

# ETUDE DU COLOSTRUM ET DU TRANSFERT PASSIF DE L'IMMUNITÉ DANS L'ESPÈCE CANINE

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

*par*

**GONNIER Milène**

Née, le 4 juin 1988 à Besançon (25)

Et

**ROSSIG Lisa**

Née, le 17 février 1989 à Agen (47)

---

**Directeur de thèse : Mme Sylvie CHASTANT-MAILLARD**

---

## JURY

PRESIDENT :

**M. Antoine BLANCHER**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

**Mme Sylvie CHASTANT-MAILLARD**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Mme Séverine BOULLIER**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



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

**Directeur** : M. A. MILON

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

**Professeurs honoraires** :

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

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

M. AUTEFAGE André, *Pathologie chirurgicale*  
M. CORPET Denis, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*  
M DELVERDIER Maxence, *Anatomie Pathologique*  
M. ENJALBERT Francis, *Alimentation*  
M. EUZEBY Jean, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*  
M. FRANC Michel, *Parasitologie et Maladies parasitaires*  
M. MARTINEAU Guy, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*  
M. PETIT Claude, *Pharmacie et Toxicologie*  
M. REGNIER Alain, *Physiopathologie oculaire*  
M. SAUTET Jean, *Anatomie*  
M. SCHELCHER François, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

**PROFESSEURS 1° CLASSE**

M. BERTHELOT Xavier, *Pathologie de la Reproduction*  
M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*  
Mme CLAUW Martine, *Pharmacie-Toxicologie*  
M. CONCORDET Didier, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*  
M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie des ruminants*  
M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 2° CLASSE**

Mme BENARD Geneviève, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*  
Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, *Pathologie de la Reproduction*  
M. DUCOS Alain, *Zootéchnie*  
M. DUCOS DE LAHITTE Jacques, *Parasitologie et Maladies parasitaires*  
Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*  
M. GUERRE Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*  
Mme HAGEN-PICARD Nicole, *Pathologie de la Reproduction*  
M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. LIGNEREUX Yves, *Anatomie*  
M MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*  
M. PICAVET Dominique, *Pathologie infectieuse*

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

#### **PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

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

#### **MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE**

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

#### **MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)**

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

#### **MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS**

M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*  
Mme **FERNANDEZ Laura**, *Pathologie de la reproduction*

#### **ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS**

Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*  
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie*  
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*  
Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*  
M **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
Mme **WARET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcin*

# REMERCIEMENTS

## **Au président de thèse,**

**Monsieur le Professeur Antoine BLANCHER**

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Chef de service du laboratoire d'*Immunologie*,

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

Homages respectueux.

## **Au jury de thèse,**

**A Madame le Professeur Sylvie CHASTANT-MAILLARD**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Pathologie de la reproduction*,

Qui nous a confié ce sujet et guidé dans l'élaboration de ce travail,

Pour son soutien, sa patience et sa gentillesse,

Sincères remerciements.

**A Madame le Docteur Séverine BOULLIER**

Maitre de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Immunologie*

Qui a très aimablement accepté de faire partie de notre jury de thèse,

Sincères remerciements.

À mes parents, sans qui toute cette aventure n'aurait pas été possible. Pour votre soutien sans faille, autant financier que moral, malgré tous les coups durs rencontrés. Pour vos encouragements permanents, votre écoute, et pour avoir cru en moi depuis le début, un gros merci.

À mes sœurs, Claire et Laure, qui m'avez toujours supportée malgré la distance ; un gros merci à vous, je vous souhaite de réussir tous vos jolis projets en cours et à venir !

À Pépère et Dede, pour vos encouragements, et parce que je sais que vous êtes heureux d'être ici avec moi aujourd'hui.

À Xavier, pour tout ton amour, et ton soutien quotidien sans faille durant ces dernières années. J'espère en passer beaucoup d'autres à tes côtés.

À Lisa, pour ce travail effectué ensemble, dans la joie et la bonne humeur, et pour ces bons moments passés ensemble, en clinique ou ailleurs.

À Floriane (mon fidèle binôme !), Lisa, Marion, Cécile, Nathalie, Marine, parce que vous m'avez apporté énormément durant ces années d'école, et que vous me manquez déjà !

À Julien, pour tes potins et nos longues discussions ; à Michou pour ta bonne humeur ; à Emilie, pour tes récits de voyages qui font rêver, et pour ces années passées à rire ensemble.

À Marine (et Nini, même si tu n'es plus là, je sais que tu aurais été fier de moi) pour tous ces bons moments passés à St Hilaire.

À mes parents, pour leur soutien inconditionnel et pour avoir cru en moi. À Pierre également pour son soutien.

À mes frères, Thomas et Stéphan pour m'avoir soutenue et encouragée de leur propre façon.

À Opa, pour tes encouragements malgré la distance qui nous sépare.

À Toinou, pour tout ton amour et pour toujours avoir été là pour moi.

À Milène, pour avoir été ma cothésarde préférée. Merci pour ta patience et ta bonne humeur.

À Marion (ma binôme), Marine (ma tête en l'air préférée), Cécile, Florianne, Nathalie, Emilie et Pascale, pour nos fou rire et pour les séances de soutien moral pendant ces dernières années !

À Charlène, Audrey, Cannelle, Mathilde et Tana, pour toujours avoir été là, vous resterez mes toujours mes boulettes préférées.

À Nemelie, Dindosaure, Mika, Ludo, Thibaut, Samy et tous les autres qui ont toujours cru en moi et qui ont rendu ma vie plus joyeuse ces dernières années.

Au Dr Boucquet pour m'avoir transmis la passion de ce métier et à M. Blazy pour m'avoir permis d'y arriver.

À Hanna, pour ton aide sur les prélèvements et la suite, et pour ton éternelle gentillesse et ta bonne humeur. Et à Jennyfer, Mayliss et Annemette, pour votre aide sur les prélèvements à Tangry.

À Bruno et Anne pour leur accueil chaleureux et pour nous avoir appris beaucoup de choses.

# SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX	13
LISTE DES ABREVIATIONS	14
INTRODUCTION	15
1. BIBLIOGRAPHIE : LE COLOSTRUM CANIN	16
1.1. Formation et composition du colostrum canin	16
1.1.1. Rappels sur les immunoglobulines	16
1.1.1.1. Structure générale et rôles	16
1.1.1.2. Immunoglobulines G	16
1.1.1.3. Immunoglobulines M	17
1.1.1.4. Immunoglobulines A	17
1.1.1.5. Les immunoglobulines dans le sang des chiens adultes	18
1.1.2. Composition du colostrum canin	19
1.1.2.1. Protéines	19
1.1.2.1.1. Immunoglobulines	19
1.1.2.1.2. Autres composants protéiques	20
1.1.2.2. Lipides	21
1.1.2.3. Glucides	21
1.1.2.4. Vitamines et minéraux	21
1.1.2.5. Eléments cellulaires	21
1.1.2.6. Autres composants colostraux	21
1.1.2.7. Bilan comparatif du colostrum et du lait	21
1.1.3. Production du colostrum et facteurs de variation	22
1.2. Rôles du colostrum	23
1.2.1. Nutrition du chiot	23
1.2.2. Immunité systémique	24
1.2.2.1. Mécanismes d'absorption des immunoglobulines	24
1.2.2.2. Fermeture de la barrière digestive	24
1.2.2.3. Facteurs de variation du transfert passif de l'immunité	25
1.2.2.4. Immunité spécifique apportée par le colostrum	26
1.2.3. Immunité locale	27
1.2.4. Risques	27
2. ETUDE EXPERIMENTALE	28
2.1. Matériel et méthode	28
2.1.1. Animaux	28
2.1.2. Prélèvements	30
2.1.2.1. Prélèvements sur les mères	30
2.1.2.2. Prélèvements sur les chiots	30

2.1.3.	Réfractométrie sur le colostrum	30
2.1.4.	Dosage des immunoglobulines G colostrales et sériques	30
2.1.4.1.	Principe	30
2.1.4.2.	Protocole	31
2.1.5.	Analyse statistique	32
2.2.	Le colostrum	33
2.2.1.	Moyenne de la concentration en IgG dans le colostrum chez le chien et variabilité entre les chiennes	33
2.2.2.	Facteurs de variation	33
2.2.2.1.	L'âge	33
2.2.2.2.	La race	35
2.2.2.3.	La taille de la portée	35
2.2.2.4.	Le numéro de la mamelle	36
2.2.2.5.	Les IgG sériques de la mère	41
2.2.2.6.	La densité optique	41
2.3.	Le transfert passif de l'immunité au chiot	42
2.3.1.	Concentration sérique en IgG chez le chiot et variabilité entre les chiots	42
2.3.2.	Un seuil critique de concentration sérique en IgG	42
2.3.3.	Facteurs de variation	43
2.3.3.1.	La concentration en IgG colostrales	43
2.3.3.2.	La race	44
2.3.3.3.	Le poids de naissance	45
2.3.3.4.	La taille de la portée	46
2.3.3.5.	Le sexe	47
2.3.3.6.	Le moment de la naissance (de jour ou de nuit)	48
2.3.3.7.	La concentration sérique en IgG de la mère	48
2.3.4.	Conséquences du déficit	50
2.3.4.1.	La morbidité	50
2.3.4.2.	La mortalité	51
2.3.4.3.	La croissance	52
3.	DISCUSSION	56
3.1.	Limites de l'étude	56
3.1.1.	Population étudiée et collecte d'informations	56
3.1.2.	Données manquantes	56
3.1.3.	Pistes alternatives	57
3.2.	Analyses des résultats	58
3.2.1.	Comparaison avec les données de la littérature (chiens et autres espèces domestiques)	58
3.2.1.1.	La concentration en IgG dans le colostrum canin	58
3.2.1.2.	Facteurs de variation de la qualité colostrale	59
3.2.1.3.	La concentration sérique en IgG des nouveau-nés	62
3.2.1.4.	Facteurs de variation de la concentration sérique des jeunes	62

3.2.2. Conséquences pratiques et perspectives	66
CONCLUSION	68
BIBLIOGRAPHIE	72
ANNEXES	79

# LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure générale d'une Ig, d'après Tizard (2011) .....	16
Figure 2 : Structure d'une Ig M, d'après Tizard (2011) .....	17
Figure 3 : IgA sous forme de dimère, d'après Tizard (2011) .....	18
Figure 4 : Structure d'une Ig A sécrétoire, d'après Tizard (2011).....	18
Figure 5 : Distribution des concentrations moyennes en IgG colostrales par chienne (n=43).	33
Figure 6 : Concentrations colostrales en IgG selon l'âge des mères (n=41) .....	34
Figure 7 : Concentration colostrale en IgG selon l'âge des mères (n=41) .....	34
Figure 8 : Concentration colostrale en IgG selon le format racial (n=44) .....	35
Figure 9 : Corrélation entre la concentration colostrale en IgG selon le nombre de chiots nés vivants .....	35
Figure 10 : Concentration colostrale en IgG en fonction de la .....	36
Figure 11 : Concentrations en IgG sur les différentes mamelles et variabilité (n=43).....	37
Figure 12 : Ecart-types des concentrations colostrales en IgG des différentes paires de mamelles (n=43).....	37
Figure 13 : Moyenne des valeurs extrêmes (n = 43) .....	38
Figure 14 : Différence entre les valeurs extrêmes de concentration en IgG selon le format racial des mères (n=44) .....	39
Figure 15 : Moyenne des écart-types des concentrations colostrales en IgG entre les mamelles selon l'âge (n=41) .....	39
Figure 16 : Coefficient de variation de la concentration colostrale en IgG selon l'âge des mères (n=41) .....	40
Figure 17 : Moyenne des valeurs extrêmes des concentrations colostrale.....	40
Figure 18 : Concentration colostrale en IgG en fonction de la concentration sérique des mères en IgG à J1 (n=43).....	41
Figure 19 : Concentration en IgG en fonction de la densité optique du colostrum (n=41).....	41
Figure 20 : Distribution de la concentration en IgG sériques des chiots à J2 (n = 108 chiots)	42
Figure 21 : Relation entre la concentration sérique en IgG des chiots à J2 et la concentration en IgG du colostrum de leur mère (n=108 chiots ; m = 34 mères) .....	43
Figure 22 : Relation entre la concentration en IgG sériques moyenne des portées à J2 .....	43

Figure 23 : Concentration sérique en IgG des chiots à J2 en fonction de la concentration colostrale de leur mère (n = 44 mères, n = 107 chiots) .....	44
Figure 24 : Concentration sérique en IgG des chiots à J2 en fonction de la taille de la race (n= 108 chiots) .....	45
Figure 25 : Concentration sérique des chiots en IgG à J2 en fonction de leur poids de naissance (n = 79 chiots) .....	45
Figure 26 : Concentration sérique en IgG à J2 en fonction du quartile de naissance (n = 79 chiots) .....	46
Figure 27 : Concentration en IgG sérique des chiots à J2 en fonction de la taille de leur portée .....	47
Figure 28 : Concentration en IgG sériques des chiots à J2 selon le sexe (n = 79 chiots) .....	47
Figure 29 : Concentration en IgG sériques des chiots à J2 selon le moment de naissance (n = 79 chiots, 28 portées) .....	48
Figure 30 : Relation entre la concentration sérique en IgG des chiots à J2 en fonction de celle de leurs mères (à J1) (n = 108 chiots, n = 34 mères).....	49
Figure 31 : Relation entre la concentration sérique en IgG chiots à J2 et celle .....	49
Figure 32 : Concentration sérique en IgG à J2 en fonction du statut sanitaire (n= 79 chiots) .	50
Figure 33 : Taux de morbidité en fonction du seuil critique .....	50
Figure 34 : Concentration sérique en IgG en fonction de la mortalité (n= 79 chiots) .....	51
Figure 35 : Taux de mortalité en fonction du seuil critique .....	51
Figure 36 : Concentration sérique des chiots en IgG à J2 en fonction de l'évolution du poids entre J1 et J2 (n = 79 chiots) .....	52
Figure 37 : Concentration sérique des chiots en IgG à J2 en fonction de l'évolution du poids entre J1 et J7 (n = 74 chiots) .....	53
Figure 38 : Concentration sérique des chiots en IgG à J2 en fonction de l'évolution du poids entre J1 et J14 (n = 70 chiots) .....	53
Figure 39 : Concentration sérique des chiots en IgG à J2 en fonction de l'évolution du poids entre J1 et J28 (n = 69 chiots) .....	54
Figure 40 : Concentration sérique des chiots en IgG à J2 en fonction de l'évolution du poids entre J1 et J56 (n = 66 chiots) .....	54
Figure 41 : Effet de la parité sur la concentration colostrale en IgG (Quesnel, 2011), n= 56 truies .....	59
Figure 42 : Concentration colostrale en immunoglobulines (g/L) chez des vaches de race Holstein, Jersey et des races à viande croisées. (Besser et Gay, 1994) .....	60

Figure 43 : relation entre la production colostrale (sur 24h) et le nombre de porcelets (Quesnel, 2011) (n = 72 truies) .....	60
Figure 44 : relation entre le poids de la portée et la production colostrale de la mère sur 24h (Quesnel, 2011) (n = 72 truies) .....	61
Figure 45 : Effet de la concentration colostrale en IgG sur la concentration sérique des porcelets .....	63

# **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1 : Concentration sérique des immunoglobulines chez le chien adulte .....	19
Tableau 2 : Concentration colostrale des immunoglobulines chez le chien.....	20
Tableau 3 : Concentration moyenne en nutriments au cours de la lactation chez la chienne (Adkins et al., 2001 ; Bertieri, 2012).....	22
Tableau 4 : Répartition des chiots en quartiles de naissance en fonction du poids de naissance .....	29
Tableau 5 : Anticorps de coating et de révélation .....	31
Tableau 6: Dilution des gammes .....	31
Tableau 7 : Dilution des échantillons .....	32
Tableau 8 : Corrélations ( $R^2$ ) entre la concentration sérique en IgG à J2 et la prise de poids (absolue ou relative) selon la méthode de calcul et les jours de pesée.....	55

# **LISTE DES ABREVIATIONS**

Ag : antigène

Ig : immunoglobuline

IGF : insulin-like growth factor

IgG : immunoglobuline G

$\gamma$ GT :  $\gamma$  glutamyltransférase

# **INTRODUCTION**

Lors de sa naissance, le chiot est quasiment agammaglobulinémique, c'est-à-dire qu'il n'a que très peu d'immunoglobulines circulantes dans son sang (Bouchard et al., 1992). On trouve chez le nouveau-né seulement 1 à 7%, selon les auteurs, du taux d'Ig attendu afin d'assurer une bonne protection (Poffenbarger et al., 1991 ; Bouchard et al., 1992 ; Day, 2007). Ce faible taux d'Ig circulantes à la naissance est lié au type de placentation (en quatre couches) rencontrée chez le chien, qui ne laisse pas passer les protéines de haut poids moléculaire de la mère vers le chiot (Tizard, 2011).

Le chiot ne sera capable de produire ses propres immunoglobulines qu'à partir de l'âge de trois semaines environ (Day, 2007).

La conséquence de cette pauvreté en immunoglobulines sériques à la naissance est que le chiot dépend des immunoglobulines qu'il va ingérer et absorber dans les premières heures de sa vie via le colostrum de sa mère. Dans d'autres espèces dont les nouveau-nés sont également agammaglobulinémiques, ces nouveau-nés privés de colostrum, ou en ayant reçu en quantité insuffisante, ont des risques de morbidité et de mortalité avant le sevrage plus élevés que ceux ayant reçu un transfert de l'immunité adéquat (Quigley, 2004). Ceci a récemment été démontré également dans l'espèce canine par les travaux de Mila et al. (2012). On introduit donc la notion de Déficit de Transfert de l'Immunité Passive (DTIP) qui se définit par un taux d'IgG circulants en dessous duquel le risque de mortalité se trouve significativement augmenté. Le chiot doit donc absorber une quantité suffisante d'Ig afin d'être mieux protégé et avoir plus de chances de survie. Comme chez les bovins, cette absorption d'Ig dépend de plusieurs paramètres : la qualité du colostrum produit par sa mère, et notamment sa teneur en Ig ; la capacité du chiot à ingérer un volume suffisant de colostrum ; la précocité de la prise colostrale après la naissance et enfin sa capacité à absorber les protéines de grandes tailles qu'il a ingérées (Besser et Gay, 1994).

Notre étude a plusieurs objectifs. Nous avons tout d'abord souhaité évaluer la teneur du colostrum en IgG et les facteurs de variation de cette qualité immunologique. Nous avons ensuite voulu étudier les facteurs influençant l'absorption des Ig par le chiot. Ceci dans le but d'identifier les facteurs importants pour pouvoir améliorer le transfert passif de l'immunité dans les élevages canins, et ainsi minimiser les pertes (défaut de croissance, maladie ou mort) entre la naissance et le sevrage.

