d'envisager tout autre traitement de l'obésité (80).

Dans une étude en 2003 sur des chiens rendus expérimentalement obèses, ayant reçu une alimentation à volonté pendant au moins 1 an afin d'atteindre un état d'obésité au moins 6 mois avant les dosages hormonaux, il a été observé que les concentrations de TT_4 et de TT_3 des chiens obèses étaient supérieures à celles des chiens de poids standards appartenant au lot témoin. En revanche, chez les chiens obèses soumis à une restriction énergétique pendant un an, les concentrations de TT_3 et TSH diminuent de façon significative avec la perte de poids (24).

Enfin, une alimentation à volonté couplée à une ovariectomie sur 4 chiennes a entraîné une augmentation d'environ 25% des concentrations de TT_3 et TT_4 alors que la concentration de FT_4 restait située dans les valeurs usuelles (65).

En conclusion, l'obésité acquise, la prise de poids et la perte de poids modifient l'homéostasie thyroïdienne. Tandis que l'obésité acquise est compatible avec un état d'hypothyroïdisme, la prise de poids entraîne au contraire une augmentation des concentrations de TT₃ et TT₄, alors que la perte de poids abaisse les concentrations de TT₃ et TSH (106).

IV. Principes d'évaluation du statut thyroïdien chez le chien

Il existe deux types d'explorations hormonales :

- l'exploration hormonale statique qui consiste à doser une concentration hormonale basale à un instant t,
- ou l'exploration hormonale dynamique qui permet d'analyser la capacité de la glande à adapter la production hormonale à un signal exogène (par la TSH ou par la TRH le plus souvent) (106).

En pratique, l'exploration hormonale est le plus souvent statique chez le chien car d'une part la concentration de TSH exogène est facilement disponible, et, d'autre part, la stimulation de la glande thyroïde par la TRH donne des différences inter-individuelles très élevées (en particulier peu de réponse chez les animaux âgés) (14). Ainsi, l'exploration dynamique du statut thyroïdien du chien ne sera pas développée dans ce travail.

Les dosages des hormones thyroïdiennes se font sur sérum ou plasma hépariné (27). La stabilité des hormones à température ambiante permet un envoi postal des prélèvements sous couvert du froid. Pour la TSH, plus fragile, le plasma doit être centrifugé et peut être envoyé sous 8 jours au laboratoire sous couvert du froid (27).

1) Valeurs usuelles des concentrations d'hormones thyroïdiennes iodées

Il est difficile d'émettre des valeurs usuelles chez le chien, car il existe une grande variabilité entre les laboratoires. L'interprétation des dosages hormonaux doit se faire en fonction des intervalles de valeurs usuelles directement établies par le laboratoire (106).

Les valeurs usuelles les plus couramment admises sont (99, 101) :

- Concentrations plasmatiques de TT₄ : de 10-15 à 50 nmol/L,
- Concentrations plasmatiques de FT₄ : de 9 à 51 pmol/L,

- Concentrations plasmatiques de TSH inférieures à 0,5 à 0,8 ng/mL.
- Concentrations plasmatiques de TT_3 : 1 à 2,5 nmol/L

2) Dosage des formes totales ou libres des HTI

Il est possible de doser la concentration totale de T_4 (TT_4), ou la fraction libre de T_4 (FT_4). Les deux dosages présentent cependant un inconvénient : leur valeur prédictive négative est meilleure que leur valeur prédictive positive (99).

Le dosage de TT_4 est moins complexe que celui de FT_4 , mais il est plus sensible aux variations du métabolisme dues aux maladies non thyroïdiennes et/ou aux interférences médicamenteuses (68). Le dosage de TT_4 est resté longtemps le plus couramment réalisé en pratique en médecine vétérinaire.

Le dosage de TT_4 peut être effectué par une méthode de radio-immunologie (RIA), de chimiluminescence ou d'immuno-enzymologie (ELISA) avec des kits de dosage utilisés en endocrinologie humaine. Il est possible d'utiliser des kits humains, car la structure de la T_4 n'est pas spécifique d'espèce. Cependant ces kits ne sont pas adaptés aux détections des valeurs basses de concentrations de T_4 que l'on trouve en médecine vétérinaire. Il faut donc adapter les courbes d'étalonnage à partir de sérums canins avant de les utiliser (43).

Il existe une zone dite « zone grise », correspondant au chevauchement entre les valeurs des concentrations des chiens euthyroïdiens et celles des chiens hypothyroïdiens. Ce chevauchement intervient sur une plage importante de valeurs allant de 10 à 25 nmol/L (Figure 7).

Les seuils d'interprétation pour le dosage de T_4 retenus par Prélaud (99), sont :

- $[TT_4] < 10$ nmol/L, hypothyroïdie fortement probable,
- $10 < [TT_4] < 25$ nmol/L, hypothyroïdie possible,
- $[TT_4] > 25$ nmol/L, hypothyroïdie improbable, sauf en présence d'autoanticorps.

La concentration de FT_4 est environ 1000 fois inférieure à celle de T_4 , et elle représente la fraction métaboliquement active de la T_4 , car elle peut pénétrer dans les cellules cibles. Le dosage de FT_4 permet une meilleure corrélation des résultats avec l'état clinique du chien. En effet, la concentration de FT_4 détectée correspond à la quantité d'hormone disponible pour les tissus de l'organisme, donc en théorie elle reflète plus précisément la fonction thyroïdienne. Le dosage de FT_4 permet, dans les cas où TT_4 est modifiée, de

distinguer s'il s'agit d'un hypothyroïdisme ou d'une perturbation du transport de T_4 par les protéines plasmatiques (53).

Le dosage des fractions libres (FT_4 et FT_3) peut se faire par RIA, ELISA ou par une méthode de dialyse à l'équilibre.

Le dosage par dialyse à l'équilibre est le « gold standard » du dosage de la FT_4 . Il est le seul test combinant la meilleure sensibilité, spécificité et exactitude pour le dosage de FT_4 mais aussi une très bonne corrélation des résultats avec le statut thyroïdien clinique de l'animal (43). En effet, une étude montre que le dosage par RIA avec les kits humains donne des valeurs plus basses que le dosage par dialyse à l'équilibre et mène donc à une surestimation des cas d'hypothyroïdisme (108). Mais le dosage par dialyse à l'équilibre est une technique lourde, chère, délicate à mettre en place et peu reproductible lorsque les paramètres expérimentaux varient. En effet, les résultats obtenus sont biaisés par rapport à la réalité clinique si la réalisation de ce dosage ne se fait pas dans des conditions optimales (14).

Par RIA ou ELISA, les résultats sont cependant moins précis, mais ce dosage a l'avantage d'être pratique, rapide et moins cher que les autres méthodes. En effet, dans les trousse de dosage utilisées de médecine humaine, les analogues structuraux utilisés ne sont pas pris en charge par les protéines de transport, réalisant une compétition avec la fraction libre des HTI sur les sites de fixation de l'anticorps.

D'autres dosages offrent une possibilité de séparation par gel filtration des formes liées et libres avant le dosage par compétition sur les sites de l'anticorps et s'avèrent plus précis que les précédents.

Le dosage de T_3 a peu d'intérêt diagnostique car même si T_3 correspond à la forme active des hormones thyroïdiennes, la sensibilité et l'exactitude de son dosage pour la détection d'un hypothyroïdisme sont faibles (43). La concentration de T_3 peut être élevée chez un chien hypothyroïdien dans des cas de thyroïdite lymphocytaire ou de séquelles de thyroïdite, en raison de la présence d'autoanticorps dirigés contre T_3 qui conduisent à une surestimation du résultat. Elle peut être abaissée chez des animaux atteints de maladies non thyroïdiennes (« euthyroid sick syndrome ») (57).

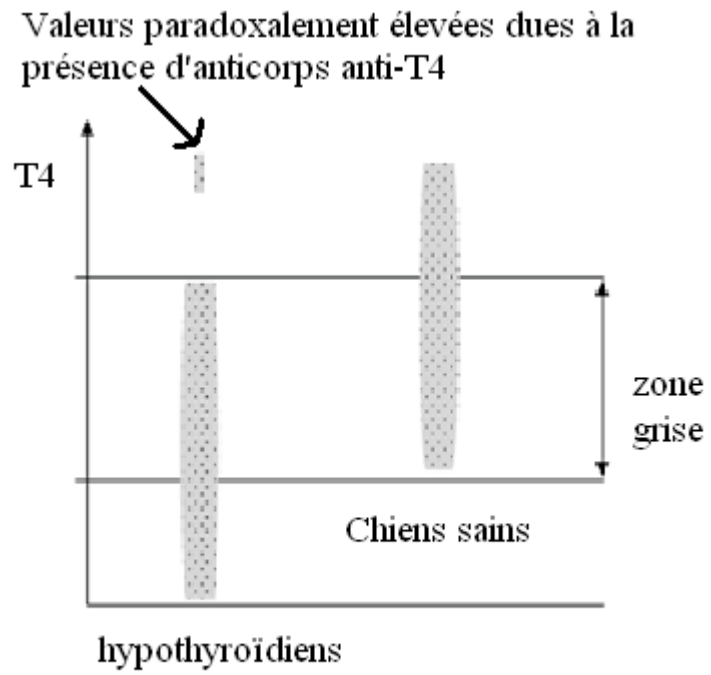


Figure 7 : Représentation schématique de la distribution des concentrations de TT4 chez les chiens sains et hypothyroïdiens (D'après 99)

3) Dosage de la TSH canine

La TSH est très spécifique d'espèce et comme pour la TSH canine il n'existe pas de réaction croisée avec les anticorps anti-TSH humains, ces trousseaux ne sont pas utilisables chez le chien. L'emploi de kits homologues est donc obligatoire.

Depuis 1988, date du développement du premier kit de dosage de la TSH canine, des kits adaptés à la TSH canine ont été développés. A l'heure actuelle, il existe 3 méthodes spécifiques de dosage de la TSH canine : le dosage immuno-radiométrique (IRMA), le dosage Immuno-enzymatique (ELISA) et le dosage par chimiluminescence. Une étude a comparé les trois méthodes, le dosage par chimiluminescence paraît être de plus grande précision que les autres, néanmoins il existe une bonne corrélation entre les trois méthodes (79).

Cette corrélation est bonne pour des concentrations plasmatiques en TSH supérieures à 0,5 ng/mL, c'est-à-dire compatibles avec un hypothyroïdisme, mais elle est mauvaise pour des concentrations inférieures ou égales à 0,1 ng/mL (79).

Une valeur basse de TSH ne permet pas de conclure car 20 à 40% des chiens hypothyroïdiens présentent des valeurs de TSH basses ou dans les intervalles de valeurs usuelles (43). Une valeur élevée de TSH ($>0,5$ ng/mL), est compatible avec un hypothyroïdisme si la concentration de T_4 est basse, mais si la concentration de T_4 est dans les valeurs usuelles, on ne peut pas conclure : en effet, une concentration élevée de TSH associée à une concentration de FT_4 comprise dans les valeurs usuelles peut également refléter un début de stimulation de la glande thyroïdienne par la TSH antéhypophysaire, par exemple en cas d'augmentation du métabolisme basal.

Les seuils d'interprétation de la concentration retenus par Prélaud (99) sont :

- $[cTSH] < 0,30$ ng/mL, hypothyroïdie fortement improbable,
- $0,30 < [cTSH] < 0,55$ ng/mL, hypothyroïdie possible,
- $[cTSH] > 0,55$ ng/mL, hypothyroïdie probable.

(Avec c pour canine)

En résumé, dans la pratique courante de la médecine vétérinaire, une anamnèse et un tableau clinique en faveur d'un hypothyroïdisme amène à utiliser des dosages hormonaux. Un dosage de la T_4 ou de la FT_4 associé à celui de la TSH canine correspond au type d'exploration classique actuellement mis en place. On préférera un dosage de la FT_4 , moins influencée par les facteurs exogènes ou les maladies intercurrentes.

V. Indices de régulation (1, 3, 19, 69)

A l'heure actuelle, aucune méthode biochimique rapide, efficace et faisable en pratique quotidienne ou dans un protocole de recherche, n'a été mise en place ou validée pour évaluer la régulation de la sécrétion des hormones thyroïdiennes iodées. En se documentant sur d'autres troubles endocriniens que ceux étudiés ici, on pourrait suggérer l'utilisation d'indices de régulation concernant l'évaluation de la sensibilité de la thyroïde à la TSH, comme ceux qui explorent la sensibilité à l'insuline dans le cadre de l'étude du diabète de type II, de l'obésité et des maladies cardio-vasculaires chez l'homme.

Quatre indices ont été retenus : le ratio TSH/FT_{4c} (analogue au ratio insuline/glucose), un indice analogue à celui de Bennet ($1/(\ln \text{ glucose} * \ln \text{ insuline})$) et noté I_{BL}, un indice analogue à celui de QUICKI ($1/(\log \text{ insuline} + \log \text{ glucose})$) noté I_{QL} et un indice analogue à l'HOMA ($(\text{Insuline} * \text{glucose})/22,5$). Dans le cadre du diabète sucré, ces quatre indices ont été créés et validés chez l'homme en les comparant aux méthodes de références, afin d'évaluer chez un patient la sensibilité à l'insuline et éventuellement prévoir l'apparition chez ce même patient d'un diabète de type II ou d'une maladie cardio-vasculaire. Ces indices présentent, contrairement aux méthodes de références, l'intérêt d'être des méthodes simples, précises et immédiates d'évaluation de la sensibilité d'un individu à l'insuline, que ce soit en pratique vétérinaire quotidienne comme dans un protocole de recherche.

Ces quatre indices ont été explorés dans le domaine vétérinaire par Appleton et al. (3) : en effet les auteurs avaient alors pour but d'appliquer ces mêmes indices à l'étude de la sensibilité à l'insuline chez le chat. Ces quatre indices permettent de rechercher une diminution de cette sensibilité à l'insuline et donc d'assurer une détection précoce voire la prévention des diabètes de type II (perte de poids, augmentation de l'activité physique, diététique) dans cette espèce.

Dans l'étude présente, la construction de quatre indices équivalents a été décidée pour évaluer la régulation de la sécrétion de FT₄ par la TSH, la concentration de FT₄ étant considérée comme la cible moléculaire de l'action de la TSH.

Ainsi, un dosage de la TT₄ ou de la FT₄ associé à celui de la TSH canine correspond à l'analyse de référence à l'heure actuelle en médecine vétérinaire. On préférera un dosage de la FT₄, moins influencée par les facteurs exogènes ou les maladies intercurrentes. Ces dosages peuvent être complétés par un dosage de la T₃, seule hormone biologiquement active.

Cette synthèse bibliographique montre que le statut thyroïdien du chien est très largement modifié par des facteurs exogènes tels que les xénobiotiques, l'environnement et l'alimentation. Il est de plus dépendant, à priori, des facteurs intrinsèques au chien : race, âge, poids, stade de reproduction et activité physique, malgré le peu d'études disponibles sur la réelle influence des différents facteurs épidémiologiques sur le statut thyroïdien du chien sain.

Cette synthèse constitue le travail préliminaire à l'étude expérimentale qui va suivre et qui a pour but d'évaluer le statut de la fonction thyroïdienne de chiens sains présentés à la consultation de médecine préventive et, d'autre part, d'essayer d'éclaircir le lien entre certains facteurs épidémiologiques et endogènes (notamment l'obésité) et le statut thyroïdien. L'environnement, le mode de vie du chien, l'alimentation, l'activité ou encore le poids sont, par exemple, des facteurs qui seront mis en parallèle avec les résultats de dosages hormonaux et biochimiques chez des chiens apparemment sains. La détermination de ce statut thyroïdien sera réalisée à l'aide du dosage de la FT₄, de la TT₃ et de la TSH et son éventuelle relation avec le statut lipidique (dosage des concentrations plasmatiques en cholestérol et triglycérides) ainsi que des indices de régulation appréciant la capacité de réponse de la thyroïde à l'axe thyroïdienne seront étudiés.

Partie 2 : ETUDE EXPERIMENTALE

I. Matériel et méthode

1) Population des chiens étudiés et prélèvements sanguins

a. Critères utilisés

Cette étude inclut 179 chiens et a été réalisée à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse. Parmi ces chiens, 71,5% ont été présentés en médecine préventive pour leur vaccination annuelle, les 28,5% restant provenant d'élevages choisis au hasard dans la région toulousaine. Tous les chiens inclus dans cette étude sont considérés comme apparemment sains suite à un examen clinique conduit systématiquement avant chaque prise de sang.

Pour chaque chien, le propriétaire ou l'éleveur a dû remplir un questionnaire (Annexe 1) indiquant l'âge, la race ou le groupe de race, le sexe et une éventuelle stérilisation ou, le cas échéant, la date des dernières chaleurs pour les femelles. De plus, il indique l'activité de son chien, son mode de vie (la présence d'un jardin, l'endroit où l'animal dort, s'il joue avec des jouets en caoutchouc, ...), son comportement et les éventuels changements de celui-ci, les éventuels médicaments administrés et enfin, les habitudes alimentaires (type et marque de nourriture, appétit, nombre de repas par jour, quantité de nourriture par repas, les éventuels changements d'alimentation récents et la fréquence des selles).

Le BCS ou Body Condition Scoring a été évalué par nos soins sur tous les chiens de manière visuelle. Les principaux critères d'évaluation sont la présence de dépôts graisseux sur les vues latérales et dorsales des côtes, des vertèbres lombaires et des autres saillies osseuses, la présence d'une taille marquée, d'un abdomen gonflé ou distendu, la quantité de graisse sous-cutanée, les autres dépôts graisseux et les éventuelles pertes de masses musculaires (Tableau 1). Un BCS de 4/9 ou 5/9 correspond à une morphologie idéale. Les animaux possédant un BCS de 1 à 3 sur 9 sont considérés comme maigres alors que les animaux possédant un BCS allant de 6 à 9/9 sont en surpoids voire obèses (72).

Pour chaque chien, le poids idéal a été évalué par nos soins en le calculant à partir du poids réel et du BCS (28) :

- Un BCS de 1/9 : poids réel = poids idéal – 20% poids idéal
- Un BCS de 2/9 : poids réel = poids idéal – 15% poids idéal
- Un BCS de 3/9 : poids réel = poids idéal – 10% poids idéal

- Un BCS de 4 ou 5/9 : poids réel = poids idéal
- Un BCS de 6/9 : poids réel = poids idéal + 10% poids idéal
- Un BCS de 7/9 : poids réel = poids idéal + 20% poids idéal
- Un BCS de 8/9 : poids réel = poids idéal + 30% poids idéal
- Un BCS de 9/9 : poids réel = poids idéal + 40% poids idéal

Pour chaque chien, le format est également évalué en fonction de la taille au garrot (52) :

- Petit format : moins de 46 cm au garrot
- Moyen format : de 46 à 61 cm au garrot
- Grand format : plus de 61 cm au garrot

Les prélèvements de sang ont été réalisés par ponction à la veine jugulaire ou à la veine céphalique sur tubes à héparinate de lithium. Ils ont ensuite été placés à 4°C et centrifugés dans les deux heures, pendant 10 minutes à 2000 g et à température ambiante. Les plasmas ainsi obtenus sont ensuite conservés à -20°C jusqu'au moment des analyses.

Note	Palpation du squelette	Répartition du tissu adipeux Observation de la silhouette
1 (Emacié)	Côtes, vertèbres, bassin et saillies osseuses visibles à distance	Pas de graisse discernable, fonte musculaire extrême
2 (Très maigre)	Côtes, vertèbres, bassin bien visibles, autres saillies osseuses éventuellement visibles	Pas de graisse palpable, perte minimale de muscle
3 (Maigre)	Côtes facilement palpables voire visibles, apophyse épineuses des vertèbres lombaires visibles, os du bassin proéminents	Pas de tissu adipeux sous cutané recouvrant les côtes
4 (Fin)	Côtes facilement palpables	Graisse de couverture minimale
5 (Optimal)	Côtes palpables	Pas d'excès de graisse sous cutanée recouvrant les côtes
6 (Surcharge)	Côtes palpables	Léger excès de graisse recouvrant les côtes
7 (Gros)	Côtes difficiles à palper	Graisse déposée sur les côtes, les lombes et la base de la queue
8 (Obèse)	Côtes palpables en exerçant une forte pression	Fort dépôt de graisse sur les côtes, les lombes et la base de la queue
9 (Très obèse)	Côtes non palpables	Dépôt majeur de graisse sur le thorax, rachis, base de la queue, encolure, membres et face

Tableau 1 : Principaux critères de détermination du BCS (Body Condition Scoring) par inspection visuelle chez le chien (D'après 72)

b. Caractéristiques épidémiologiques de la population étudiée

Au sein de la population étudiée (tableau 2), 74 chiens étaient des mâles dont 12 étaient castrés (16,2%) et 105 étaient des femelles dont 29 étaient stérilisées (27,6%). La majorité des chiens (42,5%) étaient de jeunes adultes de moins de trois ans, 33% (59 chiens) avaient entre 3 et 8 ans et 24,6% (44 chiens) étaient plus vieux (environ 8 ans et plus). L'âge moyen des chiens est de 4,8 ans.

La grande majorité des chiens (59,8% soit 107 chiens) étaient de grand format (plus de 61 cm au garrot) et seulement 11,2%, soit 20 chiens, étaient de petit format (moins de 46 cm au garrot).

Une très forte proportion (80,4%) de chiens de race a été observée ; 48 races différentes étaient représentées, réparties de façon prépondérante sur quatre groupes raciaux (le groupe cynophile 1 des chiens de berger avec 16,2% soit 29 chiens, le groupe 2 (Pinscher, schnauzer et molossoïdes) avec 16,2% soit 29 chiens également, le groupe 8 (Spaniels, retrievers et chiens d'eau) avec 16,7% soit 30 chiens et le groupe 9 (chiens d'agrément et de compagnie) avec 14% soit 25 chiens). Les groupes cynophiles 3 (chiens de terrier) et 7 (chiens d'arrêt) étaient représentés un peu moins souvent (respectivement 19 et 8 chiens soit 10,6% et 4,5%) et les groupes cynophiles 4 (teckels), 5 (chiens scandinaves) et 6 (chiens courants) étaient rarement représentés dans notre population (respectivement 0,6%, 1,1% et 0,6%). Néanmoins, 5 races sont apparues prédominantes : les Cavaliers King Charles (groupe 9, 19 chiens), les labradors (14 chiens), les golden retrievers (9 chiens) et les cockers anglais (groupe 8, 7 chiens) et les Landseers (groupe 2, 7 chiens).

De plus, seulement 3,4% des chiens étudiés exerçaient une activité limitée alors que 29 chiens (16,2%) ont été qualifiés par leur propriétaire comme très sportifs. Il apparaît donc que la grande majorité des chiens (144 chiens soit environ 80%) a eu une activité modérée. En parallèle, 82,7% des chiens étudiés vivaient dans une maison ou un appartement avec accès à un jardin. Dans notre étude, les chiens de travail (agility, chien de troupeau, chien de police) ou de chasse ont été très rarement représentés (respectivement 2,8% et 0,6%). De plus, seulement 24% de la population étudiée, soit 43 chiens, a eu accès à des jouets en caoutchouc. Concernant le lieu de couchage, 13,4% des chiens de la population étudiée préféraient se coucher à proximité d'une source de chaleur (cheminée, radiateur).

Concernant le comportement des chiens étudiés, 73 d'entre eux (40,8%) étaient considérés comme calmes par leur propriétaire, un nombre équivalent (84 chiens) était

qualifié d'actif et seulement 12,3% des chiens ont un comportement anormal (chien très calme ou hyperactif). La présence d'un changement de comportement récent (1 à 60 mois avant le prélèvement) a été notée par les propriétaires concernant 21 chiens de l'étude.

Concernant l'alimentation, 98,3% des chiens mangeaient des croquettes. Parmi ces chiens mangeant principalement des croquettes, 15,9% avaient des « à côtés » et restes de table, 2,8% avaient, en plus, une alimentation humide et 5,7% avaient, en plus, une ration ménagère. Les trois chiens restant (1,7%) mangeaient uniquement une alimentation humide ou une ration ménagère. Au total 11,2% des chiens de la population étudiée rongeaient des lamelles et des os. Quant à la qualité des aliments distribués aux chiens étudiés : environ 23,5 % d'entre eux recevaient une alimentation de type vétérinaire stricte dite « premium » (Hill's®, Royal canin®, Proplan®, Eukanuba®, Virbac®), le reste recevant une alimentation de grande surface (carrefour®, brekkies®, friskies®, canigou®, ...). Dans la population étudiée, peu de propriétaires (16,2%) ont changé régulièrement de marque d'aliment. Parmi les chiens recevant une alimentation de type vétérinaire de haute qualité, 27,4% ont reçu des « à côtés », des restes de table et des os à ronger. La majorité des chiens étudiés (57,5% soit 103 chiens) ne mangeait qu'un repas par jour, la plupart du temps le matin. Seuls 15 chiens ont reçu une alimentation à volonté. Enfin, la plupart des chiens (79,9%) ont présenté un appétit normal, les chiens restant ayant à 15,1% un appétit important et à 5% un appétit difficile.

Enfin, la majorité des chiens (55,9% soit 100 chiens) présentent un BCS dit « normal » (entre 4 et 5/9), mais 77 chiens possèdent un BCS supérieur à 6/9, soit un poids réel supérieur d'environ 15% au poids idéal. Seul deux chiens était trop maigres, présentant un BCS inférieur à 3/9 soit un poids réel inférieur au poids idéal d'environ 20%.

Parmi le groupe des chiens en surpoids (tableau 3), les proportions de jeunes adultes (de moins de trois ans) et de chiens sportifs (pratiquant régulièrement une activité physique intense) ont été significativement inférieures ($p < 0,05$) à celles observées chez les chiens normaux ou maigres.

De plus, ce groupe de chiens en surpoids contenait significativement plus de chiens appartenant au groupe 8 (labradors, Golden retrievers, Cockers, ...) ($p < 0,01$).

