الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Docteur

En Médecine vétérinaire

THEME

Évaluation du stress chronique par dosage du cortisol pilaire chez les mammifères domestiques.

Présenté par :

Melle SILI Amira.

Soutenue publiquement, le 12/07/2023 devant le jury :

Mme MIMOUNE Nora	MCA (ENSV)	Présidente
Mme BOULBINA Ibtissem	MAA (ENSV)	Examinatrice
Mme ILÈS Imène	MCA (ENSV)	Promotrice

Année : 2022/2023

Déclaration sur l’honneur

Je soussigné SILI Amira, déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents ou d’une partie d’un document publiés sous toute forme de support, y compris l’internet, constitue une violation des droits d’auteur ainsi qu’une fraude caractérisée. En conséquence, je m’engage à citer toutes les sources que j’ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature

Remerciements

À Madame MIMOUNE Nora,

Maitre de conférences à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger,

Qui m'a fait le grand honneur d'accepter la présidence de mon jury de projet de fin d'études,

Hommage respectueux

À Madame BOULBINA Ibtissem,

Maitre assistante à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger,

Qui m'a fait l'honneur de participer à mon jury de projet de fin d'études en qualité d'assesseur,

Hommage reconnaissant

À Madame ILÈS Imène,

Maitre de conférences à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger,

Qui a encadré l'élaboration de ce mémoire avec une disponibilité, une gentillesse, une implication et une patience.

Mes sincères remerciements

Dédicace

Mes remerciements s'adressent d'abord au bon Dieu, de m'avoir donné l'ambition et le courage pour accomplir ce travail

Je dédie ce travail en guise de respect, de reconnaissance et de remerciements :

À mes chers parents

À mon frère et à ma sœur

À ma grand-mère

À mes amis

À mes professeurs qui ont toujours cru en mes compétences

Et surtout à moi-même

Sommaire

Introduction 1

I. Le stress 3

1.1 Définition du stress 3

1.2 Physiologie du stress 3

1.2.1 Prise en charge du stress 3

1.2.2 Mécanisme de la réponse au stress 4

1.2.3 Le mécanisme neuroendocrinien lors de stress 5

1.3 Le cortisol 7

1.4 Sources de stress 10

1.5 Types de stress 11

1.5.1 Stress aigu 11

1.5.2 Stress chronique 11

1.6 Complications dégénératives du stress 13

II. La mesure du stress par dosage du cortisol 17

1.1 Méthode invasive 17

1.2 Méthodes non invasives 18

1.2.1 Dosage salivaire 18

1.2.2 Dosage urinaire 18

1.2.3 Dosage fécal 19

1.2.4 Dosage pilaire 19

III. Évaluation du cortisol pilaire chez différentes espèces domestiques 26

1. Évaluation du cortisol pilaire chez différentes espèces domestiques..... 26

1.1 Chez la vache 26

1.2 Chez le cheval 28

1.3 Chez le chien 30

1.4 Chez le chat 31

1.5 Chez la chèvre 32

1.6 Chez le lapin 33

1.7 Chez le dromadaire 33

2. Les différentes applications du cortisol pilaire. 34

Conclusion 37

Bibliographie 38

Liste des figures

Figure 1. Schéma de synthèse de la prise en charge du stress.....4

Figure 2. Organisation de la réponse biochimique au stress 7

Figure 3. Schéma des surrénales, montrant les différentes zones du cortex 8

Figure 4. Structures des deux principaux glucocorticoïdes, la corticostérone et le cortisol. 8

Figure 5 Schéma de biosynthèse du cortisol. 9

Figure 6 Effet du stress chronique sur le cerveau 12

Figure 7 Infographie de l'incorporation de cortisol dans la matrice pilaire à partir du sang. 20

Figure 8 Les principales étapes du dosage du cortisol pilaire.....24

Figure 9 Niveaux de cortisol pilaire chez les vaches à pelage noir et à pelage blanc 27

Figure 10 Taux de croissance des poils prélevés à différents endroits du corps des vaches Holstein noires et blanches.....28

Figure 11 Box plot des niveaux de cortisol pilaire aux différentes saisons chez les chevaux. 29

Figure 12 Taux de cortisol pilaire (pg/mg) en janvier, mai et septembre des bergers allemands de travail, de compagnie et de compétition.....31

Figure 13 Taux de cortisol dans les poils et les fèces chez le dromadaire 34

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
ACTH	Adrénocorticotrophine ou hormone adrénocorticotrope
AVP	Arginine- Vasopressine
CBG	Corticosteroid Binding Globuline
CRH	Corticotropin Releasing hormone
FSH	Follicle Stimulating hormone
GABA	Acide gamma-aminobutyrique
GnRH	Gonadotropin Releasing hormone
GR	Récepteur des glucocorticoïdes
Hz	Hertz
IL-2	Interleukine 2
LH	Luteinizing hormone
MSH	Melanocyte stimulating hormone
P	Valeur de probabilité
pg/mg	Picogramme par milligramme

Résumé

Le stress chronique est un état de tension prolongée qui peut avoir des conséquences néfastes sur la santé et le bien-être des animaux domestiques. Le cortisol pilaire est devenu un biomarqueur intéressant pour évaluer le stress chronique chez les mammifères domestiques. Il est généralement mesuré dans le plasma sanguin, mais cette méthode peut être contraignante et stressante pour les animaux.

Plusieurs études ont montré une corrélation entre les niveaux de cortisol pilaire et l'exposition au stress chronique chez les mammifères domestiques tel que les chiens, les chevaux et les vaches. Des situations de stress telles que l'isolement social, le confinement, les conditions de logement défavorables, peuvent entraîner une augmentation des niveaux de cortisol pilaire.

En utilisant le cortisol pilaire, les chercheurs peuvent évaluer le stress chronique chez les animaux de manière plus précise et sur une période prolongée. Cela permet de mieux comprendre les effets du stress sur le bien-être animal.

Cependant, il est important de noter que l'interprétation des niveaux de cortisol pilaire nécessite une prise en compte de divers facteurs qui peuvent entraîner une augmentation des niveaux de cortisol pilaire.

Notre projet de fin d’étude traite dans une première partie les rappels de la physiologie du stress, les différents types et causes de stress. Dans la seconde partie, nous abordons les diverses méthodes de mesure du cortisol pilaire. La dernière partie de notre projet, évoque l’évaluation du cortisol pilaire chez les mammifères domestiques et les différents facteurs de variation du taux de cortisol. Pour finir, les différentes applications du cortisol pilaire sont abordées.

Mots clés : bien-être, cortisol pilaire, stress chronique, mammifères domestiques

Summary

Chronic stress is a state of prolonged tension that can have harmful consequences on the health and well-being of animals. Hair cortisol has become an interesting biomarker for assessing chronic stress in domestic mammals. It is typically measured in blood plasma, but this method can be challenging and stressful for animals.

Several studies have shown a correlation between capillary cortisol levels and chronic stress exposure in domestic mammals such as dogs, horses, and cows. Stressful situations such as social isolation, confinement, and unfavorable housing conditions can lead to an increase in hair cortisol levels.

By using hair cortisol, researchers can assess chronic stress in animals more accurately and over an extended period. This allows for a better understanding of the effects of stress on animal welfare.

However, it is important to note that interpreting hair cortisol levels requires considering various that may influence the results.

Our study project mentions the physiology of stress, the different types and causes of stress, as well as the various measurement methods and applications of hair cortisol.

Our study project deals in the first part with reminders of the physiology of stress, the different types and causes of stress. In the second part, we discuss the various methods of measuring hair cortisol. The last part of our project mentions the evaluation of hair cortisol in domestic mammals and the different factors of variation in cortisol levels. Finally, the different applications of hair cortisol are mentioned.

Keywords: welfare, hair cortisol, chronic stress, domestic mammals

ملخص

الإجهاد المزمن هو حالة من التوتر لفترات طويلة يمكن أن يكون لها عواقب ضارة على صحة الحيوانات ورفاهيتها. كورتيزول الشعر أصبح علامة حيوية مثيرة للاهتمام لتقييم التوتر المزمن لدى الثدييات الأليفة

عادة ما يتم قياس الكورتيزول في البلازما الدموية ، ولكن هذه الطريقة يمكن أن تكون محدودة و مؤلمة للحيوانات. استخدام الشعر لقياس الكورتيزول متعدد المزايا.

أظهرت العديد من الدراسات ترابطا بين مستويات كورتيزول الشعر و تعرض الثدييات الأليفة مثل الكلاب و الخيول و الأبقار للتوتر المزمن. يمكن ان تؤدي حالات التوتر مثل العزلة الاجتماعية و الحبس و ظروف الإسكان غير الملائمة إلى زيادة مستويات كورتيزول الشعر.

من خلال استعمال كورتيزول الشعر ، يمكن للباحثين تقييم التوتر المزمن لدى الحيوانات بدقة اكبر و على مدة زمنية أطول. يساعد ذلك على فهم أفضل لتأثير التوتر على رفاهية الحيوانات و تطوير تدابير لتحسين جودة حياتها.

و مع ذلك، من المهم ملاحظة ان تفسير مستويات الكورتيزول الشعري يتطلب مراعاة. عوامل منوعة التي يمكن ان تؤثر على النتائج. بالإضافة على ذلك، هناك حاجة إلى مزيد من الأبحاث لوضع معايير محددة لكل نوع و تحسين أساليب تحليل كورتيزول الشعر.

يتطرق مشروع دراستنا في الجزء الأول على التذكيرات بفيزيولوجيا التوتر وأنواعه وأسبابه المختلفة. في الجزء الثاني ، نناقش الطرق المختلفة لقياس كورتيزول الشعر. يذكر الجزء الأخير من مشروعنا تقييم كورتيزول الشعر في الثدييات الأليفة والعوامل المختلفة للاختلاف في مستويات الكورتيزول.و أخيرًا ، تم ذكر التطبيقات المختلفة لكورتيزول الشعر

الكلمات المفتاحية : رفاهية، كورتيزل الشعر، التوتر المزمن، الثدييات الأليفة

Introduction

Le stress chronique est un état de tension prolongée qui peut avoir des conséquences néfastes sur la santé et le bien-être des animaux domestiques. Comprendre les mécanismes du stress chronique et pouvoir le mesurer de manière fiable est crucial pour améliorer le bien-être animal et mettre en place des stratégies de gestion appropriées. Ainsi, le cortisol pilaire est devenu un biomarqueur essentiel dans l'étude du stress chronique chez les animaux (Pawluski et al, 2018).

Le cortisol est une hormone produite par les glandes surrénales en réponse à un stress perçu. Il est généralement mesuré dans le sang, la salive ou l'urine. Cependant, ces méthodes traditionnelles présentent certaines limites, notamment la nécessité de manipuler l'animal pour prélever les échantillons, ce qui peut en soi être source de stress. C'est là que le cortisol pilaire entre en jeu (Nejad et al., 2019)

Le cortisol pilaire est mesuré à partir de petites quantités de cheveux, de poils ou de fibres de laine prélevés sur l'animal. Ces échantillons fournissent une mesure intégrée du cortisol sur une période prolongée, car le cortisol est incorporé dans les tissus pilaires au fur et à mesure de leur croissance. Cela permet de prendre en compte le stress accumulé sur une période allant de quelques semaines à plusieurs mois (Meyer et Novak, 2012).

L'utilisation du cortisol pilaire comme biomarqueur de stress chronique présente de nombreux avantages. Tout d'abord, cette méthode est non invasive, ce qui réduit le stress lié aux prélèvements d'échantillons. De plus, elle permet d'obtenir des mesures rétrospectives du stress chronique, ce qui offre la possibilité d'étudier les effets à long terme sur la santé et le bien-être des animaux domestiques. Cette approche permettra de mieux comprendre les effets du stress chronique sur la santé animale et de développer des stratégies de gestion du stress plus efficaces, contribuant ainsi à améliorer la qualité de vie des animaux domestiques (Heimbürge et al., 2019).

Dans cette étude, nous présenterons les généralités sur la physiologie du stress et nous examinerons les différentes méthodes de mesure du cortisol chez les mammifères domestiques pour garantir des résultats fiables. Nous aborderons également les principaux facteurs pouvant influencer les niveaux de cortisol pilaire, tel que l'âge, le sexe et l'environnement. Enfin, nous discuterons des implications de l'utilisation du cortisol pilaire comme biomarqueur pour la gestion du stress chronique chez les mammifères domestiques

Chapitre I. Physiologie du stress

Chapitre I. Physiologie du stress

1. Le stress

Chez l'animal, le stress peut être considéré comme favorable à l'accomplissement de certaines tâches, mais il peut également inhiber les capacités, avoir un impact non négligeable sur la santé, lors de manipulations vétérinaires ou de compétitions. Le stress généré peut avoir un impact sur sa santé et son bien-être, sur ses performances productives et sportives mais également sur la sécurité des personnes qui le manipulent.

1.1 Définition du stress

Le stress est définit comme étant une réaction adaptative de l'organisme lui permettant de faire face à une situation menaçante et d'y répondre de manière adéquate. Il permet notamment la focalisation de l'individu sur la menace, prépare l'organisme à l'action et favorise la prise de décision. Il est également défini étant la réaction réflexe, neurobiologique, physiologique et psychologique d'alarme, de mobilisation et de défense de l'individu à une menace ou une situation inopinée (Crocq, 2014).

1.2 Physiologie du stress

La réaction de stress a pour but de rétablir l'homéostasie de l'organisme agressé afin de le maintenir dans les limites des normes vitales (Brisville, 2006).

1.2.1 Prise en charge du stress

Elle se fait en 3 temps (Figure1) :

- Réception du stresseur par les organes des sens.
- Programmation cérébrale de la réponse au stress.
- Déclenchement cérébral de la réponse au stress (Bartolami,2015).

- Réception : l'innervation afférente emmène l'information sensorielle au cortex et au système limbique

- Programmation : analyse comparative réalisée par le cortex et le système limbique. Elle compare les caractéristiques du stress présent à une base de données mnésique qui stocke les stress précédemment vécus, les réponses apportées et l'efficacité adaptative des réponses. Ceci permet l'élaboration d'une réponse la plus appropriée pour faire face à la situation stressante.
- Déclenchement : l'amygdale et l'hippocampe activent le système autonome orthosympathique et le système neuroendocrinien (Bartolami,2015).

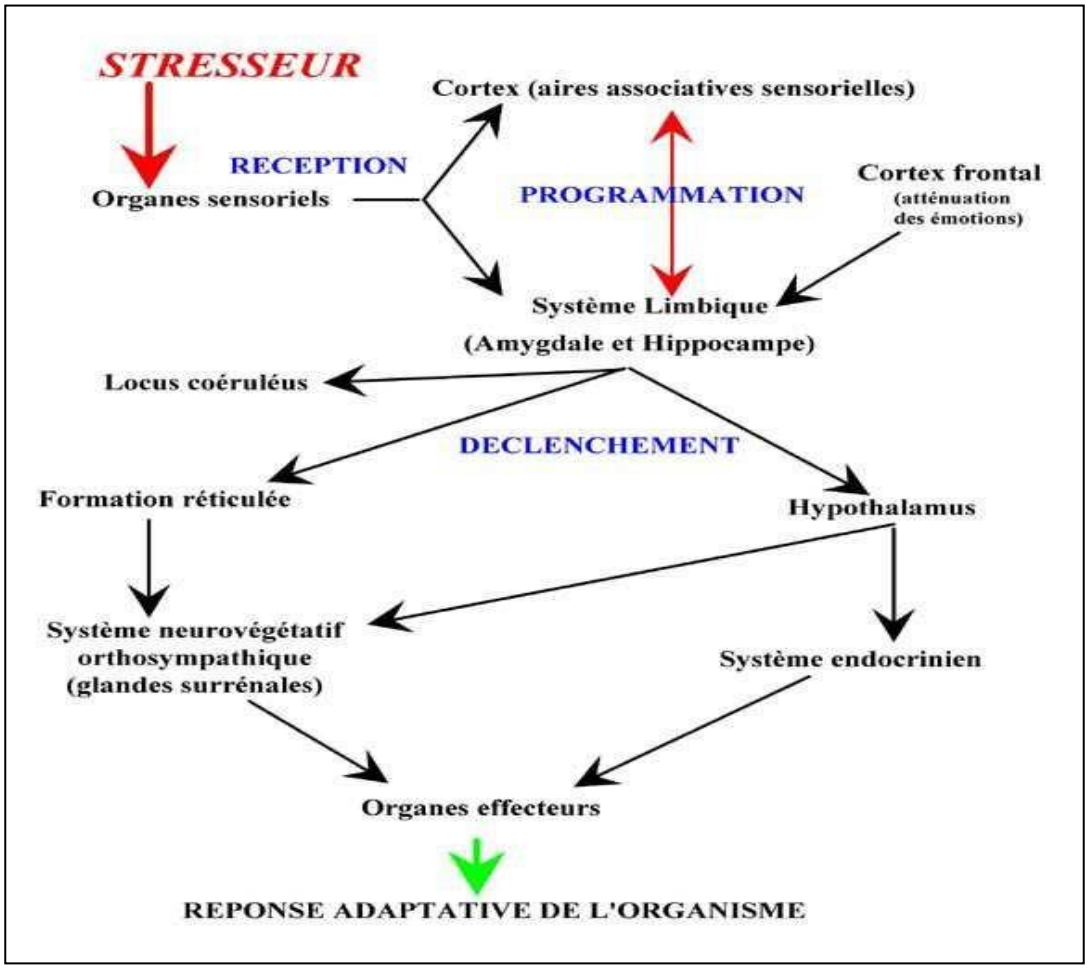

Figure 1. Schéma de synthèse de la prise en charge du stress

Source : Bartolami, 2015.