Nous allons commencer par quelques rappels sur le colostrum canin et son absorption par les chiots. Puis nous aborderons les résultats de notre étude, concernant les facteurs de variation de la qualité colostrale puis de l'absorption des IgG par les chiots. Une comparaison des résultats obtenus avec ceux existants dans la littérature sera ensuite effectuée, pour finir sur les perspectives ouvertes par ces résultats.

# **1. Bibliographie : le colostrum canin**

## **1.1. Formation et composition du colostrum canin**

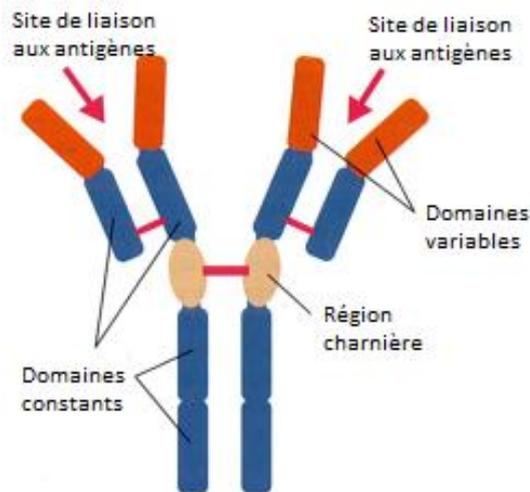
### **1.1.1. Rappels sur les immunoglobulines**

#### **1.1.1.1. Structure générale et rôles**

Les Ig sont des glycoprotéines faisant partie de la réponse immunitaire à médiation humorale. Chaque Ig est spécifique d'un antigène qu'elle est capable de neutraliser.

Il existe différentes classes d'Ig, mais toutes ont une structure de base en commun : elles sont composées de deux chaînes lourdes (H) et deux chaînes légères (L), liées par des ponts disulfures. Leur structure secondaire leur donne une forme en Y (Mix et al., 2006).

Les Ig possèdent une région constante à l'extrémité du Y qui permet leur reconnaissance en tant qu'Ig et leur adhésion à la membrane des cellules phagocytaires. Les deux branches montantes du Y sont des régions variables, qui permettent la reconnaissance et la fixation d'une multitude d'Ag différents (Euzéby, 2009 ; figure 1).



**Figure 1 : Structure générale d'une Ig, d'après Tizard (2011)**

Le rôle des Ig est de reconnaître les Ag, de les fixer et de former des précipités ou des agglutinats plus simples à présenter au système immunitaire. Elles peuvent parfois neutraliser les Ag par fixation sur la zone productrice de toxine ou sur la zone d'adhérence cellulaire par exemple (Euzéby, 2009).

Parmi les cinq classes d'Ig qui existent, nous nous intéresseront seulement aux trois que l'on peut retrouver dans le colostrum et le lait de chienne, à savoir les Ig G, Ig A et Ig M (Tizard, 2011).

#### **1.1.1.2. Immunoglobulines G**

Les IgG sont les Ig les plus représentées dans le sérum canin. On en trouve environ 9,8 g/L (Heddle et Rowley, 1975). Elles sont composées de deux chaînes légères et deux chaînes

lourdes selon la structure classique des Ig (figure 1), et possèdent donc deux sites identiques de reconnaissance et de fixation des Ag.

Les Ig G agissent comme anticorps précipitants, mais participent aussi à la neutralisation virale ou de l'opsonisation bactérienne (Tizard, 2011).

Chez le chien, on dénombre quatre sous-types d'Ig G (Ig G1 à Ig G4). Leur poids moléculaire est d'environ 180 kD, ce qui leur permet de diffuser rapidement dans l'espace extravasculaire, notamment lors d'inflammation en raison de l'augmentation de la perméabilité vasculaire associée (Tizard, 2011).

La placentation endothéliochoriale du chien ne permet qu'un passage limité des protéines. On estime qu'environ 1 à 7 % des Ig G du chiot nouveau-né sont transmis par voie transplacentaire (Poffenbarger et al. 1991 ; Bouchard et al., 1992).

### 1.1.1.3. Immunoglobulines M

Les IgM sont la seconde classe d'Ig présentes dans le sang des chiens. Leur concentration sérique moyenne est estimée à 1,7 g/L (Heddle et Rowley, 1975). Ce sont des structures pentamériques, composées de cinq Ig regroupées autour d'une chaîne J. Ceci leur confère donc dix sites identiques de reconnaissance des Ag (figure 2).

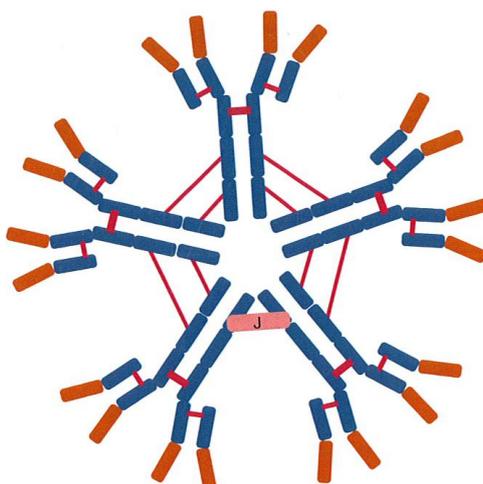


Figure 2 : Structure d'une Ig M, d'après Tizard (2011)

Les Ig M sont les premières à apparaître lors de l'exposition de l'organisme à un nouvel Ag. Elles sont en revanche produites en moins grande quantité que les IgG, et ne permettent donc pas seules de contrôler l'infection.

Le poids moléculaire des Ig M avoisine les 900 kD. Ceci explique qu'elles ne sortent que très rarement du système vasculaire, et en particulier ne traversent pas la barrière placentaire (Tizard, 2011).

### 1.1.1.4. Immunoglobulines A

Dans le sérum des chiens adultes, on trouve environ 0,5 g/L d'Ig A (Heddle et Rowley, 1975), sous forme de monomères (un seul monomère d'Ig avec deux sites de reconnaissance d'Ag ; figure 1) ou de dimères (deux Ig liées par une protéine J ; figure 3).

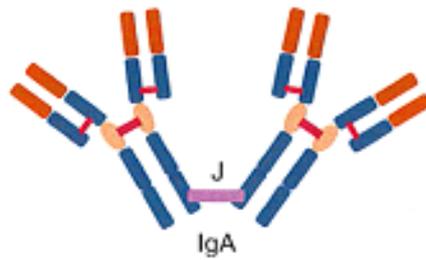


Figure 3 : IgA sous forme de dimère, d'après Tizard (2011)

Les Ig A se retrouvent principalement dans les sécrétions sous forme d'IgA sécrétoires. Lors de la production d'IgA dans les sécrétions, un composant sécrétoire est associé aux dimères pour former les IgA sécrétoires (figure 4). Ce composant sécrétoire protège les Ig A de la digestion par les enzymes digestives (Tizard, 2011).

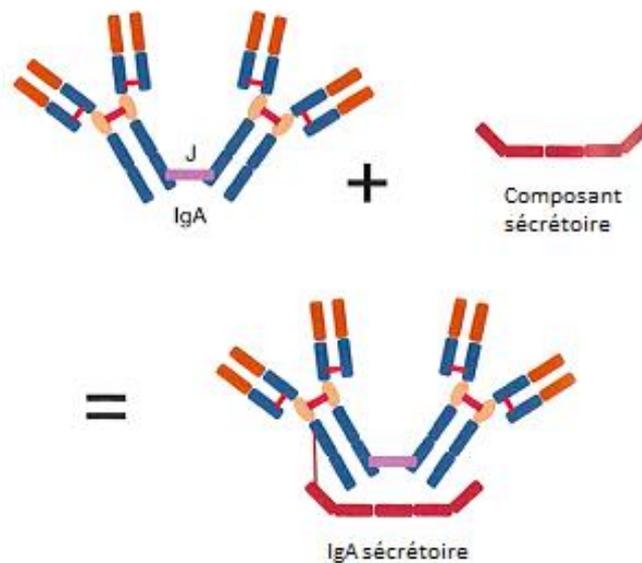


Figure 4 : Structure d'une Ig A sécrétoire, d'après Tizard (2011)

Les Ig A sécrétoires sont présentes dans les sécrétions de l'intestin, de l'arbre respiratoire, de la peau, du système urinaire, des yeux et des glandes mammaires. Elles ont un rôle de protection locale contre les infections : leur pouvoir d'agrégation des Ag empêche les bactéries et virus d'adhérer aux cellules (Tizard, 2011).

Elles ont un poids moléculaire d'environ 360 kD, et sont plus résistantes à la protéolyse grâce à leur composant sécrétoire. Elles ne traversent pas non plus la barrière placentaire.

### 1.1.1.5. Les immunoglobulines dans le sang des chiens adultes

On trouve très majoritairement des Ig G dans le sang des chiens adultes, suivi par des Ig M puis des Ig A. Leur concentration varie assez peu selon les auteurs (tableau 1).

**Tableau 1 : Concentration sérique des immunoglobulines chez le chien adulte**

Auteurs	Nombre de chiens	IgG (g/L)	IgM (g/L)	IgA (g/L)
Heddle et Rowley (1975)	2 à 4	9,8 (5,2-17,3)	1,7 (0,7-2,7)	0,5 (0,2-1,2)
Reynolds et Johnson (1970d)	35 chiennes croisées	7,7 (1,2-14)	1,4 (0,8-2,1)	0,8 (0,3-2,4)
Reynolds et Johnson (1970d)	37 chiennes pures races	9,2 (2,6-10,2)	1,6 (0,7-3,0)	0,8 (0,4-2,4)
Poffenbarger (1991)	6	21	1,6	2,0
Person (1978)	ND	10 à 14	1,5	0,8

## 1.1.2. Composition du colostrum canin

Le colostrum est la première sécrétion mammaire produite après la mise-bas. Il est formé et accumulé dans la mamelle lors du dernier tiers de gestation, avec un maximum de production observé dans les derniers jours avant la mise-bas. Cette sécrétion mammaire subit progressivement des modifications dans sa composition pour devenir du lait en deux à sept jours (Segalini, 2007).

Pour le chiot, c'est principalement une source d'Ig, d'énergie et de nutriments.

### 1.1.2.1. Protéines

Le colostrum canin contient 143 g/L de protéines. La teneur en protéines diminue ensuite fortement dans les trois premiers jours après la mise-bas, jusqu'à 102 g/L (Adkins et al., 2001).

#### 1.1.2.1.1. Immunoglobulines

Dans le colostrum canin, on trouve au premier jour de lactation entre 15 et 30 g/L d'Ig totales (soit 37% des protéines totales du colostrum d'après Schäfer-Somi et al. (2005a), 20% pour Bebiak et al. (1987)). Cette concentration diminue progressivement dans les 7 premiers jours pour retrouver seulement 1 à 2 g/L d'Ig totales dans le lait (Heddle et Rowley, 1975). Les Ig G sont majoritaires dans le colostrum le jour de la mise-bas (Tableau 2) : elles représentent 65 % des Ig, contre 33 % pour les Ig A et 2 % pour les Ig M (Schäfer-Somi et al., 2005a). Ce rapport évolue rapidement au cours du temps, puisqu'on retrouve majoritairement des IgA dans le lait (Heddle et Rowley, 1975). La concentration en IgG décroît dans les premiers jours de lactation.

**Tableau 2 : Concentration colostrale des immunoglobulines chez le chien**

Auteurs	Nombre de chiens	IgG colostrales	IgA colostrales	IgM colostrales
Schäfer Somi et al. (2005a)	6	19,3 ± 20,9	9,9 ± 4,3	0,6 ± 0,2
Norcross (1982)	ND	6,94	3,31	2,17
Person et al. (1978)	ND	14,6	2,2	ND

La majorité des Ig G provient du sérum de la mère ; une petite fraction semble être produite localement dans la mamelle (Larson et al., 1980). Une concentration sélective s'effectue dans la mamelle au cours du dernier tiers de gestation, jusqu'à la mise-bas, avec un maximum d'activité observé dans les quinze jours précédant la mise-bas chez les bovins (Levieux, 1984). Cette concentration sélective, sous contrôle endocrinien, s'effectue grâce à une reconnaissance du fragment constant des Ig G, entraînant l'endocytose de ces glycoprotéines, qui sont ensuite relarguées dans la lumière des alvéoles mammaires (Hunziker et Kraehenbuhl, 1998 ; Hurley et Theil, 2011). Ce phénomène se répercute au niveau de la mère par une baisse de concentration des IgG sérique. (Besser & Gay, 1994 ; Bertieri, 2012).

Les Ig M et Ig A semblent en revanche majoritairement produites localement dans la mamelle par les lymphocytes (Bourne, 1977).

#### ***1.1.2.1.2. Autres composants protéiques***

Nous avons évoqué plus haut la forte teneur du colostrum en Ig, mais on y trouve aussi d'autres protéines qui lui sont moins spécifiques. Au premier jour de lactation, la caséine représente 61% des protéines colostrales (Adkins et al., 2001), et on trouve environ 20 g/L d'albumine (Schäfer-Somi et al., 2005a).

Le colostrum contient également des acides aminés. On trouve par exemple au premier jour de lactation environ 0,301 mM/L de leucine, et 0,170 mM/L d'alanine. La concentration en acides aminés est plus importante dans le colostrum que dans le lait ; cette concentration diminue fortement entre J1 et J3, puis reste constante sur le reste de la lactation (Adkins et al., 2001).

On trouve également d'autres protéines comme des inhibiteurs de la trypsine, dont la présence diminue la protéolyse intestinales des Ig, augmentant ainsi leur absorption par le nouveau-né (Levieux, 1984 ; Crawford et al., 2003). Ce composant n'est pas retrouvé dans le lait.

Des facteurs antimicrobiens sont également retrouvés dans le colostrum, avec par exemple la présence de lactoferrine et de lysozymes, qui inhibent le développement bactérien et protègent ainsi les chiots de la multiplication de pathogènes dans le tube digestif du chiot et de l'adhésion bactériennes aux cellules de la muqueuse digestive (Adkins et al., 2001 ; Wheeler et al., 2007).

### **1.1.2.2. Lipides**

On trouve dans le colostrum canin 132 g/L de lipides au premier jour de lactation. Ce taux lipidique évolue peu au cours de la lactation : on trouve tout au long de la lactation entre 110 et 135 g/L de lipides (Adkins et al., 2001).

### **1.1.2.3. Glucides**

Le taux de lactose est assez faible dans le colostrum comparé à celui du lait. On trouve en effet 10 à 16 g/L de lactose dans le colostrum, contre 35 à 40 g/L sur le reste de la lactation (Hands et al., 2000 ; Adkins et al., 2001).

### **1.1.2.4. Vitamines et minéraux**

Le colostrum est plus riche en matières minérales que le lait (Le Berre, 1996). On y trouve en particulier du calcium lié aux caséines, du cuivre, du phosphore et du fer. Ce dernier est environ dix fois plus concentré dans le colostrum que dans le sérum de la mère chez le chien (Lonnerdal et al., 1981), ce qui n'est pas le cas dans les autres espèces où l'on trouve des concentrations similaires dans le sérum maternel et dans le colostrum.

On trouve également d'autres minéraux tels que le zinc et le magnésium dans le colostrum du chien (Adkins et al., 2001).

Le colostrum canin possède aussi une forte teneur en vitamines (notamment A, B1, B2 et C) qui sont nécessaires au chiot nouveau-né (Levieux, 1984).

### **1.1.2.5. Eléments cellulaires**

Des éléments cellulaires sont aussi présents dans le colostrum. On y trouve des macrophages, des granulocytes neutrophiles et des lymphocytes, qui sont fonctionnels (Cortese, 2001). Ces cellules ont un rôle dans l'immunité locale à médiation cellulaire (Stokes et Bourne, 1989). Ces éléments cellulaires présents dans le colostrum canin ont également une fonction de relargage d'IgA en cas de présence de pathogène digestif (Slade et Schwartz, 1987).

### **1.1.2.6. Autres composants colostraux**

Sont présents dans le colostrum bovin d'autres éléments comme l'hormone de croissance (GH), des Insulin-like Growth Factors (IGF) et des enzymes dont les phosphatases alcalines (PAL) et les  $\gamma$ glutamyltransférases ( $\gamma$ GT). Ces facteurs favorisent le développement intestinal, la production enzymatique et la croissance du nouveau-né (Levieux, 1984).

Dans le colostrum canin, certaines enzymes (notamment PAL et ALAT) ont été mises en évidence (Center et al., 1991). Il n'existe pas de données concernant les autres composants colostraux chez le chien.

### **1.1.2.7. Bilan comparatif du colostrum et du lait**

Le colostrum est une sécrétion mammaire caractérisée par une plus forte teneur en protéines, notamment en immunoglobulines, et une plus faible teneur en glucides et lipides que le lait (Levieux, 1984 ; Bebiak et al., 1987 ; Adkins et al., 2001 ; Schäfer-Somi et al.,

2005a) ; (tableau 3). La transition du colostrum au lait se fait entre le deuxième et le troisième jour de lactation (Bebiak et al.,1987).

**Tableau 3 : Concentration moyenne en nutriments au cours de la lactation chez la chienne (Adkins et al., 2001 ; Bertieri, 2012)**

<b>Nutriments</b>	<b>Jours de lactation</b>			
	1	3	7	14
Protéines (g/L)	143,0	102,3	81,7	66,8
Lipides (g/L)	132,2	137,2	132,1	118,5
Lactose (g/L)	16,7	29,3	35,4	39,9
Calcium (mg/L)	1363	1366	1773	1950
Phosphore (mg/L)	935	914	1166	1175
Energie (kCal/L)	1331	1761	1657	1493

### **1.1.3. Production du colostrum et facteurs de variation**

Il n'existe actuellement pas de données quant à la quantité de colostrum produite par les chiennes et leurs facteurs de variations.

Il n'y a pas de lien significatif entre le nombre de chiots de la portée et la concentration du colostrum en Ig. De même, le poids moyen des chiots ou le poids total de la portée n'ont pas d'influence sur la concentration colostrale des Ig. La vaccination de la mère n'a pas été montrée comme facteur influençant la qualité du colostrum (Bertieri, 2012).

## **1.2. Rôles du colostrum**

### **1.2.1. Nutrition du chiot**

Le chiot nouveau-né est dépourvu de poils, de vue, d'ouïe, et ses réserves énergétiques sont limitées. Ce qui en fait un être extrêmement vulnérable. La mortalité néonatale dans l'espèce canine (définie comme la mortalité rencontrée dans les 3 premières semaines de vie du chiot), est d'ailleurs de 10 à 11% des chiots nés vivants et représente 68 à 92% de la mortalité totale (pré-sevrage) (Mila et al., 2012). Il sera donc primordial que le chiot bénéficie d'une protection durant les premières semaines de sa vie.