	Effectif		Pourcentage (en %)	
Format				
Petit (<46 cm au garrot)	20		11,2	
Moyen (46-61 cm au garrot)	52		29,0	
Grand (>61 cm au garrot)	107		59,8	
Age				
< 3ans	76		42,5	
3-8 ans	59		33,0	
≥ 8 ans	44		24,5	
Sexe				
Mâle entier	62	} 74	34,6	} 41,3
Mâle castré	12		6,7	
Femelle entière	76	} 105	42,5	} 58,7
Femelle stérilisée	29		16,2	
Type de chiens				
Premier groupe	29		16,2	
Deuxième groupe	29		16,2	
Huitième groupe	30		16,7	
Neuvième groupe	25		14,0	
Troisième groupe	19		10,6	
Septième groupe	8		4,5	
Quatrième groupe	1		0,6	
Cinquième groupe	2		1,1	
Sixième groupe	1		0,6	
croisés	35		19,6	
Activité				
Limitée	6		3,4	
Modérée	144		80,4	
Sportive	29		16,2	

Mode de vie	effectif	Pourcentage (en %)
Appartement sans jardin	25	14,0
Maison/appartement avec jardin	148	82,7
Travail	5	2,8
chasse	1	0,6
Comportement		
Très calme	11	6,1
Calme	73	40,8
Actif	84	46,9
Très actif	11	6,1
Changement de comportement datant d'entre 1 et 60 mois précédant le prélèvement	21	11,7
Jouets en caoutchouc		
Oui	43	24,0
Non	136	76,0
Alimentation		
Croquettes	176	98,3
Alimentation humide	6	3,4
Ration ménagère	10	5,6
Carcasses	1	0,6
Restes, à côtés	29	16,2
Lamelles, os à ronger	20	11,2
Nombre de repas par jour		
1	103	57,5
> ou = 2	61	34,1
A volonté	15	8,4
Moment du repas		
Matin	106	59,2
Midi	25	14
Soir	48	26,8

Tableau 2 : Description de la population étudiée (179 chiens apparemment sains) en fonction des critères épidémiologiques retenus.

	Chiens en surpoids (n = 77) BCS ≥ 6	Chiens "normaux" ou maigres (n = 102)	p
Sexe			
Mâle	35	39	
Femelle	42	63	NS
Stérilisé			
Entier	19	22	
	58	80	NS
Age (ans)			
< 3	21	55	
$3 \leq x < 8$	31	28	
≥ 8	25	19	< 0.05
Format			
Petit	8	12	
Moyen	29	23	
Grand	40	67	NS
Groupe racial			
Groupe 1	11	18	
Groupe 2	9	19	
Groupe 3	7	12	
Groupe 8	22	9	< 0.01
Groupe 9	11	14	
Autres ¹	17	30	
Activité			
Limitée / Modérée	71	79	
Intense	6	23	< 0.05
Type de nourriture			
Aliment vétérinaire	16	26	
Autres	61	76	NS

Tableau 3 : Comparaison des caractéristiques épidémiologiques entre les chiens en surpoids et les chiens présentant un BCS normal

Avec : BCS: Body Condition score; NS: non significatif. Groupe 1: Chiens de berger; groupe 2: pinscher, schnauzer et molossoïdes; groupe 3: terriers; groupe 8: Spaniels, retrievers et chiens d'eau; group 9: chiens d'agrément et de compagnie; Autres : cette catégorie contient les chiens croisés et les chiens provenant de groupes raciaux peu représentés dans cette étude (groupe 4: teckels; groupe 5: Chiens scandinaves; groupe 6: chiens courants, groupe 7: chiens d'arrêt).

2) Analyses biochimiques

Le statut thyroïdien des chiens a été établi en déterminant les concentrations plasmatiques de la fraction libre de la thyroxine (FT₄) et des fractions totales (libres et liées) de la T₃ (TT₃) par des dosages ELISA par compétition en phase solide commercialisés en médecine humaine (Calbiotech ©, U.S.A.) et celle de la TSH par un dosage ELISA immunométrique homologue (Immulite© canine TSH, France) (cf. Annexes 2, 3 et 4) selon les instructions des fabricants conjointement à l'École nationale vétérinaire de Toulouse et à l'école nationale vétérinaire de Nantes (Laboratoire des dosages hormonaux).

Chaque échantillon a été systématiquement dosé deux fois.

Dans le cas des dosages de la TT₃ et de la FT₄, 50 µL de plasma et 100 µL de solution d'enzyme conjuguée ont été déposés dans chaque puits puis incubés, après 20 à 30 secondes d'agitation, une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après un triple lavage de la plaque, 100µL de substrat TMB ont été ajoutés à chaque puits. Après une seconde incubation de 15 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière, la réaction a été stoppée par l'ajout de 50 µL de solution Stop. Les densités optiques ont été lues à 450 nm dans le quart d'heure suivant la manipulation.

En ce qui concerne le dosage de la TSH canine plasmatique, 25 µL de plasma ou de standards ont été incubés en présence d'anticorps murins monoclonaux. Les complexes immuns formés ont été révélés par l'addition d'anticorps polyclonaux de lapin dirigés contre les immunoglobulines murines couplés à la phosphatase alcaline, puis ajout du substrat chémiluminescent spécifique de l'enzyme.

Les concentrations plasmatiques hormonales ont été obtenues par régression linéaire ($DO_{450\text{ nm}} = a \times [\text{hormone}] + b$) dont les paramètres a et b ont été déterminés en considérant les absorbances données par les standards (échantillons de concentrations connues et croissantes).

Les dosages des concentrations plasmatiques des triglycérides et du cholestérol (respectivement trousse TR3823 et CH3810, Randox©, France) ont été réalisés par le laboratoire vétérinaire de Nantes (cf. Annexe 5)

Les dosages des concentrations plasmatiques de la TSH canine, des triglycérides et du cholestérol ont été expérimentalement validés par le Laboratoire de Dosage Hormonaux de l'École nationale vétérinaire de Nantes, et ceux des concentrations plasmatiques de FT₄ et TT₃ ont été validés à l'École nationale vétérinaire de Toulouse (Laboratoire de Microbiologie vétérinaire) dans le cadre de cette étude.

L'étude de la boucle de régulation TSH/FT₄ a été réalisée en calculant différents indices (TSH x FT_{4c}, TSH/FT_{4c}, « Bennett Like » et « Quicky Like ») de façon similaire à ceux établis en médecine humaine et ayant pour but d'étudier la boucle de régulation insuline/glucose (1, 3, 68). Les indices « Bennett Like » (I_{BL}) et « Quicky Like » (I_{QL}) ont été déterminés par les formules respectives suivantes :

- $I_{BL} = 110 + 1 / (\log \text{TSH} \times (\log \text{FT}_4 - 2))$

- $I_{QL} = 2 + 1 / (\log \text{TSH} + (\log \text{FT}_4 - 2))$

(Avec FT_{4c} = FT₄/100)

Pour le calcul de ces 4 indices, les concentrations de TSH et de FT₄ ont été respectivement exprimées en nmol/L et en pmol/L.

3) Analyses statistiques

La normalité de la distribution des valeurs des différentes concentrations des HTI, éventuellement obtenue après transformations mathématiques, a été vérifiée à l'aide du test du χ^2 , et les données ont été soumises au système d'analyse statistique ANOVA.

Les corrélations des différents paramètres biochimiques entre eux ainsi que celles de ces mêmes paramètres biochimiques avec les différents facteurs épidémiologiques étudiés ont été déterminées à l'aide du test de Pearson. L'influence des paramètres épidémiologiques sur les différents paramètres biochimiques a été évaluée par le test du χ^2 . Pour l'étude des groupes de petite taille (nombre d'animaux inférieur à 10), la répartition des valeurs a été analysée à l'aide du test non paramétrique de Mann and Whitney. Les différences obtenues ont été considérées comme significative avec un risque d'erreur inférieur à 5%.

II. Résultats

1) Qualités métrologiques des dosages biochimiques

a. Cas des dosages hormonaux

Le minimum détectable, c'est-à-dire la plus petite valeur significativement différente d'une concentration nulle avec un risque de 5%, a correspondu à la borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95% de l'absorbance mesurée dix fois d'un standard complètement dépourvu en hormone pour les dosages par compétition (FT₄ et TT₃) et à la borne inférieure

pour le dosage immunométrique de TSH canine. Les limites de détection ainsi déterminées ont été de 7 pmol/L pour la FT₄, de 0,903 nmol/L pour la TT₃ et de 0,259 nmol/L pour la TSH.

L'aptitude de la technique à donner plusieurs fois le même résultat à partir d'un même échantillon au cours d'une même série (répétabilité) ou au cours de différentes séries (reproductibilité) a été établie sur des « faibles », « moyennes » et « fortes » valeurs à partir de dix mesures répétées d'un même échantillon dans le cadre de la répétabilité (ou variation intra-essai) et de 5 à 6 mesures dans le cadre de la reproductibilité (variation inter-essai)

Comme le montre le tableau 4, la répétabilité du dosage de FT₄ a varié de 3,3% (pour de faibles valeurs) à 8,8% (pour de fortes valeurs) et celle du dosage de TT₃ de 4,3% (moyennes valeurs) à 9,0% (fortes valeurs). En ce qui concerne les variations inter-essais, elles sont restées similaires et modérées pour la détermination des faibles concentrations de FT₄ (9,1%) et de TT₃ (7,1%) et ont fluctué de 11,1% à 15,0% pour les concentrations moyennes. En revanche, la détermination des concentrations élevées de TT₃ (2,581 nmol/L) est associée à une imprécision relativement importante (26,4%).

Les coefficients de variation intra-essais et inter-essais calculés pour des concentrations plasmatiques de TSH de nmol/L à nmol/L ont respectivement varié de 3,1% à 5,0% et de 6,3% à 8,2%. D'autre part, de fortes concentrations de triglycérides et une éventuelle hémolyse n'ont pas interféré avec la précision du dosage de TSH.

		Variations intra-essais			Variations inter-essais		
		Cm	Min-Max	CV (%)	Cm	Min-Max	CV (%)
FT₄ (pmol/L)	« faible »	12,9	8,9-14,2	3,3	15,5	12,9-17,5	9,1
	« moyenne »	17,2	13,8-20,2	4,9	19,1	17,2-20,1	11,1
	Standard interne	NEV	NEV	NEV	18,4	14,9-19,9	14,6
	« forte »	24,2	18,5-26,4	8,3	25,1	20,1-29,6	13,9
TT₃ (nmol/L)	« faible »	0,648	0,495-0,796	4,6	0,996	0,648-1,232	7,1
	« moyenne »	1,278	1,169-1,318	4,3	1,946	1,332-2,458	11,5
	Standard interne	NEV	NEV	NEV	1,352	1,194-1,820	15,0
	« forte »	1,395	1,127-1,490	9,0	2,581	1,581-3,037	26,4

Tableau 4 : Variations intra-essais et inter-essais des dosages des concentrations plasmatiques de FT₄ et de TT₃ par ELISA par compétition (Calbiotech©) chez le chien apparemment sain.

Avec CV : Coefficient de variation ((Ecart-type/moyenne)/100), Min : valeur minimale, Cmax : valeur maximale, NEV : non évalué, Cm : Concentration moyenne

Les pourcentages de réactions croisées entre la FT₄ et la D-triiodothyronine, la L-triiodothyronine, l'iodothyrosine, la diiodothyronine, la diiodothyroxine ont varié de 0,01 à 3,0%. De même, les pourcentages de réactions croisées entre la TT₃ et la L-thyroxine, la D-thyroxine, l'iodothyrosine, la diiodothyronine et la diiodothyroxine ont varié de 0,01% à 3,0%. Ces derniers ont été établis par les fabricants des différentes trousse de dosage (Annexes 2, 3 et 4). Ces pourcentages de réactions croisées sont restés négligeables et ces dosages ont donc pu être considérés comme spécifiques. De même, les réactions croisées obtenues entre la TSH et d'autres hormones antéhypophysaires (FSH, LH, HCG) par le kit immulite TSH canine sont restées négligeables.

L'exactitude des dosages hormonaux a été évaluée par 2 méthodes complémentaires :

- Une épreuve de dilutions successives d'un échantillon présentant une concentration hormonale élevée
- Une épreuve de recouvrement par enrichissement progressif en hormone d'un échantillon faiblement concentré par un échantillon fortement concentré

Les pourcentages de recouvrement ont varié :

- de 99% à 104% lors de l'épreuve de dilution et de 88% à 127% lors des épreuves d'enrichissement dans le cas du dosage de TT₃ (tableau 5)
- de 91% à 96% (dilution) et de 80% à 115% (enrichissement) dans le cas du dosage de la FT₄ (tableau 5)
- de 88% à 100% (dilution) et de 85% à 104% (enrichissement) dans le cas du dosage de la TSH (tableau 6)

Les résultats obtenus pour le dosage ELISA de la TSH ont été comparés avec les résultats obtenus par une méthode IRMA (Coat-A-Count canine TSH IRMA, DPC®, Los angeles USA) et les valeurs moyennes obtenues sont pour la méthode ELISA 3,60 nmol/L et pour la méthode IRMA 3,54 nmol/L.

	TT ₃ (nmol/L)			FT ₄ (nmol/L)		
	Catt	Cobs	R (%)	Catt	Cobs	R (%)
Epreuve de dilution	-	2,633	-	-	23,2	-
	1,975	1,951	99	17,4	15,9	91
	1,317	1,370	104	11,6	11,1	96
	0,658	<0,903	ND	5,8	<7,0	ND
	0,329	<0,903	ND	2,9	<7,0	ND
Epreuve de recouvrement	1,561	1,501	96	13,5	14,3	106
	1,603	1,406	88	16,7	17,4	104
	1,919	2,435	127	19,6	22,5	115
	1,946	2,020	104	19,9	15,9	80
	2,275	2,519	111	20,8	20,7	99,5
	2,290	2,363	103	22,0	24,9	113

Tableau 5 : Recouvrements (%) entre concentrations observées (Cobs) et concentrations attendues (Catt) en TT₃ et FT₄ dosées par ELISA par compétition (Calbiotech®, USA) lors des épreuves de dilution et d'enrichissement en hormones.

Avec R : recouvrement (%)

Epreuve de dilution			Epreuve de recouvrement		
Catt	Cobs	R (%)	Catt	Cobs	R(%)
(nmol/L)	(nmol/L)		(nmol/L)	(nmol/L)	
10,6	9,3	88	-	1,2	-
7,8	7,5	97	1,7	1,7	98
6,7	5,9	88	2,2	1,9	87
5,2	4,7	90	3,4	2,8	85
3,9	3,9	100	7,5	7,2	97
3,4	3,1	93	7,8	7,8	97
2,6	2,3	90	9,3	8,8	94
2,1	2,1	100	13,4	14,0	104
1,6	1,6	100	14,0	14,2	102
1,3	1,3	100	15,0	14,5	97
1,0	1,0	100			
0,78	0,78	100			

Tableau 6 : Recouvrements (%) entre concentrations observées (Cobs) et concentrations attendues (Catt) en TSH dosée par Immulite TSH canine lors des épreuves de dilution et d'enrichissement en TSH.

Avec R : recouvrement (%)

b. Dosages des concentrations plasmatiques de triglycérides et de cholestérol

En ce qui concerne ces deux dosages colorimétriques, la répétabilité a varié respectivement de 3,73% pour les faibles valeurs de triglycéridémie (1,71 mmol/L) et 3,29% pour les faibles valeurs de cholestérolémie (0,31 mmol/L), de 3,84% et 1,77% pour les valeurs élevées (respectivement triglycérides : 7,70 mmol/L et cholestérol : 5,61 mmol/L).

Les coefficients de variation intra-essais sont restés en deçà de 1,5% dans le cas du dosage du cholestérol et de 4% dans le cas de celui des triglycérides.

Les domaines de linéarité de ces deux dosages donnés par le fabricant ont été de 0 à 16,6 mmol/L et de 0,13 à 12,7 mmol/L respectivement pour le dosage du cholestérol et celui des triglycérides (tableau 7).

	Cholestérol	Triglycérides
Domaine de linéarité	0-16,6 mmol/L	0,13-12,7 mmol/L
Répétabilité	3,73% (1,7 mmol/L, 20 mesures)	3,29% (0,37 mmol/L, 19 mesures)
	1,71% (4,7 mmol/L, 20 mesures)	1,55% (1,4 mmol/L, 20 mesures)
	3,84% (7,7 mmol/L, 20 mesures)	1,77% (5,6 mmol/L, 20 mesures)
Reproductibilité	1,33% (1,7 mmol/L, 20 mesures)	3,51% (0,6 mmol/L, 20 mesures)
	1,00% (3,9 mmol/L, 20 mesures)	2,58% (1,2 mmol/L, 20 mesures)
	1,39% (7,5 mmol/L, 20 mesures)	1,38% (3,0 mmol/L, 20 mesures)
Interférences possibles	Hémoglobine (>10 g/L)	Hémoglobine (> 10 g/L)
	Bilirubine libre (> 0,25 g/L)	Bilirubine libre (> 0,188 g/L)
	Bilirubine conjuguée (> 2,5 g/L)	Bilirubine conjuguée (> 0,25 g/L)
	Triglycérides (> 6g/L)	

Tableau 7 : Qualités métrologiques des dosages du cholestérol (trousse Randox CH3810©, United Kingdom) et des triglycérides (trousse Randox TR 3823©, United Kingdom) données par le fabricant.

2) Distribution des paramètres biochimiques dans la population canine

a. Répartition des valeurs (Tableau 8)

Les distributions des concentrations plasmatiques de cholestérol (sans transformation mathématique préalable) et de triglycérides (après transformation mathématique $1/[TG]$) ont été considérées comme normales ($p < 0,001$). Les intervalles de valeurs usuelles correspondants calculés avec un risque de 5% ont été respectivement de [2,4 mmol/L – 9,4 mmol/L] et de [0,0 g/L – 2,0 g/L], 3,9% des chiens présentant dans les deux cas des valeurs plus élevées que les bornes supérieures.

La distribution des concentrations plasmatiques de FT_4 a été considérée comme normale ($p < 0,05$) sans transformation mathématique préalable avec un risque de 5%. Quant à TT_3 , une transformation logarithmique de type $\log_{10}(1+TT_3)$ a été requise pour objectiver une distribution normale, avec un risque d'erreur de 1%. Les intervalles de valeurs usuelles correspondant, avec un risque d'erreur de 5% ont été de [9,8 pmol/L – 27,8 pmol/L] pour FT_4 et de [0,06 mmol/L – 3,16 mmol/L] pour TT_3 , 2,8% des chiens présentant dans les deux cas des valeurs en dehors des valeurs usuelles.

Concernant les concentrations plasmatiques de TSH, leur distribution de caractère bimodale n'a pu être considérée comme normale, même après de multiples essais de transformations mathématiques. Cette distribution a été donc décrite dans cette étude uniquement à l'aide des valeurs extrêmes et de la médiane. Le caractère bimodale de la distribution des concentrations plasmatiques en TSH s'exprime par 138 valeurs (77%) comprises entre 0,052 et 0,502 nmol/L et 18 valeurs (10%) comprises entre 0,56 et 1,45 nmol/L.

Les indices de régulation calculés $TSH \times FT_{4c}$, TSH/FT_{4c} et I_{QL} ont présenté une distribution considérée comme normale sans transformation mathématique préalable ($p < 0,001$ pour $TSH \times FT_{4c}$ et I_{QL} et $p < 0,01$ pour TSH/FT_{4c}). Les intervalles de valeurs usuelles retenus avec un risque de 5% ont été de [0 – 0,162] pour $TSH \times FT_{4c}$, de [0 - 5,656] pour TSH/FT_{4c} et de [0,719 – 1,663] pour I_{QL} . Pour les deux premiers indices, 6,1% et 5,0% des valeurs étaient situées au-delà de la borne supérieure, alors que 6,1% des valeurs de I_{QL} étaient inférieures à 0,719.

En revanche, la distribution de l' I_{BL} est apparue bimodale et a été décrite par la médiane et les valeurs extrêmes. Le caractère bimodale de la distribution des valeurs de l' I_{BL} s'exprime par 170 valeurs (95%) comprises entre 102,1 et 180,6 et 9 valeurs (5%) comprises entre 2,5 et 96,4.

Pour pouvoir étudier ultérieurement l'influence des différents facteurs exogènes et endogènes sur les marqueurs lipidiques et endocriniens, des valeurs seuils (moyenne \pm 0,674 x écart-type) ont été définies permettant de répartir 50% des valeurs en dehors des limites des intervalles de valeurs usuelles dans le cas d'une dispersion normale. Dans le cas des deux paramètres n'adoptant pas une distribution normale (avec ou sans transformation mathématique), les seuils retenus permettant d'exclure 50% des valeurs, ont été de [0,130 – 0,500 nmol/L] pour la concentration plasmatique de TSH et de [111,65 – 113,00] pour l'index I_{BL} .

	TG (g/L)	Cholestérol (mmol/L)	TT₃ (nmol/L)	FT₄ (pmol/L)	TSH (nmol/L)	TSHxFT_{4c}	TSH/FT_{4c}	I_{BL}	I_{QL}
Valeurs extrêmes									
Minimum	0.2	2.3	0.34	6,9	0.052	0.009	0.244	2.5	0.143
Maximum	> 11.0	16.6	6.49	40,8	1.552	0.289	11.716	180.6	1.515
Médiane	0.6	5.7	1.42	18,9	0.233	0.043	1.273	112.1	1.266
X ± SD	0.8 ± 0.6	5.9 ± 1.9	1.61 ± 0.79	18,8 ± 4,6	0.341 ± 0.282	0.062 ± 0.051	1.991 ± 1.870	109.4 ± 19.4	1.191 ± 0.241
Type de distribution	Normale : 1/TG	Normale	Normale : log (1 + TT3)	Normale	Bimodale	Normale	Normale	Bimodale	Normale
Valeurs usuelles	0.0-2.0	2.4-9.4	0.06-3.16	9,8 – 27,8	ND	0.000-0.162	0-5.656	ND	0.719-1.663
Valeurs seuil									
Inférieure	0.4	4.7	1.11	15,7	0.130	0.030	0.780	111.65	1.110
Supérieure	0.8	7.1	1.99	21,9	0.500	0.080	2.450	113.00	1.350

Tableau 8 : Statistique descriptive de la distribution des paramètres biochimiques et endocriniens étudiés chez les 179 chiens sains.

Avec : TG: Triglycéride; TT₃: Totale (formes liées et libres) Triiodothyronine; FT₄: Tetraiodothyronine libre; TSH: Thyroid stimulating hormone; I_{BL}: index calculé selon la formule suivante : $110 + 1 / (\log \text{TSH} \times (\log \text{FT}_4 - 2))$; I_{QL}: : index calculé selon la formule suivante : $2 + 1 / (\log \text{TSH} + (\log \text{FT}_4 - 2))$; X ± SD: moyenne + ou – écart type ; les valeurs seuils inférieures et supérieures sont définies arbitrairement comme les limites de l'intervalle de confiance à 50%, considérant une distribution normale; ND: Non défini, FT_{4c} = FT₄/100

b. Corrélations établies entre les différentes variables quantitatives (Tableau 9)

Des corrélations significatives et positives ont été mises en évidence entre les concentrations plasmatiques de triglycérides et de cholestérol ($r = 0,034$, $p < 0,01$), de TT_3 et de FT_4 ($r = 0,536$, $p < 0,001$) et de TSH et de TT_3 ($r = 0,368$, $p < 0,01$), alors qu'aucune relation significative n'a pu être établie entre les concentrations plasmatiques de TSH et de FT_4 chez les chiens de notre étude.

Une très forte corrélation positive a été observée entre les deux indices TSH x FT_{4c} et TSH/ FT_{4c} ($r = 0,992$, $p < 0,001$). L' I_{BL} et l' I_{QL} ont corrélé positivement et significativement avec les indices TSH x FT_{4c} ($p < 0,001$) et TSH/ FT_{4c} ($p < 0,01$ et $p < 0,05$, respectivement) et avec les concentrations plasmatiques de TT_3 ($p < 0,05$ et $p < 0,01$) et de FT_4 ($p < 0,01$). De plus, l' I_{QL} a été positivement associé à la concentration plasmatique de TSH ($p < 0,05$) et à l' I_{BL} ($r = 0,709$, $p < 0,001$). Alors que TSH x FT_{4c} et TSH/ FT_{4c} étaient corrélés négativement avec la cholestérolémie ($p < 0,05$), aucune relation significative n'a été établie avec les deux autres indices.

D'autre part, le BCS a été significativement et positivement associé aux concentrations plasmatiques de triglycérides ($r = 0,268$, $p < 0,01$) et de cholestérol ($r = 0,250$, $p < 0,05$), ainsi qu'à l'indice TSH/ FT_{4c} ($r = 0,649$, $p < 0,001$), alors que des corrélations négatives ont été établies avec les trois autres indices ($p < 0,05$ à $p < 0,001$) et qu'aucune relation n'a été mise en évidence avec les concentrations plasmatiques d'HTI ou de TSH.

De façon similaire, des corrélations positives ont été établies entre l'âge et le statut lipidique ($p < 0,01$), le BCS ($p < 0,01$), et la concentration plasmatique de TSH ($p < 0,05$) alors que cette variable a été négativement corrélée avec la concentration plasmatique de FT_4 ($p < 0,05$) et les indices de régulation ($p < 0,05$ à $p < 0,01$) excepté l' I_{BL} .

	Chol.	TT₃	FT₄	TSH	TSHxFT_{4c}	TSH/FT_{4c}	I_{BL}	I_{QL}	BCS	Age
TG	r = 0.334 p < 0.01	r = -0.077 NS	r = -0.107 NS	r = -0.019 NS	r = -0.178 NS	r = -0.172 NS	r = -0.025 NS	r = -0.179 NS	r = 0.268 p < 0.01	r = 0.293 p < 0.01
Chol.		r = -0.080 NS	r = -0.046 NS	r = -0.074 NS	r = -0.197 p < 0.05	r = -0.198 p < 0.05	r = -0.066 NS	r = -0.174 NS	r = 0.250 p < 0.05	r = 0.355 p < 0.01
TT₃			r = 0.536 p < 0.001	r = 0.368 p < 0.01	r = 0.094 NS	r = 0.082 NS	r = 0.217 p < 0.05	r = 0.287 p < 0.01	r = -0.112 NS	r = -0.128 NS
FT₄				r = 0.189 NS	r = 0.176 NS	r = 0.149 NS	r = 0.336 p < 0.01	r = 0.365 p < 0.01	r = -0.027 NS	r = -0.192 p < 0.05
TSH					r = 0.001 NS	r = -0.003 NS	r = 0.150 NS	r = 0.245 p < 0.05	r = -0.037 NS	r = 0.242 p < 0.05
TSHxFT_{4c}						r = 0.992 p < 0.001	r = 0.401 p < 0.001	r = 0.683 p < 0.001	r = -0.465 p < 0.001	r = -0.269 p < 0.01
TSH/FT_{4c}							r = 0.386 p < 0.01	r = 0.245 p < 0.05	r = 0.649 p < 0.001	r = -0.252 p < 0.05
I_{BL}								r = 0.709 p < 0.001	r = -0.301 p < 0.01	r = -0.073 NS
I_{QL}									r = -0.669 p < 0.001	r = -0.243 p < 0.05
BCS										r = 0.317 p < 0.01

Tableau 9 : Corrélations établies à l'aide du test de Pearson entre les paramètres biochimiques et endocriniens et certains facteurs épidémiologiques (BCS, âge). Les corrélations significatives sont indiquées en gras.