1.2.2 Mécanisme de la réponse au stress

Également nommé le syndrome général d'adaptation, qui consiste à la mise en place d'une réponse adaptée de l'organisme et qui évolue en trois phases :

- La phase d'alarme ou d'urgence
- La phase de résistance

- La phase d'épuisement (Bartolami, 2015).

-La phase d'alarme : est une réponse instantanée. Elle requiert l'activation du système nerveux orthosympathique et utilise comme médiateurs les catécholamines (l'adrénaline, la noradrénaline et la dopamine). Elle exerce des effets immédiats sur le système cardiovasculaire, le métabolisme général et le système nerveux central (Lucarelli, 2011)

-La phase de résistance : la seconde phase est souvent associée à un stress chronique. Elle met en jeu des systèmes complexes endocriniens organisés en axes hypothalamo-hypopysaire-glandes endocrines, responsables de modifications endocrines au long terme (Hargreaves, 1990). L'axe corticotrope mettant en jeu les glucocorticoïdes est particulièrement sollicité durant cette phase (Lucarelli, 2011) (Bartolami, 2015).

- La phase d'épuisement : elle représente la troisième phase au cours de laquelle diverses maladies vont pouvoir se développer jusqu'à mettre en péril la survie de l'individu à l'issue du développement de carences ou à une baisse de résistance aux agents pathogènes de l'environnement (Brisville, 2006).

1.2.3 Le mécanisme neuroendocrinien lors de stress

1.2.3.1. Mécanismes centraux

Les organes sensoriels et les innervations afférentes réceptionnent les informations. Le cortex et le système limbique réalisent une analyse comparative entre le stress perçu et les expériences affectives passées, afin d'élaborer une réponse adaptée. Enfin, l'amygdale et l'hippocampe par l'intermédiaire de l'hypothalamus et de la formation réticulée déclenchent une réponse coordonnée au stress (figure 2) (Lucarelli, 2011), grâce à une activation du système nerveux orthosympathique et de l'axe corticotrope.

1.2.3.2. Le système nerveux orthosympathique

Le système nerveux orthosympathique est une composante du système nerveux végétatif. Lors d'un stress, l'activation du système nerveux orthosympathique est immédiate (Lucarelli, 2011) et utilise comme médiateurs les catécholamines (l'adrénaline, la noradrénaline et la dopamine) (Lucarelli, 2011) (Brisville, 2006) (Bartolami, 2015). Ce système s'active en cas d'alerte et stimule le catabolisme, afin, à l'issue de l'ensemble de ses réactions induites, de lutter ou de fuir

(Rochette et Vergely, 2017). En conséquence de la production de catécholamines, une série de processus physiologiques est activée (Squires, 2003) :

- Effets sur le métabolisme : Relargage du glucose par néoglucogenèse par une activation directe des récepteurs α-adrénergiques dans le foie et lipolyse par l'intermédiaire des récepteurs β3- adrénergiques présents sur la membrane cellulaire des adipocytes.

- Effets sur le système cardiovasculaire : une vasoconstriction périphérique induite par la stimulation des récepteurs alpha 1 adrénergiques, augmentation de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle par stimulation des récepteurs β-adrénergiques
- Appareil respiratoire : Augmentation des échanges gazeux dans les poumons
- Système immunitaire : Prolifération des lymphocytes B, sécrétion de cytokines (IL-2) et redistribution des leucocytes sanguins
- Système gastro-intestinal : Diminution de l'activité viscérale et arrêt de la digestion

1.2.3.3. Axe corticotrope

Également appelé l'axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien, l'axe corticotrope est l'acteur principal aux réponses biologiques de stress, et agit en synergie avec le système nerveux orthosympathique. L'hypothalamus est l'élément central et le point de départ d'une cascade de sécrétions hormonales. Après avoir intégré l'élément stressant, le CRH (Corticotropin releasing hormone ou corticolibérine) est synthétisé par les neurones du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus. Il va être libéré dans les capillaires du système porte hypothalamo-hypophysaire et stimuler l'antéhypophyse en activant la sécrétion d'ACTH (Mormede, 1988), peptide synthétisé par les cellules corticotropes de l'antéhypophyse. L'ACTH agit sur les cellules corticosurrénaliennes pour la synthèse des glucocorticoïdes. Chez la majorité des mammifères, le cortisol est le glucocorticoïde dominant. Chez les rongeurs, le lapin et la volaille, c'est la corticostérone qui est le principal glucocorticoïde. Lorsque le taux de cortisol dans le sang est suffisant, il exerce un feedback négatif sur l'hypophyse et l'hypothalamus afin de diminuer la production de CRH et d'ACTH (Battut, 1988)

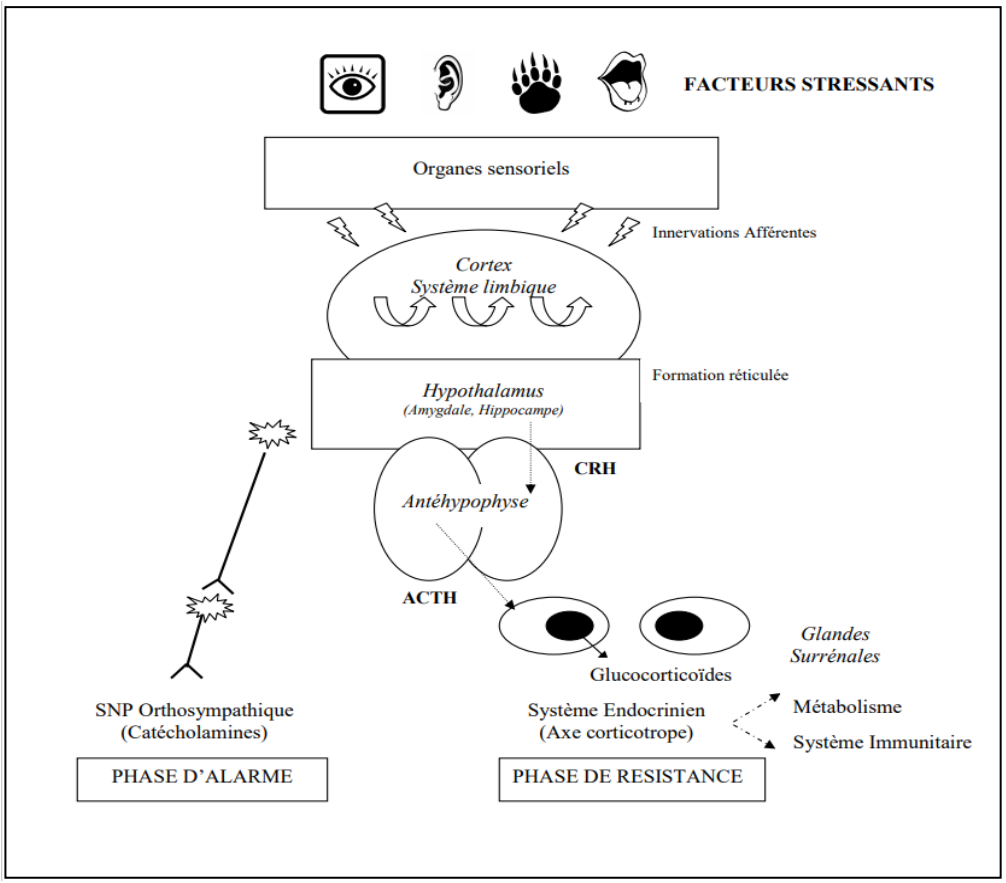

Figure 2. Organisation de la réponse biochimique au stress

Source : Lapeyrade, 2014

1.3 Le cortisol

Les glucocorticoïdes sont des stéroïdes à 21 atomes de carbone (Bret, 2008) , synthétisés à partir du cholestérol au niveau de la zone fasciculée du cortex surrénalien (figure 3). Chez les primates, les carnivores, les équins et le porc, le cortisol prédomine (Dolomie-Fagour et Corcuff, 2008) (Gatti et Al, 2009). La sécrétion du cortisol est soumise à un rythme circadien : sa concentration est maximale tôt le matin et diminuerait progressivement en fin de journée chez les espèces diurnes, notamment le chien, elle est en revanche maximale le soir chez le chat et minimale le matin (Strina, 2004). Cette sécrétion est régulée par l'ACTH d'origine hypophysaire et le CRH d'origine hypothalamique. Dans le sang, le cortisol circule majoritairement sous forme liée à une protéine spécifique, la transcortine ou Cortisol Binding Globulin (CBG) et de manière minoritaire, sous forme libre (Dolomie-Fagour et Corcuff, 2008) (Hawley et al, 2016). La CBG est une glycoprotéine monomérique essentiellement synthétisée par le foie et qui lie avec une haute affinité le cortisol. Le dosage du cortisol est recommandé en cas de suspicion d'hypercorticisme, comme par exemple le syndrome de Cushing, et d'hypocorticisme, comme par exemple en cas d'insuffisance surrénalienne (Bornstein et al, 2016) (Nieman et al, 2008).

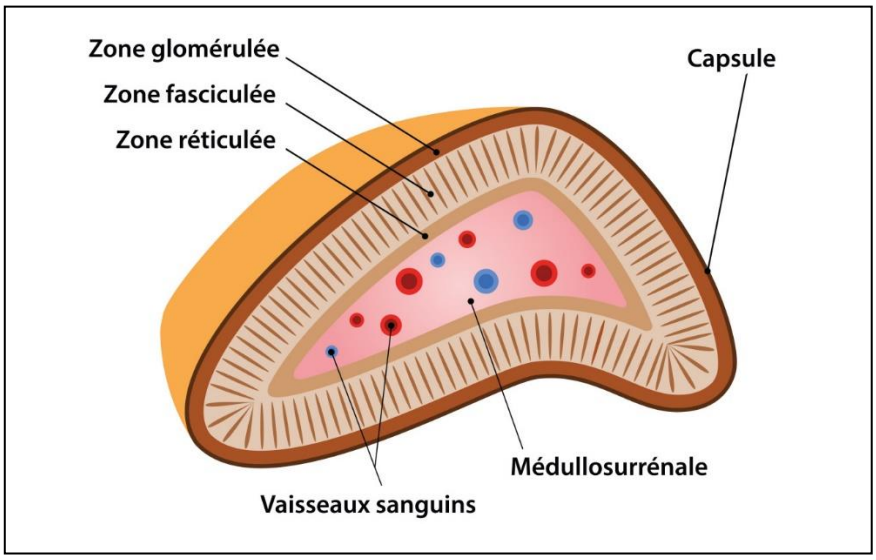

Figure 3. Schéma des surrénales, montrant les différentes zones du cortex

Source : TURQUETIL, 2019

La principale hormone biologiquement active est le cortisol (chez le chien, le chat, le porc, le bovin) ou la corticostérone (chez les volailles et les rongeurs). C'est en fonction de l'expression de la 17 hydroxylase que les deux hormones sont distinguées. Le cortisol possède un groupe hydroxyle supplémentaire sur le 17ème carbone, contrairement à la corticostérone (Figure 4) (Bret, 2008).

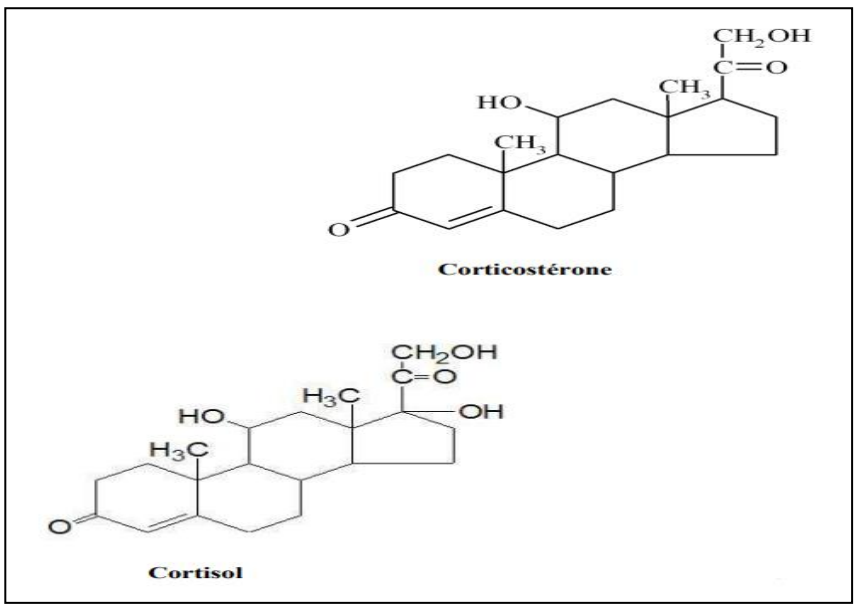

Figure 4. Structures des deux principaux glucocorticoïdes, la corticostérone et le cortisol.

Source : LAPEYRADE, 2014

La synthèse du cortisol débute par l'hydrolyse d'esters de cholestérol (Figure 5), stockés dans les gouttelettes lipidiques des cellules de la zone fasciculée. Sous l'action de l'ACTH, le cholestérol stocké dans les gouttelettes lipidiques entre dans les mitochondries des mêmes cellules, il est alors pris en charge par la P450-scc qui est à l'origine de la synthèse de prégnénolone, stéroïde à la base de la synthèse des glucocorticoïdes et minéralocorticoïdes. Après trois hydroxylations, le cortisol est produit et sécrété immédiatement après sa synthèse (Debuigne, 2016).

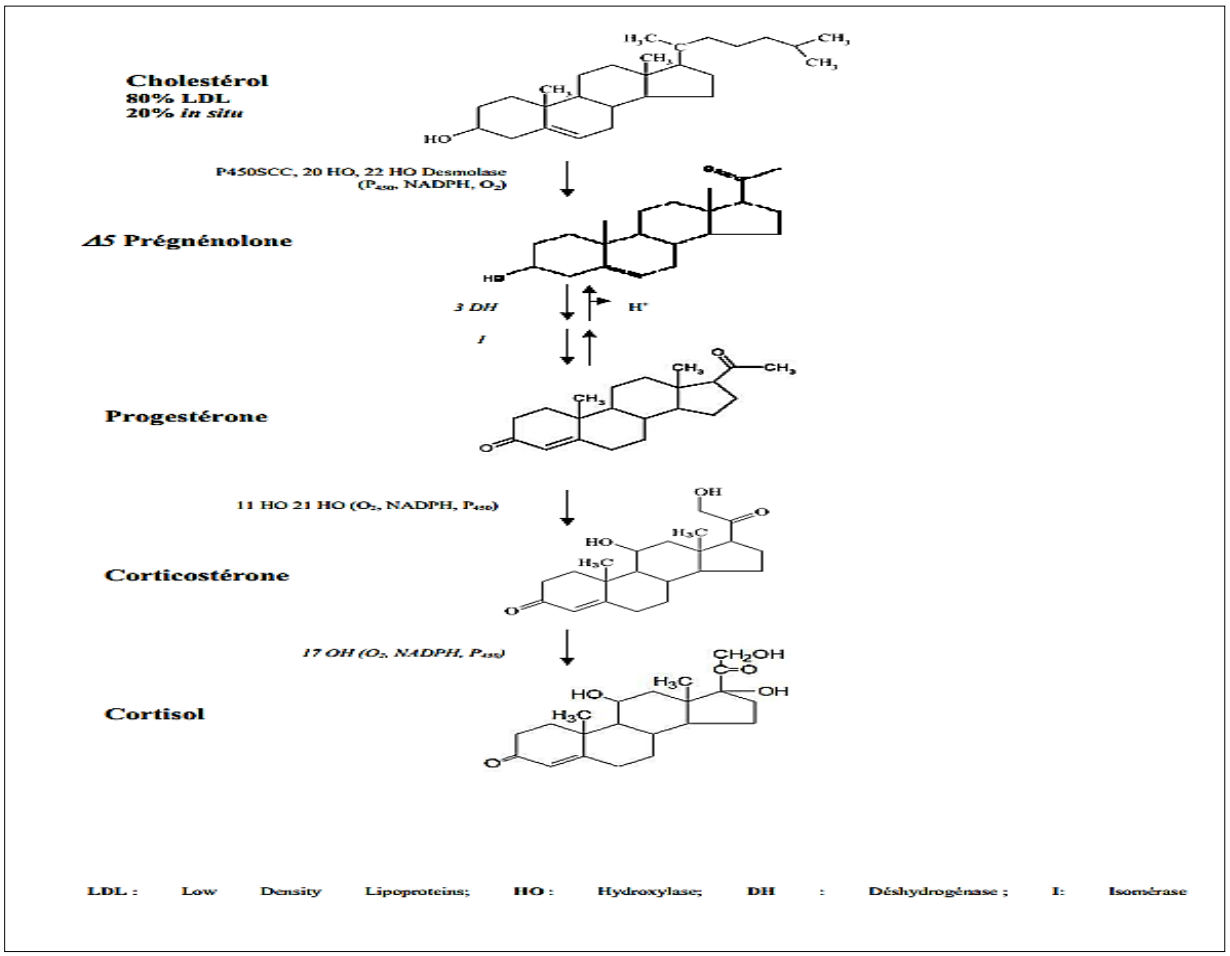

Figure 5 Schéma de biosynthèse du cortisol.