Un élément important de protection apporté par la mère sera le colostrum. Celui-ci a tout d'abord des qualités nutritionnelles importantes en matière de lipides ainsi que de vitamines et de minéraux. Cependant, ce qui le rend indispensable à la survie du chiot est la protection immunitaire qu'il lui apporte.

A la naissance le chiot ne possède qu'un système immunitaire naïf incapable de générer une réponse rapide face à une agression et, en l'absence de transfert d'immunité passive, son système immunitaire autonome ne sera capable de générer une réponse qu'au bout de 2 semaines. Ce laps de temps est beaucoup trop long pour réagir face aux agressions (Day, 2007). Pendant les premières semaines de sa vie, le chiot va être protégé par des immunoglobulines d'origine maternelle. Une faible partie de ces immunoglobulines est apportée par le passage de la barrière placentaire : à sa naissance la concentration sérique en IgG du chiot est 5% de celle d'un adulte (Day, 2007). La transmission placentaire est inversement proportionnelle au nombre de couches de tissu existant entre la mère et le fœtus (Tizard, 2011). Dans l'espèce canine, il existe 4 couches ce qui explique une transmission placentaire faible. Contrairement aux primates ayant une placentation hémochoriale à une couche, la majorité est apportée par l'ingestion du colostrum. La concentration sérique du chiot en IgG passe de 1,2 mg/mL à la naissance à 23 mg/mL 12h après l'ingestion de colostrum (Day, 2007). D'après Chastant et al. (2012), la concentration sérique en IgG à la naissance est de 0,3 mg/mL et de 20 mg/mL à 48h après ingestion du colostrum. Comme nous l'avons vu précédemment ce colostrum est extrêmement riche en Ig et plus particulièrement en IgG.

Le délai d'ingestion du colostrum par le chiot va avoir une importance primordiale dans le transfert de l'immunité et ce pour deux raisons. En effet, la concentration en IgG du colostrum va chuter rapidement dans les premières heures post-partum. Chez la truie, il a été montré que la concentration colostrale en IgG chute de 70,9 % (+/- 18,1) dans les 24h première heures post-partum (Quesnel, 2011). Heddle et Rowley (1974), avait déjà mis en évidence cette chute chez le chien. Le jour de la mise bas les chiennes avaient une concentration colostrale en Ig de 15 mg/ml qui, lors de la prochaine mesure deux jours plus tard, avait chuté 2-3 mg/ml. La seconde raison de l'importance du délai d'ingestion est la chute de la perméabilité de la barrière intestinale dans les premières heures post partum. Chez l'espèce canine, il a été démontré que la barrière intestinale est perméable principalement dans les 12 premières heures de vie du chiot, avec cependant une forte chute de cette perméabilité dans les 4 premières heures (Chastant et al., 2012).

Le délai d'ingestion et la concentration en IgG dans le colostrum, ainsi que la rapidité de croissance du chiot vont déterminer le moment où le chiot deviendra immunocompétent (Day, 2007). Cependant, dans tous les cas, la concentration sérique en IgG n'atteindra pas celle d'un adulte avant l'âge de 12 mois.

## **1.2.2. Immunité systémique**

### **1.2.2.1. Mécanismes d'absorption des immunoglobulines**

La spécificité du transfert de l'immunité par le colostrum, est que les Ig doivent passer la barrière digestive, en majorité par absorption par les cellules intestinales.

L'absorption se fait en 3 étapes :

- la fixation des Ig par la bordure en brosse des entérocytes immatures
- l'endocytose du site de fixation et formation d'une vacuole qui est transportée vers le pôle latéral ou basal de la cellule
- le contact avec la membrane cellulaire et exocytose du contenu dans la lamina propria où les Ig passent dans le système lymphatique ou la circulation porte.

Les Ig peuvent également être absorbées vers le système lymphatique ou circulant sans passer par une cellule. Ceci est possible grâce à un espacement important des entérocytes à la naissance.

Malgré la présence de sites de fixation, l'absorption des Ig est très peu sélective pour les carnivores (Staley et Bush, 1985 ; Quigley, 2004 ; Claus et al., 2006). Il est admis que chez les chiens, comme on l'a démontré chez d'autres espèces, seuls les IgG sont absorbés de façon spécifique grâce à des récepteurs à IgG (FcγRn : récepteur spécifique au site Fc des IgG chez les nouveau-nés) (Mayer et al., 2002 ; Day, 2007). La fixation à ce récepteur serait pH dépendante avec une fixation optimale à pH 6 à 6,5 (Staley et Bush, 1985). De plus, la faible concentration en enzymes protéolytiques, ainsi que la présence d'un inhibiteur de la trypsine dans le colostrum permettent une faible dégradation des Ig au niveau de la lumière digestive (Kruse, 1983 ; Day, 2007). Les Ig arrivent donc intactes dans la lumière de l'intestin grêle où a lieu l'absorption.

Chez les bovins, le complexe endocytocique est présent tout au long de l'intestin grêle (Staley et Bush, 1985). D'ailleurs, le taux d'absorption augmente le long de l'intestin grêle avec une absorption maximale en dernière portion de l'intestin grêle (Quigley, 2004).

### **1.2.2.2. Fermeture de la barrière digestive**

Au cours du temps, la barrière digestive perd sa perméabilité et n'absorbe alors plus les macromolécules dont font partie les Ig, on parle alors de « fermeture de la barrière intestinale ». Le délai de ce phénomène depuis la naissance, diffère d'une espèce à une autre, et reste peu connu pour l'espèce canine. Cependant certaines études ont montré qu'au bout de 4h de vie le taux d'absorption d'IgG est diminué de moitié et qu'il est nul au bout de 24h (Chastant et al., 2012). C'est pourquoi il va être essentiel que le chiot ingère du colostrum le plus tôt possible.

La fermeture semble s'effectuer dans le temps, de la partie proximale vers la partie distale de l'intestin grêle (Kruse, 1983). Elle se caractérise par une maturation du tractus digestif. Lors de l'ingestion du colostrum, les microvillosités de l'intestin grêle augmentent en

taille suite à l'hypertrophie des entérocytes avec vacuolisation du cytoplasme et dilatation des capillaires lymphatiques (Day, 2007). Les cellules permettant la pinocytose auparavant sont alors remplacées par des cellules plus matures qui perdent cette fonctionnalité. En plus de ce « turnover » des cellules de l'intestin grêle et l'apparition de vacuoles digestives intracellulaires, les sécrétions enzymatiques intraluminales vont dégrader les Ig avant même leur absorption cellulaire. Enfin, les vacuoles digestives intracellulaires vont dégrader les Ig absorbées, empêchant ainsi leur transport jusqu'à la circulation sanguine (Staley et Bush, 1985 ; Quigley, 2004).

Le développement d'un système digestif intracellulaire, avec des vacuoles contenant de la phosphatase acide, pourrait, d'après Staley et Bush (1985), expliquer le phénomène de fermeture de la barrière intestinale. L'absorption cellulaire ne serait donc pas le facteur limitant. Ils affirment que des substances peuvent être absorbées jusqu'à 14 jours après la naissance, mais ces substances ne sont alors pas transportées jusqu'à la circulation sanguine. Elles sont dégradées au niveau intracellulaire auparavant.

Les raisons exactes de la survenue de cette fermeture ainsi que la détermination du moment de survenue ne sont pas bien connus. Cependant certaines expériences ont montré que les glucocorticoïdes ainsi que l'hormone thyroïdienne thyroxine sont impliqués chez les bovins et les porcins (Levieux, 1982 ; Kruse, 1983 ; Staley et Bush, 1985). L'hormone adrénocorticotrope (ACTH) ainsi que le relargage endogène d'hydrocortisone sont probablement également impliqués, ainsi que l'augmentation du taux d'insuline chez le chiot suite à la tétée. Le seul élément qui semble être capable de retarder la survenue du phénomène de fermeture est l'absence de nutrition (Segalini, 2007).

### **1.2.2.3. Facteurs de variation du transfert passif de l'immunité**

L'efficacité du transfert passif de l'immunité, mesurée par la concentration sérique en Ig finalement atteinte par le nouveau-né après la prise colostrale résulte directement de la quantité d'immunoglobulines dans le colostrum, du volume de colostrum ingéré et de l'efficacité du phénomène d'absorption intestinale (Besser et Gay, 1994).

La concentration du colostrum en Ig va être un facteur très important.

Chez les chats la concentration en IgG dans le colostrum n'a que peu de corrélation avec la concentration en IgG dans le sérum de la mère (Claus et al, 2006). Chez les bovins, un certain nombre de facteurs de variation potentiels ont été étudiés. La durée de gestation, la saison de vêlage, les conditions d'élevage (hivernage en extérieur,...) ainsi que l'utilisation de corticoïdes (à l'exception des corticoïdes retard) pour l'induction de la mise bas ne semblent pas avoir d'influence sur la qualité du colostrum. De même, les carences en protéines et en énergie ne vont pas avoir d'influence sur la qualité du colostrum, mais sur sa quantité. Au contraire, chez les truies les restrictions alimentaires semblent influencer également la qualité du colostrum (Levieux, 1982).

L'état de santé de la mère est le paramètre étudié ayant le plus d'influence sur la qualité colostrale. En effet, les vaches ayant une maladie (mammites, métrites,...) proche du vêlage produisent en général un colostrum moins concentré en Ig (Levieux, 1982 ; Besser et Gay, 1994). De plus, chez les bovins, le rang de lactation et la race ont également une influence sur la qualité de colostrum (Besser et Gay, 1994). Ces variations n'ont pas encore été mises en évidence chez le chien.

Le volume de colostrum ingéré est un second facteur important pour l'efficacité du transfert passif de l'immunité. On pourra observer des différences de volume ingéré liées à la taille de la portée, au poids à la naissance, à la race, au comportement de la mère, au stress et à l'environnement (Kruse, 1983). La quantité de colostrum optimale sera plus facilement atteinte lorsque le nouveau-né tète directement sa mère. Cependant, dans un certain nombre de cas, il peut être nécessaire de compléter son alimentation afin d'atteindre ce volume optimal, notamment dans les cas de dystocie, de mère non coopérative ou même agressive ainsi que lorsque l'on suspecte que la qualité du colostrum est altérée (Besser et Gay, 1994).

L'efficacité du transfert va aussi être influencée par l'efficacité du mécanisme d'absorption intestinale en lui-même. Comme expliqué plus haut, le facteur de variation majeur du taux d'absorption intestinale est le délai écoulé depuis la naissance en raison de la fermeture rapide de la barrière intestinale. De plus, l'absorption par le nouveau-né serait diminuée par une température ambiante très élevée (Besser et Gay, 1994). Mais aussi, au niveau cellulaire, la compétition et la présence de certains pathogènes peut influencer l'absorption des immunoglobulines. En effet, les Ig et *E. coli* se fixent tous les deux à la membrane apicale des cellules. Même s'il ne s'agit pas des mêmes sites de fixation, la fixation massive d'*E. coli* aura un effet dépressif sur la fixation des Ig (Staley et Bush, 1985). De plus, si les Ig colostrales se fixent sur des bactéries présentes dans la lumière du tube digestif, elles ne seront plus disponibles pour l'absorption par les cellules (Staley et Bush, 1985). Enfin, certaines bactéries intestinales, telles que *E. freundii* et certains groupes de *Streptococcus*, possèdent des enzymes capables de dégrader les glycoprotéines des Ig et d'en réduire la quantité absorbée (Staley et Bush, 1985).

L'efficacité du transfert passif est évaluée par la concentration en Ig dans le sang du nouveau-né (Besser et Gay, 1994). Des valeurs seuils, prédictives d'une augmentation du risque de mortalité ultérieure, ont ainsi été déterminées pour plusieurs espèces. Les porcelets ayant une concentration en IgG inférieure ou égale à 10 g/L au deuxième ou troisième jour de vie auront un risque de mortalité accru (Cabrera et al., 2012). L'échec du transfert passif chez le poulain est défini par une concentration sérique en IgG inférieure à 4 g/L, un échec partiel peut être détecté lors d'une concentration entre 4 et 8 g/L (Erhard et al., 2001). Claus et al. (2006) ont trouvé que les chatons ayant une concentration sérique en IgG supérieure à 4 g/L auront de meilleures chances de protection contre les infections. Cette valeur est de 10g/L chez les veaux (Quigley, 2004). Dans l'espèce canine, une étude récente (Mila, 2012) a mis en évidence un seuil critique de 2,3 g/L.

#### **1.2.2.4. Immunité spécifique apportée par le colostrum**

Le colostrum va également apporter des anticorps dirigés contre des agents spécifiques. En effet, l'environnement et la vaccination de la mère vont stimuler la production d'anticorps spécifiques.

La vaccination correcte des mères va permettre de protéger le chiot nouveau-né plus ou moins bien et plus ou moins longtemps en fonction des virus. En pratique, les virus pour lesquels le colostrum peut apporter une protection correcte sont le parvovirus (CPV2), le paramyxovirus (agent de la maladie de Carré), l'adénovirus responsable de l'hépatite de Rubarth et le virus rabique. La seule difficulté de ce type de protection est la période critique, survenant entre 6 à 12 semaines d'âge suivant les virus, la période à laquelle les anticorps

maternels ne protègent plus les chiots mais empêchent une bonne réponse vaccinale endogène (Winters, 1981 ; Pollock et Carmichael, 1982).

Le colostrum peut contenir des anticorps dirigés contre des parasites, dont *Neospora caninum*, pour lequel le taux d'anticorps dans le colostrum peut être jusqu'à dix fois plus élevé que dans le lait ou le sérum maternel. De plus, les anticorps dirigés contre *Dirofilaria* sont transmis au nouveau-né de façon exclusivement colostrale et persistent chez les chiots pendant environ deux mois (Hayasaki et al., 1982).

### **1.2.3. Immunité locale**

Les Ig ingérées par le colostrum ont également un rôle de protecteurs intestinaux locaux, et les jeunes n'ayant pas ingéré suffisamment de colostrum sont particulièrement sensibles aux affections digestives. Les IgG ont non seulement un rôle de protecteurs locaux avant leur ingestion, mais elles sont après leur ingestion relarguées dans la lumière digestive. En effet, Besser et al. (1988) ont montré que les IgG injectées dans la circulation sanguine sont retrouvées dans la lumière digestive. C'est pourquoi on peut dire que les IgG circulantes sont une source importante pour l'immunité locale (Quigley, 2004).

Néanmoins, les concentrations IgG diminuent fortement alors que celles des IgA restent constantes pendant 6 semaines. Les IgA deviennent donc les Ig principales du lait. De plus, les IgG sont plus sensibles à la protéolyse que les IgA (Heddle & Rowley, 1974). Les IgA sont donc très présentes dans la lumière intestinale et sont considérées comme des protecteurs de la muqueuse intestinale à plus long terme. Les Ig colostrales ont donc un rôle protecteur local, sans absorption systémique, bien au-delà de la fermeture de la barrière intestinale.

De plus, les facteurs de croissance et les hormones présents dans le colostrum auraient également un effet sur le potentiel de guérison des intestins (Quigley, 2004).

### **1.2.4. Risques**

Le colostrum et le lait des chiennes peuvent dans certains cas être dangereux pour les chiots. En effet, ils ne transportent pas seulement les éléments nutritifs et des médiateurs de l'immunité, ils peuvent également apporter des agents pathogènes et des molécules exogènes. Il est alors souvent difficile de faire la différence entre le colostrum « toxique » et une septicémie par défaut d'ingestion du colostrum. Il est essentiel de conserver un environnement propre et de respecter une utilisation raisonnée des médicaments chez la chienne allaitante (Lennoz Roland, 1998 ; Lussier, 2002)

La qualité du colostrum peut être altérée lorsque la mère est malade, lorsqu'elle présente une métrite, de la fièvre, ... Lors de mammite, le colostrum puis le lait contiennent des bactéries qui peuvent directement être inoculées aux chiots. Les germes le plus souvent impliqués dans ces cas sont *E. coli*, *Staphylococcus* et *Streptococcus* bêta-hémolytiques (Lussier, 2002 ; Segalini, 2007). De plus, certains virus peuvent être transmis par voie colostrale, notamment le virus de l'hépatite de Rubarth même si cela reste un mode de transmission peu fréquent et ne survenant que chez les mères non immunisées. L'évolution est alors très rapide et fatale pour le chiot (Gomet, 2003). De même, de nombreux parasites peuvent être transmis. *Ankylostoma caninum* peut être transmis par voie lactogène pendant plus de 3 semaines post-partum, il provoque une mortalité importante chez les chiots (Smith et Hooke, 1976). La vermifugation de la mère est très importante et se fait, avec du

fenbendazole, avant la mise à la reproduction, vers le quarantième jour de gestation ainsi qu'au début de la lactation. D'autres parasites, tels que *Toxocara canis* et *Strongyloides stercoralis*, peuvent être transmis directement par la mère (Beugnet et al., 1995), alors que les coccidies ou *Giardia* seront plutôt transmis depuis l'environnement contaminant les mamelles puis le chiot lors de l'ingestion du colostrum.

Dans certains cas, des molécules administrées à la mère peuvent passer dans le colostrum et donc indirectement être administrées au chiot. Ceci pose un problème car le nouveau-né n'est pas encore correctement équipé pour métaboliser ces molécules. En effet, la vidange gastrique plus lente va entraîner une absorption plus importante et le pH gastrique neutre augmenter la biodisponibilité de certains médicaments. De plus, le métabolisme hépatique du médicament est plus faible chez le nouveau-né et l'excrétion rénale réduite par l'immaturité des reins. On conseille donc de ne rien administrer à la mère que l'on n'administrerait pas directement au chiot. Par contre, dans le cas d'une chienne traitée avec des anticancéreux, l'allaitement sera très fortement contre-indiqué (Voldoire, 2002). Johnston et al. (2001) référence de nombreuses molécules en précisant, pour chacune d'entre elles, leurs effets sur une chienne gestante et son fœtus (Annexe 3). Par précaution les indications de cette liste sont également appliquées aux femelles en lactation.

Le dernier cas dans lequel le colostrum peut avoir un effet néfaste sur le chiot est le cas d'une mère ayant eu une transfusion sanguine et ayant développé des anticorps contre le groupe sanguin du même type que le chiot qu'elle porte (croisement avec un chien de ce groupe sanguin là). Dans ce cas le chiot va présenter une anémie hémolytique lié à la présence dans le colostrum d'anticorps dirigés contre ses propres hématies. Le pronostic est alors très réservé.

Dans un élevage il est difficile d'identifier les chiots chez qui le transfert de l'immunité passive n'a pas été efficace. Ceci est cependant indispensable afin de procurer aux chiots plus sensibles les soins nécessaires. Le but de notre étude est donc d'une part de mettre en évidence les facteurs influençant la qualité du colostrum, afin de jouer sur ces facteurs pour son amélioration. D'autre part, nous allons étudier les facteurs influençant le transfert de l'immunité et les marqueurs d'un bon transfert. Nous voulons ainsi fournir aux éleveurs, si possible, des éléments leur permettant de juger du bon transfert ou non.