Avec : TG: concentration plasmatique de triglycérides; Chol.: Cholestérolémie; TT₃: concentration plasmatique totale en triiodothyronine (formes libres et formes liées); FT₄: concentration plasmatique en tetraiodothyronine, forme libre; TSH: concentration plasmatique en thyroid stimulating hormone; I_{BL} : index calculé selon la formule suivante : $110 + 1 / (\log \text{TSH} \times (\log \text{FT}_4 - 2))$; I_{QL} : index calculé selon la formule suivante : $2 + 1 / (\log \text{TSH} + (\log \text{FT}_4 - 2))$; BCS: Body condition score; NS: non significatif, FT_{4c} = FT₄/100

3) Effets des facteurs épidémiologiques sur la distribution des paramètres biochimiques et thyroïdiens de la population étudiée de chiens sains.

Les effets de différents facteurs biologiques exogènes ou endogènes (sexe, âge, taille, groupe racial, race, activité, type alimentaire et BCS) ont été étudiés sur la répartition en faibles (inférieures aux valeurs seuils inférieures), moyennes (comprises entre les deux valeurs seuils) et fortes valeurs (supérieures aux valeurs seuils supérieures) des marqueurs lipidiques et du statut thyroïdien.

a. Sur le statut lipidique (Tableau 10)

Il est apparu que les fréquences des fortes valeurs de la triglycéridémie ($\geq 0,8$ g/L) et à moindre degré de la cholestérolémie ($\geq 7,1$ mmol/L) étaient plus élevées chez les chiens de plus de 8 ans alors que celles des faibles valeurs étaient diminuées ($p < 0,01$ pour la triglycéridémie).

La fréquence des hautes valeurs de cholestérolémie a été augmentée chez les chiens de grande taille, et celle des faibles valeurs était élevée chez les chiens de petite et moyenne tailles ($p < 0,05$), alors que ce facteur n'a engendré aucune variation significative dans la répartition de la triglycéridémie. D'autre part, la concentration plasmatique en triglycérides serait également reliée au groupe racial. En effet, on peut noter dans le tableau 10 que la fréquence des hautes valeurs était importante dans les groupes 3, 8, croisés et groupes minoritaires, alors que celle des valeurs moyennes était forte dans les groupes 9 et 2 ($p < 0,05$). En revanche, la répartition des valeurs de la cholestérolémie n'a pas été significativement modifiée par le groupe racial bien qu'une cholestérolémie inférieure à 4,7 mmol/L ait été plus souvent observée chez les terriers (groupe cynophile 3) et chez les chiens d'agrément (groupe 9) que les autres.

En outre, les individus en surpoids (BCS ≥ 6) ont plus souvent présenté des valeurs élevées en triglycéridémie ($\geq 0,8$ g/L) et en cholestérolémie ($\geq 7,1$ mmol/L) que les chiens dont le BCS était inférieur ou égal à 5 (Triglycérides 40,3% vs. 28,4%, Cholestérol 32,5% vs. 19,6%) (Tableau 10), et parallèlement, une cholestérolémie inférieure ou égale à 4,7 mmol/L a plus fréquemment été notée chez des chiens maigres et normaux. Au total, le BCS a significativement affecté ($p < 0,05$) la répartition de la cholestérolémie.

Parmi les 5 races les plus représentées dans la population étudiée de chiens sains (tableau 13), on a constaté que les Cavaliers King Charles présentaient une triglycéridémie souvent

plus faible que les Labradors ou les Landseers ($p < 0,05$) et une cholestérolémie souvent plus faible que les Labradors ou les Golden retrievers ($p < 0,05$). De plus, les valeurs de la cholestérolémie dans ces deux dernières races étaient aussi plus élevées que chez les Cockers Anglais ($p < 0,05$).

Enfin, le type alimentaire (vétérinaire ou autre), l'activité, le sexe ou la stérilisation n'ont pas exercé d'effet significatif sur la dispersion de la triglycémie ou de la cholestérolémie.

Facteurs épidémiologiques	Triglycérides (g/L) ¹				Cholestérol (mmol/L) ¹			
	Effectif (et en % de la population totale)				Effectif (et en % de la population totale)			
	< 0.4	[0.4; 0.8[≥ 0.8	p	< 4.7	[4.7; 7.1[≥ 7.1	p
Sexe								
Mâles (n = 74)	7 (9.5)	45 (60.8)	22 (29.7)		18 (24.3)	38 (51.4)	18 (24.3)	
Femelles (n = 105)	8 (7.6)	59 (56.2)	38 (36.2)	NS	24 (22.9)	54 (51.4)	27 (25.7)	NS
Stérilisé (n = 41)	1 (2.4)	23 (56.1)	17 (41.5)		9 (22.0)	18 (43.9)	14 (34.1)	
Non stérilisé (n = 138)	14 (10.1)	81 (58.7)	43 (31.2)	NS	33 (23.9)	74 (53.6)	31 (22.5)	NS
Age (en années)								
< 3 (n = 76)	9 (11.8)	51 (67.1)	16 (21.1)		21 (27.6)	41 (53.9)	14 (18.4)	
[3 – 8[(n = 59)	6 (10.2)	31 (52.5)	22 (37.3)		15 (25.4)	30 (50.8)	14 (23.7)	
≥ 8 (n = 44)	0 (0.0)	22 (50.0)	22 (50.0)	< 0.01	6 (13.6)	21 (47.7)	17 (38.6)	NS
Taille (en cm au garrot)								
Petite (< 46 cm) (n = 20)	2 (10.0)	8 (40.0)	10 (50.0)		7 (35.0)	8 (40.0)	5 (25.0)	
Moyenne ([46 – 61 cm]) (n = 52)	7 (13.5)	30 (57.7)	15 (28.8)		18 (34.6)	27 (51.9)	7 (13.5)	
Grande (≥ 61 cm) (n = 107)	6 (5.6)	66 (61.7)	35 (32.7)	NS	17 (15.9)	57 (53.3)	33 (30.8)	< 0.05
Groupe racial								
Groupe 1 (n = 29)	5 (17.2)	15 (51.7)	9 (31.0)		7 (24.1)	13 (44.8)	9 (31.0)	
Groupe 2 (n = 29)	0 (0.0)	22 (75.9)	7 (24.1)		4 (13.8)	19 (65.5)	6 (20.7)	
Groupe 3 (n = 19)	2 (10.5)	8 (42.1)	9 (47.4)		6 (31.6)	9 (47.4)	4 (21.1)	
Groupe 8 (n = 30)	2 (6.7)	15 (50.0)	13 (43.3)		6 (20.0)	16 (53.3)	8 (26.7)	
Groupe 9 (n = 25)	5 (20.0)	18 (72.0)	2 (8.0)		10 (40.0)	14 (56.0)	1 (4.0)	
Autres (n = 47) ²	1 (2.1)	26 (55.3)	20 (42.6)	< 0.05	9 (19.1)	21 (44.7)	17 (36.2)	NS
Body condition score								
> 5 (n = 77)	7 (9.1)	39 (50.6)	31 (40.3)		14 (18.2)	38 (49.4)	25 (32.5)	
≤ 5 (n = 102)	8 (7.8)	65 (63.7)	29 (28.4)	NS	28 (27.5)	54 (52.9)	20 (19.6)	< 0.05
Activité								
Limitée / Modérée (n = 150)	13 (8.7)	88 (58.7)	49 (32.7)		34 (22.7)	78 (52.0)	38 (25.3)	
Intense (n = 29)	2 (6.9)	16 (55.2)	11 (37.9)	NS	8 (27.6)	14 (48.3)	7 (24.1)	NS
Type de nourriture								
Vétérinaire (n = 42)	3 (7.1)	22 (52.4)	17 (40.5)		10 (23.8)	20 (47.6)	12 (28.6)	
Autres (n = 137)	12 (8.8)	82 (59.9)	43 (31.3)	NS	32 (23.3)	72 (52.6)	33 (24.1)	NS

Tableau 10: Influence des facteurs épidémiologiques (sexe, âge, taille, groupe racial, BCS, activité et type de nourriture) sur le statut lipidique (concentrations plasmatiques en triglycérides et cholestérol) des chiens sains de la population étudiée (n=179), en nombre de chiens (et en pourcentage de la population totale).

Avec : Groupe 1: bergers; groupe 2: pinscher, schnauzer et molossoïdes ; groupe 3: terriers; group 8: spaniels, retrievers et chiens d'eau; group 9: chiens d'agrément; Autres : cette catégorie contient des chiens sans pédigrée et des chiens provenant d'autres groupes raciaux pauvrement représentés dans cette étude ; ¹: Les valeurs seuils inférieures et supérieures sont définies arbitrairement comme les limites de l'intervalle de confiance à 50% dans le cas d'une distribution normale ; NS: non significatif.

b. Sur le statut thyroïdien des chiens étudiés (Tableau 11)

Dans notre étude, la distribution des valeurs des concentrations plasmatiques de TSH, FT₄ et TT₃ ont été similaires entre les mâles et les femelles. Néanmoins, chez les chiens stérilisés, les fréquences des valeurs basses des concentrations de TT₃ et FT₄ ont été nettement augmentées ($p < 0,01$, tableau 11) alors que la distribution des concentrations plasmatiques de TSH n'a pas été affectée par la stérilisation. De plus, les valeurs basses des concentrations plasmatiques en TT₃ et FT₄ ont été plus souvent observées chez les chiens stérilisés en surpoids ($BCS \geq 6$) ($p < 0,01$) que chez les chiens stérilisés dit « normaux » ($p < 0,05$), et ce par rapport aux chiens entiers dans ces deux mêmes catégories.

Comme le montre le tableau 11, la distribution des valeurs des concentrations plasmatiques de FT₄ ($p < 0,01$) et TSH ($p < 0,001$) s'est avérée significativement reliée à l'âge : en effet, les fréquences des valeurs basses de FT₄ et des valeurs hautes de TSH ont été nettement augmentées chez les chiens de plus de 8 ans, alors que les hautes valeurs de FT₄ et les valeurs intermédiaires et faibles de TSH ont été plus souvent retrouvées chez les animaux jeunes (chiens de moins de 3 ans). Aucune influence de l'âge sur les concentrations plasmatiques de TT₃ n'a été observée par cette étude.

L'activité physique n'a pas eu d'influence significative sur les concentrations plasmatiques de TT₃ et FT₄. En revanche, il est apparu que chez les chiens dits « sportifs » la proportion des concentrations plasmatiques faibles de TSH a été significativement augmentée ($p < 0,05$).

Ni la taille, ni l'appartenance à un groupe cynophile, ni le BCS, n'ont significativement affecté le statut thyroïdien de la population étudiée de chiens sains.

Alors que les distributions des concentrations plasmatiques des HTI (TT₃ et FT₄) n'ont pas significativement varié entre les 5 races les plus représentées dans la population étudiée, les concentrations circulantes de TSH se sont avérées significativement plus élevées chez les Labradors que chez les Cavaliers King Charles ou les Golden retrievers ($p < 0,05$) (tableau 13).

Enfin, le type de nourriture a eu une influence significative uniquement sur les concentrations de TT₃, les chiens de la population étudiée nourris avec une nourriture de qualité vétérinaire présentant des proportions plus élevées de valeurs basses ou fortes que les autres ($p < 0,05$).

Facteurs épidémiologiques	TT ₃ (nmol/L) ¹			P	FT ₄ (pmol/L) ¹			p	TSH (nmol/L) ¹			p
	< 1.11	[1.11; 1.99[≥ 1.99		< 15,7	[15,7; 21,9[≥ 21,9		< 0.130	[0.130; 0.500[≥ 0.500	
Sexe												
Mâles (n = 74)	17.6%	51.4%	31.1%		23.0%	51.4%	25.7%		18.9%	54.1%	27.0%	
Femelles (n = 105)	20.0%	60.0%	20.0%	NS	26.7%	47.6%	25.7%	NS	21.9%	58.1%	20.0%	NS
Stérilisé (n = 41)	39.0%	43.9%	17.1%		46.3%	39.0%	14.6%		17.1%	56.1%	26.8%	
Non stérilisé (n = 138)	13.0%	60.1%	26.8%	< 0.01	18.8%	52.2%	29.0%	< 0.01	21.7%	56.5%	21.7%	NS
Age (en années)												
< 3 (n = 76)	13.2%	64.5%	22.4%		21.1%	40.8%	38.2%		35.5%	57.9%	6.6%	
[3 – 8[(n = 59)	25.4%	47.5%	27.1%		22.0%	54.2%	23.7%		8.5%	67.8%	23.7%	
≥ 8 (n = 44)	20.5%	54.5%	25.0%	NS	36.4%	56.8%	6.8%	< 0.01	11.4%	38.6%	50.0%	< 0.001
Taille (cm au garrot)												
Petite (< 46) (n = 20)	5.0%	55.0%	40.0%		20.0%	45.0%	35.0%		10.0%	60.0%	30.0%	
Moyenne ([46 – 61[) (n = 52)	19.2%	65.4%	15.4%		26.9%	46.2%	26.9%		26.9%	63.5%	9.6%	
Grande (≥ 61) (n = 107)	21.5%	52.3%	26.2%	NS	25.2%	51.4%	23.4%	NS	19.6%	52.3%	28.0%	NS
Groupes raciaux												
Groupe 1 (n = 29)	17.2%	62.1%	20.7%		13.8%	58.6%	27.6%		31.0%	41.4%	27.6%	
Groupe 2 (n = 29)	27.6%	48.3%	24.1%		31.0%	48.3%	20.7%		10.3%	62.1%	27.6%	
Groupe 3 (n = 19)	10.5%	63.2%	26.3%		36.8%	36.8%	26.3%		26.3%	47.4%	26.3%	
Groupe 8 (n = 30)	6.7%	60.0%	33.3%		26.7%	50.0%	23.3%		26.7%	50.0%	23.3%	
Groupe 9 (n = 25)	16.0%	68.0%	16.0%		28.0%	44.0%	28.0%		16.0%	76.0%	8.0%	
Autres (n = 47) ²	27.7%	46.8%	25.5%	NS	21.3%	51.1%	27.7%	NS	17.0%	59.6%	23.4%	NS
Body condition score												
> 5 (n = 77)	14.3%	62.3%	23.4%		24.7%	51.9%	23.4%		15.6%	63.6%	20.8%	
≤ 5 (n = 102)	22.5%	52.0%	25.5%	NS	25.5%	47.1%	27.5%	NS	24.5%	51.0%	24.5%	NS
Activité												
Limitée / Modérée (n = 150)	19.3%	56.7%	24.0%		25.3%	48.7%	26.0%		17.3%	60.0%	22.7%	
Intense (n = 29)	17.2%	55.2%	27.6%	NS	24.1%	51.7%	24.1%	NS	37.9%	37.9%	24.1%	< 0.05
Type de nourriture												
Vétérinaire (n = 42)	28.6%	40.5%	31.0%		21.4%	50.0%	28.6%		21.4%	57.1%	21.4%	
Autres (n = 137)	16.1%	61.3%	22.6%	< 0.05	26.3%	48.9%	24.8%	NS	20.4%	56.2%	23.4%	NS

Tableau 11 : Influence des facteurs épidémiologiques (sexe, âge, taille, groupe racial, BCS, activité et type de nourriture) sur le statut thyroïdien (concentrations plasmatiques en TT₃, FT₄ and TSH) chez les chiens sains de la population étudiée (n = 179).

Avec : Groupe 1: bergers; groupe 2: pinscher, schnauzer et molossoïdes ; groupe 3: terriers; group 8: spaniels, retrievers et chiens d'eau; group 9: chiens d'agrément; Autres : cette catégorie contient des chiens sans pedigree et des chiens provenant d'autres groupes raciaux pauvrement représentés dans cette étude ; ¹: Les valeurs seuils inférieures et supérieures sont définies arbitrairement comme les limites de l'intervalle de confiance à 50% dans le cas d'une distribution normale ; NS: non significatif

c. Sur les indices de régulation de la fonction thyroïdienne (Tableau 12)

La distribution des 4 indices de régulation de la fonction thyroïdienne n'a été significativement affectée ni par le sexe, ni par l'appartenance à un groupe cynophile, ni par le type d'alimentation (vétérinaire ou autre) (tableau 12).

En revanche, les Labradors ont présenté un indice TSH/FT_{4c} et un I_{BL} significativement plus élevés, et un I_{QL} plus faible que les Cockers anglais ($p < 0,05$). Chez les Cavaliers King Charles, les indices TSH x FT_{4c} et I_{BL} ont été significativement plus faibles que chez les Landseers ($p < 0,05$) alors que les I_{QL} ont été plus élevés ($p < 0,05$). En outre, les indices TSH/FT_{4c} et I_{BL} étaient plus élevés et les I_{QL} plus faibles dans cette race que chez les Cockers Anglais ($p < 0,05$) (Tableau 13).

Plusieurs facteurs épidémiologiques ont par contre interféré avec la régulation de l'axe thyroïdien de façon plus ou moins nette (Tableau 12). Ainsi la stérilisation a eu tendance à accroître la proportion de fortes valeurs ($\geq 2,45$) de l'indice TSH/FT_{4c} ($p < 0,10$).

Des valeurs élevées ($\geq 0,080$) de l'indice TSH x FT_{4c} et des valeurs faibles de l'I_{QL} ($< 1,11$) ont été plus souvent observées chez les chiens de petite taille (< 46 cm au garrot) alors qu'un indice TSH x FT_{4c} faible ($< 0,030$) et un I_{QL} supérieur ou égal 1,35 ont plus souvent été calculés chez les chiens plus grands, en particulier chez ceux de taille moyenne (entre 46 et 61 cm au garrot) ($p < 0,05$).

Les fréquences d'indices TSH x FT_{4c}, TSH/FT_{4c} et d'I_{BL} faibles et d'I_{QL} élevées sont apparues significativement plus élevées chez les jeunes chiens (comprises entre 30,3% et 43,4%) que chez les chiens de plus de 8 ans, et parallèlement des indices élevés de TSH x FT_{4c}, TSH/FT_{4c} et d'I_{BL} et des indices I_{QL} inférieurs à 1,11 ont plus souvent été observés chez les sujets âgés ($p < 0,001$).

Chez les chiens maigres ou normaux ($BCS \leq 5$), un indice I_{BL} inférieur à 111,6 a été plus souvent noté que chez les animaux en surpoids ($BCS \geq 6$) ($p < 0,05$). De même, des indices faibles TSH x FT_{4c} ($p < 0,01$), TSH/FT_{4c} ($p < 0,01$), I_{BL} ($p < 0,10$) et des indices I_{QL} élevés ($p < 0,001$) ont plus souvent été mesurés chez les chiens pratiquant une activité physique intense que chez les autres.

Facteurs épidémiologiques	TSH x FT _{4c} ¹				TSH / FT _{4c} ¹				I _{BL} ¹			I _{QL} ¹				
	< 0.030	[0.030; 0.080[≥ 0.080	p	< 0.78	[0.78; 2.45[≥ 2.45	p	< 111.6	[111.6; 113.0[≥ 113.0	p	< 1.11	[1.11; 1.35[≥ 1.35	p
Sexe																
Mâles (n = 74)	21.6%	48.6%	29.7%		27.0%	47.3%	25.7%		24.3%	47.3%	28.4%		31.1%	47.3%	21.6%	
Femelles (n = 105)	27.6%	51.4%	21.0%	NS	24.8%	51.4%	23.8%	NS	24.8%	52.4%	22.9%	NS	20.9%	52.4%	26.7%	NS
Stérilisé (n = 41)	24.4%	56.1%	19.5%		22.0%	41.5%	36.6%		24.4%	56.1%	19.5%		22.0%	53.7%	24.4%	
Non stérilisé (n = 138)	25.4%	48.6%	26.1%	NS	26.8%	52.2%	21.0%	< 0.10	24.6%	48.6%	26.8%	NS	26.1%	49.3%	24.6%	NS
Age (en années)																
< 3 (n = 76)	39.5%	52.6%	7.9%		43.4%	48.7%	7.9%		30.3%	56.6%	13.2%		7.9%	53.9%	38.2%	
[3 – 8[(n = 59)	15.3%	57.6%	27.1%		15.3%	57.6%	27.1%		10.2%	57.6%	32.2%		27.1%	57.6%	15.3%	
≥ 8 (n = 44)	13.6%	36.4%	50.0%	<0.001	9.1%	40.9%	50.0%	<0.001	34.1%	29.5%	36.4%	<0.001	52.3%	34.1%	13.6%	<0.001
Taille (cm au garrot)																
Petite (<46) (n = 20)	15.0%	45.0%	40.0%		25.0%	50.0%	25.0%		25.0%	50.0%	25.0%		40.0%	45.0%	15.0%	
Moyenne ([46 –61]) (n = 52)	32.7%	57.7%	9.6%		32.7%	53.8%	13.5%		25.0%	59.6%	15.4%		9.6%	59.6%	30.8%	
Grande (≥ 61) (n = 107)	23.4%	47.7%	29.0%	< 0.05	22.4%	47.7%	29.9%	NS	24.3%	45.8%	29.9%	NS	29.9%	46.7%	23.4%	< 0.05
Groupes raciaux																
Groupe 1 (n = 29)	27.6%	44.8%	27.6%		37.9%	34.5%	27.6%		27.6%	41.4%	31.0%		27.6%	48.3%	24.1%	
Groupe 2 (n = 29)	10.3%	58.6%	31.0%		10.3%	55.2%	34.5%		10.3%	48.3%	41.4%		31.0%	58.6%	10.3%	
Groupe 3 (n = 19)	31.6%	47.4%	21.1%		31.6%	47.4%	21.1%		26.3%	52.6%	21.1%		21.1%	47.4%	31.6%	
Groupe 8 (n = 30)	36.7%	40.0%	23.3%		26.7%	53.3%	20.0%		26.7%	46.7%	26.7%		23.3%	40.0%	36.7%	
Groupe 9 (n = 25)	20.0%	64.0%	16.0%		28.0%	56.0%	16.0%		28.0%	60.0%	12.0%		16.0%	64.0%	20.0%	
Autres (n = 47) ²	25.5%	48.9%	25.5%	NS	23.4%	51.1%	25.5%	NS	27.7%	53.2%	19.1%	NS	27.7%	46.8%	25.5%	NS
Body condition score																
> 5 (n = 77)	19.5%	55.8%	24.7%		22.1%	54.5%	23.4%		16.9%	55.8%	27.3%		26.0%	55.8%	18.2%	
≤ 5 (n = 102)	29.4%	46.1%	24.5%	NS	28.4%	46.1%	25.5%	NS	30.4%	46.1%	23.5%	< 0.05	24.5%	46.1%	29.4%	NS
Activité																
Limitée / Modérée (n = 150)	21.3%	54.7%	24.0%		22.0%	54.0%	24.0%		21.3%	52.7%	26.0%		24.7%	54.7%	20.7%	
Intense (n = 29)	44.8%	27.6%	27.6%	< 0.01	44.8%	27.6%	27.6%	< 0.01	41.4%	37.9%	20.7%	< 0.10	27.6%	27.6%	44.8%	<0.001
Type de nourriture																
Vétérinaire (n = 42)	26.2%	52.4%	21.4%		28.6%	45.2%	26.2%		28.6%	54.8%	16.7%		23.8%	50.0%	26.2%	
Autres (n = 137)	24.8%	49.6%	25.5%	NS	24.8%	51.1%	24.1%	NS	23.4%	48.9%	27.7%	NS	25.5%	50.4%	24.1%	NS

Tableau 12 : Influence des facteurs épidémiologiques (sexe, âge, taille, groupe racial, BCS, activité et type de nourriture) sur les indices reflétant la régulation de la sécrétion des HTI (TSH x FT_{4c}, TSH/FT_{4c}, I_{BL} and I_{QL}) chez les 179 chiens sains étudiés.