Source : Lapeyrade, 2014

Le cortisol exerce de nombreux effets biologiques :

- Effets métaboliques : le cortisol favorise la néoglucogenèse par dégradation des protéines d'origine musculaire et qui seront des précurseurs glucidiques (acides aminés glucoformateurs). Il a un effet hyperlipidémiant en augmentant la lipomobilisation (Bret, 2008).

- Effet sur l'équilibre hydro-électrolytique : le cortisol agit comme un agoniste partiel de l'aldostérone, il induit la rétention sodée et hydrique et permet de rétablir la volémie et la pression artérielle (Ganong, 2005).

- Effet sur la reproduction : le cortisol agit en réprimant la synthèse de GnRH et des gonadotrophines hypophysaires (FSH, LH), à l'origine d'un phénomène de castration chimique (Nedelec, 2012).

- Effet sur le système immunitaire : le cortisol a un effet immunosuppresseur, il réprime la production d'immunoglobulines (Fairon, 2006) et la synthèse de cytokines inflammatoires et réduit le nombre de lymphocytes circulant (Strina, 2004).

- Effet sur la réponse inflammatoire : le cortisol inhibe la production de cytokines pro inflammatoires et stimule au contraire les cytokines anti-inflammatoires, d'où une diminution de la réaction inflammatoire. (Fairon, 2006) (Elenkov et Chrousos, 2002).

- Effet sur l'appareil cardio-vasculaire : il sensibilise ce système à l'action de la noradrénaline. Il conduit de ce fait à un renforcement de la vasoconstriction (Grossman, 2007).

1.4 Sources de stress

Le stress est un mécanisme adaptatif, et toute situation nouvelle pour l'animal est à l'origine de l'activation de l'axe corticotrope. Les éléments stressants sont très variés, on peut distinguer cinq catégories de facteurs (Manteca et Al., 2013) :

- Sociaux : Isolement, densité, sevrage, allotement, présence d'un prédateur (Westlund, 2012).

- Environnementaux : climat ou températures irrégulières, courants d'air chauds ou froids excessifs.

- Gestion des animaux : Personnel non familier ou changement d'employés et la qualité de l'interaction avec l'Homme (Hemsworth et al., 2000).

- Alimentation : Manque d'aliments et d'eau, changement alimentaire par sa composition ou sa fréquence de distribution (Faure, 2007).

- Pathologies : Parasitisme, coliques, douleurs liées à des traumatismes.

1.5 Types de stress

Durant la période de stress, l'organisme atteint un nouvel état d'équilibre, qualifié d'allostatique ; avec l'établissement de nouvelles valeurs de consigne (Joëls et Baram, 2009). Quand le stress se maintient ou s'intensifie, l'allostasie ne peut pas se mettre en place et les boucles de régulation sont débordées (Boucher et Plusquellec, 2019). Ce déséquilibre peut s'installer immédiatement ou, sur un temps long.

1.5.1 Stress aigu

Le stress aigu est défini comme une réaction physiologique à un évènement ponctuel, imprévu ou nouveau (Chouaniere, 2008). Qualifié de bon stress car il fait partie de la vie quotidienne, les systèmes de réponses sont enclenchés et permettent un maintien efficace de l'homéostasie.

Lors du stress aigu, l'hypothalamus produit une décharge de CRH proportionnelle à celle du stress. Cette décharge engendre la sécrétion d'ACTH elle aussi proportionnelle et modérée. Les glandes surrénales, sensibles à l'ACTH, produisent une sécrétion importante de cortisol qui entraîne l'augmentation détectable de la cortisolémie. Lorsque l'intensité du stimulus stresseur augmente, la cortisolémie plafonne. Lors de faible stress, les perturbations de l'axe corticotrope sont discrètes et ne peuvent pas être identifiées par des valeurs ponctuelles de cortisolémie (Mormède, 1995).

L'augmentation de la cortisolémie sera l'origine d'une modification de la formule sanguine leucocytaire (Mormède, 2007) ainsi que d'une tachycardie, d'une augmentation de la fréquence respiratoire, d'une augmentation du métabolisme du glucose et de la mobilisation énergétique (Morgan et Tromborg, 2007).

1.5.2 Stress chronique

Le stress chronique est défini comme une réaction physiologique à un évènement répété et durable. Qualifié de mauvais stress car les réponses de l'organisme sont constamment sollicitées, conduisant à une situation d'épuisement, La surproduction de glucocorticoïdes se pérennise via un cercle vicieux qui conduit à divers processus pathologiques. Dans ce cas, un état d'anxiété se développera.

Le taux de cortisol restant élevé, le rétrocontrôle négatif ne s'exerce plus correctement. Les taux de CRH et l'ACTH restent élevés et agissent sur les neurones du système limbique (amygdale et hippocampe) et sur l'hypothalamus, en réduisant leur nombre de dendrites et donc de connexions synaptiques (Figure 6). Les neurones GABA qui atténuent le transfert des messages sont moins actifs, favorisant un transfert massif d'informations donc le maintien de l'anxiété. Les excès de ces hormones modifient l'organisation fonctionnelle de ces zones cérébrales. Cette réorganisation est négative pour le cerveau car elle induit des perturbations physiologiques (hyperglycémie, fatigue...) et qui engendre une plasticité cérébrale qualifiée de mal-adaptative.

L'excès de cortisol entraine le maintien des modifications biologiques constatées durant la gestion de la crise aigue du stress, or ces troubles favorisent le diabète (hyperglycémie), les maladies cardiovasculaires, les infections dues à un déficit immunitaire, donc sont dangereuses pour la santé (Ohayon, 2021).

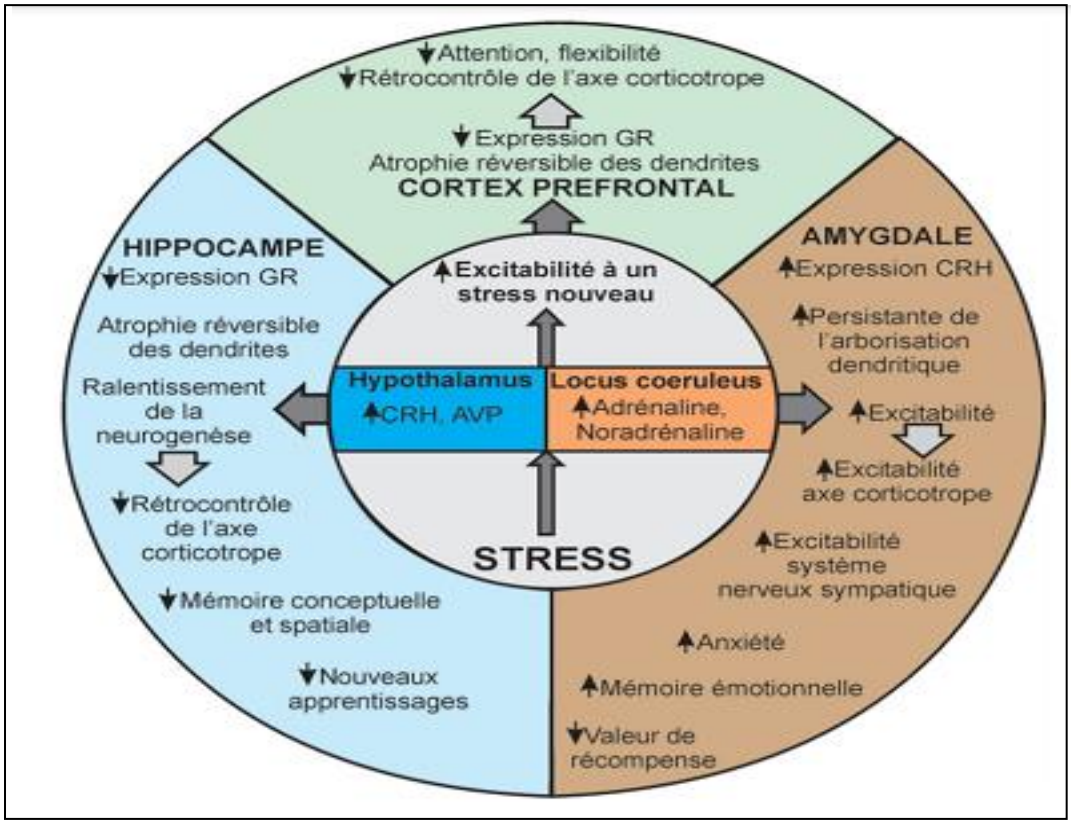

Figure 6 Effet du stress chronique sur le cerveau

Source : INSERM, 2011

1.6 Complications dégénératives du stress

Le cortisol n'est pas seulement une hormone importante dans la réponse au stress, mais a également divers effets régulateurs dans l'ensemble de l'organisme. Il existe un polymorphisme dans la réponse à l'agent stressant, qui sont selon Selye des facteurs exogènes (propres à l'agent stressant, facteurs environnementaux) et endogènes (hérédité, âge, sexe, régime alimentaire, sensibilité de certains organes etc…) (Selye, 1955) (Selye, 1951).

- Effet sur le métabolisme

En raison de l'hyperglycémie induite par la néoglucogenèse et la diminution de l'utilisation du glucose dans les cellules musculaires ou adipeuses par inhibtion du transport membranaire du glucose, de l'insuline est produite. Des hauts niveaux de glucocorticoïdes sont également à l'origine d'une diminution de la sensibilité à l'insuline des tissus et vont créer un diabète surrénalien (Guyton et Hall, 2006).

- Effet sur l'immunité

Le cortisol possède une action anti-inflammatoire et immunosuppressive. Il inhibe la synthèse des prostaglandines et leucotriènes. Il active la transcription de gènes codant des protéines anti inflammatoires et induit la synthèse d'endonucléases entrainant l'apoptose des éosinophiles et lymphocytes. Il empêche l'action des lymphocytes et des macrophages, ainsi que la prolifération des fibroblastes et du collagène. Il est également à l'origine de la destruction des lymphocytes T, B et L mémoire et de l'atrophie des tissus lymphoïdes, diminuant la réponse adaptative des tissus. (Heintz, 2011) (Guyton et Hall, 2006).

- Effet sur la reproduction

L'exposition à un stress chronique a un effet inhibiteur sur l'axe gonadotrope via une diminution de la sécrétion de GnRH par l'hypothalamus ainsi qu'une modification de la sensibilité de l'hypophyse à la GnRH, et peut donc affecter la production et/ou sécrétion de FSH et LH par l'hypophyse. De plus, le stress influence également la production gonadique via des altérations des cellules de Leydig et/ou une diminution de la réponse gonadique à la FSH et LH (Kaplan et Manuck, 2004), des ovocytes de moindres qualités et des échecs de gestation seront également constatés (Brisville, 2006). Il a été montré chez de nombreuses espèces de mammifères que le stress chronique avait un impact sur le développement des caractères sexuels secondaires chez les mâles, avec une diminution de la croissance, du développement des organes génitaux, et de

l'infertilité causés par la diminution du taux de testostérone induite par le stress (Schiml et al, 1996). Des stress générés sur l'organisme, comme par exemple une malnutrition, affectent les récepteurs de la leptine et font diminuer l'hormone, ce qui engendre l'inhibition de la sécrétion hypothalamique de GnRH (Faure, 2007).

La leptine est synthétisée et secrétée principalement par les adipocytes mais aussi par les tissus placentaires, mammaires et hépatiques. Sa concentration sanguine est corrélée avec la quantité d'adipocytes. Facteur satiétogène, elle est impliquée dans les processus métaboliques comme le métabolisme du glucose ou, fonctionnels, comme la reproduction, la croissance, l'activité de la corticosurrénale. Son action sur la sécrétion de la GnRH s'exercerait selon trois mécanismes. La leptine s'opposerait à l'inhibition de la GnRH par le neuropeptide Y. Elle pourrait également inhiber les effets de l'alpha-MSH (melanocyte stimulating hormone) et des endorphines, molécules inhibitrices de la libération de l'hormone LH (Souames, 2022).

- Effet sur le système digestif

Sur la majorité des tissus, le cortisol exerce une action lipolytique sur les cellules adipeuses à l'exception des cellules adipeuses viscérales, au sein desquelles le cortisol a un effet contraire. La graisse viscérale possède de nombreux récepteurs aux glucocorticoïdes qui activent l'expression du gène de la lipoprotéine lipase, qui favorise l'accumulation de triglycérides dans le tissu adipeux, à l'origine d'une accumulation graisseuse viscérale. Ce phénomène est observé en cas de syndrome de Cushing (Shively,2009). Le stress est également générateur d'ulcères digestifs. Une suractivation du système nerveux orthosympathique augmente la production d'acide gastrique. Lors de stress chronique, des troubles digestifs chroniques ont été mis en évidence par certains auteurs, tels que des vomissements, gastrites, troubles dyspepsiques ou dysphagiques (Fairon, 2006).

- Effet sur le système osseux

Le cortisol inhibe la prolifération cellulaire et l'activité des ostéoblastes. La croissance des os longs peut être diminuée chez un jeune individu. De plus, le cortisol stimule la résorption osseuse, diminue l'absorption intestinale de calcium et favorise la calciurèse causant de l'ostéoporose (Stanford, 2007)

- Effet sur le système nerveux

Le stress prénatal ou néo-natal modifie les capacités cognitives et le fonctionnement du système nerveux. Lors d'un stress chronique, des aires cérébrales clés telles que l'hippocampe et le cortex préfrontal seront atteintes (Dettmer et al, 2009). L'hippocampe, structure possédant un rôle majeur dans les émotions et la mémoire, serait en effet très sensible au cortisol. Une atrophie de l'hippocampe, une neurogenèse diminuée, des changements comportementaux allant de la perte de mémoire à la dépression seront constatés (Platt et Ghazanfar, 2010). Le stress prénatal a également une influence sur le développement du système nerveux. Les petits de mères soumises au stress lors de la gestation présentent des déficits neuromoteurs, de l'hypotonie, des troubles de l'attention, des troubles comportementaux, une diminution des aptitudes cognitives, une plus grande réactivité au stress, une modification de l'axe corticotrope. (Schneider et al, 1999). Le stress in utero serait à l'origine chez la descendance d'immunosuppression, de réponses exagérées à des évènements stressants, de difficultés d'apprentissage, de comportements sociaux anormaux, de diminution du comportement exploratoire (Morgan et Tromborg, 2007).

- Effet sur le bien-être animal

Le bien-être est défini comme un état d'équilibre dynamique entre l'animal et son environnement (Vandenheede, 2003). Certains scientifiques considèrent d'ailleurs que le stress et le bien-être sont les versions opposées d'un même processus (Veissier et al., 2007).

Lorsqu'un stress persiste et que l'individu ne peut s'adapter, on se trouve dans une situation appelée distress , qui peut mener à des comportements d'anxiété de mutilation et de dépression (Selye, 1975) , ce stress sera alors associé à la diminution du bien-être

.

Chapitre II. Méthodes d’évaluation du stress

Chapitre II. Méthodes d'évaluation du stress.

1. La mesure du stress par dosage du cortisol

Les paramètres de mesure du stress ont été déterminés à partir des modifications connues de l'organisme lors de stress. Parmi eux on peut distinguer :

- Des indicateurs comportementaux : Broom et Johnson (1993) décrivent des changements d'orientation des animaux afin de mieux orienter leurs organes des sens, des changements posturaux, des arrêts de l'activité en cours et une immobilisation.
- Des indicateurs biologiques : comme la fréquence cardiaque ou les animaux présentent une tachycardie (Broom, 2003). La fréquence respiratoire ou le rythme respiratoire est augmenté lors du stress, ainsi que la température corporelle dont différentes études ont été menées (d'après Broom et Johnson, 1993) et ont pour la plupart mis en évidence une élévation de la température corporelle lors de stress
- Des indicateurs biochimiques : le stress se traduit notamment par l'augmentation de la sécrétion de plusieurs hormones et neurotransmetteurs parmi lesquels on compte le cortisol. Différentes matrices biologiques ont été systématiquement appliquées pour mesurer les niveaux de stress par dosage de cortisol chez les animaux comme le sang, la salive, l'urine, les poils et les matières fécales. (Nejad et Al, 2016) Russell et Al, 2012).

Le cortisol est traditionnellement dosé par la méthode invasive par dosage sanguin, ou bien par des méthodes non invasives basées sur l'utilisation de l'urine, la salive, les matières fécales ou bien les poils pour l'évaluation de stress.

1.1 Méthode invasive

Le dosage du cortisol dans le sérum ou le plasma correspond à la détermination du cortisol non liée aux protéines, lié aux protéines de faible affinité comme l'albumine et du cortisol lié à la CBG. Cette détermination des concentrations de cortisol total peut s'effectuer par plusieurs méthodes différentes ; l'immunodosage ou le radioimmunodosage. Ces dosages automatisés permettent un rendu de résultat rapide et une cadence de dosages importante.

Néanmoins, des interférences pouvant altérer le dosage par différentes structures proches du cortisol comme la prednisone, corticostérone, cortisone (Vogeser et Al, 2017) (Maier et Vogeser, 2013). Les valeurs de références de ces dosages sont dépendantes des méthodes. Le dosage du cortisol se base sur l'utilisation d'un volume limité de plasma et se réalise sans extraction

préliminaire de l'échantillon. (Damien, 2017). Le prélèvement sanguin lui-même et l'administration d'analgésiques peuvent induire un stress, ce qui va influencer l'interprétation des résultats (Enard, 2008).