## **2. Etude expérimentale**

### **2.1. Matériel et méthode**

#### **2.1.1. Animaux**

L'étude a été conduite au sein d'un élevage canin dans le Nord de la France, à Tangry dans le Pas-de-Calais (62550). La période de prélèvement s'étend sur 4 mois, du 7 mars au 30

juin 2012. Les chiennes ont toutes été vaccinées contre la maladie de Carré, l'hépatite de Rubarth, la Parvovirose et la Parainfluenza (CHPPi) en janvier 2012.

L'étude inclut 44 chiennes et 108 chiots de 13 races différentes : Bichon Frisé, Bichon Maltais, Caniche, Cocker, Jack Russel, Lhasa Apso, Loulou de Poméranie, Shih Tzu, West Highland White Terrier, Yorkshire (considérées par la suite comme les petites races avec un poids inférieur à 25 kg ; 31 mères et 65 chiots), Berger Allemand, Labrador Retriever et Golden Retriever (considérées par la suite comme les grandes races avec un poids supérieur à 25kg ; 13 mères et 43 chiots).

La date de mise à la reproduction, la durée de gestation et les conditions de mise-bas sont connues pour chaque chienne. La parité des chiennes est en revanche inconnue. Toutes les mises-bas ont eu lieu dans la même maternité (un seul bâtiment), les chiennes y étant introduites une semaine avant le terme. Les chiots sont restés dans cette maternité, en présence de leur mère avec accès libre aux mamelles, sur toute la période de prélèvement.

L'âge de trois mères est inconnu de l'éleveur. Les mères ont été réparties par âge : 1 à 2 ans (2 chiennes), 3 à 6 ans (30 chiennes) et 7 ans et plus (9 chiennes).

Le sexe de chaque chiot est connu. Tout incident, apparition d'une infection ou mortalité a été minutieusement enregistré.

Les portées ont également été réparties selon le nombre de chiots : les petites portées (1 à 2 chiots, 12 portées), les portées de taille moyenne (3 à 5 chiots pour les petites races, 3 à 6 chiots pour les grandes races, 15 portées), et les portées nombreuses (6 chiots ou plus pour les petites races, 7 chiots ou plus pour les grandes races, 17 portées). Le nombre de chiots caractérisant la taille de la portée est différent pour des tailles de race différentes car le nombre moyen de chiots nés dans une portée est lui aussi variable entre les races. On annule ainsi le biais lié à la taille de la race. La taille des portées est définie ainsi, afin que chaque taille de portée inclue près de 33% des chiots.

Les chiots ont été classés par quartile de naissance (Q1 à Q4), ces groupes sont répartis selon le poids du chiot à la naissance afin de les classer entre chiots chétifs (Q1) et chiots corpulents (Q4) (tableau 4).

**Tableau 4 : Répartition des chiots en quartiles de naissance en fonction du poids de naissance**

<b>Races</b>	<b>Q1</b>	<b>Q2</b>	<b>Q3</b>	<b>Q4</b>
<b>Petites races</b>	< 210	211 – 250	251 – 280	281 <
<b>Grandes races</b>	< 283,5	283,5 - 365	365 - 420	420 <

## **2.1.2. Prélèvements**

### **2.1.2.1. Prélèvements sur les mères**

Les sécrétions mammaires ont été prélevées sur toutes les paires de mamelles des mères à J1 (J0 = jour de la mise bas). La traite a été effectuée manuellement, et les prélèvements congelés (-20°C) rapidement après la collecte. Les paires de mamelles ont été numérotées de 1 à 5 (M1 : mamelle thoracique crâniale, M5 : mamelle inguinale). Les sécrétions ont ensuite été mélangées par paires afin d'effectuer les dosages sur la globalité du colostrum avant d'être congelées (-20°C).

Environ 1 mL de sang a été collecté, sur seringue sèche, sur les mères à la veine céphalique à J1, au moment du prélèvement de colostrum. Ce prélèvement a été centrifugé puis le sérum a été prélevé puis congelé (-20°C).

### **2.1.2.2. Prélèvements sur les chiots**

Des prises de sang à la veine jugulaire ont été réalisées sur les chiots à J2. Ce prélèvement a été centrifugé puis le sérum a été prélevé puis congelé (-20°C).

Les chiots ont été pesés de façon standardisée (utilisation de la même balance, tarée pour chaque pesée) quotidiennement jusqu'à J4 puis de façon hebdomadaire jusqu'à J56.

Lors de mort d'un chiot, une autopsie a été effectuée dans les plus brefs délais. La conservation des corps s'est faite à 4°C et l'autopsie était réalisée au maximum 24h après la mort.

## **2.1.3. Réfractométrie sur le colostrum**

La densité du colostrum prélevé à J1 a été mesurée. 20µL de colostrum frais de la dernière paire de mamelle (M5 ou M4 lorsque seules 4 paires de mamelles étaient présentes) ont été mélangés à 20 µL d'eau distillée. La densité du mélange a ensuite été déterminée à l'aide d'un réfractomètre.

## **2.1.4. Dosage des immunoglobulines G colostrales et sériques**

### **2.1.4.1. Principe**

Seules les IgG sont dosées.

La technique ELISA est un test immunoenzymatique destiné à détecter et/ou doser une protéine dans un liquide biologique. Dans la technique de dosage dite « en sandwich », les puits d'une microplaque sont tapissés avec un anticorps dit « de capture » capable de lier spécifiquement l'antigène recherché. Lors de cette opération appelée « coating », l'anticorps de capture se fixe au plastique des puits par des interactions électrostatiques.

Après lavage et saturation de la plaque, la solution à tester est déposée dans les puits de la microplaque et si l'antigène recherché est présent, il va se lier spécifiquement à l'anticorps de capture. Un deuxième anticorps couplé à une enzyme de révélation comme la

peroxydase, capable de se lier à l'antigène capturé est alors ajouté dans le puits et les anticorps de révélation non fixés sont éliminés par lavage.

La réaction peut être quantifiée par colorimétrie à partir d'une courbe étalon, réalisée avec des concentrations connues d'antigène puisque le nombre de molécules d'anticorps de révélation fixées dépend du nombre de molécules d'antigènes immobilisées par l'anticorps de capture.

### 2.1.4.2. Protocole

Le kit utilisé est le « Dog IgG ELISA Quantification Set » (Référence n° E40-118) par le fournisseur Bethyl Lab., Montgomery, USA. Les références indiquées correspondent à ce fournisseur.

- Coating

Le coating est réalisé avec un anticorps polyclonal purifié spécifique aux immunoglobulines G canines (tableau 5). Il est utilisé à une concentration de 0,01 mg/mL et sous un volume de 100 µL par puits. L'anticorps est dilué dans une solution de carbonate-bicarbonate (référence : Bethyl® C3041) à 0,05M pH 9,6. On incube ensuite la plaque à 30°C durant 1 heure.

**Tableau 5 : Anticorps de coating et de révélation**

	Anticorps	Références chez Bethyl®	Animal	Type	Couplage	[c]	Dilution de travail	Concentration finale
<b>Coating</b>	Anti dog IgG	A40-118A	Mouton	Polyclonal purifié	-	1 mg/mL	1/100	10 µg/mL
<b>Révélation</b>	Anti dog IgG-HRP	A40-118P	Mouton	Monoclonal	Peroxydase	1 mg/mL	1/50 000	20 ng/mL

- Lavages

On vide la plaque. On réalise 3 lavages avec 200 µL de PBS-Tween 20 à 0,05% (pH 8) (référence : Bethyl® T9039).

- Saturation

On sature la plaque avec 200 µL par puits de PBS-BSA 1 % (pH 8) (référence : Bethyl® T6789). L'incubation dure 30 minutes à 30°C.

- Lavages

On vide la plaque. On réalise 3 lavages avec 200 µL de PBS-Tween 20 à 0,05% (pH 8) (référence : Bethyl® T9039).

- Dilution des échantillons et dépôts

La gamme et les échantillons sont préalablement dilués dans du PBS-BSA 1 % et 0,05% Tween 20 (tableau 6 et 7). La gamme et les échantillons sont déposés dans les puits sous un volume de 100 µL. L'incubation dure 1 heure à 30°C.

**Tableau 6: Dilution des gammes**

ELISA	Concentration sérum étalon	Concentration de la gamme étalon
<b>Ig G</b>	31 mg/mL	De 500 à 7,8 ng/mL

**Tableau 7 : Dilution des échantillons**

Type	Jours après la mise-bas	Dilutions Ig G
Colostrum	J 1	1 / 50 000
Sérum chienne	J 1	1 / 100 000
Sérum chiot	J 2	1 / 100 000

- Lavages

On vide la plaque. On réalise 5 lavages avec 200 µL de PBS-Tween 20 à 0,05% (pH 8) (référence : Bethyl® T9039).

- Anticorps de révélation

L'anticorps monoclonal de révélation couplé à l'HRP (*horseradish peroxidase*) est dilué dans du PBS-BSA 1 % et 0,05% Tween 20 (tableau 5). 100 µL sont ensuite déposés dans tous les puits. L'incubation dure 1 heure à 30°C.

- Lavages

On vide la plaque. On réalise 5 lavages avec 200 µL de PBS-Tween 20 à 0,05% (pH 8) (référence : Bethyl® T9039).

- Révélation

On dépose 100 µL de TMB (substrat de la peroxydase, référence : Bethyl® 080831). La révélation dure 15 min.

- Arrêt de la révélation

On ajoute 100 µL d'acide sulfurique (référence : KPL® 50-85-04).

- Lecture

La lecture de l'absorbance se fait à l'aide d'un spectrophotomètre avec un laser émettant une longueur d'onde de 450 nm.

### **2.1.5. Analyse statistique**

Les comparaisons entre les échantillons de données ont été effectuées. Des nuages de points sont utilisés pour représenter deux variables l'une en fonction de l'autre et des coefficients de corrélation ont été calculé grâce à Excel®. Des courbes de tendance ont été affichée. Des histogrammes ont été utilisés afin de comparer les échantillons entre eux, des barres d'erreur représentant une erreur type ont été représentées pour cette comparaison.

Nous avons également utilisé le logiciel Xlstats® pour affiner nos statistiques. Nous avons ainsi pu réaliser des tests de corrélation entre deux fonctions passant par le calcul d'un coefficient de détermination, de corrélation et d'une p-value à 5% d'erreur. Dans le cas de la comparaison de deux échantillons de données, nous avons réalisé un test t de comparaison de deux moyennes, permettant le calcul d'une p-value à 5% d'erreur et donc le rejet ou non de l'hypothèse nulle (la différence des moyennes est égale à 0). Face à l'analyse de plus de deux échantillons de données nous avons utilisé les tests de Levene et de Bartlett (Test de Khi<sup>2</sup>) pour la comparaison des variances des échantillons, nous avons ainsi obtenu la p-value à 5% d'erreur et donc le rejet ou non de l'hypothèse nulle (les variances sont identiques).

On peut ainsi donner une signification statistique à l'analyse des données.

## 2.2. Le colostrum

### 2.2.1. Moyenne de la concentration en IgG dans le colostrum chez le chien et variabilité entre les chiennes

Sur les 43 chiennes dont le colostrum a été analysé (le colostrum d'une chienne n'a pas pu être prélevé), la concentration d'IgG a été mesurée pour chaque paire de mamelle. Si l'on fait une moyenne des 5 paires de mamelles de chaque chienne, nous avons obtenu une moyenne de 20,77 g/L et une médiane de 20,14 g/L d'IgG dans le colostrum à J1.

Parmi les chiennes testées, les résultats varient de 8,04 g/L à 41,73 g/L (figure 5). On note un facteur 5 entre les deux valeurs extrêmes. L'écart-type de la moyenne des concentrations en IgG des différentes mamelles sur ces animaux est de 8,07 g/L. On a donc une variabilité assez importante entre les mères.

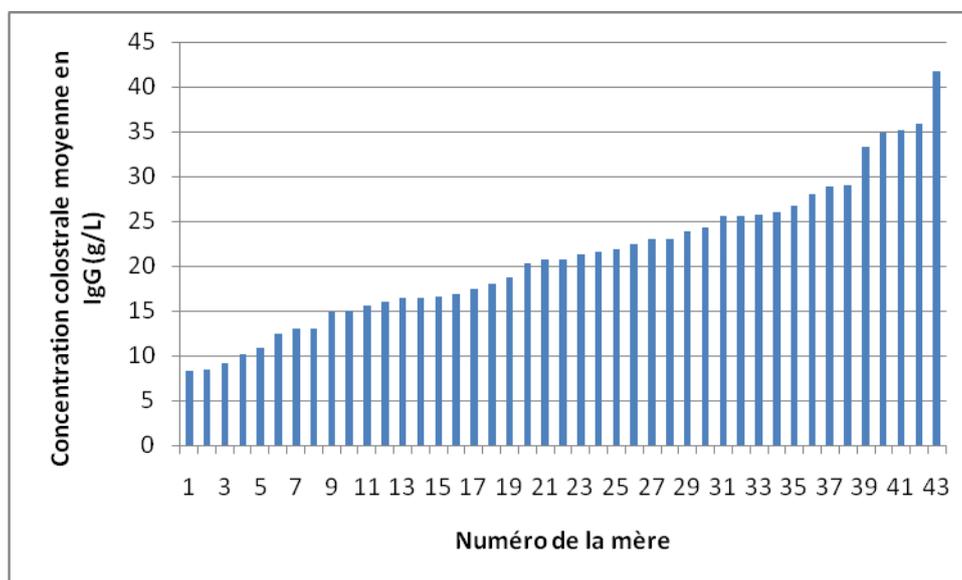


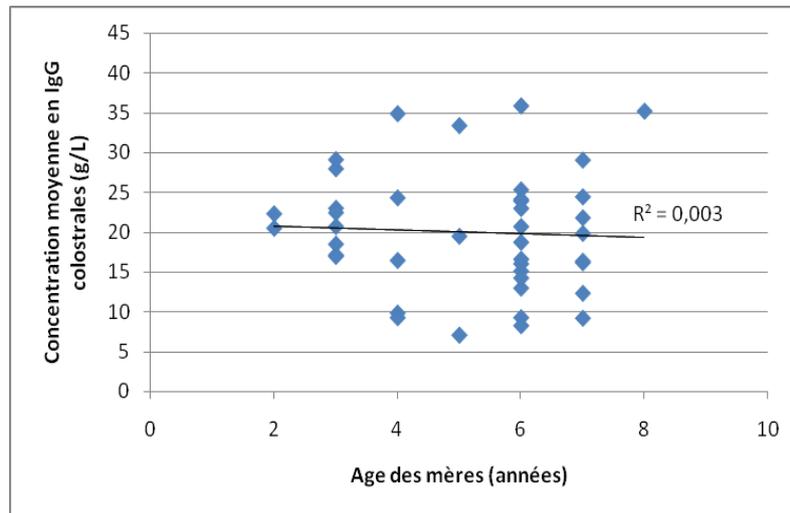
Figure 5 : Distribution des concentrations moyennes en IgG colostrales par chienne (n=43)

### 2.2.2. Facteurs de variation

#### 2.2.2.1. L'âge

On peut se poser la question de savoir si la grande variabilité de la concentration colostrale en IgG pourrait être expliquée par l'âge de la mère.

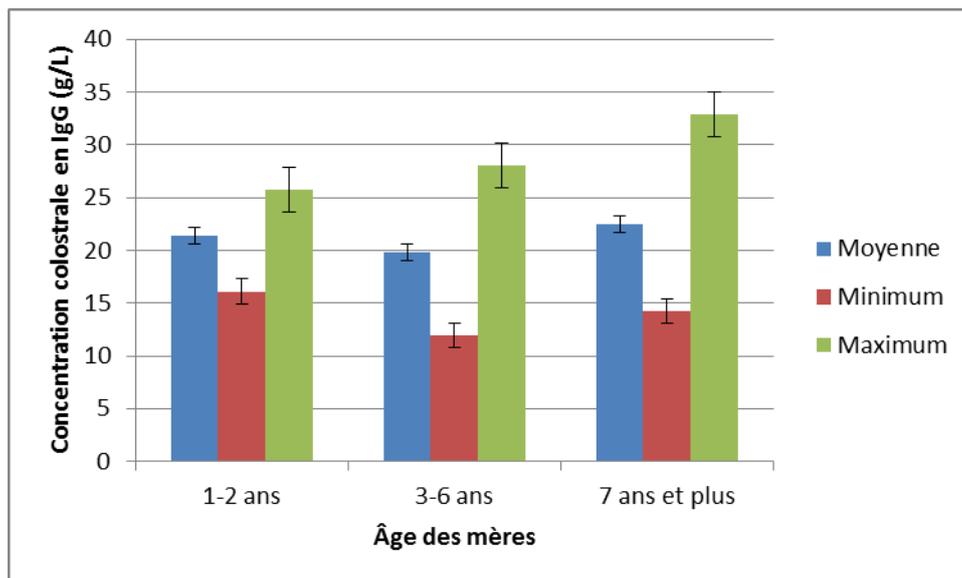
La figure 6 représente la répartition des résultats selon l'âge des mères. L'âge de trois des chiennes est inconnu, elles sont donc exclues de cette analyse.



**Figure 6 : Concentrations colostrales en IgG selon l'âge des mères (n=41)**

Aucune relation entre l'âge des chiennes et la concentration colostrale en IgG n'a été mise en évidence ( $R^2 = 0,003$  et  $p > 0,05$ ).

Pour tenter de simplifier les analyses statistiques et de mettre en évidence des variations avec l'âge, les chiennes ont été regroupées dans trois catégories : les jeunes ; les intermédiaires et les plus âgées. L'âge de 3 des chiennes est inconnu, elles sont donc exclues de cette analyse (figure 7).



**Figure 7 : Concentration colostrale en IgG selon l'âge des mères (n=41)**

Pour les jeunes chiennes la moyenne est de 21,4 g/L, le minimum de 16 g/L et le maximum de 25,7 g/L ; pour les chiennes intermédiaires la moyenne est de 19,8 g/L, le minimum de 11,9 g/L et la maximum de 28 g/L ; pour les chiennes âgées la moyenne est de 22,5 g/L, le minimum 14,2 g/L et le maximum de 32,8 g/L. On note un facteur de 1,14 entre la valeur la plus haute (chiennes âgées) et la plus basse (chiennes intermédiaires).

Aucun lien n'a été mis en évidence entre l'âge de la mère et la concentration en IgG de son colostrum, même après cette classification ( $p > 0,05$ ).