Avec : FT₄: Tetraiodothyronine libre; TSH: Thyroid stimulating hormone; I_{BL}: index calculé selon la formule suivante : $110 + 1 / (\log \text{TSH} \times (\log \text{FT}_4 - 2))$; I_{QL}: : index calculé selon la formule suivante : $2 + 1 / (\log \text{TSH} + (\log \text{FT}_4 - 2))$; Groupe 1: bergers; groupe 2: pinscher, schnauzer et molossoïdes ; groupe 3: terriers; group 8: spaniels, retrievers et chiens d'eau; group 9: chiens d'agrément; ²cette catégorie contient des chiens sans pedigree et des chiens provenant d'autres groupes raciaux pauvrement représentés dans cette étude ; les valeurs seuils inférieures et supérieures sont définies arbitrairement comme les limites de l'intervalle de confiance à 50%, considérant une distribution normale; ND: Non défini, FT_{4c} = FT₄/100

Paramètres biochimiques	Labrador (n = 14)	Golden Retriever (n = 9)	Cocker anglais (n = 7)	Landseer (n = 9)	CKC (n = 19)
TG (g/L)¹					
Médiane	0.7 ^a	0.5	1.2	0.7 ^b	0.4 ^{ab}
Valeurs extrêmes	0.3 - 2.7	0.3 - 4.0	0.4 - 1.8	0.4 - 1.1	0.2 - < 11
Chol. (mmol/L)¹					
Médiane	6.3 ^{ab}	5.7 ^{cd}	4.7 ^{bc}	5.2	4.7 ^{ad}
Valeurs extrêmes	3.9 - 9.1	4.4 - 8.5	3.9 - 6.2	4.7 - 8.5	3.6 - 12.9
TT₃ (nmol/L)¹					
Médiane	1.48	1.40	1.54	1.43	1.27
Valeurs extrêmes	0.34 - 2.47	1.12 - 2.92	1.15 - 4.92	1.11 - 6.49	0.67 - 2.03
FT₄ (pmol/L)¹					
Médiane	18,6	18,0	20,1	20,4	18,2
Valeurs extrêmes	6,9 - 24,7	12,8 - 23,2	13,2 - 22,0	15,6 - 26,6	11,7 - 40,8
TSH (nmol/L)¹					
Médiane	0.375 ^{ab}	0.155 ^b	0.155	0.388	0.233 ^a
Valeurs extrêmes	0.103 - 0.776	0.052 - 0.517	0.129 - 0.259	0.181 - 0.595	0.078 - 0.466
TSH x FT_{4c}¹					
Médiane	0.054	0.027	0.027	0.060 ^a	0.042 ^a
Valeurs extrêmes	0.015 - 0.146	0.009 - 0.089	0.019 - 0.057	0.038 - 0.124	0.014 - 0.095
TSH/FT_{4c}¹					
Médiane	2.140 ^a	0.860	0.860 ^{ab}	1.752	1.201 ^b
Valeurs extrêmes	0.728 - 7.522	0.308 - 2.988	0.611 - 1.178	0.869 - 2.912	0.443 - 2.859
I_{BL}¹					
Médiane	112.804 ^a	111.662	111.664 ^{ab}	113.012 ^c	112.115 ^{bc}
Valeurs extrêmes	111.198 - 122.509	111.004 - 114.581	111.365 - 112.586	111.977 - 116.427	111.188 - 114.362
I_{QL}¹					
Médiane	1.211 ^a	1.361	1.361 ^{ab}	1.179 ^c	1.275 ^{bc}
Valeurs extrêmes	0.804 - 1.454	1.046 - 1.515	1.197 - 1.416	0.898 - 1.298	1.022 - 1.464

Tableau 13 : Variations du statut thyroïdien et lipidique de 5 races prédominantes dans la population étudiée.

Avec : TG : Triglycérider ; chol : concentration plasmatique en cholestérol ; TT₃: Totale Triiodothyronine (formes liées et libres) ; FT₄: Tetraiodothyronine libre; TSH: Thyroid stimulating hormone; I_{BL}: index calculé selon la formule suivante : $110 + 1 / (\log \text{TSH} \times (\log \text{FT}_4 - 2))$; I_{QL}: : index calculé selon la formule suivante : $2 + 1 / (\log \text{TSH} + (\log \text{FT}_4 - 2))$; CKC: Cavalier King Charles. Pour un paramètre donné, le même indice indique une différence significative entre deux races (p < 0,05 ou plus), FT_{4c} = FT₄/100

4) Etablissement de profils particuliers de la fonction thyroïdienne

Dans cette étude, devant la multiplicité des résultats obtenus, inhérente au nombre d'échantillons et de paramètres biochimiques étudiés, les résultats ont été regroupés en fonction du nombre de variables situées en dehors des valeurs seuils et du type de modifications observées. Ainsi, ont été considérés comme présentant un profil particulier des chiens pour lesquels au moins trois paramètres endocriniens (concentrations plasmatiques hormonales et indices de régulation) étaient en dehors des valeurs seuils.

Le premier groupe (profil 1) (Tableau 14), regroupant 58 chiens, est caractérisé par une production relativement faible de la thyroïde (concentrations plasmatiques de $FT_4 < 15,7$ pmol/L couplées à des concentrations plasmatiques de $TSH < 0,500$ nmol/L pour 22 chiens ou concentrations plasmatiques de $FT_4 < 21,9$ pmol/L couplées à des concentrations plasmatiques de $TSH \geq 0,500$ nmol/L) associée à au moins un des indices de régulation en dehors des valeurs seuils.

Ce premier groupe a été scindé en 2 sous-groupes (G1.1 et G1.2) en fonction des variations observées des indices $TSH \times FT_{4c}$, TSH/FT_{4c} et I_{QL} principalement.

Dans le sous-groupe G1-1, les 18 chiens ont tous présenté une concentration plasmatique de FT_4 faible, $TSH \times FT_{4c} < 0,030$ et $I_{QL} \geq 1,35$. Des indices I_{BL} bas ($< 111,6$) ont également été majoritairement (sur 13 chiens) observés dans ce sous-groupe, alors que les ratios TSH/FT_{4c} étaient compris dans les valeurs seuils (12 cas) ou diminués (5 cas). Au sein de ce sous-groupe, une dichotomie supplémentaire a été envisagée en fonction des concentrations plasmatiques de TSH faibles chez 8 chiens (sous-groupe 1.1.1) ou comprises dans les valeurs seuils pour 10 chiens (sous-groupe 1.1.2).

Profils	FT ₄ (pmol/L) / TSH (nmol/L)	Indices de régulation	Interprétation
Groupe 1 (n = 58)	FT ₄ < 15,7 et TSH < 0.500 FT ₄ < 21,9 et TSH ≥ 0.500	Au moins un indice en dehors des valeurs seuils	Fonctionnement faible de la thyroïde
Groupe 1.1 (n = 18)	Général Groupe 1.1.1 (n = 8)	FT ₄ < 15,7 et TSH < 0.500 TSH x FT _{4c} < 0.030 et I _{QL} ≥ 1.35 TSH x FT _{4c} < 0.030 et I _{QL} ≥ 1.35 I _{BL} < 111.6	<i>Fonctionnement faible de la thyroïde dû à une stimulation antéhypophysaire faible ou modérée</i>
	Groupe 1.1.2 (n = 10)	FT ₄ < 15,7 et 0.130 < TSH < 0.500 TSH x FT _{4c} < 0.030 et I _{QL} ≥ 1.35	
	Général Groupe 1.2.1 (n = 4)	FT ₄ < 21,9 et 0.130 < TSH FT ₄ < 15,7 et 0.130 < TSH < 0.500 TSH/FT _{4c} ≥ 2.45 TSH/FT _{4c} ≥ 2.45 (autres indices dans les valeurs seuils)	
Groupe 1.2 (n = 40)	Groupe 1.2.2 (n = 10)	FT ₄ < 15,7 et 0.130 < TSH < 0.500 TSH/FT _{4c} ≥ 2.45 et I _{BL} < 111.6	<i>Fonctionnement faible de la thyroïde dû à une anergie relative primaire</i>
	Groupe 1.2.3 (n = 26)	15,7 < FT ₄ < 21,9 et TSH ≥ 0.500 TSH/FT _{4c} ≥ 2.45 et I _{BL} ≥ 113.0	
	Groupe 2 (n = 47)	15,7 < FT ₄	
Groupe 2.1 (n = 14)	Général	15,7 < FT ₄ et 0.130 < TSH 15,7 < FT ₄ et TSH < 0.500 TSH x FT _{4c} ≥ 0.080 et I _{BL} ≥ 113.0 0.78 < TSH/FT _{4c} < 2.45 et I _{QL} < 1.11 TSH/FT _{4c} < 0.78 (32 cas)	<i>Fonctionnements de la thyroïde et de l'antéhypophyse synchrones. Fonctionnements de la thyroïde et de l'antéhypophyse asynchrones : rétrocontrôle négatif de la thyroïde sur l'antéhypophyse</i>
	Groupe 2.2 (n = 33)	Groupe 2.2.1 (n = 13)	
	Groupe 2.2.2 (n = 20)	15,7 < FT ₄ < 21,9 et TSH < 0.130 (19 cas) TSH/FT _{4c} < 0.78 (19 cas) et TSH x FT _{4c} < 0.030 I _{QL} < 1.11 et I _{BL} < 113.0	<i>Fin du rétrocontrôle négatif de la thyroïde sur l'antéhypophyse</i>

Tableau 14 : Critères d'établissement de profils particuliers de la fonction thyroïdienne (en considérant au moins 3 marqueurs endocriniens situés en dehors des valeurs seuils définies préalablement) au sein de la population étudiée de chiens sains (n = 179).

Avec TT₃: Totale Triiodothyronine (formes liées et libres) ; FT₄: Tetraiodothyronine libre; TSH: Thyroid stimulating hormone; I_{BL}: index calculé selon la formule suivante : $110 + 1 / (\log \text{TSH} \times (\log \text{FT}_4 - 2))$; I_{QL} : index calculé selon la formule suivante : $2 + 1 / (\log \text{TSH} + (\log \text{FT}_4 - 2))$, FT_{4c} = FT₄/100

Dans le sous-groupe 1.2, contrairement au sous-groupe précédent, les 40 chiens ont tous présentés un rapport TSH/FT_{4c} supérieur à 2,45 et des indices TSH x FT_{4c} et I_{QL} compris dans les valeurs seuils ou $\geq 0,080$ et $< 1,11$ respectivement. De même que précédemment ce sous-groupe a été décomposé en trois sous-ensembles en fonction des variations des concentrations plasmatiques de FT₄ et de TSH : dans le sous-groupe G1.2.1 (n = 4), les faibles valeurs de FT₄ étaient couplées à une TSH plasmatique comprise entre 0,130 et 0,500 nmol/L, ainsi qu'à des indices de régulation inclus dans les valeurs seuils, excepté pour le ratio TSH/FT_{4c}. Dans le sous-groupe G1.2.2 (n = 10), les faibles valeurs de FT₄ plasmatiques étaient associées à une TSH plasmatique comprise dans les valeurs seuils, à un ratio TSH/FT_{4c} élevé et à un I_{BL} $< 111,6$ alors que dans le sous-groupe G1.2.3 (n = 26), les concentrations plasmatiques de la FT₄ associées à une TSH plasmatique $\geq 0,500$ nmol/L et un I_{BL} $\geq 113,0$ étaient comprises entre 15,7 et 21,9 pmol/L.

Les fréquences des valeurs situées en dehors des seuils établis pour les autres paramètres biochimiques (concentration plasmatique de TT₃, triglycérides et cholestérol) observées dans ces deux groupes de chiens (Les sous-groupe G1.1 et G1.2) sont répertoriées dans le tableau 15. Tandis que les dispersions des concentrations circulantes en triglycérides et en cholestérol n'ont pas significativement différencié par rapport à l'ensemble de la population, les fréquences de faibles valeurs ($< 1,11$ nmol/L) de TT₃ ont été significativement accrues dans le groupe 1 ($p < 0,05$) et plus particulièrement dans le sous-groupe G1.1 ($p < 0,01$). En revanche, lorsque l'on considère les caractéristiques épidémiologiques des groupes de chiens ainsi constitués (Tableau 16), il a été mis en évidence que la proportion de chiens âgés présentant ce premier profil, et plus particulièrement appartenant au sous-groupe G1.2, était plus élevée que celle de la population totale ($p < 0,001$). En outre, par rapport à l'ensemble de la population, le nombre de chiens en surpoids a semblé aussi accru ($p < 0,10$) notamment dans le sous-groupe G1.2 ($p < 0,10$), alors que dans le sous-groupe G1.1 la proportion de chiens dont le BCS était inférieur ou égal à 5 était significativement plus élevée que dans le reste de la population ($p < 0,05$). De plus, il est apparu que les chiens pratiquant régulièrement une activité physique intense étaient représentés de façon non négligeable au sein de ce groupe ($p < 0,10$). De même, les animaux mesurant plus de 61 cm au garrot ont été significativement plus fréquemment rencontrés dans le sous-groupe G1.2 que dans le reste de la population ($p < 0,05$) ou que dans le sous-groupe G1.1 ($p < 0,10$). Cependant, bien que 50% des labradors de la population étudiée aient présenté ce profil particulier, aucune prédisposition de cette race n'a été statistiquement mise en évidence.

	Profil 1			Profil 2		
	Groupe 1.1	Groupe 1.2	Total	Groupe 2.1	Groupe 2.2	Total
TT₃ (nmol/L)						
< 1.11 (n = 34)	7	9	16	1	2	3
[1.11 – 1.99[(n = 101)	10	19	29	7	18	25
≥ 1.998 (n = 44)	1**	12	13*	6*	13*	19**
Triglycérides (g/L)						
< 0.4 (n = 15)	1	2	3	1	4	5
[0.4 – 0.8[(n = 104)	13	20	33	9	21	30
≥ 0.8 (n = 60)	4	18	22	4	8	12
Cholestérol (mmol/L)						
< 4.7 (n = 42)	6	9	15	2	9	11
[4.7 – 7.1[(n = 92)	10	20	30	10	16	26
≥ 7.1 (n = 45)	2	11	13	2	8	10

Tableau 15: Répartition des autres paramètres biochimiques (concentrations plasmatiques de TT₃, triglycérides et cholestérol) dans les groupes de chiens sains présentant un profil particulier de la fonction thyroïdienne.

Profil 1 caractérisé par FT₄ faible à normale et TSH faible à élevée et au moins un indice de régulation faible ou élevé ; groupe 1.1 caractérisé par FT₄ faible et TSH faible ou normale et TSHxFT_{4c} abaissé, I_{QL} élevé et I_{BL} le plus souvent faible ; groupe 1.2 caractérisé par FT₄ faible à normale et TSH normale à élevée et TSH/FT_{4c} élevé, TSHxFT_{4c} le plus souvent élevé, I_{QL} le plus souvent faible et I_{BL} en dehors des valeurs seuils ; Profil 2 caractérisé par FT₄ normale à élevée et TSH faible à élevée et au moins un indice de régulation faible ou élevé ; groupe 2.1 caractérisé par FT₄ normale à élevée et TSH normale à élevée et I_{BL} en dehors des valeurs seuils, I_{QL} le plus souvent faible, TSHxFT_{4c} le plus souvent élevé ; groupe 2.2 caractérisé par FT₄ normale à élevée et TSH faible à normale et TSH/FT_{4c}, TSHxFT_{4c}, I_{QL} et I_{BL} le plus souvent abaissés.

* p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001 par rapport à la population totale de chiens sains ; FT_{4c} = FT₄/100

	Profil 1			Profil 2		
	Groupe 1.1	Groupe 1.2	Total	Groupe 2.1	Groupe 2.2	Total
Sexe						
Males (n = 74)	5 (6.8%)	18 (24.3%)	23 (31.1%)	7 (9.5%)	13 (17.6%)	20 (27.0%)
Femelles (n = 105)	13 (12.4%)	22 (21.0%)	35 (33.3%)	7 (6.7%)	20 (19.0%)	27 (25.7%)
Castrés (n = 41)	5 (12.2%)	12 (29.3%)	17 (41.5%)	1 (2.4%)	5 (12.2%)	6 (14.6%)
Entiers (n = 138)	13 (9.4%)	28 (20.3%)	41 (29.7%)	13 (9.4%)	28 (20.3%)	41 (29.7%)*
Age (en année)						
< 3 (n = 76)	11 (14.5%)	5 (6.6%)	16 (21.1%)	4 (5.3%)	23 (30.3%)	27 (35.5%)
[3 – 8[(n = 59)	5 (8.5%)	13 (22.0%)	18 (30.5%)	7 (11.9%)	6 (10.2%)	13 (22.0%)
≥ 8 (n = 44)	2 (4.5%)	22 (50.0%)*	24 (54.5%)*	3 (6.8%)	4 (9.1%)*	7 (15.9%)*
Taille (cm au garrot)						
Small (< 46) (n = 20)	1 (5.0%)	5 (25.0%)	6 (30.0%)	3 (15.0%)	4 (20.0%)	7 (35.0%)
Medium ([46 – 61[) (n = 52)	8 (15.4%)	5 (9.6%)	13 (25.0%)	3 (5.8%)	11 (21.2%)	14 (26.9%)
Large (≥ 61) (n = 107)	9 (8.4%)	30 (28.0%)*	39 (36.4%)	8 (7.5%)	18 (16.8%)	26 (24.3%)
Groupe racial						
Groupe 1 (n = 29)	2 (6.9%)	7 (24.1%)	9 (31.0%)	2 (6.9%)	8 (27.6%)	10 (34.5%)
Groupe 2 (n = 29)	2 (6.9%)	10 (34.5%)	12 (41.4%)	3 (10.3%)	2 (6.9%)	5 (17.2%)
Groupe 3 (n = 19)	4 (21.1%)	4 (21.1%)	8 (42.1%)	1 (5.3%)	2 (10.5%)	3 (15.8%)
Groupe 8 (n = 30)	4 (13.3%)	6 (20.0%)	10 (33.3%)	2 (6.7%)	6 (20.0%)	8 (26.7%)
Groupe 9 (n = 25)	1 (4.0%)	3 (12.0%)	4 (16.0%)	2 (8.0%)	7 (28.0%)	9 (26.0%)
Autres (n = 47) ²	5 (10.6%)	10 (21.3%)	15 (31.9%)	4 (8.5%)	8 (17.0%)	12 (25.5%)
Condition corporelle (BCS)						
> 5 (n = 77)	3 (3.9%)	16 (20.8%)	19 (24.7%)	8 (10.4%)	14 (18.2%)	22 (28.6%)
≤ 5 (n = 102)	15 (14.7%)*	24 (23.5%)	39 (38.2%)	6 (5.9%)	19 (18.6%)	25 (24.5%)
Activité						
Réduite / Modérée (n = 150)	13 (8.7%)	31 (20.7%)	44 (29.3%)	13 (8.7%)	26 (17.3%)	39 (26.0%)
Intense (n = 29)	5 (17.2%)	9 (31.0%)	14 (48.3%)*	1 (3.4%)	7 (24.1%)	8 (27.6%)
Type alimentaire						
Vétérinaire (n = 42)	4 (9.5%)	11 (26.2%)	15 (35.7%)	1 (2.4%)	10 (23.8%)	11 (26.2%)
Autres (n = 137)	14 (10.2%)	29 (21.2%)	43 (31.4%)	13 (9.5%)	23 (16.8%)	36 (26.3%)

Tableau 16 : Caractéristiques épidémiologiques des groupes de chiens sains présentant un profil particulier de la fonction thyroïdienne.

Profil 1 caractérisé par FT₄ faible à normale et TSH faible à élevée et au moins un indice de régulation faible ou élevé ; groupe 1.1 caractérisé par FT₄ faible et TSH faible ou normale et TSHxFT_{4c} abaissé, I_{QL} élevé et I_{BL} le plus souvent faible ; groupe 1.2 caractérisé par FT₄ faible à normale et TSH normale à élevée et TSH/FT_{4c} élevé, TSHxFT_{4c} le plus souvent élevé, I_{QL} le plus souvent faible et I_{BL} en dehors des valeurs seuils ; Profil 2 caractérisé par FT₄ normale à élevée et TSH faible à élevée et au moins un indice de régulation faible ou élevé ; groupe 2.1 caractérisé par FT₄ normale à élevée et TSH normale à élevée et I_{BL} en dehors des valeurs seuils, I_{QL} le plus souvent faible, TSHxFT_{4c} le plus souvent élevé ; groupe 2.2 caractérisé par FT₄ normale à élevée et TSH faible à normale et TSH/FT_{4c}, TSHxFT_{4c}, I_{QL} et I_{BL} le plus souvent abaissés.

* p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001 par rapport à la population totale de chiens sains. FT_{4c} = FT₄/100

Un second grand type de profil (Profil 2 ou groupe 2) a pu être dressé sur 47 chiens caractérisé par une concentration plasmatique de FT₄ normale à élevée associée à des concentrations plasmatiques de TSH faibles à élevées et à au moins un des indices de régulation situés en dehors des valeurs seuils (Tableau 14). En fonction d'une corrélation éventuelle entre les concentrations plasmatiques de FT₄ et de TSH, cet ensemble a été décomposé en 2 groupes.

Dans le groupe 2.1 (14 chiens), les concentrations plasmatiques de FT₄ normales (2 cas) à élevées (12 cas) étaient associées à une concentration plasmatique de TSH le plus souvent normale (9 cas) ou élevée (5 cas), un indice I_{BL} systématiquement en dehors des valeurs seuils ($\geq 113,0$ dans 13 cas et $<111,6$ dans 1 cas), l'indice TSH x FT_{4c} le plus souvent supérieur ou égal à 0,080 (13 cas) ou l'indice I_{QL} abaissé (13 cas) alors que TSH/FT_{4c} est resté dans les valeurs seuils (13 cas).

Les 33 autres chiens (groupe 2.2) ont présenté une concentration plasmatique de FT₄ élevée (groupe 2.2.1, n = 13) ou incluse dans les valeurs seuils (groupe 2.2.2, n = 20) et une concentration de TSH faible (29 cas) ou incluse dans les limites retenues (4 cas), entraînant une diminution des indices TSH/FT_{4c} (dans 32 cas), TSH x FT_{4c}, I_{QL} (plus particulièrement dans le sous-groupe 2.2.2) et une indice I_{BL} inférieur à 113,0 (Tableau 14).

Comme dans le profil précédent, la répartition des valeurs des concentrations circulantes de lipides (triglycérides, cholestérol) est apparue indépendante de l'appartenance à ce second profil (Tableau 15). En revanche, la proportion de valeurs élevées de TT₃ ($> 1,99$ nmol/L) a été plus élevée dans l'ensemble du groupe 2 ($p < 0,01$) et dans chacun des 2 sous-groupes ($p < 0,05$) que dans le reste de la population étudiée.

La proportion de chiens stérilisés au sein du groupe 2 s'est révélée significativement plus faible ($p < 0,05$) et celle des jeunes animaux plus importante ($p < 0,05$) que dans le reste de la population. Alors qu'aucun caractère épidémiologique n'a été significativement associé avec l'appartenance au groupe 2.1, il a, par contre, été mise en évidence une plus grande fréquence de chiens de moins de trois ans dans le groupe 2.2 ($p < 0,01$) (tableau 16).

Aucune prédisposition de races particulières à l'appartenance de ce deuxième profil n'a pu être décelée en raison de la faiblesse des effectifs.

III. Discussion

De nombreuses études se sont intéressées au statut thyroïdien et à ses variations dans des populations canines présentant un caractère épidémiologique commun : l'âge (100, 103), le sexe (6, 103), l'activité physique (5, 32, 93), la taille (103), la race (47, 59, 110) ou l'obésité et le statut corporel (24, 65, 80). Cependant, ces études ont été réalisées sur des populations de chiens dédiées à l'expérimentation, ou sur des populations de chiens appartenant à une race unique et/ou présentant une caractéristique épidémiologique commune. Notre étude a la particularité d'être réalisée sur une population de chiens sains, épidémiologiquement hétérogène mais représentative de la population canine en général. Notre unique critère d'inclusion pour les chiens de cette étude ayant été un état clinique apparemment sain suite à un examen clinique rigoureux, de nombreuses races et de nombreux âges sont alors représentés, les chiens ne reçoivent pas tous la même alimentation et ils vivent dans des conditions non similaires, contrairement aux études réalisées précédemment. Cependant, certains biais inhérents à l'échantillonnage des animaux dans cette étude peuvent être présents.

1. Caractères épidémiologiques, biais éventuels, cas du groupe en surpoids

Malgré le fait que les vétérinaires praticiens conseillent de plus en plus la stérilisation en prévention des tumeurs mammaires et des pyomètres chez la femelle et des affections prostatiques chez le mâle, seulement 25% des femelles et 16% des mâles étaient stérilisés dans la population étudiée. Cette proportion relativement faible de sujets stérilisés provient probablement du fait que près de 30% des chiens étaient issus d'élevages choisis au hasard dans la proximité de Toulouse dans lesquels la stérilisation est évidemment peu pratiquée par rapport aux références nationales (40% des femelles et 19% des mâles sont stérilisés en France d'après l'enquête Facco/Sofres de 2008). Néanmoins, en raison de la paucité des informations délivrées par les éleveurs ou les propriétaires, le stade de reproduction des femelles n'a pas pu être établi de façon précise.

De plus, la majorité des chiens rencontrés dans les élevages étaient de jeunes adultes de moins de trois ans, ce qui a conduit à un fort pourcentage (42,5%) de jeunes adultes dans la population étudiée. En outre, les proportions élevées de chiens d'élevage (30%) ou de chiens d'étudiants vétérinaires souvent inscrits au livre des origines (environ 20%) prélevés dans cet

étude ont abouti à ce que 80% des chiens aient un pedigree, ce qui n'est pas le cas de l'ensemble de la population canine française (50% de chiens avec pedigree).

D'un autre côté, cet échantillonnage important de chiens de race a permis la constitution de groupes raciaux dont les effectifs respectifs n'étaient pas négligeables, et même de déterminer le statut thyroïdien et lipidique de 5 races particulières (Cavaliers King Charles, Landseers, Labradors, Golden Retrievers et Cockers Anglais) prédominantes dans l'étude présente. Les fréquences élevées de ces races s'expliquent par le fait d'une part que deux élevages visités possédaient essentiellement des Cavaliers King Charles, Landseers et cockers Anglais et, d'autre part, une forte représentativité des Labradors et des Golden retrievers dans l'ensemble de la population canine nationale.

De même, il semblerait que la population canine présentée en consultation de médecine préventive à l'ENVT contienne une forte proportion de chiens de grand format, 59,8% des chiens de cette étude dépassant 61 cm au garrot.

Concernant l'alimentation, un nombre non négligeable de chiens ont été nourris avec une alimentation de qualité vétérinaire (23,5%). Ce résultat semble biaisé par le fait que les éleveurs nourrissent très souvent leurs animaux avec des aliments vétérinaires de même que les étudiants vétérinaires compte tenu des offres mises à disposition sur les différentes marques vétérinaires par l'association des élèves de l'ENVT.

La majorité des propriétaires possédaient un appartement ou une maison avec jardin (environ 83%) ; la plupart des chiens ont une activité physique modérée, un accès illimité au jardin diminuant le nombre de promenades à l'extérieur nécessitant un effort plus intense (forêt, montagne). Peu de chiens de chasse ou de chiens de travail sont représentés ici, l'école vétérinaire de Toulouse drainant une clientèle essentiellement urbaine.