1.2 Méthodes non invasives

Pour l'évaluation du stress, il est essentiel que le processus d'échantillonnage n'interfère pas avec le marqueur de stress. Cela pourrait être le cas avec le prélèvement sanguin, pour lequel les animaux doivent être capturés. De plus, la ponction veineuse elle-même est une méthode d'échantillonnage stressante et invasive (Sheriff et al., 2011).

1.2.1 Dosage salivaire

Le dosage se fait par aspiration via un tube en plastique ou par mâchonnement de morceaux de coton pendant trente secondes chez le chien. La salive est ensuite extraite par centrifugation à 4500 g pendant vingt minutes (Tornhage, 2011).

Un des avantages non négligeables de l'utilisation de la salive est que son augmentation provoquée par un stress aigu y est plus importante que dans le sang. Son retour à la concentration de base y est également plus rapide que dans le sang (Peeters, 2011).

Il existe d'important biais dus à la composition de la salive : les enzymes, la mucine, le pH, le flux salivaire qui chez les jeunes animaux est réduit, et qui peut provoquer des petites lésions buccales à la manipulation (Greenwood et al., 1992). Avant le prélèvement salivaire, l'animal doit rester pendant un délai d'au moins trente minutes sans prise de nourriture ou d'eau (Matos 2015).

1.2.2 Dosage urinaire

Le dosage du cortisol dans l'urine, naturellement excrétée, est également validé comme méthode non invasive d'évaluation du taux de cortisol libre par la technique radio-immunologique (Beerda et al.,1996). Le site majeur de la dégradation des corticoïdes s'effectue dans le foie où ils sont essentiellement réduits sous forme de dérivés hydroxylés et puis éliminés par voie urinaire (Nussey et Whitehead, 2001)

Ce dosage est atraumatique et peu stressant, l'urine est le plus souvent récoltée par miction spontanée.

Néanmoins, le volume urinaire est variable selon les individus, chaque miction présente donc une concentration hormonale qui est fonction d'un volume émis, la dilution des urines doit donc

impérativement être prise en considération (Lapeyrade, 2014). En outre, le cortisol urinaire a une sécrétion pulsatile, le recueil des urines sur 24 heures est pratiquement impossible sans cage à métabolisme (DIQUELOU, 2009).

1.2.3 Dosage fécal

Les prélèvements de fèces sont principalement utilisés pour évaluer le bien-être et les stress chroniques d'animaux sauvages dans les zoos (Moreira et al., 2007), dans des élevages extensifs (Rehbinder et al., 2006) ou d'animaux difficiles à manipuler, comme les lapins (Buijs et al., 2011). Après défécation spontanée, les matières fécales sont séchées et broyées pour l'extraction du cortisol.

Il faut cependant noter qu'un des désavantages est que la concentration du cortisol des fèces varie rapidement à température ambiante. Le délai entre la production du cortisol et l'excrétion dans les matières fécales est variable et dépend de l'espèce étudiée (Mormède et al., 2007).

Les prélèvements de fèces manquent de précision sur la temporalité de la sécrétion d'hormones. Cette notion de temporalité est importante lors d'études sur les stress aigu ou pour tester l'activité de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien. Ce prélèvement passif ne permet pas non plus de distinguer de quel individu il provient lorsque les animaux sont hébergés en groupe (Cook et al., 2000).

1.2.4 Dosage pilaire

Le cortisol ne se trouve pas uniquement dans le sang ou la salive. La fraction libre est également éliminée via les poils (Figure 7). Cette méthode d'élimination lente du cortisol est validée pour évaluer des stress chroniques ou stress de longue durée (Accorsi et al., 2008). Elle ne permet toutefois pas la détection des augmentations faibles ou transitoires de cortisol sanguin (Schmidt et al., 2009). Les mécanismes d'incorporation du cortisol ne sont pas encore complètement compris (Meyer et Novak, 2012). La croissance des cheveux se produit par cycle composé de trois phases : phase de croissance active (anagène), phase de transition (catagène) et phase de repos (télogène) (Harkey, 1993). Le cortisol sanguin ne peut être incorporé dans la tige pilaire en croissance à partir des vaisseaux sanguins via une diffusion passive que pendant la phase anagène (Meyer et Novak, 2012). Dans ce cas, l'incorporation se produit dans le follicule pileux qui est situé à plusieurs millimètres sous la surface de la peau (Harkey, 1993; Udo, 1978). Ainsi, il y a un délai entre l'incorporation du cortisol dans les poils et le moment auquel cette section de

poils arrive à la surface de la peau (Montillo et al., 2014 ; Stalder et Kirschbaum 2012). Ce délai dépend de la vitesse de croissance des poils, et peut varier selon les espèces et les régions du corps (Burnett et al., 2014 ; Trevisan et al., 2017) et doivent être prises en compte lors de l'utilisation du cortisol pilaire comme indicateur de stress (Heimburge et al., 2019).

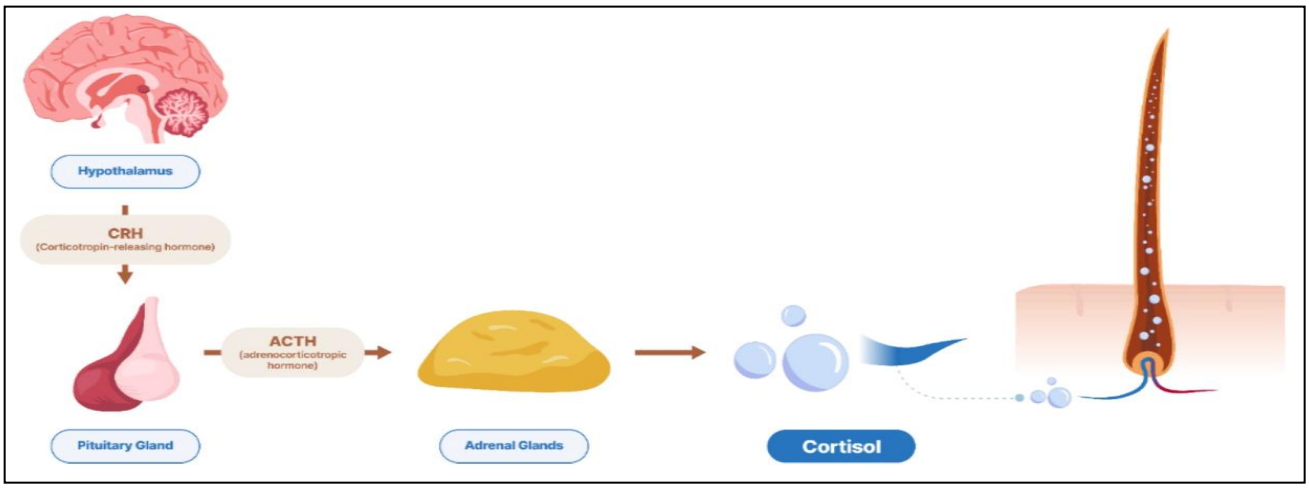

Figure 7 Infographie de l'incorporation de cortisol dans la matrice pilaire à partir du sang.

Source : Nejad et al., 2022

1.2.4.1 Facteurs de variations du cortisol pilaire

Lors de l'étude des impacts de différents facteurs de stress sur le cortisol pilaire, plusieurs sont non liés au stress et qui influencent l'incorporation et l'élimination du cortisol de la tige pilaire (Stalder et al. 2017), tels que l'âge, la saison et le sexe, ainsi que les caractéristiques spécifiques des poils, telles que la couleur des poils, la région du corps.

- **Âge**

Ces facteurs dépendent directement des fluctuations physiologiques de l'activité de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, telles que l'augmentation des niveaux de cortisol systémique avant l'accouchement (Obel et al. 2005). Étant donné que les poils des animaux nouveau-nés poussent principalement in utero (Meyer et Gorgen, 1986), il a été constaté une augmentation des taux de cortisol pilaire, qui peut être due à des niveaux élevés de cortisol maternel et fœtal pendant la fin de la gestation et autour de la naissance (Otten et al. 2013). Les nouveau-nés présentent également des niveaux de cortisol total plus élevés et des niveaux plus

bas de la CBG dans le plasma, ce qui peut entraîner des concentrations plus élevées de cortisol libre (Grant et al. 2017) ainsi, une incorporation plus élevée de cortisol dans les poils. Quelques semaines après la naissance, une mue du pelage de naissance se produit, ce qui explique probablement la diminution marquée des concentrations de cortisol dans les poils à ce moment-là.

- **Saison**

En ce qui concerne la saison de l'année, les bovins ont montré des variations des concentrations de cortisol selon la saison, avec des niveaux plus élevés en hiver par rapport à l'été. Cette saisonnalité peut être influencée par des facteurs tels que la température, la durée du jour et les comportements saisonniers.

- **Caractéristiques des poils**

Divers facteurs spécifiques aux poils, tels que la vitesse de croissance des poils, la région du corps et la couleur des poils influencent le taux de cortisol pileux. Des différences de concentrations de cortisol dans les poils ont été observées entre les différentes régions du corps, avec des concentrations plus élevées dans les poils de la queue par rapport aux régions de l'épaule, du dos et du cou chez les bovins. Cela peut s'expliquer par des variations de la vascularisation, des types de poils et de l'exposition aux conditions météorologiques ou à la souillure par l'urine et les excréments.

L'étude a également révélé des concentrations plus élevées de cortisol dans les poils noirs par rapport aux poils blancs. Les mécanismes sous-jacents à ces différences ne sont pas entièrement compris, mais des facteurs tels que la quantité de mélanine dans les poils et les influences externes peuvent jouer un rôle. De plus, il y a eu une augmentation marquée des concentrations de cortisol dans les poils des segments proximaux par rapport aux segments distaux, probablement en raison de facteurs externes tels que l'exposition au soleil, le lavage des poils et les frottements (Kirschbaum et al., 2009).

- **Facteurs externes**

La contamination externe peut également fausser les mesures de cortisol tels que la concentration pilaire de cortisol, les comportements et les conditions d'hébergement, le rinçage à l'eau, le couchage sur des sols souillés. L'urine contribuait le plus à l'augmentation du cortisol pilaire,

suivie de la salive, tandis que l'influence de la contamination fécale sur l'incorporation du cortisol semblait minime (Heimbürge, 2021).

Les poils offrent une alternative intéressante pour évaluer le stress pour de nombreuses raisons. Le cortisol pilaire renseigne sur les anomalies des animaux souffrant pendant plusieurs mois. Comparé aux autres matrices telles que le sang ou la salive, l'échantillonnage de la matrice pilaire est une méthode non invasive, elle ne nécessite ni expérience ni expertise et qui peut facilement être transféré au laboratoire pour analyse. Elle ne se limite pas aux animaux vivants, elle peut être prélevée sur des animaux non vivants. Dans certaines circonstances, les poils peuvent être le seul échantillon disponible pour examen, comme dans les études de restes squelettiques ou de blessures traumatiques (Levine et Kerrigan, 1999). De plus, le cortisol pilaire fournit un calendrier rétrospectif de la sécrétion de cortisol permettant d'évaluer le stress chronique ou le stress de longue durée. Ces aspects rendent la matrice pilaire beaucoup plus adaptable que les autres matrices biologiques pour le suivi de la santé et le bien-être animal (Ataallahi et al. 2022 ; Smyth. 2013).

1.2.4.2 Les principales étapes du dosage du cortisol pilaire

Il existe une grande variabilité dans les approches expérimentales de l'extraction du cortisol utilisées chez les animaux. Il y a eu énormément d'articles publiés sur la mesure du cortisol pilaire, qui diffèrent par la quantité de poils collectés, la technique de collecte des poils, la durée d'extraction ou le mode d'évaporation de l'extrait.

L'extraction du cortisol pilaire se fait selon les étapes suivantes (figure 8) :

- Collecte des poils : Les quantités de poils à utiliser pour l'extraction varient entre 40 mg (Emmy et al., 2022) et 250 mg (Davenport, 2006) de différentes régions du corps. Les poils sont souvent prélevés du garrot (Meyer, 2014) ; (Davenport, 2006) ; (Mazzola et al., 2021), du front (Ghassemi, 2019) (Comin et al., 2012), région ischiatique (Mesarcova, 2017). Les échantillons de poils sont soigneusement rasés avec une tondeuse électrique selon Meyer (2014), Mazzola (2021) et Comin (2012) ou bien coupés aux ciseaux fins (Mesarcova, 2017) le plus près possible de la peau.

- Stockage des échantillons : Les échantillons des poils collectés sont stockés soit dans des feuilles de papier aluminium pour les protéger de la lumière du soleil (Meyer, 2014), soit dans

des sacs en plastique (Moya et al., 2013), soit placés dans des tubes secs en polypropylène (Mazzola et al., 2021). Les échantillons peuvent être stockés à température ambiante dans un environnement sombre (Emmy et al., 2022) ou indéfiniment à -20 °C (Bargaâ, 2016).

- Lavage des échantillons : Le lavage des échantillons est réalisé avec de l'isopropanol (Meyer et al., 2013). Certains auteurs remplacent l'isopropanol par de l'eau distillée (Mesarcova, 2017) ou bien du méthanol à 80% (Bargaâ, 2016). Le lavage permet d'éliminer toutes les substances hydrosolubles telles que les urines et les matières fécales ainsi que le sébum et la sueur qui pourraient gêner l'analyse. Cette procédure est répétée deux fois.

- Séchage des échantillons : Le séchage des échantillons de poils s'effectue à température ambiante, pendant au moins 2-3 jours (Meyer, 2014) ou jusqu'à 7 jours selon Ghassemi (2019) pour assurer une évaporation complète de l'isopropanol.

- Broyage des poils : Les poils séchés sont pulvérisés dans un broyeur à billes en acier inoxydable pendant 6 min à une vitesse de 25 Hz (Meyer, 2014) ou coupés en petits segments avec des ciseaux fins stérilisés (Ghassemi, 2019), dans le but d'augmenter la surface d'extraction. Peser de 50 mg (Comin et al., 2012) jusqu'à 300 mg (Bargaâ, 2016) de la poudre sur une balance analytique, puis les transférer dans des micros tubes de 2,0 ml pour une extraction ultérieure.

- Extraction du cortisol pilaire : Le méthanol est le solvant utilisé pour la phase d'extraction du cortisol (Bargaâ, 2016 ; Davenport, 2008). La poudre de poils et le méthanol sont placés en incubation (Davenport, 2008) (Bargaâ, 2016) pendant 18 à 24 heures (Acker et al., 2018) soit à température ambiante (Ghassemi et al., 2014), soit à 37°C (Comin et al., 2012) ou à 50°C (Mazzola et al., 2021) avec inversion constante à l'aide d'un rotateur (Ghassemi et al., 2014). Après l'incubation, les tubes sont centrifugés et le surnageant est placé dans un évaporateur sous vide (Meyer, 2014). Certains auteurs utilisent des hottes à 37°C (Comin et al., 2012) pour l'évaporation du méthanol, tandis que d'autres optent pour des bains à sec à 37°C (Lamari, 2018). Après élimination du méthanol, l'extrait est reconstitué dans un volume de 0,2ml (Mazzola et al., 2021) jusqu'à 0,6ml (Comin et al., 2012) de tampon phosphate salin de dosage EIA (diluant de dosage).

- Analyse du taux de cortisol pilaire : L'approche majeure qui est actuellement utilisée est le dosage immunoenzymatique (EIA). Le dosage immunoenzymatique a comme avantage la disponibilité commerciale des kits qui sont relativement peu coûteux, et l'équipement nécessaire

(lecteur de microplaques et laveur) se retrouve dans de nombreux laboratoires. Les inconvénients de l'EIA incluent la réactivité croisée potentielle de l'anticorps avec d'autres analytes présents dans l'extrait de poils, et la sensibilité éventuellement insuffisante pour mesurer des niveaux extrêmement bas de cortisol pilaire (Hodes et al., 2018).