### 2.2.2.2. La race

Afin d'étudier la possible influence de la taille de la mère sur la qualité immunologique de son colostrum, les chiennes ont été réparties en deux catégories : les chiennes de petites races, et les chiennes de grandes races (figure 8). La moyenne de la concentration en IgG colostrales des petites races est de 20,2 g/L avec un écart-type de 7,8 g/L ; la moyenne des grandes races est de 22,3 g/L avec un écart-type de 8,8 g/L. Entre les deux catégories, un facteur de 1,10 est noté. Aucune association entre la taille des chiennes et la concentration colostrale en IgG n'est statistiquement identifiable ( $p > 0.05$ ). Les barres d'erreur représentent une erreur type pour chaque catégorie.

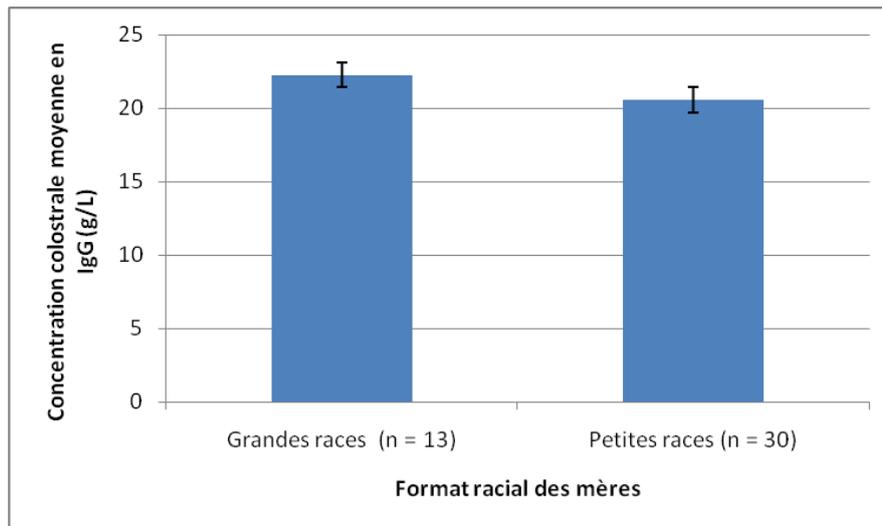


Figure 8 : Concentration colostrale en IgG selon le format racial (n=43)

### 2.2.2.3. La taille de la portée

Nous avons ensuite cherché une corrélation entre le nombre de chiots nés vivants par portée et la qualité du colostrum (figure 9).

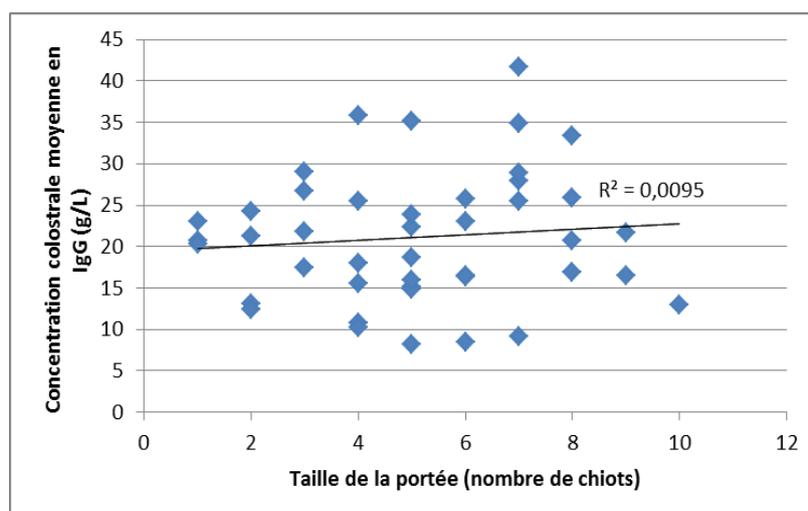
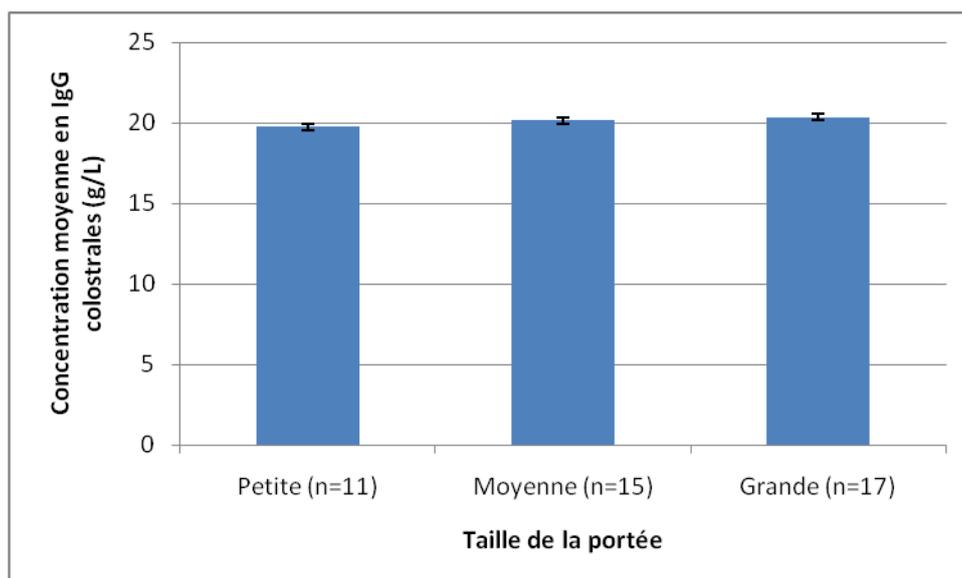


Figure 9 : Corrélation entre la concentration colostrale en IgG selon le nombre de chiots nés vivants (n=43 mères, m=107 chiots)

Aucune corrélation n'est apparue ( $R^2=0,015$  et  $p > 0,05$ ).

Les portées ont donc été triées en trois catégories selon leur taille : les petites portées, les portées de taille moyenne, et les grandes (figure 10).



**Figure 10 : Concentration colostrale en IgG en fonction de la taille de la portée (en nombre de chiots nés vivants) (n=43)**

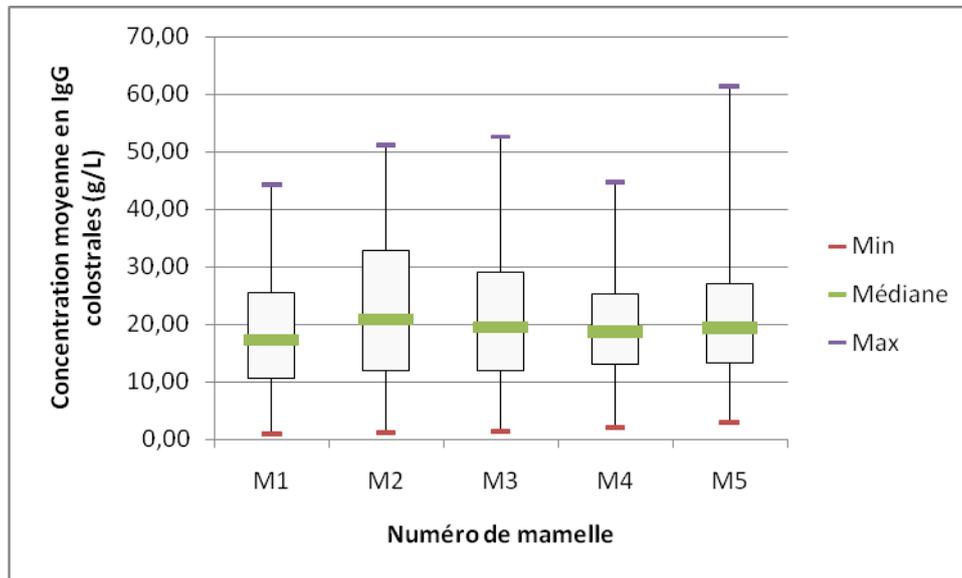
Les concentrations colostrales moyennes des mères ayant des petites portées ont une moyenne de 19,7 g/L avec un écart-type de 7 g/L ; les moyennes portées une moyenne de 20,1 g/L et un écart-type de 8,6 g/L ; les grandes portées une moyenne de 20,3 g/L et un écart-type de 8,5 g/L. On a un facteur de 1,09 entre les valeurs extrêmes. On peut voir qu'entre les différentes tailles de portée, on ne note pas de différence significative ( $p > 0,05$ ).

#### **2.2.2.4. Le numéro de la mamelle**

Il y a une grande diversité de la qualité colostrale moyenne entre les chiennes. Il est intéressant d'étudier de plus près cette variabilité entre les différentes mamelles.

Pour chaque chienne, l'écart-type des concentrations sur les différentes mamelles a été calculé. M1 a un écart-type de 10,9 g/L ; M2 de 12,9 g/L ; M3 de 12,4 g/L ; M4 de 9,6 g/L ; M5 de 10,2 g/L. Cela illustre la variabilité sur les différentes mamelles d'une même chienne.

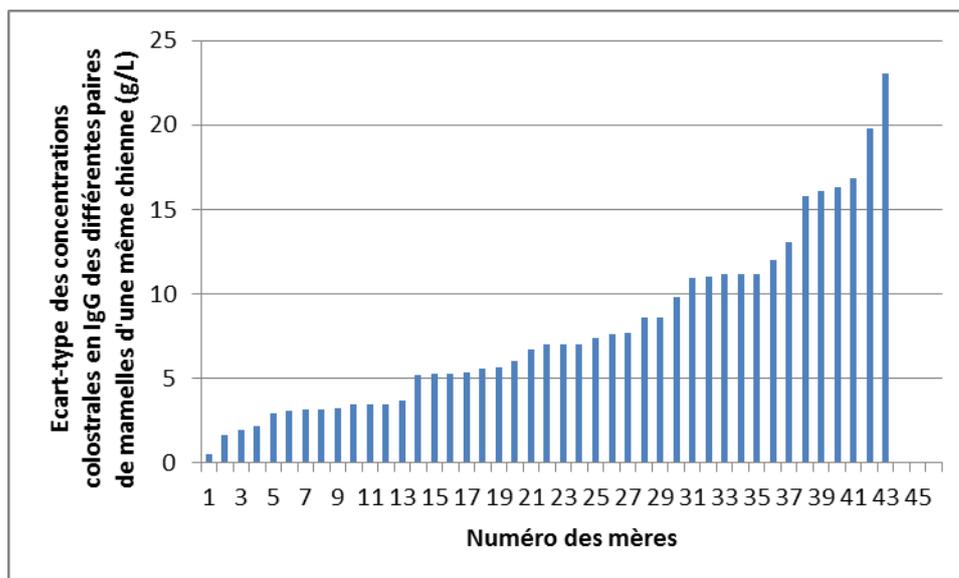
La figure 11 représente les concentrations en IgG sur les différentes mamelles, appelées M1 (thoracique) à M5 (inguinale). Aucune différence significative n'a été mise en évidence ( $p > 0,05$ ). De plus, entre chaque paire mamelle, il y a une grande variabilité de concentration du colostrum produit.



**Figure 11 : Concentrations en IgG sur les différentes mamelles et variabilité (n=43)**

Pour compléter l'analyse de la variation, la figure 12 représente l'écart-type des concentrations colostrales en IgG des différentes mamelles d'une même mère.

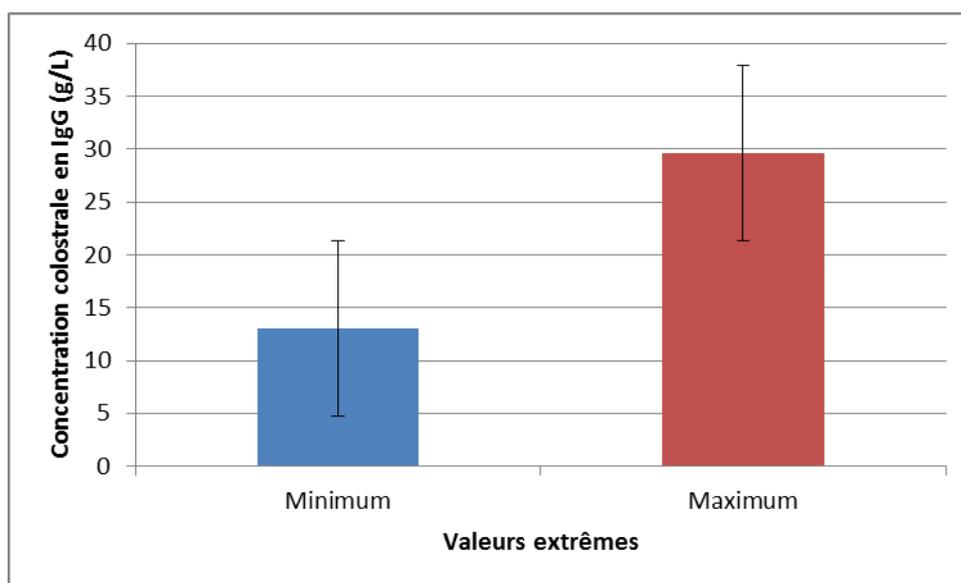
Il existe donc une grande variabilité interindividuelle en ce qui concerne les différences de concentration en IgG colostrales sur les différentes mamelles. Certaines chiennes ont des concentrations comparables sur toutes les mamelles, tandis que d'autres montrent une très grande variation d'une mamelle à l'autre. L'une d'entre elle a un facteur multiplicatif de 35 entre deux paires de mamelles. Dans ce dernier cas, selon la mamelle où le chiot tète, il n'a pas la même probabilité d'absorber une grande quantité d'IgG dans sa première tétée.



**Figure 12 : Ecart-types des concentrations colostrales en IgG des différentes paires de mamelles (n=43)**

Étant donné que les mamelles ayant les valeurs les plus extrêmes ne sont pas les mêmes sur toutes les chiennes, une comparaison des valeurs extrêmes (quelque soit la

mamelle) a été faite pour montrer de manière encore plus importante cette différence de production d'IgG selon les mamelles (figure 13).

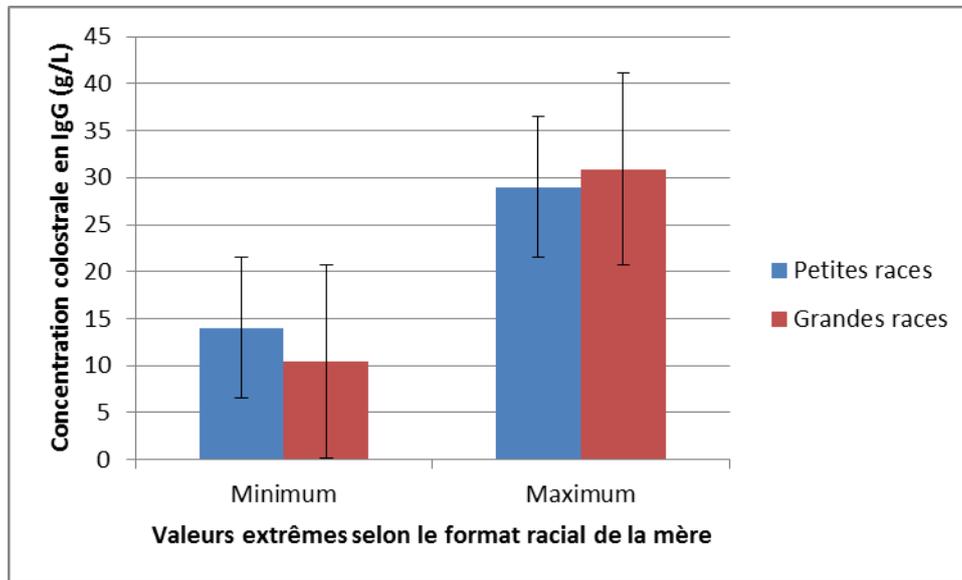


**Figure 13 : Moyenne des valeurs extrêmes (n = 43)**

La moyenne des concentrations en IgG colostrales des mamelles ayant les valeurs les plus basses est de 13 g/L avec un écart-type de 8,2 g/L ; pour les valeurs maximales la moyenne est de 29,6 g/L avec un écart-type de 10,8 g/L. On peut noter qu'il existe en moyenne une très forte variation de concentration colostrale en IgG selon les mamelles. Cette variation est statistiquement significative ( $p < 0,0001$ ). On a en en moyenne un facteur de 2,28 entre la valeur minimale et la valeur maximale au sein d'une même chienne, le facteur le plus grand observé est de 35. Au sein même des mamelles avec les valeurs extrêmes, on a toujours une grande variabilité de valeurs entre les chiennes.

Nous avons donc voulu essayer d'expliquer cette variabilité, et voir s'il y avait une différence entre les chiennes de petites et de grandes races. Nous avons effectué la comparaison des valeurs extrêmes de concentration colostrales en IgG selon la taille de la mère (figure 14).

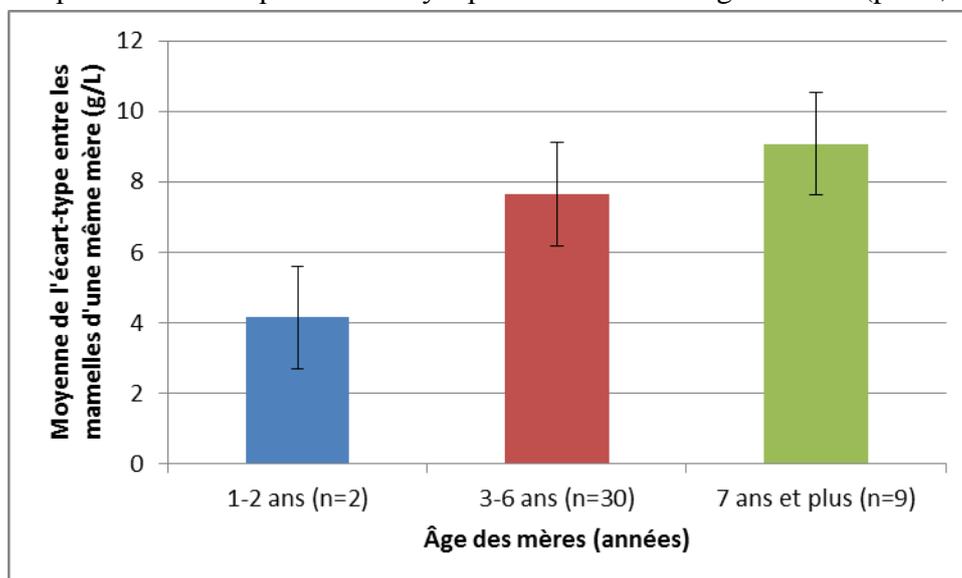
Au niveau des minimums on a une moyenne de 13,4 g/L et un écart-type de 8,2 g/L pour les petites races et 12,9 g/L en moyenne et 8,6 g/L en écart-type pour les grandes races ; au niveau des maximums on a une moyenne de 28,2 g/L et un écart-type 9,7 g/L pour les petites races et une moyenne de 32,9 g/L et un écart-type de 13 g/L pour les grandes races. On note toujours une variabilité importante au sein des mamelles extrêmes, cependant, la taille des mères n'a pas d'influence sur les concentrations des tétines extrêmes. Les valeurs maximales et minimales sont sensiblement les mêmes que les chiennes soit de grande race ou de petite race ( $p > 0,05$ ).