Dans cette étude, 43% des chiens étaient en surpoids avec un BCS supérieur ou égal à 6/9. Ceci est en accord avec une étude australienne de 2005 où 42% des chiens étaient en surpoids (83). Dans notre population, les chiens en surpoids étaient plutôt des chiens âgés de plus de trois ans et présentant une activité limitée à modérée ($p < 0,05$, 0,08% de chiens sportifs et 73 % de chiens de plus de trois ans). Ces résultats sont plus ou moins en accord avec une autre étude réalisée dans le cadre d'une thèse d'exercice vétérinaire (96) où 40% des chiens en surpoids sont âgés de 7 à 10 ans mais où la différence de répartition de l'âge entre la population des chiens en surpoids et celle des chiens normaux n'est pas significative. Pourtant il a été montré que l'âge a une incidence notable sur l'obésité, avec une prévalence maximale de cette maladie métabolique pour les chiens âgés de 8 à 9 ans (83). Dans cette catégorie de

chiens en surpoids, aucune influence du format n'a été mise en évidence. Ces résultats sont différents de ce que l'on peut trouver dans l'étude d'E. Pons (96) où les chiens de petit format (moins de 46 cm au garrot) étaient significativement moins souvent en surpoids que les autres, l'auteur expliquant ces résultats par le comportement souvent plus agité de ce type de races. De même, aucune différence significative de la répartition des chiens stérilisés n'a été mise en évidence entre la population de chiens en surpoids et celle des chiens dits « normaux » dans cette étude. Ceci semble en désaccord avec d'autres études, notamment celle menée par K.A. Houpt et al. (63) dans laquelle il a été démontré que lors de l'anoestrus, la prise de nourriture était maximale. Ainsi, la stérilisation représentant un état d'anoestrus permanent, il eût été attendu de rencontrer d'avantage de chiennes stérilisées en surpoids. Il en est de même pour les mâles où une castration entraîne une baisse du comportement sexuel et donc de l'activité physique. Enfin, dans l'étude d'E. Pons (96), la proportion de chiens stérilisés est significativement plus élevée chez les chiens obèses que chez les non obèses, contrairement à l'étude présente. Ces résultats peuvent s'expliquer en partie par le fait que des conseils nutritionnels précis sont systématiquement donnés à la clientèle de l'école vétérinaire de Toulouse lors de la stérilisation et même lors des vaccinations annuelles, ce qui favorise la prévention du surpoids chez ces animaux. Dans le groupe de chiens en surpoids (n = 77), le groupe 8, qui rassemble les chiens de chasse qui lèvent et rapportent le gibier ainsi que les chiens d'eau, est significativement plus représenté que les autres et contient des races très présentes dans cette étude, comme les Labradors ou les Golden Retrievers, qui auraient donc une tendance au surpoids.

2. Détermination du statut lipidique

a. Valeurs usuelles de la triglycéridémie et de la cholestérolémie

Les concentrations plasmatiques en cholestérol et triglycérides ont été déterminées au laboratoire de l'école vétérinaire de Nantes par deux kits de dosage colorimétrique. La triglycéridémie a varié de 0,2 à plus de 11 g/L (moyenne \pm écart-type : $0,8 \pm 0,6$ g/L) entraînant des valeurs usuelles comprises entre 0 et 2,0 g/L, comparables avec celles que l'on peut trouver dans la littérature (Tableau 17). La cholestérolémie a varié de 2,3 à 16,6 mmol/L (moyenne \pm écart-type : $5,9 \pm 1,9$ mmol/L) entraînant des valeurs usuelles comprises entre 2,4 et 9,4 mmol/L, comparables avec celles que l'on peut trouver dans la littérature (Tableau 17). En outre, une corrélation positive et significative a été établie entre ces deux marqueurs lipidiques.

b. Effets des critères épidémiologiques sur la cholestérolémie et la triglycéridémie

La triglycéridémie et la cholestérolémie ont été positivement mais faiblement corrélées avec l'âge et l'état d'embonpoint ($p < 0,05$ à $0,01$). Parallèlement, les fréquences des concentrations basses de triglycérides et de cholestérol se sont révélées faibles chez les chiens âgés (de plus de huit ans) alors que ces derniers ont plus souvent présenté une triglycéridémie élevée ou une cholestérolémie incluse dans les valeurs seuils. Néanmoins, la différence dans la dispersion des valeurs des marqueurs lipidiques en fonction de l'âge n'a été significative ($p < 0,01$) que dans le cas de la triglycéridémie. De façon similaire, une cholestérolémie faible a été moins souvent observée chez les chiens ayant un BCS supérieur ou égal à 6 alors qu'une cholestérolémie et/ou une triglycéridémie élevées ont été plus fréquentes chez les animaux en surpoids ($p < 0,05$ pour la cholestérolémie, non significatif pour la triglycéridémie). Dans la littérature, peu d'études sont disponibles sur l'influence de l'âge sur le statut lipidique chez le chien. Néanmoins l'étude de Pasquini et al. en 2008 (94) montre que l'âge a une influence significative sur le métabolisme lipidique : les chiots de moins d'un an présentent une cholestérolémie plus basse que les autres classes d'âge, associée à une plus forte concentration plasmatique des lipoprotéines impliquées dans le transport du cholestérol. De plus, cette étude montre également que la cholestérolémie et la triglycéridémie augmentent significativement avec l'âge. Concernant l'état d'embonpoint des chiens, l'étude de Peña et al. (95) montre que les concentrations plasmatiques de cholestérol et de triglycérides sont plus élevées chez les chiens obèses ($BCS > 6$) que chez les chiens normaux.

La dispersion de la triglycéridémie et de la cholestérolémie a également été affectée par la taille des sujets, les grands chiens (de plus de 61 cm au garrot) présentant plus souvent une cholestérolémie élevée et plus rarement une cholestérolémie faible que les autres animaux ($p < 0,05$). Une altération analogue de la dispersion de la triglycéridémie chez les grands chiens a également été observée par rapport aux chiens de taille moyenne, de fortes valeurs de la triglycéridémie étant également relativement fréquemment obtenues (50%) chez les chiens de moins de 46 cm au garrot. De plus, les chiens appartenant au groupe cynophile 2 (Pinscher, Schnauzer et molossoïdes) ont rarement présenté des concentrations inférieures à 0,4 g/L de triglycérides et inférieures à 4,7 mmol/L de cholestérol et ceux du groupe 9 (chiens d'agrément) ont fréquemment montré des valeurs fortes ($> 0,8$ g/L et $> 7,1$ mmol/L, respectivement) ($p < 0,05$ pour la triglycéridémie). Ces variations de la distribution de la

triglycéridémie ou de la cholestérolémie en fonction de la taille et du groupe racial pourraient être reliées à l'activité physique des animaux, les chiens de taille moyenne et de type molossoïde se dépensant en général beaucoup (96). Cependant aucune influence de l'activité physique n'a été directement mise en évidence dans la population étudiée. Il existerait d'ailleurs une influence directe de la race sur l'intensité du métabolisme lipidique : les Labradors et les Landseers ont eu en effet une triglycéridémie supérieure à celle des Cavaliers King Charles ($p < 0,05$) et la cholestérolémie était significativement plus faible chez ces derniers ou chez les Cockers Anglais que chez les Labradors et les Golden Retrievers ($p < 0,05$). Dans l'étude de Pasquini et al. (94), les plus grandes concentrations en cholestérol ont été trouvées chez les chiens de race Rottweiler et Montagne des Pyrénées alors que les Labradors semblent présenter des concentrations en lipoprotéines de transport du cholestérol beaucoup plus importantes que dans les autres races présentes dans cette étude.

3. Détermination du statut thyroïdien et de sa régulation.

a. Valeurs usuelles des concentrations hormonales de l'axe thyroïdien (TT₃, FT₄ et TSH)

Les valeurs de la concentration plasmatique en TSH ont été déterminées au laboratoire de l'école vétérinaire de Nantes grâce à la méthode ELISA immunométrique en phase solide à l'aide d'un kit spécifique pour la TSH canine. Les valeurs varient de 0,052 à 1,552 nmol/L (moyenne \pm écart-type : $0,341 \pm 0,282$ nmol/L), correspondant aux valeurs trouvées dans la littérature ou sur la notice du kit utilisé (Tableau 17).

Les valeurs des concentrations plasmatiques en TT₃ et FT₄ ont été déterminées à l'ENVT par des méthodes ELISA par compétition en phase solide à l'aide de kits élaborés pour les dosages de ces hormones chez l'Homme. Pour la TT₃, les valeurs ont varié de 0,34 à 6,49 nmol/L (moyenne \pm écart-type : $1,61 \pm 0,79$ nmol/L), et les valeurs usuelles déterminées ont été comprises entre 0,06 et 3,16 nmol/L, correspondant aux valeurs trouvées dans la littérature (Tableau 17). Pour la FT₄, les valeurs ont varié de 6,9 à 40,8 pmol/L (moyenne \pm écart-type : $18,8 \pm 4,6$ pmol/L). Les valeurs usuelles déterminées se sont étendues de 9,8 à 27,8 pmol/L, ce qui est relativement proche des valeurs trouvées dans la littérature (Tableau 17).

Les divergences restantes peuvent provenir du type de méthode utilisée, la méthode de référence étant à l'origine une dialyse à l'équilibre (43). Cependant, comme cette technique est longue à effectuer et nécessite des conditions expérimentales (température, durée, tampon et pH de dialyse) très rigoureuses (113), de nombreuses trousse de dosages radio-

immunologiques ou immuno-enzymatiques utilisant des analogues structuraux incapables de se fixer sur les protéines plasmatiques de transport ont été développées et conduisent en général à des mesures plus faibles que celles obtenues par dialyse à l'équilibre (108). De plus, ce type de méthodologie permet de mesurer immédiatement la proportion de formes libres circulantes et non pas une fraction optimale d'hormones libres (obtenue après mise en place et stabilisation de l'équilibre formes liées/formes libres). D'autre part, les qualités de spécificité et d'affinité/avidité des anticorps anti-HTI utilisés dans les différentes trousse de dosage doivent également être prises en compte, des immunoglobulines très affines envers l'antigène permettant une formation accrue de complexes immuns par rapport à des immunoglobulines très spécifiques d'un épitope donné. Enfin, la notice du kit utilisé dans cette étude (Annexe 3) indique des valeurs usuelles obtenues pour le dosage de la FT₄ humaine variant de 10,3 à 25,7 pmol/L, valeurs proches de celles qui ont été déterminées pour les chiens sains de cette étude (de 9,8 à 27,8 pmol/L).

Les concentrations plasmatiques de TT₃ ont été positivement corrélées avec celles de FT₄ et de TSH, ce qui suggère une adéquation positive entre la stimulation antéhypophysaire de la production thyroïdienne et la conversion périphérique de T₄ en T₃, à l'échelle de la population étudiée. Cependant, l'absence de corrélation significative et positive obtenue directement entre les concentrations plasmatiques de TSH et de FT₄ peut résulter d'une désynchronisation du fonctionnement des deux glandes endocrines lors de l'existence d'une anergie relative de la thyroïde (99, 101) ou lors de la mise en place d'un rétrocontrôle négatif des HTI sur la production de TSH par l'antéhypophyse (25).

	Valeurs usuelles	Méthodes	Références
Triglycérides (g/L)	0,5 – 1,2	Colorimétrie	(111)
	0,3 – 1,8	Colorimétrie	(114)
Cholestérol (nmol/L)	3,6 – 8,8	Colorimétrie	(110)
	<5	Colorimétrie	(111)
TSH canine (nmol/L)	0 – 1,29	ELISA Sandwich	(Annexe 2)
	0 – 2,06	ELISA Sandwich	(99, 101)
TT₃ (nmol/L)	Chez l'homme : 0,8 – 2,8	ELISA par compétition	(Annexe 4)
	Chez le chien : 1 – 2,5	Non précisée	(32)
	0,5 - 3	Non précisée	(111)
FT₄ (pmol/L)	Chez l'homme : 10,3 – 25,7	ELISA par compétition	(Annexe 3)
	Chez le chien : 8 – 26	Dialyse à l'équilibre	(32)
	9 - 51	Dosages RIA, ELISA par compétition	(14, 99, 101)

Tableau 17 : Valeurs usuelles des concentrations circulantes de triglycérides, de cholestérol, et des hormones de l'axe thyroïdienne chez le chien

b. Valeur biologique des indices de régulation

Grâce à la détermination conjointe des concentrations plasmatiques en FT₄ et en TSH, les indices TSH x FT_{4c}, TSH/FT_{4c}, Quick like (I_{QL}) et Bennet like (I_{BL}), peuvent permettre d'apprécier l'adéquation de la production d'HTI par rapport à la stimulation antéhypophysaire.

L'indice TSH x FT_{4c} directement proportionnel aux concentrations plasmatiques de TSH et de FT₄ se retrouve situé en dehors des valeurs seuils admises à 50% dans cette étude dès que au moins l'un des deux paramètres est « anormalement » altéré et reflète donc soit des productions thyroïdiennes et antéhypophysaires relativement faibles ou amplifiées (variation dans le même sens des deux paramètres), soit une désynchronisation relative du fonctionnement des deux glandes endocrines (variation d'un seul paramètre).

L'indice TSH/FT_{4c} explore un dysfonctionnement éventuel de la boucle de régulation antéhypophyse/thyroïde, de façon plus précise que le précédent. Ainsi ces deux indices ont été très fortement et positivement corrélés ($r = 0,992$) (tableau 9). Cet indice devient élevé lorsque la concentration plasmatique en TSH augmente et/ou celle de FT₄ diminue. A l'inverse, il diminue lorsque la concentration plasmatique en TSH est faible et/ou la concentration plasmatique en FT₄ augmente.

L'indice de Bennett a été originellement établi chez les patients diabétiques pour analyser la régulation de la glycémie par l'insuline et cet indice est considéré comme étant directement proportionnel à la sensibilité de l'organisme à l'insuline. Dans l'étude présente, un indice similaire, noté I_{BL}, a été construit ($110 + 1 / (\log \text{TSH} \times (\log \text{FT}_4 - 2))$) et s'est écarté des valeurs seuils retenues essentiellement lorsque les concentrations plasmatiques de TSH étaient modifiées mais également lorsque la concentration plasmatique de FT₄ était altérée et couplée avec une valeur de TSH circulante incluse dans les limites choisies à 50%. Cet indice permet donc aussi d'apprécier la capacité de réponse de la thyroïde à la stimulation antéhypophysaire. Il a été de plus positivement corrélé avec les deux indices précédents ainsi qu'avec les concentrations circulantes de FT₄ (tableau 9).

Un deuxième indice, l'indice de Quick, est également utilisé chez l'homme dans le cadre de la surveillance des diabètes sucrés non insulino-dépendants afin d'évaluer la sensibilité périphérique de l'organisme à l'insuline. Son utilisation chez le chat diabétique a été validée par Katz et al. (69) en 2000. Dans la présente étude, un indice analogue noté I_{QL} a également été calculé ($2 + 1 / (\log \text{TSH} + (\log \text{FT}_4 - 2))$) et a varié de façon inversement proportionnelle aux concentrations plasmatiques de TSH, et de celles de FT₄ lorsque la valeur de la TSH était

incluse dans les valeurs seuils choisies. Ainsi, l' I_{QL} a été fortement et positivement corrélé avec l' I_{BL} ($r = 0,709$) et TSH x FT_{4c} ($r = 0,633$), et plus faiblement avec TSH/ FT_{4c} et avec les concentrations plasmatiques de FT_4 et de TSH (tableau 9).

c. Interprétation des profils thyroïdiens établis

L'analyse des variations simultanées des concentrations circulantes des hormones de l'axe thyroïdien (TT_3 , FT_4 et TSH) et des 4 indices de régulation présentés ci-dessus a conduit à l'établissement de plusieurs profils thyroïdiens particuliers et à en dégager leur signification biologique.

Le premier profil (tableau 14, groupe 1.1) a été caractérisé par une production relativement faible de la T_4 par la glande thyroïde associée à une stimulation antéhypophysaire faible (groupe 1.1.1, $n = 8$) ou modérée (groupe 1.1.2, $n = 10$) à l'origine d'une diminution systématique des indices TSH x FT_{4c} et I_{QL} , et fréquente de l'indice I_{BL} .

Une deuxième situation (groupe 1.2) a été caractérisée par une production faible de T_4 malgré une stimulation importante de la thyroïde par la TSH entraînant un accroissement du rapport TSH/ FT_{4c} ($\geq 2,45$). De plus, les cas dans lesquels les concentrations plasmatiques de TSH étaient supérieures au seuil de tolérance à 50%, l'indice I_{BL} a aussi été modifié, augmenté lorsque la concentration circulante de FT_4 est restée incluse dans les valeurs seuils (groupe 1.2.3, $n = 26$) ou diminué lorsque cette dernière était également abaissée (groupe 1.2.2, $n = 10$).

Ainsi, la détermination conjointe des indices de régulation peut aider à caractériser un déficit relatif de la production thyroïdienne en T_4 : lorsque cette dernière est associée à une relative hypostimulation par l'antéhypophyse, les indices TSH x FT_{4c} et I_{QL} ont simultanément été diminués alors que le rapport TSH/ FT_{4c} est resté stable, et en revanche, lors d'une dérégulation de l'axe aboutissant à une relative anergie de la thyroïde, le rapport TSH/ FT_{4c} s'est révélé augmenté ($\geq 2,45$), suivi par des modifications de l' I_{BL} (lorsque les concentrations circulantes de TSH tendaient à être élevées) correspondant tout d'abord à une augmentation puis à une diminution notable en fonction de la dégradation de la synthèse de T_4 . En parallèle, les concentrations plasmatiques de TT_3 sont apparues fréquemment diminuées au sein des chiens présentant un profil tendant vers une hypothyroïdie.

Dans le second type de profils (groupe 2, tableau 14), les chiens ont présenté une production thyroïdienne de T_4 incluse dans les limites retenues ou supérieure en adéquation avec la stimulation antéhypophysaire par la TSH (groupe 2.1.1), cette situation étant décrite

par un indice I_{BL} augmenté et un rapport TSH/FT_{4c} inclus dans les valeurs seuils chez tous les chiens de ce groupe (sauf le chien N°30), par l'indice $TSH \times FT_{4c}$ augmenté et par l' I_{QL} diminué sauf chez le chien N°154 (pour lequel ces deux derniers indices n'étaient pas altérés). Quant au chien N°30, la concentration plasmatique de TSH était très élevée (1,035 nmol/L), associée à une FT_4 circulante supérieure ou égale à 21,9 pmol/L ce qui a entraîné un très fort accroissement du rapport TSH/FT_{4c} et de l'indice I_{BL} (valeurs respectives de 4,421 et 2,549) situés au-delà des limites supérieures des valeurs usuelles (respectives de 2,450 et de 1,350), laissant suspecter, sur ce chien n°30, une hyperthyroïdie débutante. Cet animal exhibait par ailleurs un comportement actif d'après son propriétaire, sans modification particulière antérieure. On peut rencontrer ce cas de figure dans le cas d'une augmentation du métabolisme basal par exemple à la suite d'un exercice physique intense ou d'un stress. En effet, dans l'étude (6), il a été montré que la concentration de T_4 augmente de façon significative et très rapidement (en 5 minutes) après un effort de courte durée. Néanmoins, dans cette étude, les concentrations plasmatiques de TSH restent inchangées et l'augmentation de la concentration de T_4 est *à priori* due au stress ou à une augmentation de son transport par l'albumine sérique.

En revanche, dans le groupe 2.2, la production thyroïdienne est apparue dissociée de la stimulation antéhypophysaire, le rapport TSH/FT_{4c} étant diminué sauf chez le chien N°113, ce cas de figure étant compatible avec le rétrocontrôle négatif exercé par les HTI sur le fonctionnement antéhypophysaire (25). Plus particulièrement, ce frein dû à une concentration circulante de FT_4 relativement forte, serait en cours d'installation entraînant une diminution systématique de l'indice TSH/FT_{4c} associée à une concentration plasmatique de TSH le plus souvent abaissée dans le groupe 2.2.1., alors que dans le groupe 2.2.2., ce frein serait en cours de levée, les concentrations de TSH étant faibles (sauf dans un cas) et les concentrations de FT_4 étant incluses dans les valeurs seuils, engendrant non seulement l'abaissement du rapport TSH/FT_{4c} mais aussi celui de l'indice $TSH \times FT_{4c}$ et de l' I_{QL} . Parallèlement, des concentrations relativement élevées de TT_3 ont été plus fréquemment observées chez les chiens présentant le second type de profils thyroïdiens en accord avec une production accrue d'HTI.

En bilan, lorsque le fonctionnement thyroïdien est directement stimulé par la sécrétion antéhypophysaire de TSH, l'indice $TSH \times FT_{4c}$ et l' I_{BL} augmentent alors que le rapport TSH/FT_{4c} reste stable tandis que lors de la mise en place d'un rétrocontrôle négatif de la thyroïde sur la glande pituitaire, le rapport TSH/FT_{4c} s'effondre, les indices I_{QL} et $TSH \times$

FT_{4c} ne diminuant qu'à la fin du frein thyroïdien lorsque les concentrations plasmatiques de TSH sont faibles.

d. Effets des critères épidémiologiques

L'âge

Alors qu'aucun effet significatif de l'âge n'a été mis en évidence sur les concentrations de TT₃, ce facteur biologique a été négativement corrélé avec les concentrations circulantes de FT₄ et les indices TSH/FT_{4c}, TSH x FT_{4c} et I_{QL} et positivement avec les concentrations circulantes de TSH.

L'analyse de la dispersion des valeurs de TSH, FT₄, et des 4 indices de régulation montre un effet significatif de l'âge avec, chez les sujets âgés, une augmentation de la fréquence des valeurs élevées de TSH ($p < 0,001$), de TSH x FT_{4c} ($p < 0,001$), de TSH/FT_{4c} ($p < 0,001$), d'I_{BL} ($p < 0,001$) et des valeurs faibles de FT₄ ($p < 0,01$) et d'I_{QL} ($p < 0,001$) alors que des valeurs faibles de TSH et des trois premiers indices et de fortes valeurs de FT₄ ($p < 0,01$) et d'I_{BL} ($p < 0,001$) sont plus souvent observées chez les chiens de moins de trois ans.

Ces résultats sont confortés par l'étude de T.J. Reimers et al. (103) qui démontrait une baisse significative de la concentration de T₄ avec l'âge, et par l'étude de B. Quennec (100) qui montre que la concentration de FT₄ est comprise entre 20 et 51 pmol/L chez les chiens de moins de deux ans et qu'elle diminue entre 9 et 32 pmol/L chez le chien adulte. On peut donc penser qu'avec l'âge, la glande thyroïde devient de moins en moins réactive, aussi bien à la stimulation par la TSH que pour sécréter activement de la T₄.

De plus, la proportion de chiens de plus de 8 ans au sein des animaux présentant un profil compatible avec une relative anergie de la thyroïde par rapport à la stimulation antéhypophysaire (Profil 1 et plus particulièrement groupe 1.2) a été significativement plus élevée par rapport au reste de la population ($p < 0,001$) alors que la fréquence des jeunes chiens (< 3 ans) a été plus forte chez les chiens présentant un profil thyroïdien compatible avec un fonctionnement correct de l'axe thyroïdien (profil 2) ($p < 0,05$) et plus particulièrement lors de la mise en évidence d'un rétrocontrôle négatif des HTI sur l'antéhypophyse (groupe 2.2, $p < 0,01$).

L'activité physique

Une activité physique intense a été positivement retrouvée associée avec une fréquence accrue des faibles valeurs des concentrations plasmatiques de TSH ($p < 0,05$) des indices de régulation TSH x FT_{4c} ($p < 0,01$), TSH/FT_{4c} ($p < 0,01$) et dans une moindre mesure de l'I_{BL} ($p < 0,10$) et des fortes valeurs de l'I_{QL} ($p < 0,001$), alors que la dispersion des valeurs des concentrations plasmatiques de FT₄ n'a pas été affectée.

Curieusement, le nombre d'animaux qualifiés de « sportifs » a aussi été significativement plus important chez les chiens présentant le profil 1 (relative anergie de la glande thyroïde) que dans le reste de la population ($p < 0,05$) ce qui tend à suggérer que soit l'axe thyroïdarien est peu sollicité lors d'une activité physique intense, soit la glande thyroïde devient sensible à des stimuli directs autres que les variations de TSH circulantes.

Ces résultats sont partiellement en accord avec les études effectuées sur ce sujet : en effet l'étude de Panciera et al. (93) montre que les concentrations moyennes en T₄ et T₃ diminuent après un effort intense chez des animaux entraînés régulièrement. De plus, l'étude d'Evason et al. (32) montre qu'une activité physique en aérobie intervient dans le contrôle de la production des HTI chez les chiens de traîneaux et que, lors des périodes d'entraînement, les concentrations en FT₄ et en TT₄ sont significativement inférieures qu'en période de repos, alors que les concentrations de TSH varient en sens inverse. Enfin, les chiens sportifs au centre de ces études présentent des concentrations en HTI basales dans les valeurs inférieures des intervalles de valeurs usuelles.

La taille, le groupe cynophile et la race

Aucune influence significative de la taille ou de l'appartenance à un groupe racial n'a été décelée sur la dispersion des concentrations plasmatiques de TT₃, de FT₄ ou de TSH. En revanche, les proportions d'indices TSH x FT_{4c} $\geq 0,080$ et de l'I_{QL} $< 1,11$ ont été significativement plus élevées chez les chiens de petite race (< 46 cm au garrot) alors que des indices TSH x FT_{4c} $< 0,030$ et I_{QL} $> 1,35$ étaient moins souvent observés par rapport à l'ensemble de la population ($p < 0,05$), ce qui laisserait suggérer une relative hyporéactivité de la thyroïde chez les chiens de petite taille. De même, les chiens de grande taille (> 61 cm au garrot) ont plus souvent présenté un profil compatible avec une relative anergie de la glande thyroïde (groupe 1.2) ($p < 0,05$).

Concernant la taille, deux études ont été réalisées en 1990 (100, 103) : la première démontre que les chiens de petite taille présentent des concentrations de T₄ plus élevées que les chiens de taille moyenne et grande, l'autre démontre que la concentration de T₃ est plus

élevée chez les chiens de taille moyenne. Ces résultats suggèrent que chez les chiens de taille moyenne possédant de faibles valeurs de T_4 associées à de fortes valeurs de T_3 , l'activité de la 5'-desiodase est *à priori* plus importante que chez les autres chiens. Comme l'activité des désiodases est fortement reliée au métabolisme basal, il est possible que ces chiens, souvent très actifs, aient un métabolisme basal plus intense et donc un besoin accru de T_3 .