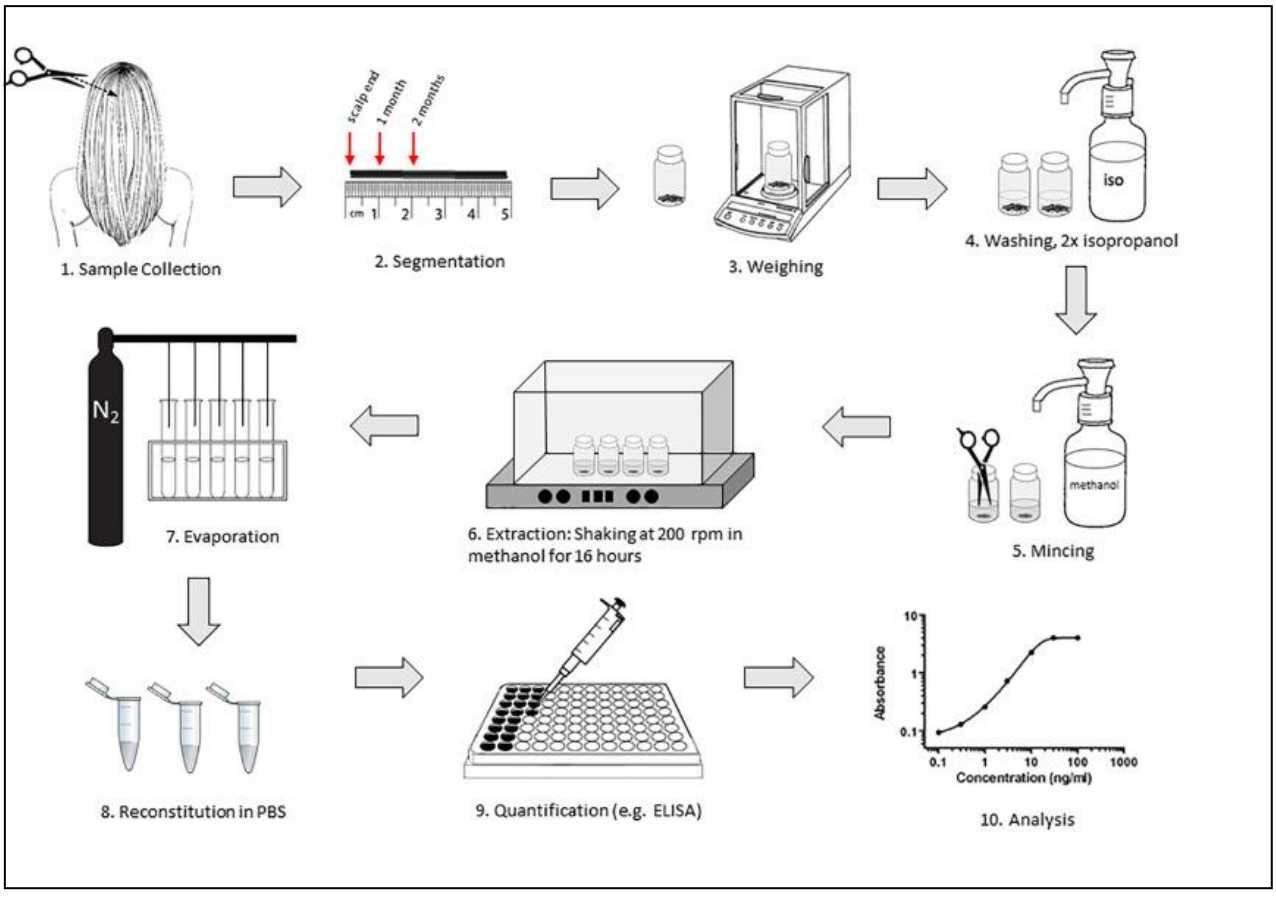

Figure 8 Les principales étapes du dosage du cortisol pilaire

Source : Greff et al., 2018

Chapitre III. Évaluation du cortisol pilaire chez différentes espèces domestiques

1. Évaluation du cortisol pilaire chez différentes espèces domestiques

1.1 Chez la vache

L'amplitude de la réponse dépend de l'espèce concernée et fort probablement du taux basal du cortisol sanguin : les espèces qui ont un taux basal bas, comme les bovins, montreraient de très fortes augmentations en cas de situation stressante (Mormède, 2007). Le cortisol pilaire chez le bovin semble avoir une grande stabilité à long terme sur des mois et des années (González-de-la-Vara et al., 2011). Une étude faite chez les bovins de boucherie a rapporté des corrélations entre le cortisol salivaire et pileux (Moya et al. 2013).

Plusieurs facteurs influencent le taux de cortisol pileux chez le bovin :

- Age : Heimburge et al. (2020) ont constaté que les veaux nouveau-nés avaient les niveaux de cortisol pilaire les plus élevés par rapport aux bovins de six mois, dix huit mois et les bovins adultes.
- Saison : Les taux de cortisol déterminés chez les vaches en hiver à des températures ambiantes assez basses ont été significativement plus élevés que ceux mesurés en mai/juin (Titto et al., 2013).
- Etat de l'animal : Le taux de cortisol pilaire augmente chez les vaches laitières présentant une maladie clinique par rapport aux animaux sains (Comin et al., 2013). L'étude du stress dû aux tiques par l'évaluation du niveau du cortisol des poils des vaches laitières Montbéliardes, a montré que le taux de cortisol est un bon indicateur pour le stress chronique des affections parasitaires (Bouchama, 2021).
- Couleur de la robe : Des études récentes ont été menées et ont révélé que les taux de cortisol pilaire chez les vaches à pelage blanc pendant l'hiver froid sont plus importants que chez les vaches à pelage noir (Ghassemi et al., 2022) (figure 9)

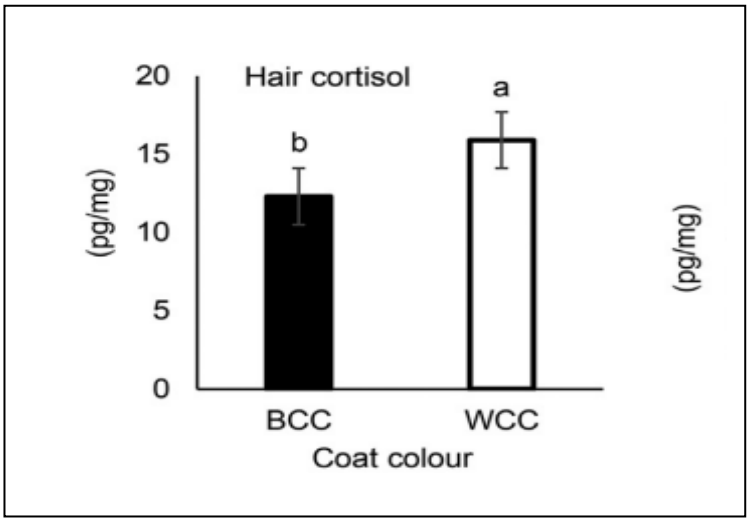

Figure 9 Niveaux de cortisol pilaire chez les vaches à pelage noir (BCC) et à pelage blanc (WCC)

Source : Ghassemi, 2022

- Environnement, habitat : Le mélange hebdomadaire des animaux a entraîné une augmentation des taux de cortisol pilaire (Casal et al., 2017). Chez les bovins de boucherie, une réduction substantielle de la densité de peuplement de vingt-cinq à quatorze mètres carrés par génisse a entraîné une augmentation significative des concentrations de cortisol dans les poils de la queue (Schubach et al., 2017), alors que des différences mineures dans la densité de peuplement des bovins n'avaient aucun effet sur le taux de cortisol (Silva et al., 2016). Des fluctuations et un niveau de stress plus élevé ont été enregistrés pour les vaches autorisées à paître. Selon les auteurs, ces résultats pourraient dépendre du déplacement des animaux vers un pâturage à plus faible valeur nutritive et d'une augmentation de l'activité physique (Peric et al., 2017).
- Région du corps : une forte variabilité de la croissance des poils entre les sites corporels a été signalée chez les bovins laitiers (0,08–1,4 cm/mois) (Burnett et al. 2014)

  Lorsque seuls les échantillons blancs ont été analysés, les poils de l'extrémité de la queue avaient plus de cortisol que les poils de l'épaule, alors qu'aucune différence n'a été trouvée par rapport à la ligne des hanches (figure 10).

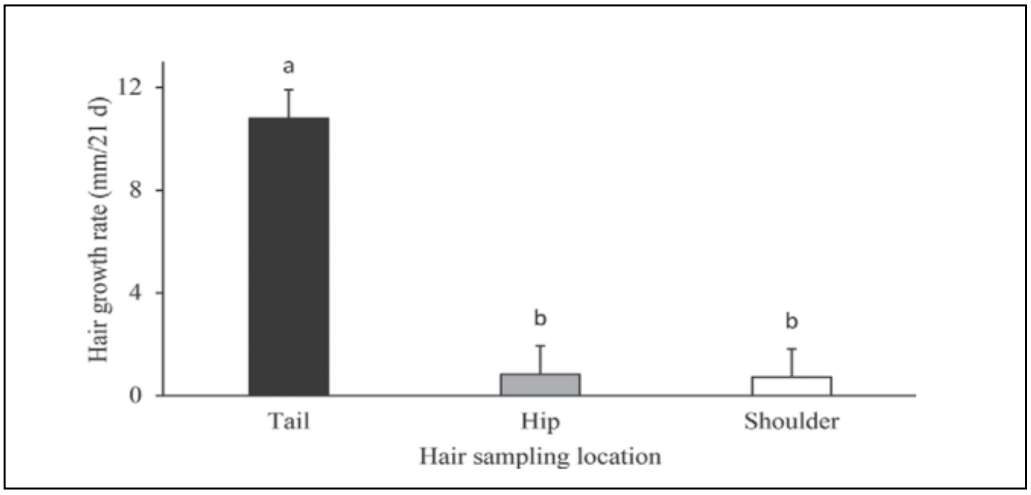

Figure 10 Taux de croissance des poils prélevés à différents endroits du corps des vaches Holstein noires et blanches. (a,b) indiquent des différences significatives

Source : Burnett, 2014

1.2 Chez le cheval

Le cortisol a longtemps été considéré comme une mesure physiologique fiable de la réponse au stress chez les mammifères domestiques tels que les chevaux (Visser et al. 2008).

Plusieurs facteurs affectent les niveaux de cortisol dans les poils des chevaux :

- Région du corps : De nombreuses études chez les animaux sauvages et domestiques ont révélé des différences de concentration du cortisol pilaire selon la région du corps notamment chez les chevaux (Duran et al., 2017). Lelláková et al. (2022) ont montré des différences entre les sites corporels. Les niveaux de cortisol étaient les plus bas dans les poils de la poitrine, la région du boulet et la région de la selle, sans différences significatives entre eux. Les niveaux de cortisol étaient les plus élevés dans la crinière près du garrot, mais il n'y avait pas de différences significatives dans la crinière derrière les oreilles ou dans la queue.
- Race : Les taux de cortisol ont été comparés pour les races de chevaux islandais, poneys Shetland et trotteurs Standardbred. Des différences significatives ont été trouvées sur les poils du garrot. Les chevaux trotteurs Standardbred ont montré un taux plus élevé que les chevaux islandais, et ces derniers encore plus élevé que les poneys Shetland (Sauveroche et al., 2020).

- Saison : les valeurs les plus élevées de cortisol pilaire ont été détectées en automne et en été (figure 11). Les valeurs automnales sont les plus élevées et sont en accord avec le cycle circannuel de la glande pituitaire de l'équin, qui a la production d'ACTH la plus élevée en l'automne. Les plus faibles niveaux de cortisol ont été relevés au printemps ; ces résultats sont conformes aux observations d'Aurich et al., qui ont rapporté des niveaux de cortisol salivaire plus bas en mars et avril (Mazzola et al., 2021).

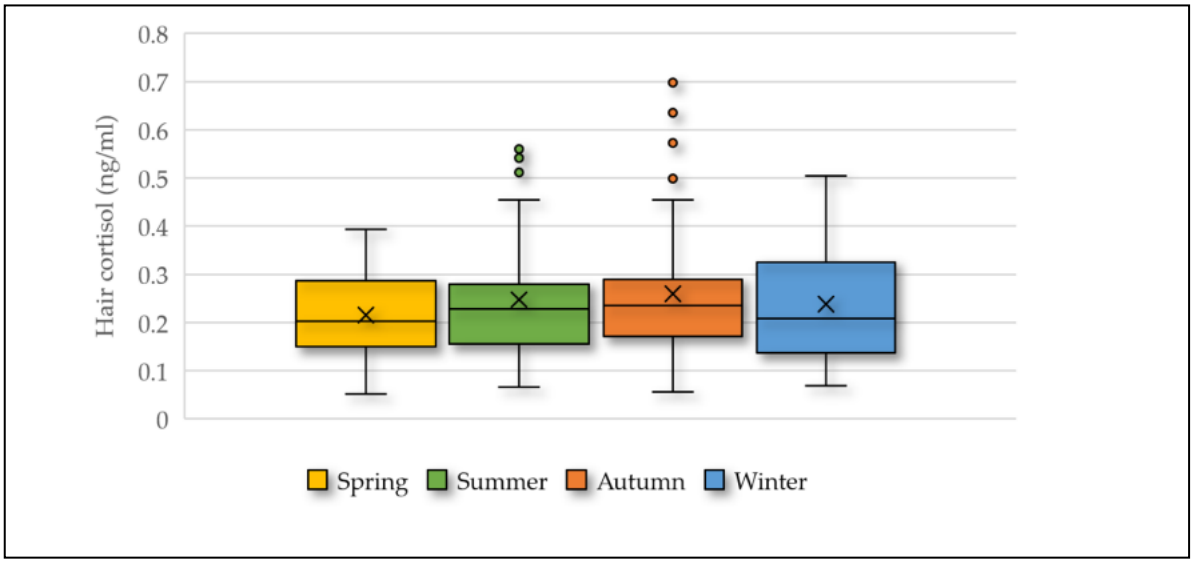

Figure 11 Box plot des niveaux de cortisol pilaire aux différentes saisons chez les chevaux.

Source : Mazzola, 2021

- Age : La concentration moyenne de cortisol dans les poils prélevés à l'âge de trente jours était significativement inférieure à celle trouvée à la naissance, mais aucun des facteurs environnementaux évalués (la température, la pluie ou les conditions d'éclairage) n'a influencé les concentrations de cortisol dans les poils des poulains nouveau-nés. Les explications possibles de cette baisse des niveaux de cortisol incluent l'adaptation progressive à la vie extra-utérine ; la fin de la relation fœto-maternelle qui s'est produite par le placenta ; et l'effet des facteurs environnementaux sur le poulain après la naissance. Les facteurs environnementaux ne sont pas en mesure d'affecter la production de cortisol à long terme. C'est probablement dû au fait que pendant la grossesse, les effets des facteurs externes sont filtrés par la mère, ce qui diminue considérablement leur impact (Montillo et al., 2014).

1.3 Chez le chien

Les chiens peuvent souffrir de stress chronique dans des environnements qui ne répondent pas à leurs besoins (Stephen et Ledger, 2006).

Accorsi et al., (2008) dans leur étude menée sur 29 chiens, il a été constaté que le cortisol pilaire avait une corrélation positive avec le cortisol fécal et salivaire. Le niveau moyen de cortisol dans les poils de chien est de 2,10 ± 0,22 pg/mg (Accorsi et al., (2008)

Plusieurs facteurs influencent le taux de cortisol pileux chez le chien :

- Couleur du pelage : Une étude sur des chiens menée par Bennett et Hayssen (2010), révèlent que chez les bergers allemands avec des poils noirs contenaient moins de cortisol que les poils non noirs. Nicholson et Meredith (2015) ont montré qu'aucune différence significative observée entre les valeurs de cortisol des poils noirs et des autres couleurs.
- Région du corps : Des échantillons de chiens ont été mesurés par Bryan et al. (2013), mais aucune différence n'a été trouvée entre les échantillons de poils prélevés sur le côté droit par rapport au côté gauche. Dans l'étude de Svendsen et Sondergaard (2014), aucune corrélation a été observée entre les poils prélevés du cou et ceux prélevés de la région ischiatique. Une explication possible de la variabilité de la région peut être due au taux de croissance des poils entre les deux régions (Svendsen et Sondergaard 2014). Chez le chien, les concentrations de cortisol ont augmenté avec la quantité d'échantillons des régions griffées (Baxter-Gilbert et al. 2014).
- Pathologies : Comme prévu, les poils des chiens atteints par le syndrome de Cushing étaient plus élevés que chez les témoins sains, ce qui indique que le cortisol pilaire peut être un outil utile pour le diagnostic et le traitement de l'hypercortisolisme et l'insuffisance surrénalienne (Corradini et al., 2013 ; Ouschan et al., 2013). De même, le taux de cortisol est significativement plus élevé chez les chiens atteints de dermatite atopique par rapport aux chiens en bonne santé (et al., 2016). La corrélation positive de l'hormone avec l'étendue des lésions cutanées indique que le cortisol pilaire peut être augmenté à la suite d'un inconfort physique chronique causé par des démangeaisons, une peau sèche et enflammée chez le chien (Park et al., 2016).
- Habitat, environnement : Nicholson et Meredith (2015) ont montré une corrélation entre le cortisol pileux et la durée pendant laquelle les chiens étaient régulièrement laissés seuls, indiquant un niveau de stress plus élevé causé par le logement solitaire. De plus, il

a été démontré que les chiens de compétition avaient un taux plus élevé que les de compagnie et de travail professionnels (Roth et al., 2016) (figure 7). Il n'y avait pas de différence pour le taux de cortisol pilaire entre le groupe de chiens de service et les chiens de compagnie. Une explication de ce résultat favorable peut être due à la haute qualité du programme de dressage des chiens de service qui ont participé à l'étude (Emmy et al.,2022).