**Figure 14 : Différence entre les valeurs extrêmes de concentration en IgG selon le format racial des mères (n=43)**

L'âge des mères pourrait également être un facteur influençant la variabilité des concentrations colostrales en d'IgG entre les différentes mamelles (figure 15).

La moyenne des écart-types des femelles âgées est de 9,1 g/L ; de 7,6 g/L pour les femelles d'âge intermédiaire ; de 4,1 g/L pour les femelles jeunes. L'écart-type des femelles jeunes est 2,2 fois moins élevé que chez les chiennes âgées. Il semblerait qu'une jeune femelle donne à ses chiots un colostrum plus homogène entre ses différentes mamelles qu'une chienne plus âgée. Cependant statistiquement il n'y a pas de différence significative ( $p > 0,05$ ).



**Figure 15 : Moyenne des écart-types des concentrations colostrales en IgG entre les mamelles selon l'âge (n=41)**

Ensuite, nous avons cherché à évaluer si la concentration colostrale en IgG sur les différentes mamelles d'une chienne variait plus ou moins selon l'âge. Autrement dit, la qualité colostrale est-elle plus variable entre les différentes mamelles des chiennes âgées qu'entre celles des chiennes jeunes ? (figure 16).

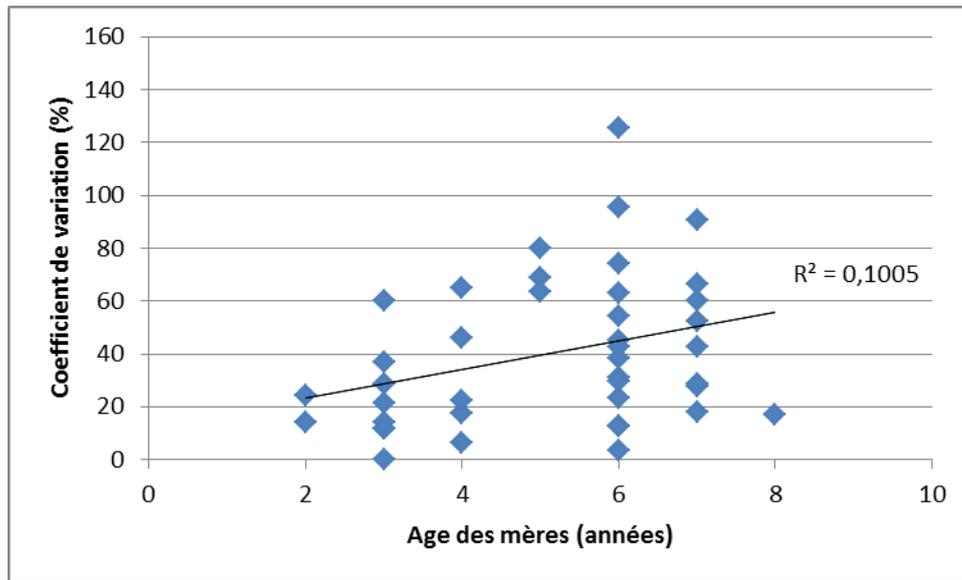


Figure 16 : Coefficient de variation de la concentration colostrale en IgG selon l'âge des mères (n=41)

Les jeunes chiennes produisent un colostrum un peu plus homogène que les plus âgées ( $R^2 = 0,1005$  et  $p = 0,03$ ).

Nous avons ensuite étudié les valeurs extrêmes de concentration en IgG sur des chiennes d'âge différent classées par tranche d'âge (figure 17). Au niveau des minimum, on a 13 g/L en moyenne pour les femelles âgées ; 12,3 g/L pour les femelles d'âge intermédiaire ; 16 g/L pour les femelles jeunes. Au niveau des maximum, on a une moyenne de 32,9 g/L pour les femelles âgées ; 28 g/L pour les femelles d'âge intermédiaire ; 25,7 g/L pour les femelles jeunes. Les valeurs minimales des jeunes chiennes sont plus élevées que les valeurs minimales des chiennes plus âgées. Ce qui confirme que les jeunes donneront un colostrum plus homogène. Il n'y a pas de différence notable au niveau des valeurs maximales en fonction de l'âge. Cependant statistiquement on n'a pas de différence significative entre ces 3 catégories que ce soit en minimum ou en maximum.

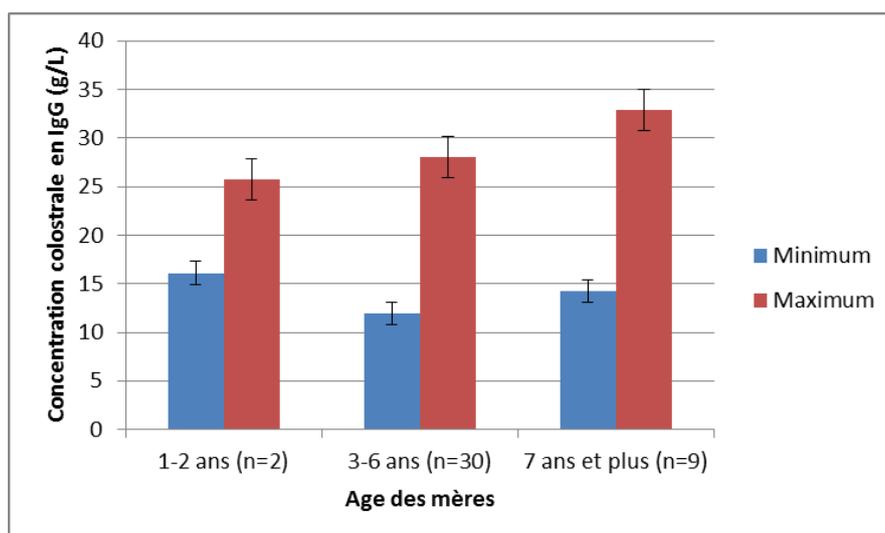


Figure 17 : Moyenne des valeurs extrêmes des concentrations colostrale en IgG selon l'âge des chiennes (n=41 mères)

### 2.2.2.5. Les IgG sériques de la mère

Étant donnée l'origine sérique des IgG retrouvées dans le colostrum, on pourrait se demander si la concentration sérique en IgG influence leur concentration colostrale. La figure 18 représente la concentration colostrale en fonction de la concentration sérique en IgG. D'après les analyses statistiques, aucune corrélation entre les IgG sériques des mères et leurs IgG colostrales existe ( $R^2=0,001$ ).

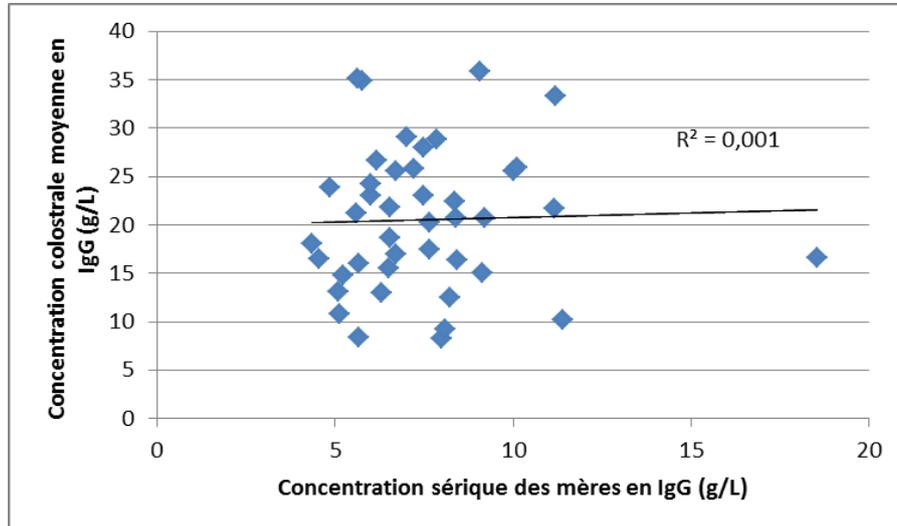


Figure 18 : Concentration colostrale en IgG en fonction de la concentration sérique des mères en IgG à J1 (n=43)

### 2.2.2.6. La densité optique

La figure 19 représente la concentration en IgG du colostrum des chiennes en fonction de leur densité optique. Aucune corrélation n'apparaît entre la densité optique du colostrum et sa concentration en IgG ( $R^2=0,116$ ).

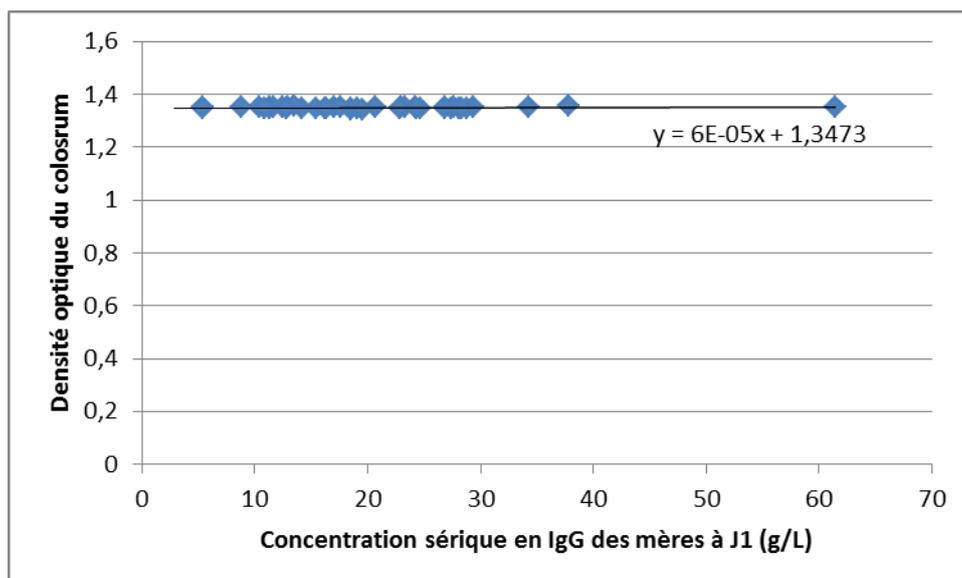


Figure 19 : Concentration en IgG en fonction de la densité optique du colostrum (n=41)

## 2.3. Le transfert passif de l'immunité au chiot

### 2.3.1. Concentration sérique en IgG chez le chiot et variabilité entre les chiots

Sur les 108 chiots inclus dans notre étude, la concentration en IgG sérique à deux jours d'âge était en moyenne de 6,62 g/L, avec une médiane de 5,98 g/L. Dans la suite de l'étude certains critères n'ont été étudiés que pour 79 des chiots.

Les résultats varient de 0,21 g/L à 24,6 g/L. L'écart-type est de 4,6 g/L. On a donc une très grande variabilité de la teneur en IgG sérique des chiots à J2 (figure 20). Nous avons tenté d'en identifier les facteurs de variation, et d'éventuelles conséquences sur la morbidité et la mortalité des chiots.

La figure 20 illustre bien la grande variabilité entre les chiots, puisqu'on a un facteur de 127 entre les valeurs extrêmes.

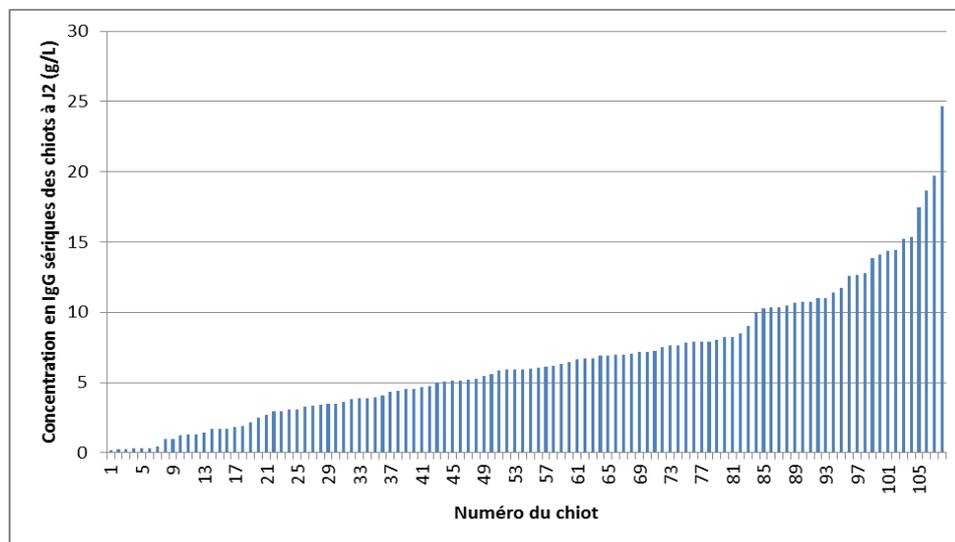


Figure 20 : Distribution de la concentration en IgG sériques des chiots à J2 (n = 108 chiots)

### 2.3.2. Un seuil critique de concentration sérique en IgG

Une étude récente (Mila et al., 2012) a montré qu'il existait un seuil de concentration sérique en IgG chez le chiot qui permet de prédire un risque de mortalité néonatale accru. Dans la population de chiots étudiée dans cette étude, ce seuil critique correspond à 2,3g/L. En dessous de ce seuil, les chiots ont un risque de mortalité accru entre J2 et J21. Ce seuil définit donc le déficit de transfert de l'immunité passive.

Nous intégrons ce seuil dans l'analyse de nos résultats afin de mettre en évidence si les facteurs de variation étudiés peuvent influencer la probabilité de se trouver sous ce seuil, en plus d'être de réels facteurs de variation.

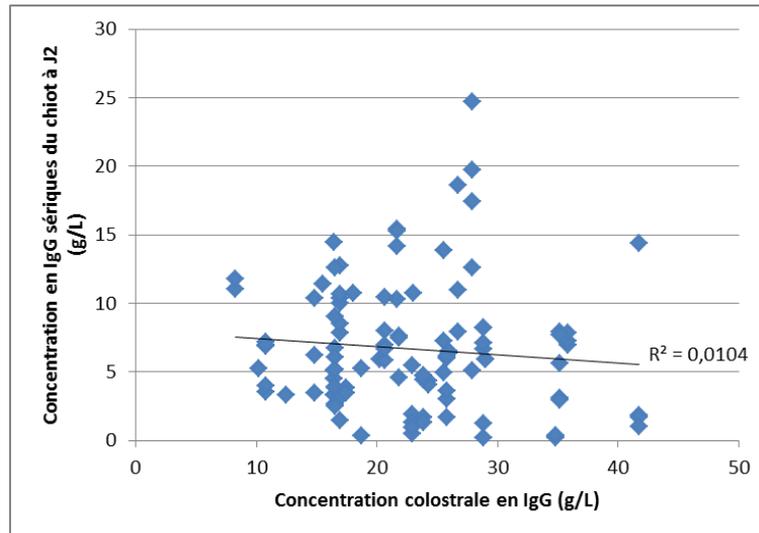
Dans notre population de chiots, 17,6% des chiots se trouvent en dessous de ce seuil et seraient donc, d'après l'étude de Mila (2012), plus à risque pour une mort néonatale.

### 2.3.3. Facteurs de variation

#### 2.3.3.1. La concentration en IgG colostrales

Nous avons vu précédemment que la qualité du colostrum était variable d'une mère à l'autre. La question se pose donc de savoir si la variabilité des concentrations en IgG sériques des chiots est en lien avec celle du colostrum des mères (figure 21).

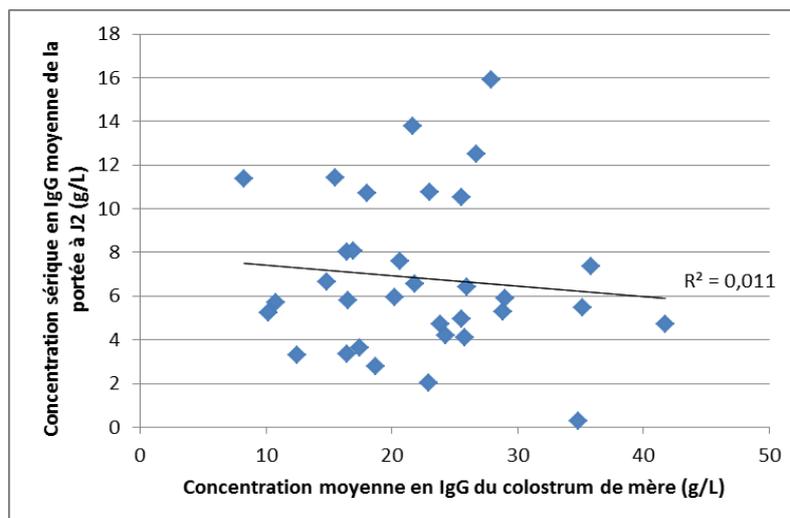
Aucun lien n'a pu être mis en évidence entre la qualité du colostrum de la mère et le transfert passif de l'immunité ( $R^2=0,010$ ,  $p > 0,05$ ).



**Figure 21 : Relation entre la concentration sérique en IgG des chiots à J2 et la concentration en IgG du colostrum de leur mère (n=107 chiots ; m = 33 mères)**

Après cette analyse individuelle, nous avons comparé le colostrum moyen de chaque mère avec la moyenne des IgG sériques de l'ensemble des chiots de sa portée à J2 (figure 22).

Il n'y a pas non plus de corrélation entre ces deux variables ( $R^2=0,011$ , et  $p > 0,05$ ).



**Figure 22 : Relation entre la concentration en IgG sériques moyenne des portées à J2 en fonction de la concentration colostrale en IgG de leur mère (n = 34 portées)**

Nous avons ensuite séparé la population de chiots en deux groupes : ceux ayant tété un colostrum dont la concentration est inférieure à la médiane (20.67 g/L, 22 mères ayant eu 68 chiots au-dessus de la médiane, et 22 mères ayant eu au total 40 chiots en-dessous de cette médiane). Nous avons comparé les résultats des deux groupes (figure 23). On ne voit pas de différence significative entre les deux groupes ( $p > 0,05$ ).