En considérant les 5 races les plus représentées dans cette étude avec plus de 7 individus, les valeurs des concentrations plasmatiques de la TSH et celles des indices TSH/FT_{4c} et I_{BL} obtenues chez les Labradors et les Landseers se sont avérées supérieures à celles obtenues chez les Cavaliers King Charles (TSH : Labradors-Cavaliers King Charles : $p < 0,05$ / I_{BL} : Landseers – Cavaliers King Charles : $p < 0,05$), elles mêmes plus élevées que celles déterminées chez les Cockers Anglais (TSH/FT_{4c} et I_{BL} : $p < 0,05$) ou chez les Golden Retrievers (TSH : Labradors – Golden Retrievers : $p < 0,05$; TSH/FT_{4c} et I_{BL} : Labradors – Cockers Anglais : $p < 0,05$). De même, l'indice TSH x FT_{4c} était supérieur chez les Landseers par rapport aux Cavaliers King Charles ($p < 0,05$). Les Cockers Anglais ont présenté des indices I_{QL} significativement plus élevés que les Cavaliers King Charles ou les Labradors ($p < 0,05$), et les Cavaliers King Charles des valeurs de cet indice plus élevées que les Landseers ($p < 0,05$).

Les variations significatives observées de la répartition des concentrations plasmatiques de la TSH et des valeurs des indices de régulation en fonction de la race montrent que la réactivité de la glande thyroïde à l'égard de la stimulation hypophysaire varie en fonction de la race considérée et qu'elle serait relativement importante chez les Cockers Anglais en particulier. Dans la littérature, seule l'étude de Vitale et al. (119) porte sur une des races étudiées ici : en effet d'après cette dernière les labradors seraient prédisposés au développement d'hyperlipidémies sévères très souvent associées à un hypothyroïdisme.

Le sexe et la stérilisation

L'analyse de la dispersion des concentrations plasmatiques de TT₃ et de FT₄ a montré que des valeurs respectivement inférieures à 1,11 nmol/L et 15,7 pmol/L étaient plus fréquemment observées chez des individus stérilisés alors que des valeurs élevées (respectivement supérieures à 1,99 nmol/L et 21,9 pmol/L) étaient plus rarement mesurées ($p < 0,01$), et que la répartition des concentrations plasmatiques de TSH n'a pas semblé affectée.

En parallèle, des valeurs élevées ($\geq 2,45$) de l'indice TSH/FT_{4c} ont tendu à être plus souvent calculées chez les chiens stérilisés que chez les entiers ($p < 0,10$) ; et le profil 2 (reflétant une coordination optimale entre les activités thyroïdienne et antéhypophysaire) a été préférentiellement observé chez les chiens entiers ($p < 0,05$). Il est connu que les stéroïdes sexuels, en particulier les androgènes, régulent la synthèse des globulines spécifiques de transport (TGB et TBPA) des HTI (15). Etant donné que la production des stéroïdes sexuels est grandement affaissée chez les individus stérilisés, il est donc possible que les capacités de transport dans la circulation sanguine des HTI soient réduites, entraînant une diminution des concentrations plasmatiques des concentrations hormonales totales (cas de TT₃), et un déplacement permanent de l'équilibre formes liées / formes libres au profit des formes libres (FT₄ et FT₃) qui sont par ailleurs rapidement utilisées par les tissus cibles, conduisant secondairement à une diminution des concentrations circulantes de ces dernières (cas de FT₄). Cependant, la baisse progressive ainsi engendrée des formes libres pourrait diminuer le rétrocontrôle négatif normalement assuré par les HTI sur le fonctionnement antéhypophysaire induisant une relative augmentation de l'indice TSH/FT_{4c} et une moindre prévalence du profil 2 chez les animaux stérilisés.

D'autre part, comme il a été précédemment montré que la stérilisation avait tendance à entraîner, chez le mâle tout du moins, une baisse de l'activité physique (63), il est probable qu'une baisse de l'activité physique entraîne donc à terme une baisse de métabolisme et donc une baisse de la sécrétion des hormones thyroïdiennes iodées. Ce fait expliquerait pourquoi on retrouve peu de sujets castré dans le profil F2 où les chiens ont des valeurs augmentées ou normales de FT₄ et de TSH (Tableau 14).

Néanmoins, aucune donnée bibliographique ne rapporte une influence du sexe sur le statut thyroïdien, de même qu'il n'y a pas de différence entre les concentrations plasmatiques des HTI au cours des différents stades de reproduction, hormis une augmentation des concentrations de T₄ pendant la gestation.

Le BCS

Bien que le score de l'état corporel (BCS) ait été négativement corrélé avec les indices TSH x FT_{4c}, I_{BL} et I_{QL} et positivement avec TSH/FT_{4c}, aucune variation significative dans la dispersion des concentrations plasmatiques des HTI et de la TSH et des indices de régulation, à l'exception de l'I_{BL}, n'a pu être mise en évidence. Pour ce dernier indice, la proportion de valeurs basses ($< 111,6$) est apparue significativement plus faible chez les chiens en surpoids

que chez les autres ($p < 0,05$). Toutefois, il est à noter que peu d'individus en surpoids (15,6%) ont présenté de faibles concentrations de TSH par rapport à l'ensemble de la population étudiée. Ces différentes données tendent à suggérer que la capacité de réponse de la thyroïde à la stimulation thyroïdienne serait abaissée dans le cas d'une surcharge pondérale.

D'autre part, peu de chiens en surpoids ($BCS > 5$) ont présenté un profil de faible stimulation antéhypophysaire sur la thyroïde (groupe 1.1, $p < 0,05$).

L'ensemble de ces résultats pourrait être expliqué par une augmentation très progressive des concentrations de TSH plus ou moins associée à une lente diminution des concentrations plasmatiques de FT_4 en fonction de la note de l'état corporel, les fréquences de fortes valeurs de TSH et de faibles valeurs de FT_4 n'étant que peu modifiées par rapport au reste de la population en raison de l'absence dans cette étude d'animaux fortement obèses ($BCS \geq 8$). On aurait donc une diminution graduelle de la réactivité de la thyroïde qui résulterait de l'installation d'une surcharge pondérale croissante.

Dans ce contexte, il est probable que la leptine, hormone polypeptidique sécrétée par le tissu adipeux (34, 64), soit directement impliquée non seulement dans le contrôle de la dépense énergétique chez les sujets en surpoids (13, 34) mais aussi dans la régulation de l'axe thyroïdien (34) comme cela a été démontré chez les rongeurs (34) et l'homme (97). En effet, cette hormone adipocytaire dont la concentration circulante augmente en fonction du degré d'obésité (34, 77), serait capable de stimuler l'axe thyroïdien (97) en agissant sur les noyaux neuroendocriniens hypothalamiques (97) entraînant une libération accrue des hormones hypothalamiques et antéhypophysaires (TRH et TSH). Cependant, une stimulation chronique par la TSH peut, comme dans le cas d'autres systèmes endocriniens tels que l'exposition prolongée des tissus cibles (muscles, adipocytes) à l'insuline (2) ou à la leptine (34), conduire à une situation d'anergie de la glande thyroïde caractérisée par une diminution de ses capacités sécrétoires.

Cependant, l'existence d'une corrélation positive entre l'âge et l'état d'embonpoint et le fait que le groupe de chiens en surpoids dans cette étude soit significativement et majoritairement constitué par des animaux de plus de 8 ans, il est également possible que l'hyporéactivité croissante de la thyroïde soit induite directement par l'âge et non par l'accumulation de graisses en excès ou la production de messagers chimiques tels que la leptine par les adipocytes.

e. Relations entre statut thyroïdien et statut lipidique

Chez l'homme, on constate que l'hyperthyroïdie est parfois associée à un abaissement de la cholestérolémie sans atteinte hépatique (55), et que l'hypothyroïdie est très souvent associée à une hyperlipémie caractérisée par une hypercholestérolémie et une hypertriglycéridémie, chez l'homme et le chien. Ainsi, une hypercholestérolémie a été mise en évidence chez plus de 70% des chiens hypothyroïdiens (29, 67, 90). Cette modification s'explique par une diminution du catabolisme des graisses de réserve, une diminution de l'excrétion fécale du cholestérol et par une oxydation réduite du cholestérol en acides biliaires, lors d'un déficit thyroïdien (38). L'hypertriglycéridémie est aussi très fréquente : elle atteint jusqu'à 88% des chiens hypothyroïdiens (29), l'accumulation des triglycérides étant directement due à une diminution du catabolisme des lipides.

Enfin, au sein de la population étudiée, peu de relations directes ont pu être mises en évidence entre le statut thyroïdien et l'intensité du métabolisme lipidique. Aucune corrélation n'a pu directement être établie entre les concentrations hormonales circulantes et la triglycéridémie ou la cholestérolémie, et aucune prévalence de fortes ou de basses valeurs des concentrations lipidiques n'a été associée avec un des profils thyroïdiens particuliers. En revanche, les dysendocrinies thyroïdiennes avérées sont associées chez l'homme et chez le chien à des perturbations du métabolisme lipidique.

Cette indépendance du statut lipidique par rapport au statut thyroïdien dans cette étude peut très probablement être expliquée par le fait qu'elle porte sur des chiens apparemment sains. En effet, les chiens étudiés, bien que présentant des profils thyroïdiens variés pouvant être reliés à des états de fonctionnement et/ou de régulation différents de la glande thyroïde, sont cliniquement sains et possèdent pour la plupart des valeurs de concentrations plasmatiques en TT_3 , FT_4 et TSH comprises dans les valeurs usuelles de l'espèce. On peut imaginer que seule une altération franche du statut thyroïdien entraîne une altération du statut lipidique, et que de faibles variations interindividuelles du statut thyroïdien du chien ne suffisent pas à modifier le métabolisme basal et donc les concentrations plasmatiques en triglycérides et cholestérol. Néanmoins, la cholestérolémie a été négativement corrélée bien que faiblement à deux des indices de régulation de l'axe thyroïdien, $TSH \times FT_{4c}$ et TSH/FT_{4c} ($p < 0,05$), ce qui indiquerait qu'une diminution de la stimulation de la thyroïde par la TSH serait liée à une utilisation périphérique diminuée du cholestérol.

D'autre part, il serait particulièrement intéressant de pouvoir réaliser un suivi biochimique sur plusieurs mois ou années des chiens ayant présenté un profil thyroïdien particulier pour

déterminer avec plus de précision les évolutions et les modifications éventuellement associées des statuts thyroïdiens et lipidiques.

CONCLUSION

Les hormones thyroïdiennes ont un rôle important et constant dans le maintien de l'homéostasie en stimulant le métabolisme basal de l'organisme. On notera une augmentation du métabolisme de base lors d'hyperthyroïdie, et au contraire une diminution de ce métabolisme lors d'hypothyroïdie (38). Ainsi aucun tissu ou organe n'échappe aux effets d'un excès ou d'une insuffisance en hormones thyroïdiennes iodées. Le métabolisme général de l'organisme est étroitement dépendant de ces dernières. La régulation de la synthèse des hormones thyroïdiennes iodées présente des mécanismes adaptatifs permettant d'éviter des fluctuations trop importantes des concentrations de T3 et T4. Que ce soit des rétrocontrôles ou des autorégulations, le but est de maintenir la fonction thyroïdienne car elle est essentielle au métabolisme général de l'organisme.

L'intérêt de cette étude est tout d'abord son caractère représentatif de la population canine française : en effet, l'unique critère d'inclusion étant le fait d'être apparemment sain, de nombreux chiens aux caractéristiques épidémiologiques variées ont pu être prélevés. De plus, le grand nombre de sujets étudiés (179 chiens sains) permet une relative significativité des résultats obtenus. Enfin, la détermination conjointe du statut thyroïdien (TT₃, FT₄ et TSH) et du statut lipidique (cholestérol, triglycéride) a permis d'explorer d'éventuels rapports entre ces deux derniers, rapports déjà établis dans le cas d'animaux atteints d'hypothyroïdisme ou d'hyperthyroïdisme avérés.

L'influence de divers caractères épidémiologiques sur le statut thyroïdien du chien sain a été étudiée et il est apparu qu'une relative anergie de la glande thyroïde pouvait s'installer chez les chiens âgés (de plus de huit ans), de petite taille (≤ 41 cm au garrot), dans certaines races (Labradors, Landseers), et probablement aussi chez les individus présentant une surcharge pondérale, alors qu'en revanche l'axe thyroïdien serait peu sollicité dans le cadre d'une activité physique intense.

Enfin, aucune relation directe et évidente n'a pu être mise en évidence dans cette étude entre le statut thyroïdien et l'obésité, ainsi qu'entre les statuts thyroïdiens et lipidiques.

L'analyse des variations simultanées des concentrations circulantes des hormones de l'axe thyroïdien (TT₃, FT₄ et TSH) et des 4 indices de régulation a conduit à l'établissement de plusieurs profils thyroïdiens particuliers. Ainsi, le premier groupe de profils réunit des chiens apparemment sains dont le fonctionnement de la thyroïde est faible, du soit à une stimulation antéhypophysaire faible ou modérée, soit à une anergie relative primaire de la glande thyroïde. Le deuxième groupe de profils réunit des chiens présentant un

fonctionnement important de la glande thyroïde, synchrone ou asynchrone d'un fonctionnement important de l'antéhypophyse avec dans ce dernier cas la capacité d'évaluer à un instant donné l'importance du rétrocontrôle négatif exercé par les HTI sur l'antéhypophyse.

Il serait ainsi intéressant de réaliser une étude du suivi biochimique des concentrations plasmatiques en HTI afin d'établir des cinétiques de concentrations qui permettraient d'évaluer de façon plus précise les états de régulation de la fonction thyroïdienne chez des chiens apparemment sains. De plus, il serait intéressant, en vue des données de la littérature sur les relations statut thyroïdien/obésité chez l'homme, d'élargir cette étude à une population de chiens obèses.

BIBLIOGRAPHIE

- 1. ANDERSON R.L., HAMMAN R.F., SAVAGE P.J., SAAD M.F., LAWS A., KADES W.W., SANDS R.E., CEFALU W. :** A brief original contribution : Exploration of simple insulin sensitivity measures derived from frequently sampled intravenous glucose tolerance (FSIGT) tests • The insulin resistance atherosclerosis study, *Am. J. Epidemiol.*, 1995, **142**, 724-732.
- 2. APPLETON D.J., RAND J.S., SUNVOLD G.D. :** Plasma leptin concentrations are independently associated with insulin sensitivity in lean and overweight cats, *J. Fel. Med. Surg.*, 2002, **4**(2), 83-93.
- 3. APPLETON D.J., RAND J.S., SUNVOLD G.D. :** Basal plasma insulin and homeostasis model assessment (HOMA) are indicators of insulin sensitivity in cats, *J. Fel. Med. Surg.*, 2005, **7**, 183-193.
- 4. BATES J.M., SPATE V.L., MORRIS J.S., ST GERMAIN D.L., GALTON V.A. :** Effects of Selenium deficiency on tissue Selenium content, deiodinase activity, and thyroid hormone economy in the Rat during development, *Endocrinology*, 2000, **141**, 2490-2500.
- 5. BEALE K.M., BLOOMBERG M.S., VAN GILDER J., WOLFSON B.B., KEISLING K. :** Correlation of racing and reproductive performance in Greyhounds with response to thyroid function testing, *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 1992, **28**, 263-269.
- 6. BEALE K.M., KEISLING K., FORSTER-BLOUIN S. :** Serum thyroid hormone concentrations and thyrotropin responsiveness in dogs with generalized dermatologic disease, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1992, **201**, 1715-1719.
- 7. BECKETT G.J., BEDDOWS S.E., MORRICE P.C., NICOL F., ARTHUR J.R. :** Inhibition of hepatic deiodination of thyroxine is caused by Selenium deficiency in rats, *Biochem. J.*, 1987, **248**, 443-447.
- 8. BELSHAW B.E., COOPER T.B., BECKER D.V. :** The iodine requirement and influence of iodine intake on iodine metabolism and thyroid function in the adult Beagle, *Endocrinology*, 1975, **96**, 1280-1291.
- 9. BERCZ J.P., JONES L., GARNER L., MURRAY D., LUDWIG A.D., BOSTON J. :** Subchronic toxicity of chlorine dioxide and related compounds in drinking water in the nonhuman primate, *Environ. Health Persp.*, 1982, **46**, 47-55.
- 10. BERCZ J.P., JONES L., HARRINGTON R.M., BAWA R., CONDIE L. :** Mechanistic aspects of ingested chlorine dioxide on thyroid function: impact of oxidants on iodide metabolism, *Environ. Health Persp.*, 1986, **69**, 249-255.

- 11. BERLEMONT O. :** Le dosage de la TSH chez le chien. Thèse de doctorat vétérinaire, Alfort, 1998, **85**, 70 pages
- 12. BRAGA M., COOPER D.S. :** Oral cholecystographic agents and the thyroid, *J. Clin. Endocrinol. Metab*, 2001, **86**, 1853-1860.
- 13. BRAY GA, YORK DA :** Hypothalamus and genetic obesity in experimental animals : an autonomic and endocrine hypothesis, *Physiol. R.*, 1979, **59**(3), 719-809
- 14. BRET L.C. :** Dosages immunologiques des fractions libres des hormones thyroïdiennes chez le chien : établissement de valeurs usuelles, Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse, 1990, 90-TOU3- 4042, 64 pages
- 15. BRET L.C. :** Les ligands, Polycopié d'enseignement de biochimie, Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, 2005, 115 pages
- 16. BRUNER J.M., SCOTT-MONCRIEFF J.C., WILLIAMS D.A. :** Effect of time of sample collection on serum thyroid-stimulating hormone concentrations in euthyroid and hypothyroid dogs, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1998, **212**, 1572-1575.
- 17. BRUNETON J. :** Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux, Editions Lavoisier, Paris, 1996, 529 pages
- 18. CAPEN C.C., MARTIN S.L. :** The thyroid gland, In: Mc Donald's, *Veterinary Endocrinology and reproduction*, fifth edition, Pineda M.H. and Dooles M.P., Iowa, USA, 2003, 597 pages
- 19. CARO JF. :** Insulin resistance in obese and nonobese man. *J.Clin. Endocrinol. Metab*, 1991, **73**, 691-695
- 20. CHANOINE J.P., SAFRAN M., FARWELL A.P., FARWELL A.P., DUBORD S., ALEX S., STONE S., ARTHUR J.R., BRAVERMAN L.E., LEONARD J.L. :** Effects of selenium deficiency on thyroid hormone economy in rats, *Endocrinology*, 1992, **131**, 1787-1792.
- 21. CHASTAING C.B. :** Canine hypothyroidism, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1982, **181**, 349-353.
- 22. DAMINET S., PARADIS M., REFSAL K.R., PRICE C. :** Short term influence of prednisone and phenobarbital on thyroid function in euthyroid dogs, *Can. Vet. J.*, 1999, **40**, 411-415.
- 23. DAMINET S., CROUBELS S., DUCHATEAU L., DEBUNNE A., VAN GEFFEN C., HOYBERGS Y., VAN BREE H., DE RICK A. :** Influence of acetylsalicylic acid and ketoprofen on canine thyroid function tests, *Vet. J.*, 2003, **166**, 224-232.

- 24. DAMINET S., JEUSETTE I., DUCHATEAU L., DIEZ M., VAN DE MAELE I., DE RICK A. :** Evaluation of thyroid function in obese dogs and in dogs undergoing a weight loss protocol, *J. Vet. Med.*, 2003, **50**, 213–218.
- 25. DEGROOT L.J. :** *Thyroid hormone secretion*. In: L.J. Degroot, *Endocrinology*, second edition, ed. W.B. SAUNDERS Company, USA, 1989, 523-527.
- 26. DE MOURA SOUZA A., SICHIERI R. :** Association between serum TSH concentration within the normal range and adiposity, *Eur. J. Endocrinol*, 2011, **165**, 11–15
- 27. DIANNOUX L. :** Hypothyroïdie canine : études bibliographique et expérimentale du dosage de la TSH. Thèse de doctorat vétérinaire, Lyon, 1996, 91 pages
- 28. DIEZ M., NGUYEN P.,** Encyclopédie de la nutrition clinique canine, Chapitre1 : Obésité, p.25. Pars, Aniwa SAS pour le compte de Royal canin, 2006, 518 pages
- 29. DIXON R.M., REID S.W.J., MOONEY C.T. :** Epidemiological, clinical, haematological and biochemical characteristics of canine hypothyroidism, *Vet. Rec.*, 1999, **145**, 481-487.
- 30. ECKERSALL P.D., WILLIAMS M.E. :** Thyroid function tests in dogs using radioimmunoassay kits. *J. Small Anim. Pract.*, 1983, **24**, 525-532.
- 31. EVANS H.E. :** Miller’s Anatomy of the dog, troisième édition, ed. WB Saunders company, page n°568, 1113 pages
- 32. EVASON M.D., CARR A.P., TAYLOR M.P., WALDNER C.L. :** Alterations in thyroid hormone in healthy sled dogs before and after athletic conditioning, *Am.J. Vet. Res.*, 2004, **65**, 333-337.
- 33. FATOURECHI V. :** Subclinical hypothyroidism : an update for primary care physicians. *Mayo Clinic Proceedings*, 2009, **84**, 65-71.
- 34. FAURE B. :** Contribution à l'étude bibliographique de la leptine chez les carnivores domestiques. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2007, 157 pages
- 35. FAVIER R.P., MOL J.A., et al :** Large body size in the dog is associated with transient GH excess at a young age, *J. Endocrinol*, 2001, **170**, 479–484
- 36. FELDMAN E.C., NELSON R.W.**
The thyroid gland. In: E.C. Feldman and R.W Nelson, *Canine and feline endocrinology and reproduction*, W.B. Saunders Company, USA, 1987, 55-85.
- 37. FELDMAN E.C., NELSON R.W.**
Canine hypothyroidism. In: E.C. Feldman and R.W Nelson, *Canine and feline endocrinology and reproduction*, W.B. Saunders Company, USA, 1996, 68-117.

38. FELDMAN E.C., NELSON R.W.

The thyroid gland. In: E.C. Feldman and R.W Nelson, *Canine and feline endocrinology and reproduction*, W.B. Saunders Company, USA, 2004, 86-142.

39. FERGUSON D.C. : Thyroid function tests in the dog. *Vet.Clin. North Am.: Small Anim. Pract.*, 1984, **14**, 783-808.

40. FERGUSON D.C. : The effect of no thyroidal factors on thyroid function tests in dogs, *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, 1988, **10**, 1365-1377.

41. FERGUSON D.C. : Influence of common drugs on the free thyroxine fraction in canine serum, *J.Vet. Int. Med.*, 1989, **3**, abstract 32.

42. FERGUSON D.C. Update on diagnosis of canine hypothyroidism. *Vet.Clin. North Am.: Small Anim. Pract.*, 1994, **24**, 515-539.

43. FERGUSON D.C. : Testing for hypothyroidism in dogs, *Vet. Clin. North Am.: Small Anim.Pract.*, 2007, **37**, 647-667.

44. FERGUSON D.C., MOORE G.E., HOENING M. : Carprofen lowers total T4 and TSH, but not free T4 concentrations in dogs, *Proceedings of the 17th annual veterinary medicine forum of the American College of Veterinary Internal Medicine, Chicago*, 1999, 709.

45. FRANK L.A., HNILICA K.A., MAY E.R., SARGENT S.J., DAVIS J.A. : Effect of sulfamethoxazole-trimethoprim on thyroid function in dogs, *Am.J.Vet. Res.*, 2005, **66**, 256-259.

46. GASKILL C.L., BURTON S.A., GELENS H.C., IHLE S. L., MILLER J.B., SHAW D.H., BRIMACOMBE M.B., CRIBB A.E. : Changes in serum thyroxine and thyroid-stimulating hormone concentrations in epileptic dogs receiving Phenobarbital for one year, *J. Vet. Pharmacol. Therap*, 2000, **23**, 243-249.

47. GAUGHAN K.R., BRUYETTE D.S. : Thyroid function testing in Greyhounds. *Am. J. Vet. Res.*, 2001, **62**, 1130-1133.

48. GAYRARD V. Physiologie de la thyroïde. Polycopie d'enseignement de physiologie animale, Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, 2007, 17 pages

49. GIEGER T.L., HOSGOOD G., TABOADA J., WOLFSHEIMER K.J., MUELLER P.B. : Thyroid function and serum hepatic enzyme activity in dogs after phenobarbital administration, *J. Vet. Int. Med.*, 2000, **14**, 277-281.

50. GOOKIN J.L., TREPANIER L.A., BUNCH S.E. : Clinical hypothyroidism associated with trimethoprim-sulfadiazine administration in a dog, *J. Am. Vet.Med. Assoc.*, 1999, **214**, 1028-1031.