- Saison : des taux de cortisol pilaire plus élevé en hiver et plus bas pendant l'été ont été observés chez les chiens (Roth et al., 2016) (figure 12)

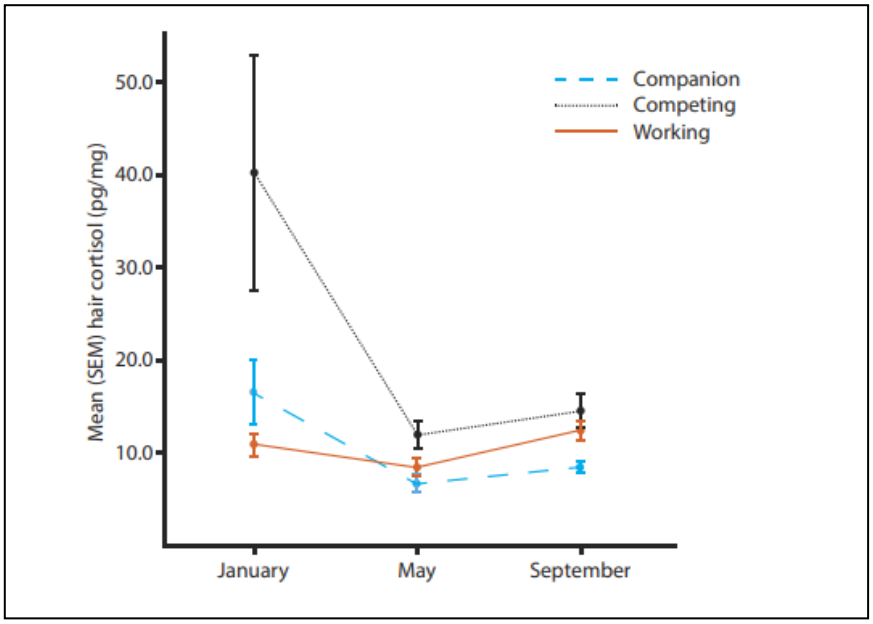

Figure 12 Taux de cortisol pilaire (pg/mg) en janvier, mai et septembre des bergers allemands de travail, de compagnie et de compétition.

Source : Roth et al., 2016

1.4 Chez le chat

Accorsi et al. (2008) ont trouvé une relation significative entre le taux de cortisol mesuré dans les poils et dans les fèces chez le chat. Chez cette espèce, un rythme circadien contrôle la sécrétion de cortisol ; sa concentration est maximale le soir et diminuerait progressivement le matin (Strina, 2004). Les concentrations pilaires ont été analysées selon différents facteurs :

- Comportement : Finkler et Terkel (2010) ont trouvé une corrélation positive significative entre le comportement agonistique et les niveaux de cortisol pilaire chez les chattes, indiquant que les chats agressifs avaient un taux de cortisol pilaire plus élevé.

Stérilisation : les femelles stérilisées présentaient une agressivité réduite ainsi que des niveaux de cortisol réduits par rapport aux femelles intactes. En outre, les femelles intactes qui ont montré plus d'agressivité avaient des niveaux de cortisol plus élevés que les femelles intactes moins agressives (Finkler et Terkel, 2010).

- Pathologies : Un taux de cortisol pilaire élevé a été signalé chez des chats souffrant de stress chronique et a été associé à des maladies cliniques et subcliniques comme le Microsporum canis (Galuppi et al. 2013)

1.5 Chez la chèvre

Pour l'évaluation non invasive du stress chez la chèvre une étude a été faite sur des femelles âgées de quatre à neuf ans de race Shiba par l'administration répétée d'hormone adrénocorticotrope (ACTH) (Endo et al. 2018). Les administrations d'ACTH sont utilisées expérimentalement chez diverses espèces pour induire la libération de cortisol du cortex surrénalien et pour évaluer la réponse de l'axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien (Mormede et al., 2007 ; Otten et al., 2004 ; Rushen et al., 2008). Comme les applications répétées d'ACTH peuvent imiter la réponse de l'axe aux facteurs de stress récurrents (Otten et al., 2004), ces libérations de cortisol induites expérimentalement ont également été utilisées pour valider le cortisol pilaire comme indicateur de stress à long terme.

Dans la première expérience, des chèvres ont reçu de l'ACTH (0,625 UI/10 kg de poids corporel) par voie intramusculaire une fois par jour pendant sept jours. Dans la seconde expérience, les chèvres ont reçu de l'ACTH par voie intramusculaire deux fois par jour pendant sept jours.

L'administration d'ACTH une fois par jour n'a pas influencé les concentrations de cortisol pilaire. Une administration plus fréquente et à plus long terme d'ACTH deux fois par jour a augmenté les concentrations de cortisol pilaire un mois après le début de l'administration d'ACTH. Ainsi le cortisol pilaire pourrait convenir en tant qu'indicateur de stress à long terme chez cette espèce

1.6 Chez le lapin

Le lapin est un animal très sensible aux conditions stressantes affectant la production du cortisol (Cabezas et al., 2007) et a un rythme circadien (Szeto et al., 2004). Le dosage de cette hormone dans le sang ou d'autres tissus biologiques est difficile, car plusieurs échantillons sont nécessaires pour établir une valeur moyenne quotidienne. Ainsi, mesurer le cortisol pilaire fournit une "image rétrospective" de son accumulation antérieure (Yamada et al., 2007).

Une expérience a été réalisée sur des lapines âgées de onze mois et qui ont été rasées à l'aide d'une tondeuse pour recueillir des échantillons de poils de 26 régions différentes (région du cou, oreilles, queue, abdomen …), selon la procédure décrite par Davenport et al. (2006) en utilisant des kits commercialisés DIA-source Immunoassay (Comin et al., 2012).

La concentration moyenne de cortisol pilaire pour les échantillons des lapines était de 2,12 ± 0,05 pg/mg. Cette étude révèle des différences significatives du niveau de cortisol pilaire entre ces animaux mais aucune différence statistique dans les niveaux de cortisol pilaire entre les différents sites corporels pour chacun des animaux. Cela signifie que tout au long de la période d'étude, en l'absence de stimuli stressants susceptibles d'activer l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, les poils ont montré des concentrations de cortisol similaires quelle que soit leur longueur (Comin et al., 2012).

1.7 Chez le dromadaire

Les dosages du cortisol sanguin et pilaire représentent des méthodes fiables pour évaluer le stress chez le dromadaire (El Khasmi et al., 2010 ; Bargaâ et al., 2016).

Dans l'objectif d'analyser la corrélation des taux de cortisol dans le sérum, les poils et les fèces, une étude a été conduite sur des dromadaires mâles (en janvier et en mai/juin) provenant d'élevages semi extensifs, âgés de trois à huit ans et en bonne santé apparente (Bargaâ et al. 2016). Les échantillons de poils ont été prélevés à l'aide de ciseaux au niveau de la bosse, selon la procédure décrite par Davenport et al. (2006), Les auteurs ont révélé une corrélation positive entre les taux sériques et ceux déterminés dans les poils et les fèces. Les concentrations pilaires du cortisol ont varié selon la saison (0,93 ± 0,26 vs 0,61 ± 0,08 ng/ml, respectivement en janvier et en Mai/Juin). Ces variations s'expliquent par les fluctuations de la cortisolémie chez le dromadaire.

Lors de cette étude, les taux de cortisol sanguin déterminés en hiver à des températures ambiantes assez basses ont été significativement plus élevés que ceux mesurés en mai/juin (figure 13). Le dromadaire possède une activité sexuelle saisonnière stimulée par les jours décroissants de la saison d'hiver (El Khasmi et al., 2011). Cette période de rut associée aux températures hivernales peut être considérée comme stressante et donc responsable de l'hypercortisolémie observée dans cette étude. Toutefois, chez le dromadaire, une cortisolémie plus élevée en été qu'en hiver a été observée par Baraka (2012) qui a expliqué cette hyperactivité de la corticosurrénale observée en été par le stress induit par la charge thermique externe et la déshydratation corporelle consécutive aux pertes sudorales intenses, comme voie thermolytique majeure.

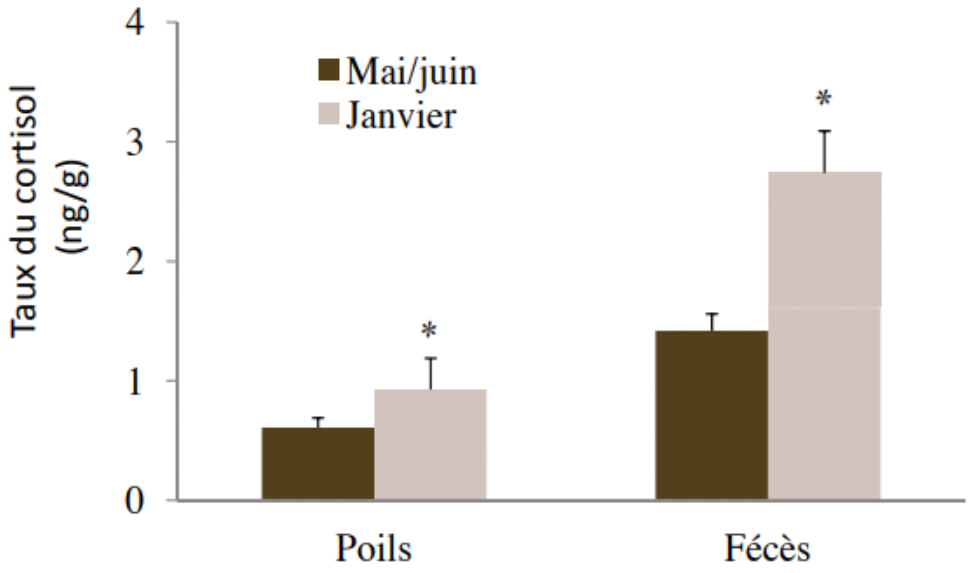

Figure 13 Taux de cortisol dans les poils et les fèces chez le dromadaire

Source : BARGAÀ, 2016

2. Les différentes applications du cortisol pilaire.

En quelques années seulement après sa découverte en tant qu'un nouveau biomarqueur de l'activité de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, le cortisol pilaire a été utilisé dans une large variété d'applications :

2.1 Évaluation du stress chronique

L'analyse du cortisol pilaire permet d'évaluer les niveaux de stress à long terme ou chronique. Étant donné que le cortisol est incorporé dans les poils au fur et à mesure de leur croissance, l'analyse des niveaux de cortisol peut fournir des informations sur les niveaux de stress sur de longues périodes, couvrant généralement plusieurs mois. Cela peut être utile dans les études examinant l'impact du stress chronique sur la santé physique et mentale (Meyer et al., 2012).

2.2 Applications en post-mortem

L'utilité de l'analyse du cortisol pilaire s'étend au-delà de l'utilisation dans les populations vivantes. L'un des principaux avantages des poils en tant que matrice biologique est qu'ils étendent la détection du cortisol bien au-delà des fluides biologiques. Cette technique peut être précieuse pour les échantillons anthropologiques et archéologiques pour lesquels aucun autre échantillon n'est disponible. Une autre application potentiellement utile serait également dans le diagnostic de décès par crise surrénalienne pour lesquels les échantillons n'ont pas été prélevés dans le temps (Greff et al., 2018).

2.3 L'archivage des échantillons

Le cortisol est stable dans les poils intacts pendant au moins un an, même lorsqu'ils sont conservés à température ambiante. Des niveaux mesurables de cette hormone persistent pendant des périodes encore plus longues. La stabilité du cortisol dans les poils par rapport à d'autres matrices biologiques en fait un outil idéal pour utiliser des échantillons archivistiques et obtenir un indice de l'activité de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien chez des sujets morts depuis longtemps (González-de-la-Vara et al., 2011).

2.4 Le développement

Le développement postnatal précoce est une période de changements normatifs dans l'activité de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et la sensibilité du système à différents environnements d'élevage. Comme le cortisol plasmatique, le taux du cortisol pilaire diminue au cours des premières années de vie chez un certain nombre d'espèces (les singes, les bovins...). Les taux de cortisol sont élevés au début du développement postnatal et diminuent progressivement avec le temps. Le cortisol pileux est également un indicateur sensible de

l'activité altérée de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien produite par les différentes variations de l'environnement d'élevage (Dettmer et al., 2012).

2.5 Évaluation du stress de la faune sauvage

L'analyse du cortisol pilaire peut être utilisée pour évaluer les niveaux de stress dans les populations d'animaux sauvages. Il fournit des informations précieuses sur les réponses physiologiques au stress des animaux dans leurs habitats naturels. Les chercheurs peuvent étudier l'impact de facteurs tels que la perte d'habitat, les perturbations environnementales et les activités humaines sur les niveaux de stress et le bien-être général de la faune (Bechshøft et al., 2011).

2.6 Évaluation du bien-être des animaux

L'analyse du cortisol pilaire contribue à l'évaluation du bien-être des animaux dans les milieux captifs, tels que les zoos et les sanctuaires animaliers. En mesurant les niveaux de cortisol dans des échantillons de poils, les chercheurs peuvent évaluer les niveaux de stress à long terme des animaux et identifier les problèmes de bien-être potentiels. Ces informations peuvent être utilisées pour améliorer les conditions de logement, les pratiques d'élevage et la gestion globale du bien-être (Saluti et al., 2022)

Conclusion

L'analyse du cortisol pilaire chez les animaux offre une approche prometteuse pour évaluer le stress chronique et les réponses physiologiques sur de longues périodes car l'analyse du cortisol pileux offre le potentiel de fournir une image rétrospective de l'activité de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien sur une période de plusieurs mois. La mesure du cortisol pilaire procure également l'avantage d'une procédure d'échantillonnage simple et peu invasive.

Les applications de l'analyse du cortisol pilaire chez les animaux sont vastes, allant de la recherche sur la conservation et le bien-être animal à l'étude du stress en milieu sauvage et en captivité. De plus l'analyse du cortisol pilaire offre également des opportunités pour des études comparatives entre différentes espèces animales, permettant de mieux comprendre les variations dans les réponses au stress et les adaptations physiologiques associées. Cependant, il est important de prendre en compte les limites de cette méthode, telles que les variations individuelles, les influences environnementales et les facteurs liés à la croissance des poils, afin d'interpréter correctement les résultats obtenus.

En somme, l'analyse du cortisol pilaire offre un outil prometteur pour évaluer le stress chronique chez les mammifères domestiques. Cela ouvre de nouvelles perspectives pour améliorer le bien-être animal et mieux comprendre le stress chez les animaux et ses implications dans divers contextes écologiques et comportementaux.

Bibliographie

Accorsi P.A., Carloni E., Valsecchi P., Viggiani R., Garnberoni M., Tarnanini C., Seren E., 2008. Cortisol determination in hair and faeces from domestic cats and dogs. *General and comparative endocrinology*, vol. 155, no 2, p. 398-402.
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016648007002912

Acker M., Mastromonaco G., et Schulte-Hostedde A.I., 2018. The effects of body region, season and external arsenic application on hair cortisol concentration. *Conservation physiology*, vol. 6, no 1, p. coy037
https://academic.oup.com/conphys/article/6/1/coy037/5051675

Ataallahi M., Ghassemi N.J., Park K.H., 2022. Selection of appropriate biomatrices for studies of chronic stress in animals: A review. *Journal of Animal Science and Technology*, vol. 64, no 4, p. 621
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9353350/

Aurich J Wulf M., Ille N., Erber R., von Lewinski M., Palme R., Aurich C., 2015. Effects of Season, Age, Sex, and Housing on Salivary Cortisol Concentrations in Horses. *Domestic animal endocrinology*, vol. 52, p. 11-16.
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0739724015000041

Bargaâ R., Lektib I., Chakir Y., El Abbadi N., Belhouari A., Hammoumi A & El Khasmi M., 2016. Corrélation des taux de cortisol dans le sérum, les poils et les fèces chez le dromadaire (Camelus dromedarius). *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, vol. 69, no 2, p. 87-91.
https://revues.cirad.fr/index.php/REMVT/article/view/31184

Bartolami S., 2015. Adaptation Physiologique au Stress. Faculté des Sciences, université Montpellier.
https://docplayer.fr/17950162-Adaptation-physiologique-au-stress.html

Battut I.,1988. La cortisolémie chez le cheval. Thèse de doctorat. École nationale vétérinaire de Toulouse.
https://www.mcours.net/fra17/hasnfra17pdf280.pdf

Baxter-Gilbert J.H., Riley J.L., Mastromonaco G.F., Litzgus J.D., Lesbarreres D., 2014. A novel technique to measure chronic levels of corticosterone in turtles living around a major roadway. *Conservation Physiology*, vol. 2, no 1, p. cou036.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4806746/pdf/cou036.pdf

Bechshøft TØ., Sonne C., Dietz R., Born E.W., Novak M.A., Henchey E., Meyer J.S., 2011. Cortisol levels in hair of East Greenland polar bears. *Science of the Total Environment*, vol. 409, no 4, p. 831-834.
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969710011654

Beerda B., Schilder M BH., Janssen N SCRM., et al., 1996. The use of saliva cortisol, urinary cortisol, and catecholamine measurements for a noninvasive assessment of stress responses in dogs. *Hormones and behavior*, vol. 30, no 3, p. 272-279. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0018506X96900331

Bennett A et Hayssen V., 2010. Measuring cortisol in hair and saliva from dogs: coat color and pigment differences. *Domestic Animal Endocrinology*, vol. 39, no 3, p. 171-180. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0739724010000433

Binz T.M., Braun U., Baumgartner M.R., & Kraemer T., 2016. Development of an LC–MS/MS method for the determination of endogenous cortisol in hair using 13C3-labeled cortisol as surrogate analyte. *Journal of Chromatography B*, vol. 1033, p. 65-72. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S157002321630513X

Bornstein S.R., Allolio B., Arlt W., et al., 2016. Diagnosis and treatment of primary adrenal insufficiency: an endocrine society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 101, no 2, p. 364-389. https://academic.oup.com/jcem/article/101/2/364/2810222

Bouchama B., 2021. Composition et structure des ectoparasites des bovins dans la zone méridionale de la région de Sétif et leur impact sur le stress et la production laitière. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université de Sétif. http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/bitstream/123456789/3833/1/Th%c3%a8se%20Bouchama%20Badredine.pdf