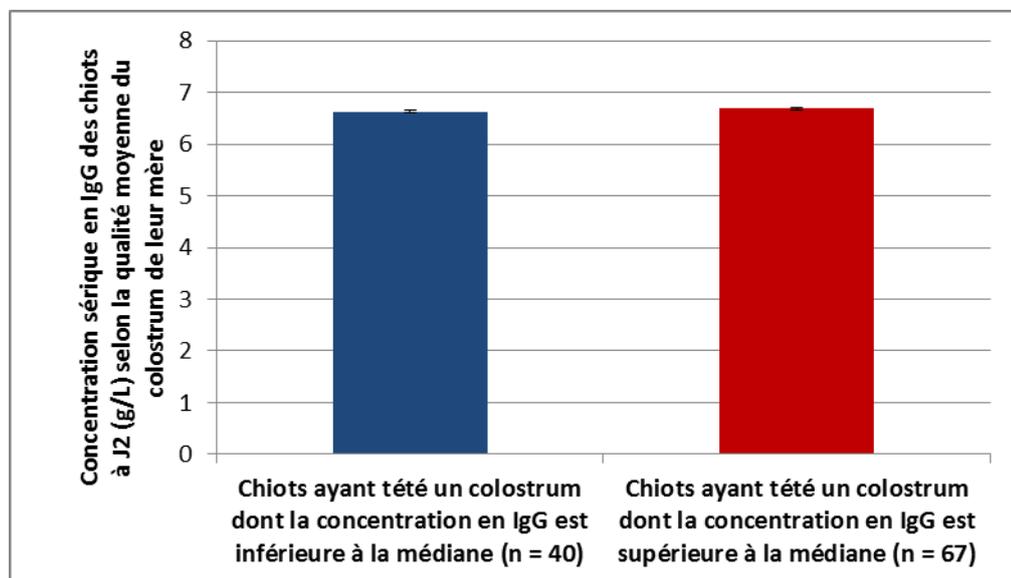


Figure 23 : Concentration sérique en IgG des chiots à J2 en fonction de la concentration colostrale de leur mère (n = 34 mères, n = 107 chiots)

L'étude du seuil critique par rapport à une teneur en IgG colostrale basse (en dessous de la moyenne du groupe étudié, 23,1 g/L) montre que seuls 10% des chiots ont une concentration sérique en IgG en dessous de 2,3g/L, contre 24,5 % de ceux dont la mère avait un colostrum riche. On ne trouve donc pas un risque élevé de mortalité chez les chiots avec une concentration colostrale basse, et ne peut pas retenir la concentration colostrale comme un facteur de variation significatif pour la concentration sérique en IgG des chiots.

### 2.3.3.2. La race

Nous avons voulu voir s'il existait une différence de transfert de l'immunité passive entre les petites et les grandes races (figure 24).

La différence observée entre les chiots de petite et de grande race n'est pas statistiquement significative ( $p > 0,05$ ). Il n'y a donc pas de différence dans la quantité d'IgG absorbée quelque soit la taille du chien prévue à l'âge adulte.

Les chiots de petite race ont une moyenne de concentration en IgG colostrales de 21,6 g/L avec un écart-type de 8,2 g/L ; les chiots de grande race ont une moyenne de 23,9 g/L avec un écart-type de 7,6 g/L.

On trouve cependant une différence entre les grandes races et les petites races face au seuil critique. En effet, chez les grandes races, 11,6% des chiots se trouvent sous ce seuil,

alors que chez les petites races, c'est le cas pour 21,5% des individus. Cependant cette différence de valeurs n'est pas statistiquement significative ( $p > 0,05$ ).

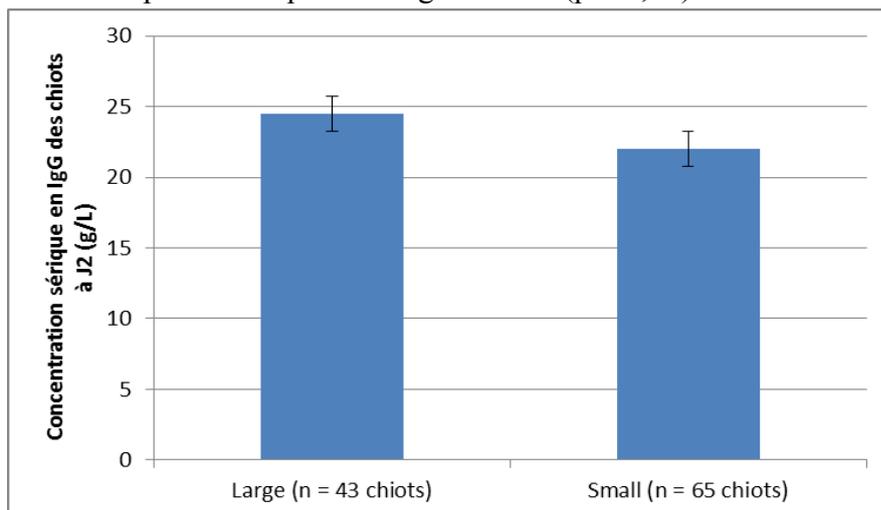


Figure 24 : Concentration sérique en IgG des chiots à J2 en fonction de la taille de la race (n= 108 chiots)

### 2.3.3.3. Le poids de naissance

Nous nous sommes interrogées sur l'influence du poids du chiot à la naissance sur l'efficacité du transfert passif de l'immunité (figure 25). En effet, un chiot chétif à la naissance aura peut-être moins d'énergie pour téter rapidement, et aura donc probablement moins de chances d'acquérir une forte quantité sérique d'IgG. Dans cette étude, le poids de naissance des chiots variait de 128 g à 560 g, avec une médiane de 218g, et un écart-type de 87g. La moyenne du poids à la naissance était de 240g. Il y a un lien statistiquement significatif entre le poids de naissance et la concentration sérique en IgG ( $R^2=0,1356$ ,  $p = 0,001$ ). D'un point de vue qualitatif, 24,5% des chiots ayant un poids inférieur à la moyenne se trouvent avec une concentration sérique en IgG en dessous du seuil critique, contre 4% pour les chiots de poids supérieur à la moyenne. C'est-à-dire qu'un quart des chiots ayant un poids de naissance faible auront plus de chance de mourir précocement ( $p = 0,003$ ).

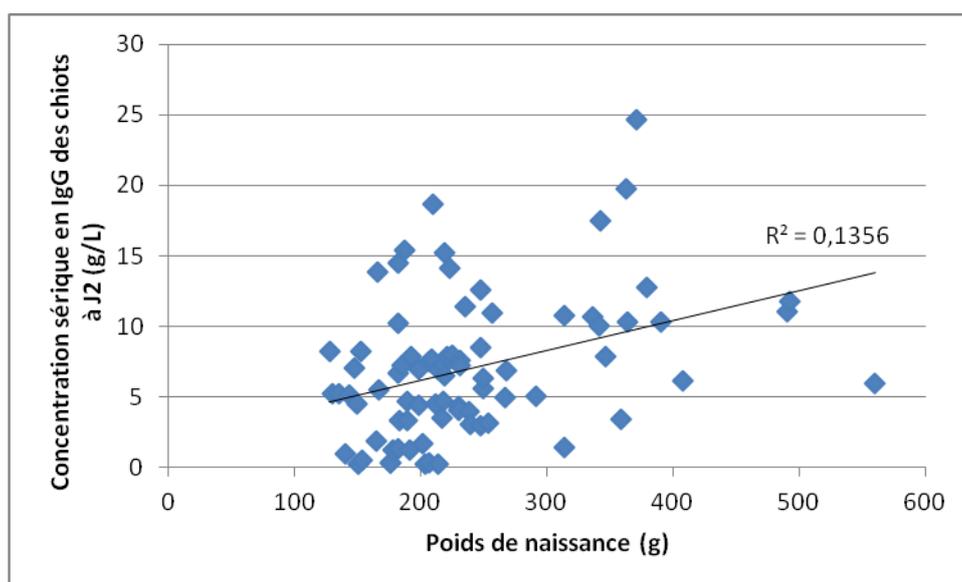


Figure 25 : Concentration sérique des chiots en IgG à J2 en fonction de leur poids de naissance (n = 79 chiots)

Cette analyse mélange dans les chiots de faible poids de naissance à la fois les chiots de petites races et les chiots chétifs. Nous avons donc raisonné par rapport au quartile de naissance, qui est par conséquent plus révélateur du caractère « chétif » ou « non chétif », quelle que soit la race du chiot.

Nous avons donc décidé de regarder dans chaque portée si les chiots de petite taille par rapport à leur race avaient un moins bon transfert d'immunité passive. Les chiots ont été répartis en quartile de naissance en fonction de leur poids à la naissance en tenant compte de leur race (figure 26).

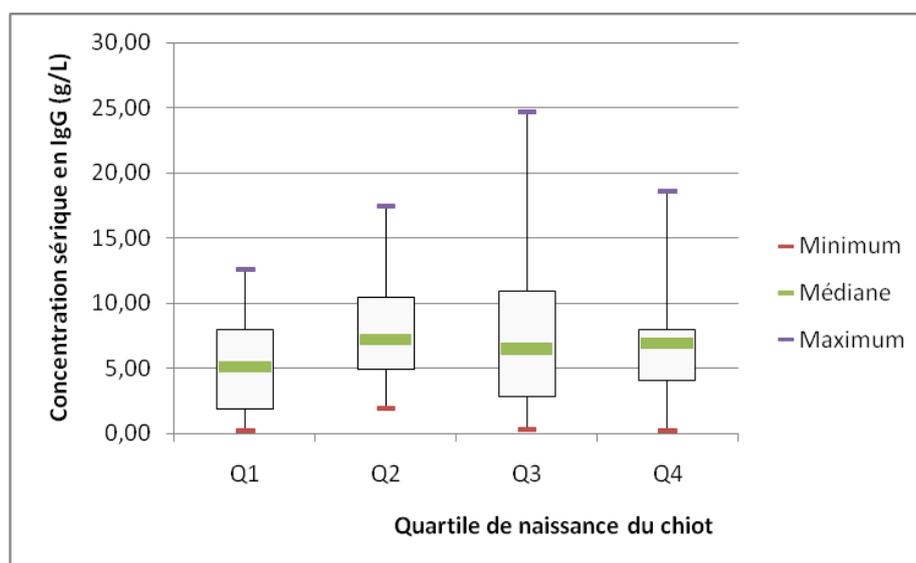
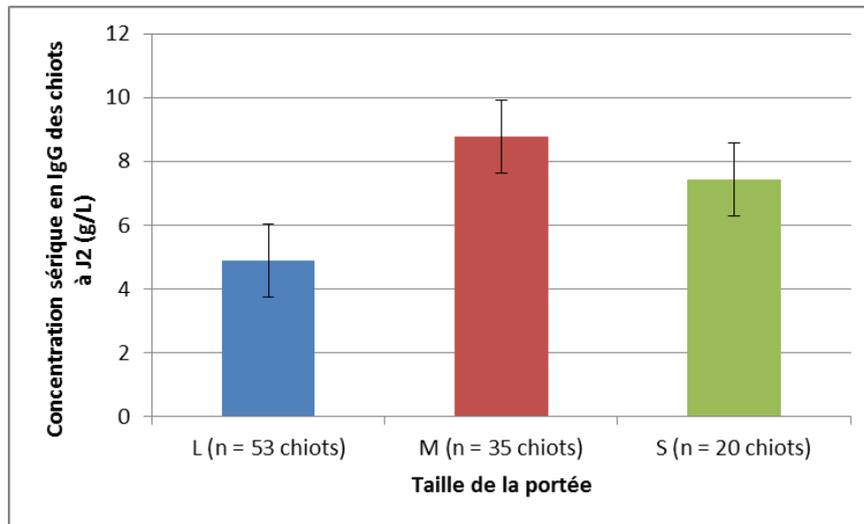


Figure 26 : Concentration sérique en IgG à J2 en fonction du quartile de naissance (n = 79 chiots)

Malgré une médiane sensiblement identique, il y a une forte variation de la concentration sérique en IgG à J2 au sein de chaque quartile de poids de naissance. On ne peut pas conclure qu'un quartile de naissance aura une immunité meilleure qu'un autre ( $p > 0,05$ ).

#### 2.3.3.4. La taille de la portée

Etant donné que la qualité du colostrum produit par la mère ne dépend pas du nombre de chiots nés, on peut s'interroger : les chiots de portées nombreuses reçoivent-ils autant d'IgG que ceux de portées réduites ? (figure 27).



**Figure 27 : Concentration en IgG sérique des chiots à J2 en fonction de la taille de leur portée (n = 34 portées ; m = 108 chiots)**

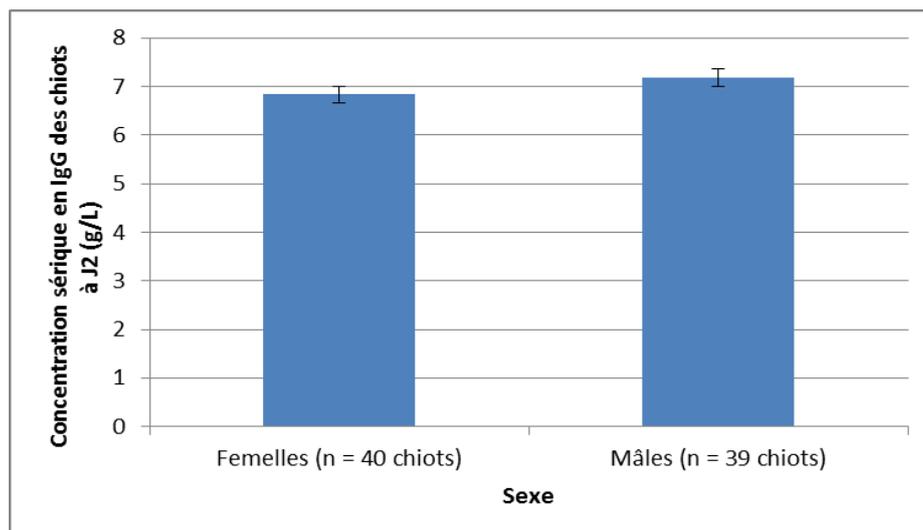
Les chiots des petites portées ont une moyenne de 7,4 g/L et écart-type de 6,6 g/L ; les moyennes portées une moyenne de 8,8 g/L et écart-type de 4,2 g/L ; les grandes portées une moyenne de 4,9 g/L et écart-type de 3,2 g/L. On voit ici qu'il y a une différence significative dans le transfert de l'immunité passive entre les différentes tailles de portée ( $p = 0,01$ ), les grandes portées ayant une concentration sérique en IgG à J2 inférieure aux autres.

On a respectivement 17% pour les grandes portées (L), 11,4% pour les moyennes (M) et 30% pour les petites portées (S) des individus en dessous du seuil critique.

### 2.3.3.5. Le sexe

On peut s'interroger sur une éventuelle différence de qualité du transfert passif de l'immunité entre les sexes (figure 28).

On voit qu'il n'y a pas de différence significative selon le sexe du chiot ( $p > 0,05$ ).



**Figure 28 : Concentration en IgG sériques des chiots à J2 selon le sexe (n = 79 chiots)**

Les femelles ont une moyenne de 6,8 g/L et un écart-type de 4,6 g/L ; les mâles ont une moyenne de 7,2 g/L et écart-type de 5,4 g/L. Chez les femelles, 20% des chiots, contre 15,4% chez les mâles se trouvent en-dessous du seuil critique. Cette différence n'est pas significative ( $p > 0,05$ ).

### 2.3.3.6. Le moment de la naissance (de jour ou de nuit)

L'heure de naissance des chiots, et en particulier une naissance diurne ou nocturne a-t-elle une influence sur le transfert passif de l'immunité du chiot, avec une sécrétion différente de la part de la mère, ou une activité variable des chiots ? (figure 29).

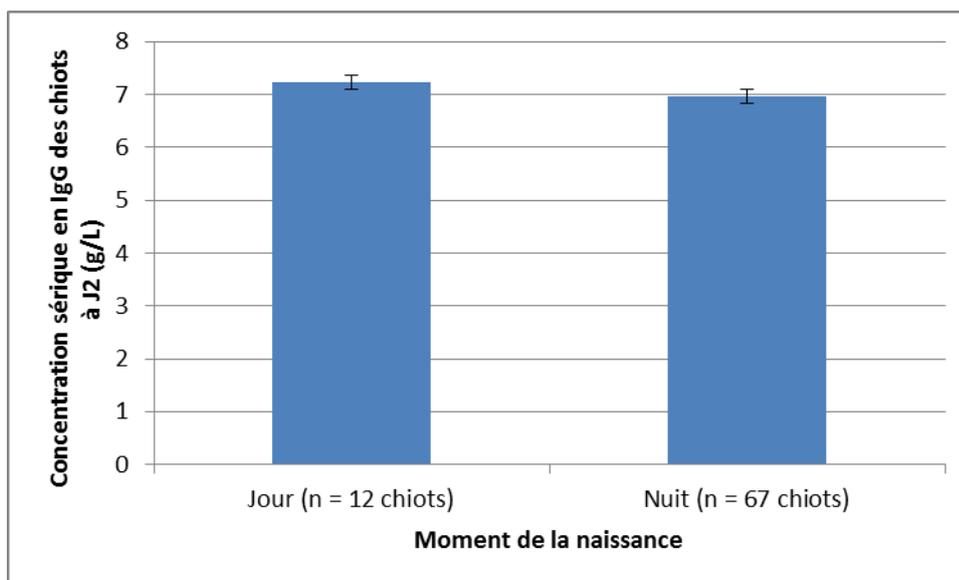


Figure 29 : Concentration en IgG sériques des chiots à J2 selon le moment de naissance (n = 79 chiots, 32 portées)

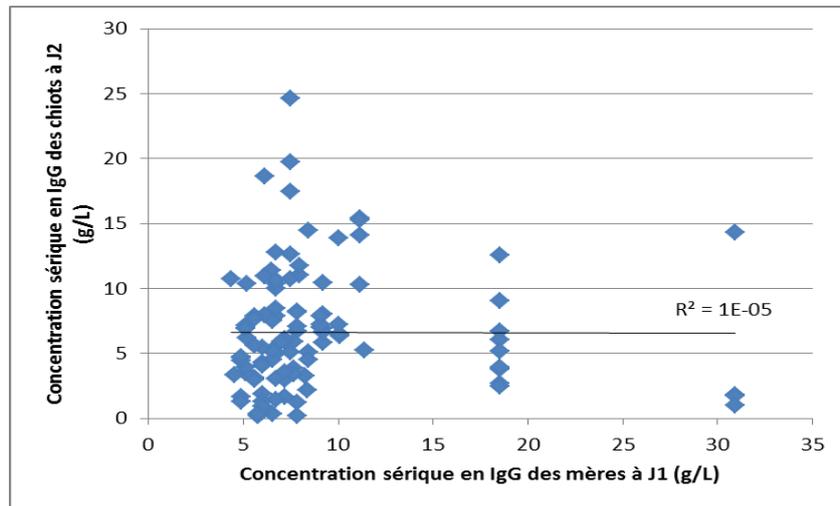
Les chiots nés de jour ont une moyenne de 7,2 g/L et écart-type de 4 g/L ; les chiots nés de nuit ont une moyenne de 7 g/L et écart-type de 5,2 g/L.