- 51. GOSSELIN S.J., CAPEN C.C., MARTIN S.L. :** Biochemical and immunological investigation on hypothyroidism in dogs. *Can. J. Comp. Med.*, 1980, **44**, 158-168.
- 52. GRANDJEAN D. HAYMANN F.,** Encyclopédie du chien, La morphologie du chien p.536, Paris : Difomédia pour le compte de Royal canin, 2010, 1003p.
- 53. GRECO D.S., FELDMAN E.C., PETERSON M.E., TURNER J.L., HODGES C.M., WAYDE SHIPMAN L. :** Congenital hypothyroid dwarfism in a family of Giant Schnauzers, *J. Vet. Int. Med.*, 1991, **5**, 57-65.
- 54. GULIKERS K.P., PANCIERA D.L. :** Effect of clomipramine on the canine pituitary-thyroid axis, *J. Vet. Int. Med.*, 2002, **16**, 361, abstract 138.
- 55. HAZARD J, PERLEMUTER L.,** Endocrinologie, 2^{ième} édition. Chapitre 5 : la thyroïde p.87, Paris : Masson 1983, 547p
- 56. HERIPRET D.** Diagnostic biologique de l'hypothyroïdie canine. *Prat. Méd.Chir. Anim.Comp.*, 1997, **32**, 31-42.
- 57. HERIPRET D. :** Hypothyroïdie canine : le diagnostic et ses difficultés. *Point Vét.*, 2000, **numéro spécial 31**, 87-93.
- 58. HERMUS A.R.M.M., SWEEP C.G.J., VAN DER MEER M.J.M., ROSS A., SMALS A.G.H., BENRAAD T.J., KLOPPENBORG W.C. :** Continuous infusion of Interleukin-1_α induces a non-thyroidal illness syndrome in the rat, *Endocrinology*, 1992, **131**, 2139-2146.
- 59. HILL R.C., FOX L.E., LEWIS D.D, BEALE K.M., NACHREINER R.F., SCOTT K.C., SUNDSTROM D.A., JONES G.L., BUTTERWICK R.F. :** Effects of racing and training on serum thyroid hormone concentrations in racing Greyhounds. *Am.J. Vet. Res.*, 2001, **62**, 1969-1972.
- 60. HOH W.P., OH T.H. :** Circadian variations of serum thyroxine, free thyroxine and 3,5,3'-triiodothyronine concentration in healthy dogs. *J. Vet. Sci.*, 2006, **7**, 25-29.
- 61. HOLBEN D.H, SMITH A.M. :** The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. *J. Am. Diet.Assoc.*, 1999, **99**, 836-843.
- 62. HOOGWERF B.J., NUTTALL F.Q. :** Long-term weight regulation in treated hyperthyroid and hypothyroid subjects. *Am. J.Med.*, 1984, **76**, 963-970.
- 63. HOUP T.A., COREN B., HINTZ H.F., HILDERBRANT J.E. :** Effect of sex and reproductive status on sucrose preference, food intake, and body weight of dogs, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1979, **174**: 1083-1085.
- 64. IWASE M., KIMURA K., SASAKI N., KOMAGOME R., ISHIOKA K., MORIMATSU M., MURAKAMI T., SAITO M. :** Canine leptin: cDNA cloning, expression and activity of recombinant protein, *Res. Vet. Sci.*, 2000, **68**, 109-114.

- 65. JEUSETTE I., DAMINET S., NGUYEN P. :** Effect of ovariectomy and ad libitum feeding on body composition, thyroid status, ghrelin and leptin plasma concentrations in female dogs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 2006, **90**, 12–18.
- 66. JOHNSON C., OLIVIER N.B., NACHREINER R., MULLANEY T.** Effect of ¹³¹I-induced hypothyroidism on indices of reproductive function in adult male dogs. *J. Vet. Int. Med.*, 1999, **13**, 104–110.
- 67. KAELIN S., WATSON A. D. J., CHURCH D. B. :** Hypothyroidism in the dog: a retrospective study of sixteen cases. *J. Small Anim. Pract.*, 1986, **27**, 533-539.
- 68. KANTROWITZ L.B., PETERSON M.E., MELIAN C., NICHOLS R.** Serum total thyroxine, total triiodothyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations in dogs with nonthyroidal disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2001, **219**, 765-769.
- 69. KATZ A., NAMBI S.S., MATHER K., BARON A.D., FOLLMANN D.A., SULLIVAN G., QUON M.J. :** Quantitative insulin sensitivity check index : a simple accurate method for assessing insulin sensitivity in humans, *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 2000, **85**: 2402-2410.
- 70. KEMPPAINEN R.J., BEHREND E.N. :** Diagnosis of canine hypothyroidism, perspectives from a testing laboratory, *Vet.Clin. North Am. : Small Anim. Pract.*, 2001, **31**, 951-962.
- 71. KIRSTEN A. ET AL :** Diagnosing insulin resistance in the general population. *Diabetes care*, 2001, **24**, 460-464
- 72. LAFLAMME D.P. :** Development and validation of a body condition score system for dogs. *Canine Pract.*, 1997, **22**, 10-15.
- 73. LAFLAMME D.P. :** Understanding and managing obesity in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 2006 Nov, **36**, 1283-1295
- 74. LAFONT R.** Site internet de l'université Pierre et Marie Curie de Paris (page consulté le 28/07/2011) MÉTHODES PHYSIQUES DE SÉPARATION ET D'ANALYSE ET MÉTHODES DE DOSAGE DES BIOMOLÉCULES. Adresse URL : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/lafont/dosages/D3.html>
- 75. LARSEN P.R., BERRY M.J. :** Nutritional and hormonal regulation of thyroid hormone deiodinases. *Ann. Rev. Nutr.*, 1995, **15**, 323-352.
- 76. LARSSON M., PETTERSSON T. :** Purification and partial characterization of thyroid hormone binding proteins in canine serum, *Dom. Anim. Endocrinol.*, 1987, **4**, 215-229.
- 77. LICINIO J., CAGLAVAN S., OZATA M., et al :** Phenotypic effects of leptin

1-4 8-replacement on morbid obesity, diabetes mellitus, hypogonadism, and behaviour in leptindeficient adults, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, **101**, 4531-4536.

78. LORGUE G., LECHENET J., RIVIERE A. : Précis de toxicologie clinique vétérinaire, *Editions du Point Vétérinaire*, Maisons-Alfort, 1987, 208p.

79. MARCA M.C., LOSTE A., ORDEN I., GONZALEZ J.M., MARSELLA J.A. : Evaluation of canine serum thyrotropin (TSH) concentration : comparison of three analytical procedures, *J. Vet. Diag. Invest.*, 2001, **13**, 106-110.

80. MARTIN L.J.M., SILIART B., DUMON H.J.W., NGUYEN P.G. : Hormonal disturbances associated with obesity in dogs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 2006, **90**, 355-360.

81. MATTHEWS D.R., HOSKER J.P., RUDENSKI A.S. Et al : Homeostasis model assesment insuline resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 1985, **28**, 412-419

82. MC GILVERY R.W., GOLDSTEIN G.W. : The hormon *In : Biochemistry, a functional approach*, Third edition , ed. WB Saunders company, USA, 1983, pp. : 179, 714-729.

83. MC GREEVY PD, THOMSON PC, PRIDE C, FAWCETT A., GRASSI T, JONES B. : Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors invoved, *Vet. Rec.*, 2005, **156**: 695-702.

84. MILLER A.B., NELSON R.W., SCOTT-MONCRIEFF J.C., NEAL L., BOTTOMS G.D. : Serial thyroid hormone concentrations in healthy euthyroid dogs, dogs with hypothyroidism and euthyroid dogs with atopic dermatitis. *Brit.Vet. J.*, 1992, **148**, 451-458.

85. MILNE K.L., HAYES H.M.

Epidemiologic features of canine hypothyroidism. *Cornell Vet.*, 1981, **71**, 3-14.

86. MOORE G.E., FERGUSON D.C., HOENIG M. : Effects of oral administration of anti-inflammatory doses of prednisone on thyroid hormone response to thyrotropin-releasing hormone and thyrotropin in clinically normal dogs, *Am.J. Vet. Res.*, 1993, **54**, 130-135.

87. MULLER P.B., WOLFSHEIMER K.J., TABOADA J., HOSGOOD G., PARTINGTON B.P., GASCHENET F.P. : Effects of long-term phenobarbital treatment on the thyroid and adrenal axis and adrenal function tests in dogs, *J. Vet. Int. Med.*, 2000, **14**, 157-161.

88. OOHASHI E., YAGI K., UZUKA Y., TANABE S., SARASHINA T., ISHIDA T. : Seasonal changes in serum total thyroxine, free thyroxine and canine Thyroid-Stimulating Hormone in clinically healthy Beagles in Hokkaido. *J. Vet. Med. Sci.*, 2001, **63**, 1241-1243.

- 89. OWNBY C.** Université de médecine vétérinaire de l'Ocklahoma (page consultée le 05/08/2011) : Système endocrinien. Adresse URL : <http://instruction.cvhs.okstate.edu/histology/histologyreference/hrendo.htm>
- 90. PANCIERA D.L.** : Hypothyroidism in dogs: 66 cases (1987-1992). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1994a, **204**, 761-767.
- 91. PANCIERA D.L.** : Canine hypothyroidism in : A.G. Torrance and C.T. Mooney, *Manual of small animal endocrinology*, second edition, British Small Animal veterinary Association, United Kingdom, 1998, 103-113.
- 92. PANCIERA D.L., HELFAND S.C., SOERGEL S.A.** : Acute effects of continuous infusions of human recombinant interleukin-2 on serum thyroid hormone concentrations in dogs. *Res. Vet. Sci.*, 1995, **58**, 96-97.
- 93. PANCIERA D.L., HINCHCLIFF K.W., OLSON J., CONSTABLE P.D.** : Plasma thyroid hormone concentrations in dogs competing in a long-distance sled dog race, *J. Vet. Int. Med.*, 2003, **17**, 593-596.
- 94. PASQUINI A., LUCHETTI E., et al.** : Plasma lipoprotein concentrations in the dog : the effects of gender, age, breed and diet, *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 2008, **92** : p.718-722
- 95. PENA C., PAREZ L., et al.** : Relationship between analytic values and canine obesity. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2008, **92**, p. 324-5.
- 96. PONS E.** : Influence de l'obésité sur l'insulinémie chez le chien sain : étude expérimentale, Thèse de médecine vétérinaire, Toulouse 2009, 173 pages
- 97. POPOVIC V., DUNTAS L.H.** : Leptin, TRH and ghrelin: influence on energy homeostasis at rest and during exercise, *Horm. Metab. Res.*, 2005, **37**(9), 533-537
- 98. POWER D. M., ELIAS N. P., RICHARDSON S. J., MENDES J., SOARES C.M., SANTOS C.R.** : Evolution of the thyroid hormone-binding protein, Transthyretin. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2000, **119**, 241-255.
- 99. PRELAUD P., ROSENBERG D., DE FORNEL P.** : Exploration thyroïdienne dans: *Tests hormonaux : exploration fonctionnelle en endocrinologie des Carnivores Domestiques*, Maison AFVAC, Paris, 2002, 31-52.
- 100. QUEINNEC B.** : Intérêt diagnostique du dosage de la fraction libre plasmatique de la thyroxine chez le chien. Thèse de doctorat vétérinaire, Lyon, 1990, 47 pages.
- 101. RAMSEY I.K.** : Diagnosing canine hypothyroidism, *In Practice*, 1997, **19**, 371.
- 102. REIMERS T.J., MUMMERY L.K., McCANN J.P., COWAN R.G., CONCANNON P.W.** : Effects of reproductive state on concentrations of thyroxine, 3,5,3'-triiodothyronine and cortisol in serum of dogs. *Biol. Reprod.*, 1984, **31**, 148-154.

- 103. REIMERS T.J., LAWLER D.F., SUTURIA P.M., CORREA M.T., ERB H.N. :** Effects of age, sex, and body size on serum concentrations of thyroid and adrenocortical hormones in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 1990, **51**, 454-457.
- 104. RIJNBEEK A. :** Thyroids. In: A. Rinjberk, *Clinical endocrinology of dogs and cats*, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 1996, 35-55.
- 105. ROSYCHUK A.W. :** Thyroid hormones and antithyroid drugs. *Vet. Clin. North Am.: Small Anim. Pract.*, 1982, **12**, 111-147.
- 106. ROUQUET P. :** Le statut thyroïdien du chien, étude bibliographique, Thèse de médecine vétérinaire, Toulouse 2010, 112 pages
- 107. SCARLETT J.M. :** Epidemiology of thyroid diseases of dogs and cats. *Vet. Clin. North Am.: Small Anim. Pract.*, 1994, **24**, 477-486.
- 108. SCHACHTER S., NELSON R.W., SCOTT-MONCRIEFF C., FERGUSON D.C., MONTGOMERY T., FELDMAN E.C., NEAL L., KASS P.H. :** Comparison of serum-free thyroxine concentrations determined by standard equilibrium dialysis, modified equilibrium dialysis, and 5 radioimmunoassays in dogs, *J. Vet. Int. Med.*, 2004, **18**, 259–264.
- 109. SCOTT-MONCRIEFF J.C.R., GUPTILL-YORAN L. :** Hypothyroidism. In: S.J. Ettinger and E.C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, sixth edition, 2005, pp. 1535-1544.
- 110. SEAVERS A., SNOW D.H., MASON K.V., MALIK R. :** Evaluation of the thyroid status of Basenji dogs in Australia. *Austr. Vet. J.*, 2008, **86**, 429-434.
- 111. SILIART B., NGUYEN F.. :** *Le mémento biologique du vétérinaire : répertoire alphabétique de biochimie, endocrinologie et hématologie clinique*, les éditions du point vétérinaire (ed), Wolters Kluwer, 2007, p.59, 139, 255.
- 112. SURKS M.I., OCAMPO E. :** Subclinical thyroid disease, *Am. J. Med.*, 1996, **100**, 217-223.
- 113. THIENPONT L.M., VAN UYTFANGHE K. et al :** Report of the IFCC Working Group for Standardization of Thyroid Function Tests; Part 2: Free Thyroxine and Free Triiodothyronine Clinical Chemistry, 2010, **56**, 912–920
- 114. TILLEY L.P., SMITH F.W.K. :** *Blacwell's five-minute veterinary consult : canine and feline*, édition n°4, eds Blackwell Publishing professional, Blackwell Publishing, 2007, p. 1454.
- 115. TORRES S.M.F, McKEEVER P.J., JOHNSTON S.D. :** Effect of oral administration of prednisolone on thyroid function in dogs, *Am. J. : Vet. Res.*, 1991, **52**, 416-421.

- 116. TUCKOVA M., FIALKOVICOVA M., BARANOVA D., BEKEOVÁ E., KOZÁK M., PÁLENÍK L. :** Seasonal effect on serum levels of thyroid hormones in German shepherds and dachshunds and their health status. *Vet. Med. (Praha)*, 1995, **40**, 249-252 (abstract).
- 117. VAIL D.M., PANCIERA D.L., OGILVIE G.K. :** Thyroid hormone concentration in dogs with chronic weight loss, with special referencia to cancer cachexia. *J.Vet.Int.Med.*, 1994, **8**, 122-127.
- 118. VIALETES B., GUILLERAND M.A., VIENS P., STOPPA A.M., BAUME D., SAUVAN R., PASQUIER J., SAN MARCO M., OLIVE D., MARANINCHI D. :** Incidence rate and risk factors for thyroid dysfunction during recombinant interleukin-2 therapy in advanced malignancies. *Acta Endocrinol. (Copenhagen)*, 1993, **129**, 31-8 (abstract).
- 119. VITALE C.L., OLBY N.J. :** Neurologic dysfunction in hypothyroid, hyperlipidemic Labrador Retrievers. *J Vet Intern Med.*, 2007, **21**(6):1316-22.
- 120. WEDEKIND K.J., KATS L., YU S., PAETAU-ROBINSON I., COWELL C.S.** Iodine. In: Hand M.S., Thatcher C.D., Remillard R.L., Roudebush P., *Small Anim. Clin. Nutr.*, fifth edition, 2010, **6**, 120-122.
- 121. WOOD M.A., PANCIERA D.L., BERRY S.H., MONROE W.E., REFSAL K.R. :** Influence of isoflurane general anesthesia or anesthesia and surgery on thyroid function tests in dogs, *J. Vet. Int. Med.*, 2009, **23**, 7-15.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Questionnaire ayant été rempli par tous les propriétaires et éleveurs des chiens étudiés (n=179)

NB : les notations en rouge ont été utilisées pour saisir les données dans l'ordinateur

COORDONNEES

Age :

Race (si croisé le préciser) :

Sexe : M MC F FC

Si femelle, date dernières chaleurs : **mois**

Etiquette d'identification

PRELEVEMENT

Date :

Heure :

Lieu : veine céphalique **C** veine jugulaire **J**

Stress : aucun **1** léger **2** important **3**

Heure du dernier repas :

Quantité sang (ml) :

Date et heure de congélation :

ETAT CORPOREL

Body Condition Scoring : **9**

Poids réel :

Poids idéal estimé :

MODE DE VIE

Caractériser le mode de vie grâce à l'activité :

appartement sans jardin **1**

maison/appartement avec jardin **2**

travail : agility, troupeau, garde... **3**

activité limitée **1**

activité modérée **2**

activité sportive **3**

chasse en meute **4**

activité intense **4**

Lieu de couchage :

↳ à proximité d'une source de chaleur (cheminée, radiateur...) : oui non

COMPORTEMENT

très calme **1**

calme **2**

actif **3**

très actif **4**

Joue-t-il souvent avec des jouets en caoutchouc ? oui non

Les propriétaires ont-ils noté un changement de comportement ? oui non

Si oui, depuis quand ? : durée en mois

ALIMENTATION

Croquettes **1**

Alimentation humide **2**

Ration ménagère : salée (sel, cub or, maggi...) sel iodé **3**

Carcasses **4**

Restes de table ou « à côtés » **5**

Lamelles / os à ronger **6**

Marque de l'aliment (croquettes ou boîte) : Hill's **1**

Royal canin **2**

Purina Proplan **3**

Autre Premium (Eukanuba, Iam's...) **4**

Grande surface **5**

Nom précis de l'aliment (si connu) : **nom alim**

Lieu d'achat de l'aliment : Vétérinaire **1**

Magasin spécialisé (Truffault, Amazonie...) **2**

Grande surface (Carrefour, Auchan...) **3**

Supermarché discount (Leader price, Lidl...) **4**

Changez-vous souvent d'aliment : de type (croquettes ou boîtes) ? oui non

de marque ? oui non

Appétit : normal **1** important **2** difficile **3**

Si modification, depuis quand ? : **durée modif en mois**

Nombre de repas : 1 **1** ≥ 2 **2** à volonté **3**

Quand ? **1=matin, 2=soir,**

3=matin et soir, 4=matin, midi et soir

Quantité approximative par jour (en grammes) : **en gr**

Selles : $< 1X/j$ **1** $\geq 1X/j$ **2** $> 3 X/j$ **3**

Est il constipé ? **oui / non**

BOISSON

eau du robinet **1**

eau du puits **2**

eau en bouteilles (marque ?) minérale de source ne sait pas **3**

Observations, remarques éventuelles :

- Traitement médicamenteux (lequel si existe ?) **oui / non**

Date du dosage :

IMMULITE®/IMMULITE® 1000 Canine TSH

Intended Use

For *in vitro* veterinary use with the IMMULITE and IMMULITE 1000 Analyzers — for the quantitative measurement of canine thyroid stimulating hormone (canine thyrotropin, cTSH) in serum. It is intended strictly for *in vitro* veterinary use as an aid in the assessment of thyroid status in dogs.

Catalog Numbers: LKKT1 (100 tests), LKKT5 (500 tests)

Test Code: TK9 Color: Dark Pink

Summary and Explanation of the Test

Thyroid stimulating hormone (TSH, thyrotropin) in dogs is similar in function and structure to TSH found in other mammalian species, including humans. TSH is a glycoprotein produced by the anterior pituitary gland. Through its action on the thyroid gland, it plays a major role in maintaining normal circulating levels of the iodothyronines, T4 and T3. The production and secretion of TSH is controlled by negative feedback from circulating T4 and T3, and by the hypothalamic hormone TRH (thyrotropin releasing hormone). The TSH molecule is composed of two nonidentical subunits, α and β , that are bound together in a noncovalent manner. Within a species, the TSH α subunit is structurally identical to the α subunits of the related glycoprotein hormones (luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and chorionic gonadotropin). The β subunit of TSH and the β subunits of the related hormones are structurally hormone-specific, and confer upon them their unique biological activities.

Hypothyroidism is considered to be a common endocrine disorder in dogs, whereas hyperthyroidism in this species is relatively unknown. Most cases of canine hypothyroidism are primary in nature, involving impaired production of the thyroid hormones, T4 and T3. In this condition, elevated TSH levels are expected. Secondary or tertiary hypothyroidism, where thyroid hormone production is low as a consequence of

hypothalamic or pituitary disease, is believed to account for less than 5% of canine hypothyroidism cases. In the latter conditions, lowered levels of TSH would be expected. Usually, hypothyroidism in dogs is suspected on the basis of clinical history and the presence of lowered levels of thyroid hormones. However, suppressed thyroid hormone levels are nonspecific indicators of the disease, since they are often observed in nonthyroidal illnesses. The evaluation of thyroid function and the diagnosis of hypothyroidism in dogs can be greatly improved through the use of a valid assay for the determination of canine TSH.

Principle of the Procedure

IMMULITE/IMMULITE 1000 Canine TSH is a solid-phase, two-site chemiluminescent immunometric assay.

Incubation Cycles: 1 × 60 minutes.

Specimen Collection

The animal need not be fasting, and no special preparations are necessary. Collect blood by venipuncture into plain tubes and separate the serum from the cells.

Hemolyzed samples may indicate mistreatment of a specimen before receipt by the laboratory; hence the results should be interpreted with caution.

The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants.

IMMULITE/IMMULITE 1000 Canine TSH

has not been tested with all possible variations of tube types.

Volume Required: 25 µL serum. (Sample cup should contain at least 100 µL more than the total volume required.)

Storage: 1 week at 2–8°C or 2 months (aliquotted) at –20°C.

Warnings and Precautions

For *in vitro* veterinary use.

Reagents: Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

Chemiluminescent Substrate: avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. The barcode labels are needed for the assay.

Canine TSH Test Units (LKT1)

Each barcode-labeled unit contains one bead coated with monoclonal murine anti-cTSH antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.

LKKT1: 100 units. **LKKT5:** 500 units.

Allow the Test Unit bags to come to room temperature before opening. Open by cutting along the top edge, leaving the ziplock ridge intact. Reseal the bags to protect from moisture.

Canine TSH Reagent Wedge (LKT2)

With barcode. 7.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal rabbit anti-cTSH antibody in buffer, with preservative. Store capped and refrigerated: stable at 2–8°C until expiration date. Recommended usage is within 30 days after opening when stored as indicated.

LKKT1: 1 wedge. **LKKT5:** 5 wedges.

Canine TSH Adjustors (LKTL, LKTH)

Two vials (Low and High) of lyophilized canine TSH in cTSH-free canine serum/buffer matrix, with preservative. Reconstitute each vial with 4.0 mL distilled or deionized water, and mix by *gentle* inversion. Stable at 2–8°C for 7 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

LKKT1: 1 set. **LKKT5:** 2 sets.

Kit Components Supplied Separately

LSUBX: Chemiluminescent Substrate

LPWS2: Probe Wash

LKPM: Probe Cleaning Kit

LCHx-y: Sample Cup Holders (barcoded)

LSCP: Sample Cups (disposable)

LSCC: Sample Cup Caps (optional)

K9CON: A bi-level, canine serum-based control, containing canine TSH as one of multiple assayed constituents.

K9TCM: A bi-level, canine serum-based control module, containing canine TSH as one of three assayed constituents.

Also Required

Sample transfer pipets; distilled or deionized water; controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual.

See the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Visually inspect each Test Unit for the presence of a bead before loading it onto the system.

Recommended Adjustment Interval: 2 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of canine TSH.

Expected Values

Based on its relation to DPC's Coat-a-Count Canine TSH assay (see the Method Comparison section), the IMMULITE Canine TSH assay can be expected to

have the following approximate reference ranges

Nondetectable to 0.5 ng/mL.

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges for the diagnostic evaluation of canine results.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in ng/mL. (Unless otherwise specified, all results were generated on canine samples collected in tubes without anticoagulants, gel barriers, or clot-promoting additives.)

Calibration Range: Up to 12 ng/mL

Analytical Sensitivity: 0.01 ng/mL

High-dose Hook Effect:

None up to 5,000 ng/mL.

Intraassay Precision (Within-Run):

Statistics were calculated for samples from the results of 20 replicates in a single run. (See "Intraassay Precision" table.)

Interassay Precision (Run-to-Run):

Statistics were calculated for samples assayed in 10 different runs. (See "Interassay Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three TSH solutions (4.3, 8.5 and 18 ng/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibodies used in the IMMULITE Canine TSH procedure are highly specific for canine TSH, with negligible crossreactivity to related canine pituitary glycoprotein hormones such as FSH, HCG and LH.

Hemolysis: Presence of packed red blood cells in concentrations up to 25 μ L/mL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 5,000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Method Comparison: The assay was compared to DPC's Coat-A-Count Canine TSH IRMA on 61 canine samples.

(Concentration range: approximately 0.04 to 9.0 ng/mL. See graph.) By linear regression:

(IML) = 1.00 (CAC IRMA) + 0.02 ng/mL
 $r = 0.996$

Means:

1.39 ng/mL (IMMULITE)

1.37 ng/mL (CAC IRMA)

References

- 1) Ferguson DC. Thyroid function tests in the dog. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 1984;14:783-808.
- 2) Panciera DL. Hypothyroidism in dogs: 66 cases (1987-1992). *JAVMA* 1994;204:761-7.
- 3) Nesbitt GH, Izzo J, Peterson L, Wilkins RJ. Canine hypothyroidism: A retrospective study of 108 cases. *JAVMA* 1980;177:1117-22.
- 4) Nachreiner RF, Refsal KR. Radioimmunoassay monitoring of thyroid hormone concentration in dogs on thyroid replacement therapy: 2,674 cases (1985-1987). *JAVMA* 1992;201:623-9.
- 5) Budsberg SC, Moore GE, Klappenbach K. Thyroxine-responsive unilateral forelimb lameness and generalized neuromuscular disease in four hypothyroid dogs. *JAVMA* 1993;202:1859-60.
- 6) Beale KM. Current diagnostic techniques for evaluating thyroid function in the dog. *Vet Clin North Am* 1990;20:1429-41.
- 7) Ferguson DC. Update on diagnosis of canine hypothyroidism. *Vet Clin North Am* 1994;24:515-39.
- 8) Gonzalez E, Quadri SK. Effects of aging on the pituitary-thyroid axis in the dog. *Exp Gerontol* 1988;23:151-60.
- 9) Kaptein EM, Hays MT, Ferguson DC. Thyroid hormone metabolism: a comparative evaluation. *Vet Clin North Am* 1994;24:431-63.
- 10) Kempainen RJ, Clark TP. Etiopathogenesis of canine hypothyroidism. *Vet Clin North Am* 1994;24:467-76.
- 11) Scarlett JM. Epidemiology of thyroid diseases of dogs and cats. *Vet Clin North Am* 1994;24:477-86.

Technical Assistance

In the United States, contact DPC's Technical Services department.
Tel: 800.372.1782 or 973.927.2828
Fax: 973.927.4101. Outside the United States, contact your National Distributor.