Boucher P et Plusquellec P., 2019. Acute stress assessment from excess cortisol secretion: fundamentals and perspectives. *Frontiers in endocrinology*, vol. 10, p. 749. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2019.00749/full

Bret C.L., 2008. Les ligands, polycopié d'enseignement de biochimie. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, 115 p

Brisville A.C., 2006. Les marqueurs du stress chez les bovins issus de clonage somatique. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. https://hal.inrae.fr/tel-02817296/document

Broom D.M et Johnson K.G., 1993. *Stress and animal welfare*. London : Chapman & hall. https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-030-32153-6

Broom D.M., 2003. Transport stress in cattle and sheep with details of physiological, ethological and other indicators. *Deutsche Tierarztliche Wochenschrift*, vol. 110, no 3, p. 83-88. https://www.researchgate.net/profile/Donald-Broom/publication/10774405_Transport_stress_in_cattle_and_sheep_with_details_of_physiological_ethological_and_other_indicators/links/5702c71608aedbac126f3e98/Transport-stress-in-cattle-and-sheep-with-details-of-physiological-ethological-and-other-indicators.pdf

Bryan H.M., Adams A.G., Invik R.M., Wynne-Edwards K.E., Smits J.E., 2013. Hair as a meaningful measure of baseline cortisol levels over time in dogs. *Journal of the American*

Association for Laboratory Animal Science 52, 189–196
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624789/pdf/jaalas2013000189.pdf

Buijs S., Keeling L.J, Rettenbacher S., Maertens L and Tuyttens Fam., 2011. Glucocorticoid metabolites in rabbit faeces—Influence of environmental enrichment and cage size. *Physiology & behavior*, vol. 104, no 3, p. 469-473.
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031938411002307

Cabezas S., Blas J., Marchant T.A., Moreno S., 2007. Physiological stress levels predict survival probabilities in wild rabbits. *Hormones and Behavior*, vol. 51, no 3, p. 313-320.
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0018506X0600331X

Casal N., Manteca X., Peña L.R., Bassols A., Fàbrega, E., 2017. Analysis of cortisol in hair samples as an indicator of stress in pigs. *Journal of veterinary behavior*, vol. 19, p. 1-6.
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1558787817300114

Chouaniere D., 2008. La santé de l'Homme sommaire.
www.inpes.sante.fr [consulté le 05.01.2023]

Comin A., Veronesi M.C., Montillo M., Faustini M., Valentini S., Cairoli F., Prandi A., 2012. Hair cortisol level as a retrospective marker of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in horse foals. *The Veterinary Journal*, vol. 194, no 1, p. 131-132.
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S109002331200161X

Comin A., Zufferli V., Peric T., canavese F., Barbetta D., Prandi A., 2012. hair cortisol levels determined at different body sites in the New Zealand White rabbit. *World Rabbit Science*, vol. 20, no 3, p. 149-150.
https://polipapers.upv.es/index.php/wrs/article/view/1106/1274

Cook C.J., Mellor D.J., Harris P.J., Ingram J.R and Matthews L.R., 2000. Hands-on and Hands-off Measurement of Stress. In : *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare.* Wallingford UK : CABI Publishing, p. 123-146.
https://www.cabidigitallibrary.org/doi/abs/10.1079/9780851993591.0123

Corradini S., Accorsi P.A., Boari A., Beghelli V., Mattioli M., Famigli-Bergamini P., Fracassi F., 2013. Evaluation of hair cortisol in the diagnosis of hypcortisolism in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, vol. 27, no 5, p. 1268-1272.
https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jvim.12135

Crocq L., 2014. Traumatismes psychiques: prise en charge psychologique des victimes. Elsevier Masson, 352p.
http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=20287041

Davenport MD., Tiefenbacher S., Lutz C.K., Novak M.A., Meyer J.S., 2006. Analysis of endogenous cortisol concentrations in the hair of rhesus macaques. *General and comparative endocrinology*, vol. 147, no 3, p. 255-261.
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016648006000190

Davenport M.D., Lutz C.K., Tiefenbacher S., Novak M.A., Meyer J.S., 2008. A rhesus monkey model of self injury: effects of relocation stress on behavior and neuroendocrine function. *Biological psychiatry*, vol. 63, no 10, p. 990-996. https://doi.org/10.1016/j. biopsych.2007.10.025

Dettmer A.M., Novak M.A., Suomi S.J., Meyer J.S., 2012. Physiological and behavioral adaptation to relocation stress in differentially reared rhesus monkeys: Hair cortisol as a biomarker for anxietyrelated responses. *Psychoneuroendocrinology*, vol. 37, no 2, p. 191-199. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306453011001727

Dettmer A.M., Novak M FSX., Novak M.A., et al., 2009. Hair cortisol predicts object permanence performance in infant rhesus macaques (Macaca mulatta). *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, vol. 51, no 8, p. 706-713. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/dev.20405

Diquelou A., 2009. Cours de médecine : Examen clinique cardiovasculaire. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, 42p.

Dolomie-Fagour L et Corcuff J.B., 2008. Is free plasmatic cortisol measurement useful in intensive care unit? In : *Annales de Biologie Clinique*. p. 31-41. https://www.jle.com/en/revues/abc/e-docs/mesure_du_cortisol_libre_plasmatique_un_interet_en_reanimation__276750/article.phtml

Duran M.C., Janz D.M., Waldner C.L., Campbell J.R., Marques F.J., 2017. Hair cortisol concentration as a stress biomarker in horses: associations with body location and surgical castration. *Journal of Equine Veterinary Science*, vol. 55, p. 27-33. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0737080616306761

El Khasmi M., Riad F., Safwate A., Tahri E.H., Farh M., El Abbadi N., Coxam V., Faye B., 2010. Effects of preslaughter stress on meat quality and phosphocalcic metabolism in camels (Camelus dromedarius). J. Camelid Sci., 3: 33-38 https://agritrop.cirad.fr/559509/

El Khasmi M., Riad F., Safwate A., Tahri E.H., Farh M., El Abbadi N., Coxam V., Faye B., 2011. Circulating levels of 25-Hydroxyvitamin D and testosterone during the rutting and non-rutting periods in Moroccan dromedary camels (Camelus dromedarius). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, p. 368-374. https://www.ejfa.me/index.php/journal/article/view/1256

Elenkov I., Chrousos G., 2002. Stress Hormones, Proinflammatory and Antiinflammatory Cytokines, and Autoimmunity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 966, no 1, p. 290-303. https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1749-6632.2002.tb04229.x

Enard F., 2008. De l'utilité du butorphanol dans la gestion de l'analgésie lors de la césarienne chez la brebis. Thèse pour le doctorat vétérinaire, Toulouse, 56p. https://oatao.univ-toulouse.fr/2759/

Endo N., Hiroaki Y., Larasati P.R., Tomomi T., 2018. Effect of repeated adrenocorticotropic hormone administration on reproductive function and hair cortisol concentration during the estrous cycle in goats. *General and comparative endocrinology*, vol. 259, p. 207 https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016648020302872?via%3Dihub

Fairon M., 2006. L'anxiété chez les animaux de compagnie : approches conceptuelles, *clinique et thérapeutique*. Thèse de Doctorat Vétérinaire, faculté de médecine de Créteil. 95p.

Faure B., 2007. Contribution à l'étude bibliographique de la leptine chez les carnivores domestiques. Thèse pour le doctorat vétérinaire, Toulouse, 157p. https://oatao.univ-toulouse.fr/1848/1/debouch_1848.pdf

Faure C., 2007. Le comportement du chat et la relation homme-chat étude après enquête auprès de 471 propriétaires, Thèse pour le doctorat vétérinaire, Toulouse, 199p. https://oatao.univ-toulouse.fr/1038/

Finkler H., Terkel J., 2010. Cortisol levels and aggression in neutered and intact freeroaming female cats living in urban social groups. *Physiology & Behavior*, vol. 99, no 3, p. 343-347. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.11.014

Galuppi R., Leveque JFC., Beghelli V., Bonoli C., Mattioli M., Ostanello F., Tampieri M.P., Accorsi P.A., 2013. Cortisol levels in cats' hair in presence or absence of Microsporum canis infection. *Research in Veterinary Science*, vol. 95, no 3, p. 1076-1080. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0034528813002488

Ganong W.F., 2005. Physiologie médicale. Bruxelles De Boeck, 849 p.

Gatti R., Antonelli G., Prearo M., et al., 2009. Cortisol assays and diagnostic laboratory procedures in human biological fluids. *Clinical biochemistry*, vol. 42, no 12, p. 1205-1217. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009912009001921

Ghassemi N.J., Lohakare J.D., Son J.K., Kwon E.G., West J.W., Sung K.I., 2014. Wool cortisol is a better indicator of stress than blood cortisol in ewes exposed to heat stress and water restriction. *Animal*, vol. 8, no 1, p. 128-132. https://www.cambridge.org/core/journals/animal/article/abs/wool-cortisol-is-a-better-indicator-of-stress-than-blood-cortisol-in-ewes-exposed-to-heat-stress-and-water-restriction/C5157683568833F2419706DA9C9065C9

Ghassemi N.J., Jeong C., Shahsavarani H., et al., 2016. Embedded dental cortisol content: a pilot study. *Endocrinol Metab Syndr*, vol. 5, no 240, p. 2161-1017.1000240. https://www.researchgate.net/publication/305035123_Embedded_Dental_Cortisol_Content_A_Pilot_Study

Ghassemi N.J., Kim B.W., Lee B.H., Sung K.I., 2017. Coat and hair color: Hair cortisol and serotonin levels in lactating Holstein cows under heat stress conditions. *Animal Science Journal*,

vol. 88, no 1, p. 190-194.
https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/asj.12662

Ghassemi N.J., Ataallahi M., et Park K.H., 2019. Methodological validation of measuring Hanwoo hair cortisol concentration using bead beater and surgical scissors. *Journal of animal science and technology*, vol. 61, no 1, p. 41.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6582914/pdf/jast-61-1-41.pdf

Ghassemi Nejad, J., Ghaffari, M.H., Ataallahi M., Jo J.H., & Lee H.G., 2022. Stress concepts and applications in various matrices with a focus on hair cortisol and analytical methods. *Animals*, vol. 12, no 22, p. 3096.
https://www.mdpi.com/2076-2615/12/22/3096

Del Rosario G.D.L.V., Valdez R.A., Lemus-Ramirez V., Vázquez-Chagoyán J.C., Villa-Godoy A., & Romano M.C., 2011. Effects of adrenocorticotropic hormone challenge and age on hair cortisol concentrations in dairy cattle. *Canadian Journal of Veterinary Research*, vol. 75, no 3, p. 216-221.
https://www.ingentaconnect.com/content/cvma/cjvr/2011/00000075/00000003/art00008

Grant K.S., Worlein J.M., Meyer J.S., Novak M.A., Kroeker R., Rosenberg K., et al., 2017. A longitudinal study of hair cortisol concentrations in Macaca nemestrina mothers and infants. *American journal of primatology*, vol. 79, no 2, p. e22591.
https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ajp.22591

Greenwood P.L et Shutt D.A., 1992. Salivary and plasma cortisol as an index of stress in goats. *Australian Veterinary Journal*, vol. 69, no 7, p. 161-163.
https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1751-0813.1992.tb07501.x

Grossman., 1983. Respiration, Stress and Cardiovascular Function. *Psychophysiology*, vol. 20, no 3, p. 284-300.
https://www.researchgate.net/publication/16786982_Respiration_ Stress_and_ Cardiovascular_Function

Guyton A., Hall J., 2006. Adrenocortical Hormones. In: Inc Elsevier. Textbook of Medical Physiology - 11th edition, chapter 78, p. 944-959

Hall J.E., & Hall M.E., 2020. *Guyton and Hall textbook of medical physiology e-Book*. Elsevier Health Sciences.
https://repository.poltekkes-kaltim.ac.id/1147/1/Guyton%20and%20Hall%20Textbook%20of%20Medical%20Physiology%20(%20PDFDrive%20).pdf

Hargreaves K.M., 1990. Neuroendocrine markers of stress. Anesthesia progress, vol. 37, no 2-3, p. 99-105

Harkey M.R., 1993. Anatomy and Physiology of Hair. *Forensic science international*, vol. 63, no 1-3, p. 9-18.
https:// doi.org/10.1016/0379-0738(93)90255-9.

Hawley J.M., Owen L.J., Lockhart SJ., et al., 2016. Serum cortisol: an up-to-date assessment of routine assay performance. Clinical chemistry, vol. 62, no 9, p. 1220-1229. https://pure.manchester.ac.uk/ws/portalfiles/portal/47769370/serum_cortisol_comparison_clin_chem_2016.pdf

Heintz M.R., Santymire R.M., Parr L.A., et al., 2011. Validation of a cortisol enzyme immunoassay and characterization of salivary cortisol circadian rhythm in chimpanzees

(Pan troglodytes). *American Journal of Primatology*, vol. 73, no 9, p. 903-908. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ajp.20960

Hemsworth P.H and Barnett J.L., 2000. Human-Animal Interactions and Animal Stress. The Biology of Animal Stress. G. P. Moberg and J. A. Mench, CAB International: p. 309-336.

Hodes A., Meyer J., Lodish M., *et al.*, 2018. Mini-review of hair cortisol concentration for evaluation of Cushing syndrome. *Expert review of endocrinology & metabolism*, vol. 13, no 5, p. 225-231.

https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/17446651.2018.1517043

Heimbürge S, Kanitz E, Otten W., 2019. The use of hair cortisol for the assessment of stress in animals. *General and Comparative Endocrinology*, vol. 270, p. 10-17 https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016648018303599

Heimbürge S., 2021. Hair cortisol concentration in cattle and pigs: Investigation of influencing factors and the potential as an indicator of long-term stress. the Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health Faculty of Veterinary Medicine, Leipzig University

https://ul.qucosa.de/landing-page/?tx_dlf[id]=https%3A%2F%2Ful.qucosa.de%2Fapi%2Fqucosa%253A75260%2Fmets

Joels M et Baram T.Z., 2009. The neuro-symphony of stress. Nature reviews neuroscience vol. 10, no 6, p. 459-466.

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2844123/pdf/nihms-172715.pdf

Kaplan J.R., & Manuck S.B., 2004. Ovarian dysfunction, stress, and disease: a primate continuum. *ILAR journal*,vol. 45, no 2, p. 89-115. https://academic.oup.com/ilarjournal/article/45/2/89/791694

Kirschbaum C., Tietze A., Skoluda N., Dettenborn L., 2009. Hair as a retrospective calendar of cortisol production-Increased cortisol incorporation into hair in the third trimester of pregnancy. *Psychoneuroendocrinology*, vol. 34, no 1, p. 32-37. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030645300800214X

Lamari S., 2018. Prédiction des performances potentielles de la vache laitière à partir des caractéristiques de la robe et de paramètres biologiques. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université de Sétif http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/3587

Lapeyrade E., 2014. Manifestations cliniques et endocrines liées au stress chez le chien et le chat : étude bibliographique comparative. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. https://oatao.univ-toulouse.fr/11280/

Lelláková́a M., Leškováa L., Floriána M., Mesarcová L., Skurkováa L., Peťkováa B., Takácová D., Kottferováa J., 2022. Cortisol Concentration in Horsehair and its Relationship to Body Location, Coat Colour, and Gender. *Journal of Equine Veterinary Science*, vol. 115, p. 104010
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0737080622001484

Levine B.S., Kerrigan S., 1999. Principles of Forensic Toxicology, Washington, DC : American Association for Clinical Chemistry.
https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-030-42917-1

Li J., Xie Q., Gao W., Xu Y., Wang S., Deng H., & Lu Z., 2012. Time course of cortisol loss in hair segments under immersion in hot water. *Clinica chimica acta*, vol. 413, no 3-4, p. 434-440.
https://www.zora.uzh.ch/id/eprint/113368/1/Carlitz%20et%20al.,%202015_accepted%20manuscript.pdf

Louvain medical., 2017. Dosage du cortisol plasmatique : utilité et pièges diagnostiques [En ligne]
https://www.louvainmedical.be/fr/article/dosage-du-cortisol-plasmatique-utilite-et-pieges-diagnostiques

Lucarelli L., 2011. Prise en charge du chat hospitalisé : étude bibliographique et recommandations pratiques. Thèse de doctorat, 152p.

Maier B., Vogeser M., 2013. Target analyte quantification by isotope dilution LC-MS/MS directly referring to internal standard concentrations--validation for serum cortisol measurement. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, vol. 51, no 4, p. 833-837.
https://epub.ub.uni-muenchen.de/25833/1/Maier_Vogeser_Target.pdf

Matos R.,2015. Study of anxiety and separation related problems in the dog. [PhD Thesis. University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Kosice, Slovak Republic.
https://vetmed.agriculturejournals.cz/pdfs/vet/2017/07/01.pdf

Mazzola S., Colombani C., Pizzamiglio G., Cannas S., Palestrini C., Dalla Costa E., Gazzonis L., Bionda A and Crepaldi P., 2021. Do You Think I Am Living Well? A Four-Season Hair Cortisol Analysis on Leisure Horses in Different Housing and Management Conditions. *Animals*, vol. 11, no 7, p. 2141.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8300697/pdf/animals-11-02141.pdf

Mesarcova L., Kottferova J., Skurkova L., Leskova, L., & Kmecova, N. (2017). Analysis of cortisol in dog hair-a potential biomarker of chronic stress: A review. *Veterinární medicína*, 2017, vol. 62, no 7, p. 363-376.
https://www.old-aj.cz/web/vetmed.htm?type=article&id=19_2017-VETMED

Meyer J., Görgen S., 1986. Development of hair coat and skin glands in fetal porcine integument. J Anat. 1986;144:201.