The Quality System of Diagnostic Products Corporation is registered to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

Intraassay Precision (ng/mL)

	Mean	SD	CV
1	0.20	0.01	5.0%
2	0.50	0.02	4.0%
3	1.6	0.05	3.1%
4	2.6	0.10	3.8%

Interassay Precision (ng/mL)

	Mean	SD	CV
1	0.16	0.01	6.3%
2	0.27	0.02	7.4%
3	2.8	0.23	8.2%

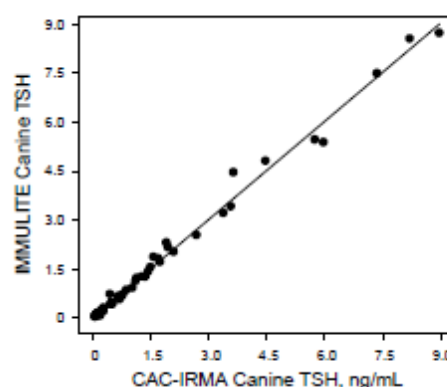
Linearity (ng/mL)

	Dilution	Observed	Expected	%O/E
1	16 in 16	5.1	—	—
	8 in 16	2.3	2.6	93%
	4 in 16	1.2	1.3	93%
	2 in 16	0.6	0.6	97%
	1 in 16	0.3	0.3	94%
2	16 in 16	5.96	—	—
	8 in 16	2.9	3.0	97%
	4 in 16	1.5	1.5	101%
	2 in 16	0.8	0.8	102%
	1 in 16	0.4	0.4	102%
3	16 in 16	8.12	—	—
	8 in 16	3.6	4.1	88%
	4 in 16	1.8	2.0	89%
	2 in 16	0.9	1.0	94%
	1 in 16	0.5	0.5	95%

Recovery (ng/mL)

	Solution	Observed	Expected	%O/E
1	—	0.46	—	—
	A	0.64	0.65	98%
	B	0.75	0.86	87%
	C	1.1	1.3	85%
2	—	2.8	—	—
	A	2.8	2.9	97%
	B	3.0	3.1	97%
	C	3.4	3.6	94%
3	—	5.2	—	—
	A	5.4	5.2	104%
	B	5.5	5.4	102%
	C	5.6	5.8	97%

Method Comparison



$$(IML) = 1.00 (CAC IRMA) + 0.02 \text{ ng/mL}$$

$$r = 0.996$$

DPC[®]

Diagnostic Products Corporation
Corporate Offices
5210 Pacific Concourse Drive
Los Angeles, CA 90045-6900
USA

2005-03-17

PILKKT - 4

ANNEXE 3 : Notice descriptive du kit ELISA de dosage de la FT₄ par compétition en phase solide (Calbiotech®, USA)

Free T4 Rev.1/RC



Free Thyroxine (fT4) ELISA

Catalog No. F410TT (96 Tests)

INTENDED USE

The Calbiotech, Inc. (CBI) fT4 ELISA kit is used for the quantitative measurement of free Thyroxine (fT4) in human serum.

SUMMARY AND EXPLANATION

Over 99% of thyroxine (T4) circulates in blood is bound to carrier proteins; thyroxine-binding globulin (TBG). However, only the free (unbound) portion of Thyroxine is responsible for the biological action. Further, the concentrations of the carrier proteins are altered in many clinical conditions, such as pregnancy. In normal thyroid function as the concentrations of the carrier proteins alters, the total T4 level changes so that the free T4 concentration remains constant. Thus, measurements of free T4 concentrations correlate more reliably with clinical status than total T4 levels. The increase in total T4 levels associated with pregnancy, oral contraceptives and estrogen therapy result in higher total T4 levels while the free T4 concentration remains basically unchanged.

PRINCIPLE OF THE TEST

The CBI fT4 is a solid phase competitive ELISA. The samples, assay buffer and T4 enzyme conjugate are added to the wells coated with anti-T4 monoclonal antibody. fT4 in the patient's serum competes with a T4 enzyme (HRP) conjugate for binding sites. Unbound fT4 and T4 enzyme conjugate is washed off by washing buffer. Upon the addition of the substrate, the intensity of color is inversely proportional to the concentration of fT4 in the samples. A standard curve is prepared relating color intensity to the concentration of fT4.

MATERIALS PROVIDED		96 Tests
1. Microwells coated with fT4 Mab		12x8x1
2. fT4 Standard: 6 vials (ready to use)		0.5ml
3. fT4 enzyme conjugate: 1 Bottle (ready to use)		12 ml
4. TMB Substrate: 1 bottle (ready to use)		12ml
5. Stop Solution: 1 bottle (ready to use)		12ml
6. 20X Wash concentrate: 1 bottle		25ml

MATERIALS NOT PROVIDED

1. Distilled or de ionized water
2. Precision pipettes
3. Disposable pipette tips
4. ELISA reader capable of reading absorbance at 450nm
5. Absorbance paper or paper towel
6. Graph paper

REFERENCES

1. Baker, S.B., "determination of protein bound iodine", *Jornal Biological Chemistry* 173, 175. (1948)
2. Chopra, I.J., Solomon, D.H., and Ho, R.S., " A Radioimmunoassay of Thyroxine", *Jornal Endocrinol* 33, 865, (1971)
3. Young, D.S., Pestinger, L.C, and Giberman, U., "Effect ofDrugs on Clinical Laboratory Tests", *clinical chemistry* 21, 3660,(1975)
4. Sterling, L., *Diagnosis and Treatment of thyroid disease*, Cleveland, CRC press P.19-51,(1975)
5. Halpern, E.P. and Borden RW. "Microencapsulated antibodies in radioimmunoassay. Determination of free thyroxine"
6. Stjermolin, MR, Asever, RN and Rudolph, MC. "Thyroid function test in diphenylhydantoin-treated patients", *clin. Chem.* vol. 21, 1388-1392. (1977)
7. Nelson, J.C. and Wilcox, RB. " Analytical performance of free and total thyroxine assays". *Clin. Chem.* Vol. 42, 146-154 (1996)
8. Midgeley john , E.M. " Direct and indirect free thyroxine assay methods. Theory and practice" *clin. Chem.* Vol. 47, 1353-1363. (2001)
9. Bayer, MF and McDougall, JR. " Radioimmunoassay of free thyroxine in serum. Comparison with clinical finding and results of conventional thyroid-function tests" *clin. Chem.* Vol. 26, 1186-1192. (1980)
10. Anthony, GW, Jackson, RA et al. "Misleading results from immunoassays of serum free thyroxine in the presence of rheumatoid factor", *Clin. Chem* vol. 43, 957-962. (1997)
11. Wosilait, WD. " A theoretical analysis of the distribution of thyroxine among site on the thyroxine binding globulin, thyroid binding prealbumin and serum albumin ". *RES. Comm. Chem. Patho-pharmacology* 16, 541-548. (1977).

2008-12-18 (Mfg 120105)

For Research Use Only. Not for use in Diagnostic Procedures.

Cat# F410TT (96 Tests)

For Order and Inquiries, please contact



10461 Austin Dr, Spring Valley, CA, 91978

Tel (619) 660-6162. Fax (619) 660-6970,

www.calbiotech.com



CE Partner 4U, 3951DB, 13. NL

tel: +31 (0)6.516.536.26

STORAGE AND STABILITY

1. Store the kit at 2 - 8° C.
2. Keep Microwell sealed in a dry bag with desiccants.
3. The reagents are stable until expiration of the kit.
4. Do not expose test reagents to heat, sun, or strong light.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. Potential biohazardous materials:
The calibrator and controls contain human source components, which have been tested and found non-reactive for hepatitis B surface antigen as well as HIV antibody with FDA licensed reagents. However there is no test method that can offer complete assurance that HIV, Hepatitis B virus or other infectious agents are absent. These reagents should be handled at the Biosafety Level 2, as recommended in the Centers for Disease Control/National Institutes of Health manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" 1984.
2. This kit is designed for research use only.
3. Not for internal or external use in humans or animals
4. Do not pipette by mouth. Do not smoke, eat, or drink in the areas in which specimens or kit reagents are handled.
5. The components in this kit are intended for use as an integral unit. The components of different lots should not be mixed.
6. It is recommended that standards, control and serum samples be run in duplicate.
7. Optimal results will be obtained by strict adherence to this protocol. Accurate and precise pipetting, as well as following the exact time and temperature requirements prescribed are essential. Any deviation from this may yield invalid data.

SPECIMEN COLLECTION HANDLING

1. Collect blood specimens and separate the serum immediately.
2. Specimens may be stored refrigerated at (2-8° C) for 5 days. If storage time exceeds 5 days, store frozen at (-20° C) for up to one month.
3. Avoid multiple freeze-thaw cycles.
4. Prior to assay, frozen sera should be completely thawed and mixed well.
5. Do not use grossly lipemic specimens.

REAGENT PREPARATION

Prepare 1X Wash buffer by adding the contents of the bottle (25 ml, 20X) to 475 ml of distilled or deionized water. Store at room temperature (18-26°C).

ASSAY PROCEDURE

- Before proceeding with the assay, bring all reagents, serum references and controls to room temperature (18-26°C).
1. Format the microplate wells for control, standards and patient sample to be assayed in duplicate. Replace any unused microwell strips back into the aluminum bag, seal and store at 2-8°C.
 2. Pipette 50 µl of FT4 standards, control and samples into the assigned well.
 3. Add 100 µl of FT4 enzyme conjugate to all wells.
 4. Incubate for 60 minutes at room temperature (18-26° C).

5. Remove liquid from all wells. Fill wells with 300 µl 1X wash buffer (see buffer preparation above). Wash three times. Blot on absorbent paper towels.
6. Add 100 µl of TMB substrate to all wells.
7. Incubate for 15 minutes at room temperature.
8. Add 50 µl of stop solution to all wells. Shake the plate gently to mix the solution.
9. Read absorbance on ELISA Reader at 450 nm within 15 minutes after adding the stopping solution.

CALCULATION OF RESULTS

1. The standard curve is constructed as follows:
2. Check FT4 standard value on each standard vial. This value might vary from lot to lot. Make sure you check the value on every kit.
3. To construct the standard curve, plot the absorbance for FT4 standards (vertical axis) versus FT4 standard concentrations (horizontal axis) on a linear graph paper. Draw the best curve through the points.
4. Read the absorbance for controls and each unknown sample from the curve. Record the value for each control or unknown sample.

EXAMPLE OF A STANDARD CURVE

	OD 450 nm	Conc. ng/dL
Std 1	2.786	0
Std 2	2.056	0.45
Std 3	1.440	1.10
Std 4	0.885	2.10
Std 5	0.426	5.00
Std 6	0.229	7.70

EXPECTED VALUES

It is recommended that each laboratory establish its own normal ranges based on a representative sampling of the local population. The following values for FT4 were established by the CBI and may be used as initial guideline ranges only.

Classification	ng/dL
Adult	0.8-2.0

LIMITATIONS OF THE TEST

1. The test results obtained using this kit serve only as an aid to diagnosis and should be interpreted in relation to the patient's history, physical findings and other diagnostic procedures.
2. Do not use sodium azide as preservative. Sodium azide inhibits HRP enzyme activities.

ANNEXE 4 : Notice descriptive du kit ELISA de dosage de la TT₃ par compétition en phase solide (Calbiotech®, USA)

TT₃, rev.07



INTENDED USE
The Calbiotech Triiodothyronine (T3) ELISA kit is intended for the quantitative measurement of Triiodothyronine (T3) in human serum.

SUMMARY AND EXPLANATION
Triiodothyronine (T3) is a useful marker for the diagnosis of hypothyroidism and hyperthyroidism. The level of T3 is decreased in hypothyroid patients and is increased in hyperthyroid patients, graves disease and pregnancy.

PRINCIPLE OF THE TEST
The CBI T3 is a solid phase competitive ELISA. The samples, assay buffer and T3 enzyme conjugate are added to the wells coated with anti-T3 monoclonal antibody. T3 in the patient's serum competes with a T3 enzyme conjugate for binding sites. Unbound T3 and T3 enzyme conjugate is washed off by washing buffer. Upon the addition of the substrate, the intensity of color is inversely proportional to the concentration of T3 in the samples. A standard curve is prepared relating color intensity to the concentration of the T3.

MATERIALS PROVIDED		96 tests
1.	Microwell coated with T3 Mab	12x8x1
2.	T3 Standard: 6 vials (ready to use)	0.5ml
3.	Conjugate Buffer	12 ml
4.	THB Substrate: 1 bottle (ready to use)	12ml
5.	Stop Solution: 1 bottle (ready to use)	12ml
6.	T3 Enzyme Conjugate concentrate: 1 vial	1.5ml
7.	20X Wash concentrate: 1 bottle	25ml

MATERIALS NOT PROVIDED

1. Distilled or deionized water
2. Precision pipettes
3. Disposable pipette tips
4. ELISA reader capable of reading absorbance at 450nm
5. Absorbance paper or paper towel
6. Graph paper

STORAGE AND STABILITY

1. Store like kit at 2 – 8° C.
2. Keep microtiter sealed in a dry bag with desiccants.
3. The reagents are stable until expiration of the kit.
4. Do not expose test reagents to heat, sun, or strong light.

REFERENCES

1. Agnienya JC. Clinical usefulness of ELISA technique in the assessment of Thyroid function. *West Afr J Med* 1990;9(4):288-93.
2. Baumgarten-Panzer SM, Wagner L, Renning G, Seel V, Nowotny P, Müller M, Brunner M, Waldh ausl W. Increase by triiodothyronine of endothelin-1, fibronectin and von Willebrand factor in cultured endothelial cells. *J Endocrinol* 1997;154(2):231-9.
3. Mees M, Morren K, Hendrickx D, Peeters D, D'Hondt P, Ranjtin R, De Meyer F, Schamp S. Components of biological variation, including seasonality, in blood concentrations of TSH, TT3, FT4, PRL, cortisol and testosterone in healthy volunteers. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1997;46(5):587-98.
4. Sarini F, Chiovato L, Bertolena L, Lupi P, Palle R, Penich V, Velluzzi F, Grasso L, Chagra L, Marino E, Pinchera A. Study of serum 3,3'-triiodothyronine sulfate concentration in patients with systemic non-thyroidal illness. *Eur J Endocrinol* 1996;134(1):45-9

2008-01-16
(Mfg.: Rev. B)

Kit# T3104T (96 tests)
For Order and Inquiries, please contact
 Calbiotech Inc.
10461 Austin Dr, Spring Valley, CA, 91978
Tel: (619) 660-6162, Fax: (619) 660-6970,
www.calbiotech.com



3. Read the absorbance for controls and each unknown sample from the curve. Record the value for each control or unknown sample.

Example of a Standard Curve

	OD 450 nm	Conc. ng/mL
Std 1	2.35	0
Std 2	1.77	0.5
Std 3	1.32	1.0
Std 4	0.77	2.5
Std 5	0.50	5.0
Std 6	0.40	7.5

EXPECTED VALUES

A study of euthyroid adult population was undertaken to determine expected values for the T3 EIA test system. The mean value, standard deviation, and expected ranges of samples are presented in the following table. The total number of samples was 105.

Mean	1.184
Standard deviation	0.334
Expected range	0.52-1.85

LIMITATIONS OF THE TEST

- The test results obtained using this kit serve only as an aid to diagnosis and should be interpreted in relation to the patient's history, physical findings and other diagnostic procedures.
- Do not use sodium azide as preservative. Sodium azide inhibits HRP enzyme activities.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- Correlation with a Reference ELISA kit:
A total of 120 sera were tested by CB T3 ELISA and a reference ELISA kit. Results were as follows:

Correlation	Slope	Intercept
0.96	0.94	3.8

- Precision

- Intra-Assay Precision was determined by assaying 16 replicates of each of three sera, low, normal, and high.

Serum	No. of Replicates	Mean ng/ml	Standard Deviation	Coefficient of Variation (%)
1	16	0.78	0.06	7.4
2	16	1.92	0.10	5.4
3	16	3.55	0.14	3.9

- Inter-assay Precision was determined by assaying duplicates of three serum pools in 10 separate runs, using a standard curve constructed for each run.

Serum	No. of Runs	Mean ng/ml	Standard Deviation	Coefficient of Variation (%)
1	10	0.76	0.07	8.9
2	10	1.85	0.13	6.7
3	10	3.43	0.16	4.5

- Sensitivity

The Truothymone test system procedure has a sensitivity of 0.04 ng/ml. The sensitivity was ascertained by determining the variability of the 0 ng/ml serum calibrator and using the 20(95% sensitivity) statistics to calculate the minimum dose.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Paternal ischaemic materials:
The calibrator and controls contain human source components, which have been tested and found non-reactive for hepatitis B surface antigen as well as HIV antibody with FDA licensed reagents. However there is no test method that can offer complete assurance that HIV, Hepatitis B virus or other infectious agents are absent. These reagents should be handled at the Biosafety Level 2, as recommended in the Centers for Disease Control/National Institutes of Health manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" 1984.
- This test kit USA FDA exempt product.
- Do not pipette by mouth. Do not smoke, eat, or drink in the areas in which specimens or kit reagents are handled.
- The components in this kit are intended for use as an integral unit. The components of different lots should not be mixed.
- It is recommended that standards, control and serum samples be run in duplicate.
- Optimal results will be obtained by strict adherence to this protocol. Accurate and precise pipetting, as well as following the exact time and temperature requirements prescribed are essential. Any deviation from this may yield invalid data.

SPECIMEN COLLECTION HANDLING

- Collect blood specimens and separate the serum immediately.
- Specimens may be stored refrigerated at (2-8°C) for 5 days. If storage time exceeds 5 days, store frozen at (-20°C) for up to one month.
- Avoid multiple freeze-thaw cycles.
- Prior to assay, frozen sera should be completely thawed and mixed well.
- Do not use grossly lipemic specimens.

REAGENT PREPARATION

- T3-enzyme Conjugate Solution**
Dilute the T3-enzyme conjugate 1:11 with conjugate buffer in a suitable container. For example, dilute 160 µl of conjugate with 1.6 ml of buffer for 16 wells (A slight excess of solution is made). This reagent should be used within twenty-four hours for maximum performance of the assay. Store at 2-8°C. General Formula:
Amount of Buffer required = Number of wells * 0.1
Quantity of T3-Enzyme necessary = # of wells * 0.01
i.e. = 16 x 0.1 = 1.6 ml for Conjugate Buffer
16 x 0.01 = 0.16 ml (160 µl) for T3 enzyme conjugate
- Wash Buffer**
Prepare 1X Wash buffer by adding the contents of the bottle (25 ml, 20X) to 475 ml of distilled or deionized water. Store at room temperature (16-25°C).

ASSAY PROCEDURE

- Before proceeding with the assay, bring all reagents, serum references and controls to room temperature (16-25°C).
- Format the microplate wells for each serum reference, control and patient specimen to be assayed in duplicate. Replace any unused microwell strips back into the aluminum bag, seal and store at 2-8°C.
 - Pipette 50 µl of the appropriate serum reference, control or specimen into the assigned well.
 - Add 100 µl of T3-enzyme conjugate solution to all wells (see Reagent Preparation Section).
 - Swirl the microplate gently for 20-30 seconds to mix and cover.
 - Inoculate 50 minutes at room temperature.
 - Remove liquid from all wells. Wash wells three times with 300 of 1X wash buffer (see Reagent Preparation Section). Blot on absorbent paper towels.
 - Add 100 µl of TMB substrate solution to all wells
 - Inoculate at room temperature for fifteen (15) minutes.
 - Add 50 µl of stop solution to each well and gently mix for 15-20 seconds.
 - Read the absorbance on ELISA Reader at 450nm within 15 minutes after adding the stop solution.

CALCULATION OF RESULTS

The standard curve is constructed as follows:

- Check T3 standard value on each standard vial. This value might vary from lot to lot. Make sure you check the value on every kit. See example of the standard attached.
- To construct the standard curve, plot the absorbance for T3 standards (vertical axis) versus T3 standard concentrations (horizontal axis) on a linear graph paper. Draw the best curve through the points.

ANNEXE 5 : Présentation des deux trousseaux Randox © utilisées dans notre étude

TOTAL CHOLESTEROL

Total cholesterol measures cholesterol in all lipoprotein sub-classes to assess a patient's cholesterol levels. Because it includes both 'good' HDL and 'bad' LDL, total cholesterol measurement alone cannot accurately predict CVD risk. Total cholesterol is useful as an initial screen but elevated levels would suggest a lipid profile is required.

Randox total cholesterol kits are liquid ready-to-use Trinder-based (CHOD-PAP) colorimetric end-point assays

Intra-assay precision	Level 1 n=20	Level 2 n=19	Level 3 n=20
Mean (mmol/l)	1.71	4.73	7.70
SD	0.06	0.08	0.30
CV (%)	3.73	1.71	3.84

Inter-assay precision	Level 1 n=20	Level 2 n=20	Level 3 n=20
Mean (mmol/l)	1.67	3.91	7.52
SD	0.02	0.04	0.11
CV (%)	1.33	1.00	1.39

PERFORMANCE DATA FOR CH 3810

Linearity 16.6 mmol/l (640 mg/dl)

Sample type Serum and EDTA or heparinised plasma

Within run precision

3.73% at 1.71 mmol/l

3.84% at 7.70 mmol/l

Between run precision

1.33% at 1.67 mmol/l

1.39% at 7.52 mmol/l

Onboard stability 28 days at 10°C

No Interferences were seen up to the following concentration

Haemoglobin 1000 mg/dl

Free bilirubin 25 mg/dl

Conjugated bilirubin 250 mg/dl

Triglycerides 600 mg/dl

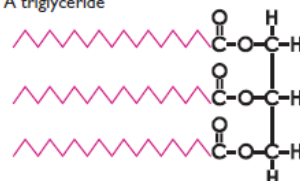
Intralipid® 500 mg/dl

TRIGLYCERIDES

Triglycerides are the main component of animal fats and vegetable oils. They consist of fatty acids linked to a glycerol backbone. High triglyceride levels increase the atherogenicity of HDL and LDL. Triglyceride levels are elevated immediately after a meal and high levels can dramatically affect the accuracy of HDL and LDL measurement methods.

Randox triglycerides kits are available in both lyophilised and liquid ready-to-use rapid Trinder-based (GPO-PAP) colorimetric end-point assays.

A triglyceride



Intra-assay precision	Level 1 n=19	Level 2 n=20	Level 3 n=20
Mean (mmol/l)	0.31	1.38	5.61
SD	0.01	0.02	0.10
CV (%)	3.29	1.55	1.77

Inter-assay precision	Level 1 n=20	Level 2 n=20	Level 3 n=20
Mean (mmol/l)	0.64	1.22	3.03
SD	0.02	0.03	0.04
CV (%)	3.51	2.58	1.33

PERFORMANCE DATA FOR TR 3823

Range 0.13⁴ - 12.7 mmol/l
(11.9 - 1124 mg/dl)

Sample type Serum and EDTA or heparinised plasma

Within run precision

3.29% at 0.308 mmol/l

1.77% at 5.61 mmol/l

Between run precision

3.51% at 0.642 mmol/l

1.33% at 3.03 mmol/l

Onboard stability 21 days at 2 - 8°C

No Interferences were seen up to the following concentration

Haemoglobin 1000 mg/dl

Free bilirubin 18.75 mg/dl

Conjugate bilirubin 25 mg/dl

Toulouse, 2012

NOM : VILLA

Prénom : LAURE

TITRE : Le statut thyroïdien du chien sain, étude expérimentale

RESUME : Ce travail est une étude expérimentale ayant pour but d'évaluer le statut thyroïdien (FT₄, TT₃, TSH) de chiens sains et d'étudier l'influence de facteurs épidémiologiques sur ce dernier. La population étudiée comprend 179 chiens sains, et est représentative de la population canine française. Chez ces individus un dosage ponctuel des concentrations plasmatiques de TT₃, FT₄, TSH, triglycérides et cholestérol a été réalisé, et quatre indices de régulation de l'axe thyroïdien ont été calculés (TSH x FT₄, TSH/FT₄, I_{BL} et I_{QL}). Dans ce travail, il apparaît que l'âge s'accompagne d'une certaine anergie de la glande thyroïde, que l'axe thyroïdien est peu sollicité en cas d'effort physique intense, que les chiens de petite taille semblent présenter une relative hyporéactivité de la thyroïde et que la réactivité de la glande thyroïde à l'égard de la stimulation hypophysaire varie en fonction de la race considérée et qu'elle serait relativement importante chez les Cockers Anglais. De plus, l'analyse des variations simultanées des concentrations circulantes des hormones de l'axe thyroïdien (TT₃, FT₄ et TSH) et des 4 indices de régulation a conduit à l'établissement de plusieurs profils thyroïdiens particuliers. Devant l'absence de relation entre l'obésité et le statut lipidique avec le statut thyroïdien, il serait intéressant de réaliser le même type de travail sur un nombre plus important de chiens obèses.

MOTS-CLES : T₃, T₄, TSH, chien, thyroïde, kit ELISA, cholestérol, triglycérides, indices de régulation, profil thyroïdien, facteurs épidémiologiques, âge, état corporel, activité physique

ENGLISH TITLE : The Thyroid status of healthy dogs, experimental study

ABSTRACT : This work is an experimental study which aims to establish the thyroid status (FT₄, TT₃, TSH) and to investigate the effects of some epidemiological factors on the thyroid function. The population studied here is constituted by 179 healthy dogs and is representative of the french canine population. In this population, single measures of plasma TT₃, FT₄, TSH, triglyceride and cholesterol concentrations were performed, and 4 regulation indices (TSH x FT₄, TSH/FT₄, I_{BL} et I_{QL}) were calculated. The age seems to be associated with a relative anergy of the thyroid gland, the thyrotropic axis is not very sollicitated during intense physic activity, the small size dogs seems to exhibit a relative hyporeactivity of the thyroid gland, and the thyroid gland reactivity to the pituitary stimulation can change according to the breed and it would be quite important in English Cockers. Then, simultaneous analysis of circulating thyroid hormone concentrations (TT₃, FT₄ et TSH) and of regulation indices has led to establish some particular thyroid profiles. Because no relation can be found between the obesity and the lipid profile with the thyroid status, it would interesting to realize the same work on more obese dogs.

KEYWORDS : T₃, T₄, TSH, dog, thyroid, ELISA kit, cholesterol, triglycerides, regulation indices, thyroid profiles, epidemiological factors, age, body condition scoring, physic activity