Meyer J et Novak M., 2012. Minireview: Hair Cortisol: A Novel Biomarker of Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Activity. *Endocrinology*, vol.153, no 9, p. 4120-4127.
https://academic.oup.com/endo/article/153/9/4120/242388

Meyer J., Novak M., Hamel A., & Rosenberg K., 2014. Extraction and analysis of cortisol from human and monkey hair. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, no 83, p. e50882
https://www.jove.com/t/50882/extraction-and-analysis-of-cortisol-from-human-and-monkey-hair

Greff M.J., Levine J.M., Abuzgaia A.M., Elzagallaai A.A., Rieder M.J., & van Uum S.H., 2018. Hair cortisol analysis: An update on methodological considerations and clinical applications. *Clinical biochemistry*, vol. 63, p. 1-9.
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009912018307306

Montillo M, Comin A, Corazzin M, Peric T, Faustini M, Veronesi M.C, Valentini S , Bustaffa M, Prandi A. (2014). The Effect of Temperature, Rainfall, and Light Conditions on Hair Cortisol Concentrations in Newborn Foals. Journal of Veterinary Behavior, *Journal of Equine Veterinary Science*, vol. 34, no 6, p. 774-778.
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0737080614000288

Moreira N., Brown J.L., Moraes W., Swanson W.F and Monteiro-Filho., ELA., 2007. Effect of housing and environmental enrichment on adrenocortical activity, behavior and reproductive cyclicity in the female tigrina (Leopardus tigrinus) and margay (Leopardus wiedii). *Zoo Biology*, vol. 26, no 6, p. 441-460.
https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/zoo.20139

Morgan K.N and Tromborg C.T., 2007. Sources of stress in captivity. *Applied animal behaviour science*, vol. 102, no 3-4, p. 262-302.
https://www.researchgate.net/publication/228667970_Sources_of_stress_in_captivity_Appl_Anim_Behav_Sci

Morgan K.N and Tromborg C.T., 2007. Sources of stress in captivity. *Applied animal behaviour science*, vol. 102, no 3-4, p. 262-302
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168159106001997

Mormède P.,1988. Les réponses neuroendocriniennes de stress.

Mormède P., 1995. Le stress : interaction animal-homme-environnement. Cahiers agricultures, vol. 4, no 4, p. 275-286
https://revues.cirad.fr/index.php/cahiers-agricultures/article/view/29900

Mormède P., Andanson S., Aupérin B., Beerda B., Guémené D., Malmkvist J., et al., 2007. Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare.

Physiology & behavior, vol. 92, no 3, p. 317-339
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031938406005191

Moya D., Schwartzkopf-Genswein K.S., Veira D.M., 2013. Standardization of a non-invasive methodology to measure cortisol in hair of beef cattle. *Livestock Science*, vol. 158, no 1-3, p. 138-144.
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1871141313004216

Nedelec A., 2012. Physiologie des glandes surrénaliennes. Memobio.
http://www.memobio.fr/html/bioc/bi_su_ph.html [consulté le 15.12.2022]

Nicholson S.L., Meredith J.E., 2015. Should stress management be part of the clinical care provided to chronically ill dogs? Journal of Veterinary Behavior-Clinical Applications and Research 10, 489–49.
https://researchrepository.ucd.ie/server/api/core/bitstreams/7490e4f3-f462-4860-adda-842bb0392cbc/content

Nicholson S.L., Meredith J.E., 2015. Should stress management be part of the clinical care provided to chronically ill dogs? *Journal of Veterinary Behavior*, vol. 10, no 6, p. 489-495.
https://doi.org/10.1016/j.jveb.2015.09.002

Nieman L.K., Biller MK, Findling J.W., et al., 2008. The diagnosis of Cushing's syndrome: an endocrine society clinical practice guideline. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, vol. 93, no 5, p. 1526-1540.
https://academic.oup.com/jcem/article/93/5/1526/2598096

Nussey S., Whitehead S., 2001. Endocrinology: An Integrated Approach. UK : BIOS Scientific Publishers. 376p.
https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/b15306/endocrinology-nussey-whitehead

Obel C., Hedegaard M., Henriksen T.B., Secher N.J., Olsen J., Levine S., 2005. Stress and salivary cortisol during pregnancy. *Psychoneuroendocrinology*, vol. 30, no 7, p. 647-656.
https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306453005000430

Ohayen L., 2021. L'organisme débordé dans ses capacités adaptatives : le stress chronique.
http://www.ohayon.lucie.free.fr

Otten W., Kanitz E., Tuchscherer M., Gräbner M., 2013. Effects of low and high protein : carbohydrate ratios in the diet of pregnant gilts on maternal cortisol concentrations and the adrenocortical and sympathoadrenal reactivity in their offspring. *Journal of animal science*, vol. 91, no 6, p. 2680-2692.
https://academic.oup.com/jas/article-abstract/91/6/2680/4717198

Ouschan C., Kuchar A., Moestl E., 2013. Measurement of cortisol in dog hair: a noninvasive tool for the diagnosis of hypercortisolism. *Veterinary Dermatology*, vol. 24, no 4, p. 428-e94.
https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/vde.12043

Park S.H., Kim S.A., Shin N.S., Hwang C.Y., 2016. Elevated cortisol content in dog hair with atopic dermatitis. Japanese Journal of Veterinary Research 64, 123–129.

https://eprints.lib.hokudai.ac.jp/dspace/bitstream/2115/62216/1/025.p123-129%20FP%20PARK.pdf

Peeters M., 2011.Evaluation du niveau de stress du cheval en compétition et en milieu hospitalier, Thèse de doctorat. Université de Liège. https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/103653/1/Th%C3%A8se%20compl%C3%A8te%20Marie%20Peeters.pdf

Peric T., Corazzin M., Romanzin A., Bovolenta S, Prandi A., Montillo M., Comin A., 2017. Cortisol and DHEA concentrations in the hair of dairy cows managed indoor or on pasture. *Livestock Science*, vol. 202, p. 39-43. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1871141317301610

Platt M., Ghazanfar A., 2010. Circuits of emotion in the primate brain. In: Platt M.; Ghazanfar, A. Primate neuroethology, Oxford University Press, New York, 292-315.

Rehbinder C and Hau J.,2006. Quantification of cortisol, cortisol immunoreactive metabolites, and immunoglobulin A in serum, saliva, urine, and feces for noninvasive assessment of stress in reindeer. Can. J. Vet. Res. 70(2): 151-154. https://www.researchgate.net/publication/7141019_Quantification_of_cortisol_cortisol_immunoreactive_metabolites_and_immunoglobulin_A_in_serum_saliva_urine_and_feces_for_noninvasive_assessment_of_stress_in_reindeer

Rochette L et Vergely C., 2017. Rappels de la physiologie du stress : systèmes sympathique et para-sympathique. Stress, pathologies et immunité : Médecine –Sciences Flammarion. https://drdanvelea.fr/wp-content/uploads/2017/03/Notice-livre-stress-pathologies-immunite-nicole-baumann-jean-michel-thurin.pdf

Rosen L., 2016. Does coat color affect cortisol levels in Border collie dogs?. [Bc Thesis.] Linkoping University, Sweden. http://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:939209/FULLTEXT01.pdf

Roth L.S.V., Faresjö Å., Theodorsson E., Jensen P., 2016. Hair cortisol varies with season and lifestyle and relates to human interactions in German shepherd dogs. *Scientific Reports*, vol. 6, no 1, p. 19631. https://www.nature.com/articles/srep19631

Russell E., Koren G., Rieder M et al., 2012. Hair cortisol as a biological marker of chronic stress: current status, future directions and unanswered questions. *Psychoneuroendocrinology*, 2012, vol. 37, no 5, p. 589-601. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306453011002794

Saluti G., Ricci M., Castellani F., Colagrande M.N., Di Bari G., Vulpiani M.P., ... & D'Alterio N., 2022. Determination of hair cortisol in horses: comparison of immunoassay vs LCHRMS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 414, no 28, p. 8093-8105. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC961357/pdf/216_2022_Article_4343.pdf

Sauveroche M., Henriksson J., Theodorsson E., Svensson Holm A and Roth L., 2020. Hair cortisol in horses (Equus caballus) in relation to management regimes, personality and breed.

Journal of Veterinary Behavior, vol. 37, p. 1-7
http://liu.diva-portal.org/smash/get/diva2:1397278/FULLTEXT01.pdf

Schiml A., Mendoza P., Saltzman W, et al.,1996. Seasonality in squirrel monkeys (Saimiri sciureus): social facilitation by females. *Physiology & behavior*, vol. 60, no 4, p. 1105-1113. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0031938496001345

Schmidt A., Möstl E., Aurich J., Neuhauser S., & Aurich C., 2009. Comparison of cortisol and cortisone levels in blood plasma and saliva and cortisol metabolite concentrations in feaces for stress analysisi in horses. In: *Proceedings of the 5th International Conference of the International Society for Equitation Science, Sydney, Australia*. p. 12-14.

Schneider M.L., et al., 1999. Growth and development following prenatal stress exposure in primates: an examination of ontogenetic vulnerability. Child Dev, 70, 2, 263-74

Schubach K.M., Cooke R.F., Brandão A.P., Lippolis K.D., Silva L.G.T., Marques R.S., Bohnert D.W., 2017. Impacts of stocking density on development and puberty attainment of replacement beef heifers. Animal 11, 2260–2267.
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751731117001070?via%3Dihub

Stanford., 2007. Why do humans and primates get more stress-related diseases than other animals ?
http://www.sciencedaily.com/releases/2007/02/070218134333.htm [consulté le 18.01.2022]

Selye H.,1951. The general-adaptation-syndrome. Annual review of medicine, vol. 2, no 1, p. 327-342.

Selye H.,1955. Stress and disease. Science, vol. 122, no 3171, p. 625-631.

Selye H.,1975. Confusion and controversy in the stress field. Journal of human stress, 1975, vol. 1, no 2, p. 37-44.

Sharpley C.F., Kauter K.G., Mcfarlane J.R., 2010. An investigation of hair cortisol concentration across body sites and within hair shaft *Clinical Medicine Insights: Endocrinology and Diabetes*, vol. 3, p. CMED. S4465.
https://journals.sagepub.com/doi/full/10.4137/CMED.S4465

Sheriff M.J., Dantzer B., Delehanty B., Palme R., & Boonstra R., 2011. Measuring stress in wildlife: techniques for quantifying glucocorticoids. *Oecologia*, vol. 166, no 4, p. 869-887. https://link.springer.com/article/10.1007/s00442-011-1943-y?null

Shively A., Register C., et Clarkson B., 2009. Social stress, visceral obesity, and coronary artery atherosclerosis: product of a primate adaptation. American Journal of Primatology: Official Journal of the American Society of Primatologists, vol. 71, no 9, p. 742-751. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3970187/pdf/nihms566192.pdf

Silva P.R.B., Lobeck-Luchterhand K.M., Cerri R.L.A., Haines D.M., Ballou M.A., Endres M.I., Chebel R.C., 2016. Effects of prepartum stocking density on innate and adaptive leukocyte responses and serum and hair cortisol concentrations. *Veterinary immunology and*

immunopathology, vol. 169, p. 39-46. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165242715300222

Smyth N., 2013. Cortisol secretion in saliva and hair: methodological considerations and relationships with state and trait well-being 2013. Thèse de doctorat. University of Westminster. https://westminsterresearch.westminster.ac.uk/item/8z18y/cortisol-secretion-in-saliva-and-hair-methodological-considerations-and-relationships-with-state-and-trait-well-being

Souames S., 2022. Anœstrus post partum chez la vache laitière. [Pathologie et Biotechnologies de la reproduction]. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire Alger

Squires E.J., 2003. Applied Animal Endocrinology, Wallingford, UK: CABI Publishing.

Stalder T., Kirschbaum C., 2012. Analysis of cortisol in hair - State of the art and future directions. *Brain, behavior, and immunity*, vol. 26, no 7, p. 1019-1029. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0889159112000256

Stalder T., Steudte-Schmiedgen S., Alexander N., Klucken T., Vater A., Wichmann S., et al., 2017. Stressrelated and basic determinants of hair cortisol in humans: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, vol. 77, p. 261-274. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306453016306114

Staufenbiel S.M., Penninx BWJH., de Rijke Y.B., van den Akker ELT, van Rossum EFC., 2015. Determinants of hair cortisol and hair cortisone concentrations in adults. Psychoneuroendocrinology. 2015;60:182–94. https://eje.bioscientifica.com/view/journals/eje/184/3/EJE-20-1127.xml?body=pdf-50442

Stephen J.M & Ledger R.A., 2006. A longitudinal evaluation of urinary cortisol in kennelled dogs Canis familiaris. *Physiology & Behavior*, vol. 87, no 5, p. 911-916. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S003193840600093X

Steudte S., Stalder T., Dettenborn L., Klumbies E., Foley P., Beesdo-Baum K., Kirschbaum C., 2011. Decreased hair cortisol concentrations in generalised anxiety disorder. *Psychiatry research*, vol. 186, no 2-3, p. 310-314. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165178110005767

Strina A., 2004. Quelle est la place des glucocorticoïdes dans le traitement du choc chez le chien ? Thèse de doctorat vétérinaire, Lyon, 148p. https://www2.vetagro-sup.fr/bib/fondoc/th_sout/th_pdf/2004lyon049.pdf

Svendsen K., Sondergaard ASC., 2014. Hair and saliva as biomarkers for stress evaluation in Labrador retrievers in relation to HD scores. [PhD Thesis.] University of Copenhagen, Denmark. www.foodanimalbiosciences.org/uploads/2/4/2/6/24266896/dogs_and_hip_dysplasia.pdf

Szeto A., Gonzales J.A., Spitzer S.B., Levine J.E., Zaias J., Saab P.G., Schneiderman N., McCabe P.M., 2004. Circulating levels of glucocorticoid hormones in WHHL and NZW rabbits: circadian cycle and response to repeated social encounter. *Psychoneuroendocrinology*, vol. 29, no 7, p. 861-866. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306453003001537

Titto C.G., Negrão J.A., Titto E.A.L., Canaes T.S., Titto R.M., Pereira A.M.F., 2013. Effects of an evaporative cooling system on plasma cortisol, IGF-I, and milk production in dairy cows in a tropical environment. *International Journal of Biometeorology*, vol. 57, p. 299-306. https://link.springer.com/article/10.1007/s00484-012-0554-6

Tornhage C.J., 2011. Reference Values for Morning Salivary Cortisol Concentrations in Healthy School-aged Children. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, vol. 15, no 2, p. 197-204. https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/JPEM.2002.15.2.197/html

Trevisan C., Montillo M., Prandi A., Mkupasi E.M., Ngowi H.A., Johansen M.V., 2017. Hair cortisol and dehydroepiandrosterone concentrations in naturally Taenia solium infected pigs in Tanzania. *General and Comparative Endocrinology*, vol. 246, p. 23-28. https://doi.org/10. 1016/j.ygcen.2017.03.007.

Vandenheede M., 2003. Bien-être animal: les apports de l'Ethologie. In : Annales de médecine vétérinaire. p. 17-22. http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2003_147_1_02.pdf

Van Houtert E., Endenburg N., Vermetten E & T. Bas Rodenburg., 2022. Hair Cortisol in Service Dogs for Veterans with Post-traumatic Stress Disorder Compared to Companion Dogs (Canis Familiaris) https://pdfs.semanticscholar.org/6d3f/6ff517ccdad64595a2d5c668b62f4a64923e.pdf

Veissier I et Boissy A., 2007. Stress and welfare: Two complementary concepts that are intrinsically related to the animal's point of view. *Physiology & behavior*, vol. 92, no 3, p. 429-433. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031938406004926

Visser E.K., Ellis A.D, Van Reenen C.G., 2008. The effect of two different housing conditions on the welfare of young horses stabled for the first time. *Applied Animal Behaviour Science*, vol. 114, no 3-4, p. 521-533. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168159108000725

Vogeser M., Kratzsch J., JU B., Yoon et al., 2017. Multicenter performance evaluation of a second generation cortisol assay. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), vol. 55, no 6, p. 826-835. https://www.researchgate.net/publication/311159765_Multicenter_performance_evaluation_of_a_second_generation_cortisol_assay

Westlund K., Fernstrom A.L., Wergard EM et al., 2012. Physiological and behavioural stress responses in cynomolgus macaques (Macaca fascicularis) to noise associated with construction work. *Laboratory Animals*, vol. 46, no 1, p. 51-58. https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1258/la.2011.011040

X.Manteca., E mainau., DTemple., 2013. Stress chez les animaux d'élevage : Concept et effets sur la production. *FAWEC, Fiche technique sur le bien-être des animaux de rente, n*, p. 2. https://www.fawec.org/media/com_lazypdf/pdf/fs6-fr.pdf

Yamada J., Stevens B., de Silva N., Gibbins S., Beyene J., Taddio A., Newman C., Koren G., 2007. Hair cortisol as a potential biologic marker of chronic stress in hospitalized neonates. *Biology of the Neonate*, vol. 92, no 1, p. 42-49. https://karger.com/neo/article-abstract/92/1/42/228095/Hair-Cortisol-as-a-Potential-Biologic-Marker-of?redirectedFrom=fulltext