D'après la figure 29 et les analyses statistiques effectuées, il n'y a pas de différence significative ( $p > 0,05$ ). Cependant, 8% des chiots nés de jour contre 19,4% pour les chiots nés la nuit se trouvent en dessous du seuil critique. Les effectifs des échantillons ne permettent pas de montrer une différence significative ( $p > 0,05$ ).

### 2.3.3.7. La concentration sérique en IgG de la mère

L'immunité de la mère pourrait également influencer l'immunité des chiots. Ici, les chiennes sont toutes soumises au même microbisme et ont le même protocole vaccinal. Les différences entre elles reflètent donc en partie une part génétique, ainsi que les différentes stimulations antigéniques rencontrées malgré un environnement commun.

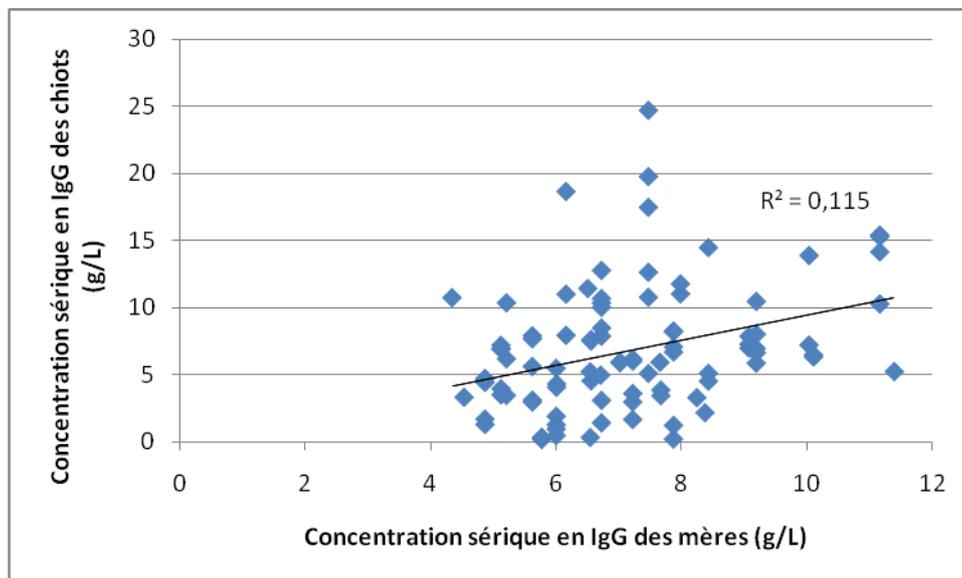
Nous avons comparé la concentration sérique en IgG des mères et de leurs chiots à J2 (figure 30).



**Figure 30 : Relation entre la concentration sérique en IgG des chiots à J2 en fonction de celle de leurs mères (à J1) (n = 108 chiots, n = 34 mères)**

Aucune corrélation n'apparaît entre les IgG sériques des mères à J1 et les IgG sériques des chiots à J2 ( $p > 0,05$ ).

En revanche, si l'on exclut les valeurs hautes en IgG sériques chez les mères (traduisant probablement une inflammation et donc un moins bon état général de la mère), on obtient des résultats plus nets. La figure 31 représente les IgG sériques des chiots à J2 en fonction des IgG sériques des mères, sans les valeurs supérieures à 15 g/L d'IgG.



**Figure 31 : Relation entre la concentration sérique en IgG chiots à J2 et celle de leurs mères à J1 (valeurs hautes des mères exclues) (n = 95 chiots et 32 mères)**

On voit alors une corrélation plus nette se dessiner. On a une corrélation entre ces deux variables ( $R^2 = 0,115$ ,  $p = 0,001$ ).

Dans cette étude, 23,5% des chiots dont la mère a une concentration sérique inférieure à la moyenne de 7,1 g/L (n= 16 mères), se trouvent sous le seuil critique, contre seulement 9% pour les mères ayant une concentration sérique supérieure à la moyenne (n= 16 mères). Cette différence est peu significative ( $p = 0,048$ ).

## 2.3.4. Conséquences du déficit

### 2.3.4.1. La morbidité

La morbidité lors de l'étude était de 60%, dont 20% ont résulté en la mort de l'animal. Les signes cliniques les plus fréquents étaient : diarrhée, affection respiratoire et fièvre.

L'immunité du chiot a un effet direct sur l'état de santé du chiot. En effet un chiot ayant un niveau d'immunité trop faible ne pourra pas lutter efficacement contre les germes et agressions extérieures. Nous avons donc étudié l'influence de la concentration sérique en IgG des chiots sur le taux de morbidité (figure 32).

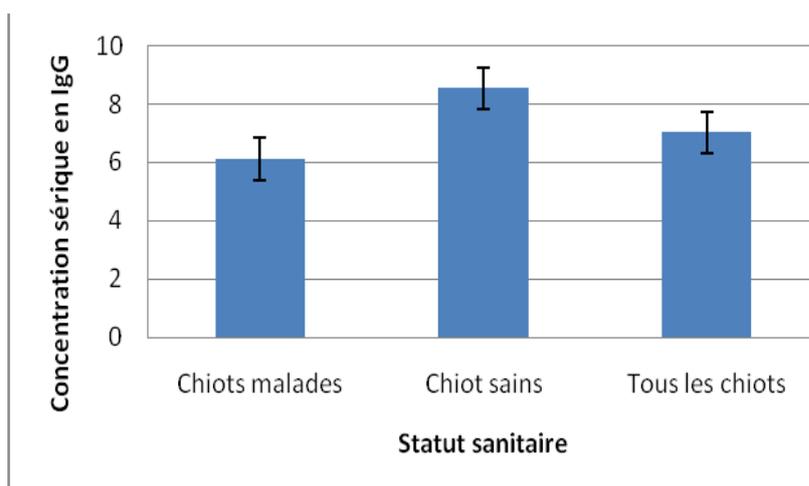


Figure 32 : Concentration sérique en IgG à J2 en fonction du statut sanitaire (n= 79 chiots)

Les chiots malades ont une moyenne de 6,1 g/L et un écart-type de 4,6 g/L ; les chiots sains ont une moyenne de 8,6 g/L et un écart-type de 5,4 g/L ; l'ensemble des chiots ont une moyenne de 7 g/L et un écart-type de 5 g/L. Il n'y a pas de différence significative de concentration sérique en IgG à J2 entre les chiots sains et les chiots malades ( $p > 0,05$ ).

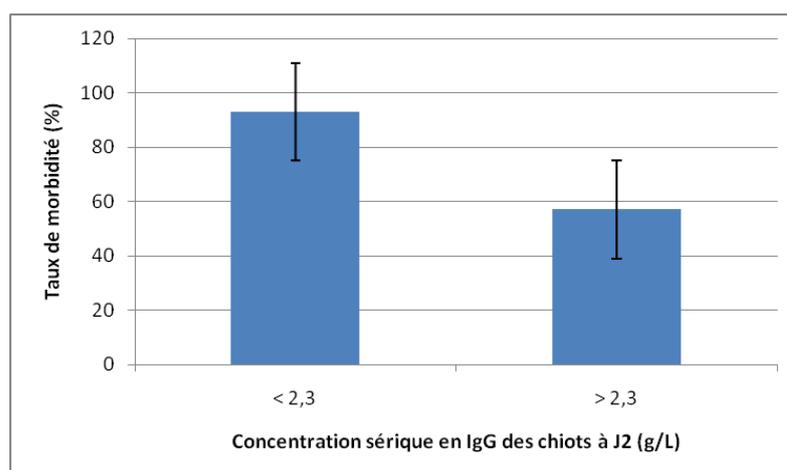


Figure 33 : Taux de morbidité en fonction du seuil critique

La morbidité a une incidence de 93% chez les chiots dont la concentration sérique est inférieure au seuil critique, contre 56,9% chez les chiots au dessus du seuil. Cette différence face au seuil critique est significative ( $p < 0,000$ ) (figure 33).

### 2.3.4.2. La mortalité

Lors de cette étude, la mortalité entre J0 et J56 est de 15,2%. Il s'agit ici de la mortalité globale, excluant cependant les mort-nés et incluant les morts jusqu'à 56 jours. La mortalité néonatale (entre J0 et J 21) est de 11,4%, c'est-à-dire 75% de la mortalité globale. Le taux de mortalité néonatale était 12,3% pour les chiots de petite race, contre 2,3% seulement chez les chiots de grande race.

Les infections ont été les premières causes de mortalité dans notre étude elles représentent 40 % de la mortalité entre J0 et J56.

On peut se poser la même question pour la mortalité que pour la morbidité. Dans quelle mesure la concentration sérique en IgG des chiots influence-t-elle sur la mortalité néonatale des chiots ? (figure 34).

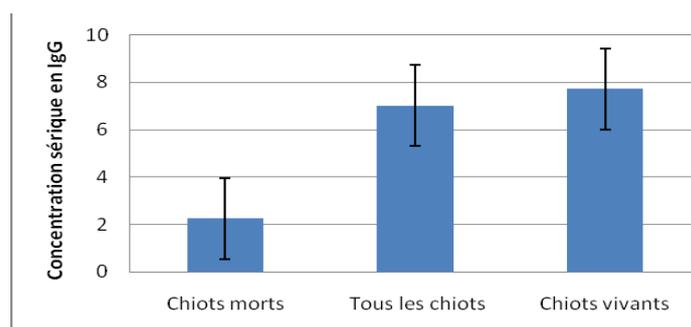


Figure 34 : Concentration sérique en IgG en fonction de la mortalité (n= 79 chiots)

Les chiots morts avaient une moyenne de 2,5 g/L et un écart-type de 2,8 g/L ; les chiots ayant survécu avaient une moyenne de 7,7 g/L et un écart-type de 4,9 g/L ; la globalité des chiots ont une moyenne de 7 g/L et un écart-type de 5 g/L. On voit ici que la différence entre la concentration des chiots morts et celle des vivants est significative ( $p = 0,004$ ). On a donc une nette influence du taux d'IgG sériques à deux jours d'âge sur la mortalité néonatale.

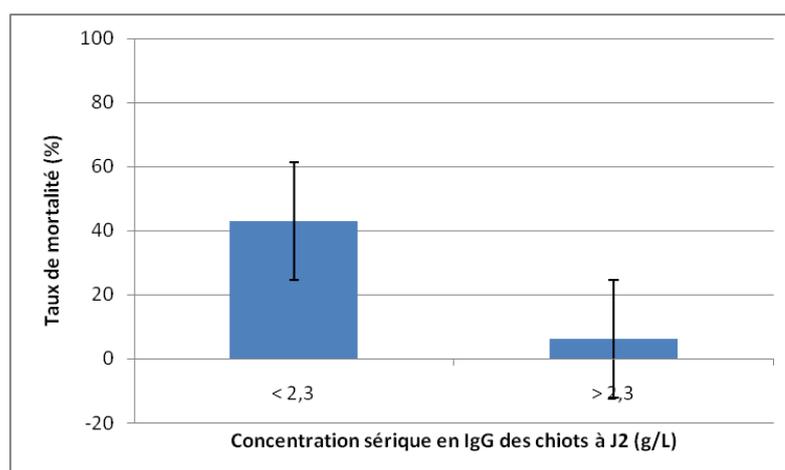


Figure 35 : Taux de mortalité en fonction du seuil critique

De plus, 42,9% des chiots morts entre J0 et J56 avaient une concentration inférieure au seuil critique à J2, contre 6,2 % des chiots toujours vivants à J 56. Une valeur élevée qui est significative ( $p = 0,007$ ) (figure 35).

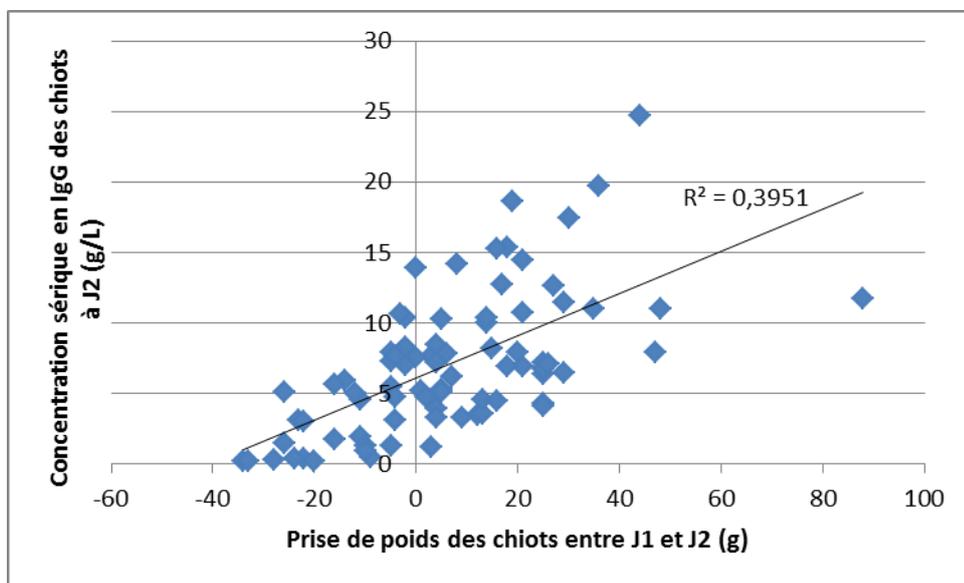
### 2.3.4.3. La croissance

Nous nous sommes interrogées sur un possible lien entre le gain de poids des chiots sur les deux premiers jours et leur immunité passive acquise à J2. En effet, un chiot qui prend du poids a probablement bien tété et a ainsi pu acquérir une meilleure immunité passive qu'un chiot ayant peu bu et ayant par conséquent eu une croissance plus faible.

Au deuxième jour, 31,8 % des chiots dont le gain de poids depuis la naissance est en dessous de la moyenne de la population se trouvent sous le seuil critique, contre 0 % chez les chiots dont la prise de poids est supérieure à la moyenne.

39 % des chiots ont perdu du poids entre J0 et J2. Ces chiots avaient une teneur moyenne en IgG à J2 de 3,8 g/L, contre 8,9 g/L pour les chiots ayant pris du poids (ou n'en n'ayant pas perdu). 43% des chiots ayant perdu du poids se trouvent sous le seuil critique de 2,3 g/L d'IgG sériques à J2, contre 2% des chiots ayant pris du poids.

La figure 36 représente la prise de poids entre le premier et le deuxième jour en lien avec la concentration sérique des chiots en IgG à J2, tous chiots confondus.



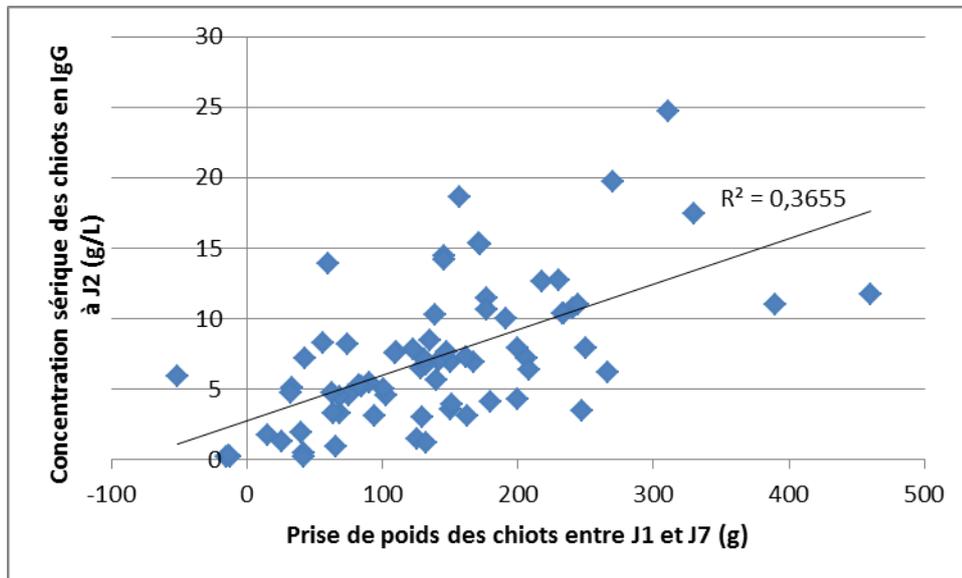
**Figure 36 : Concentration sérique des chiots en IgG à J2 en fonction de l'évolution du poids entre J1 et J2 (n = 79 chiots)**

On peut voir ici qu'il y a un lien assez fort ( $R^2=0,395$  et  $p < 0,0001$ ) entre les concentrations en IgG sériques des chiots mesurées à J2 et leur prise de poids entre J1 et J2.

De plus 31,8% des chiots dont la croissance est inférieure à la moyenne de la population se trouvent sous le seuil critique, contre 0% si la croissance est supérieure à la moyenne ( $p < 0,0001$ ).

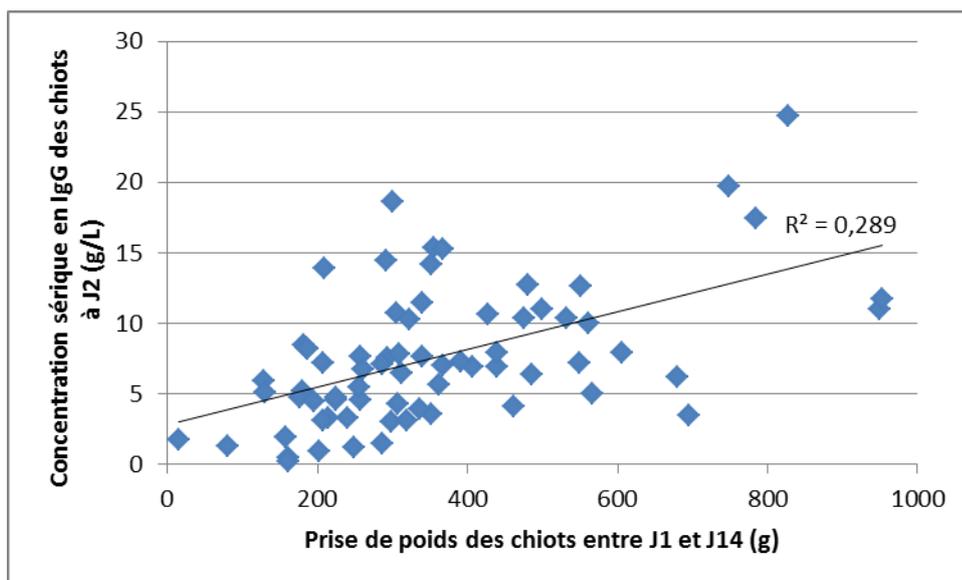
Devant cette constatation, nous avons regardé si ce lien existait toujours sur une plus longue durée.

Les figures 37 à 40 montrent la quantité d'IgG sériques des chiots à J2 chez tous les chiots inclus dans notre étude en fonction de leur prise de poids depuis le premier jour jusqu'à différents moments (J7, J14, J28 et J56).



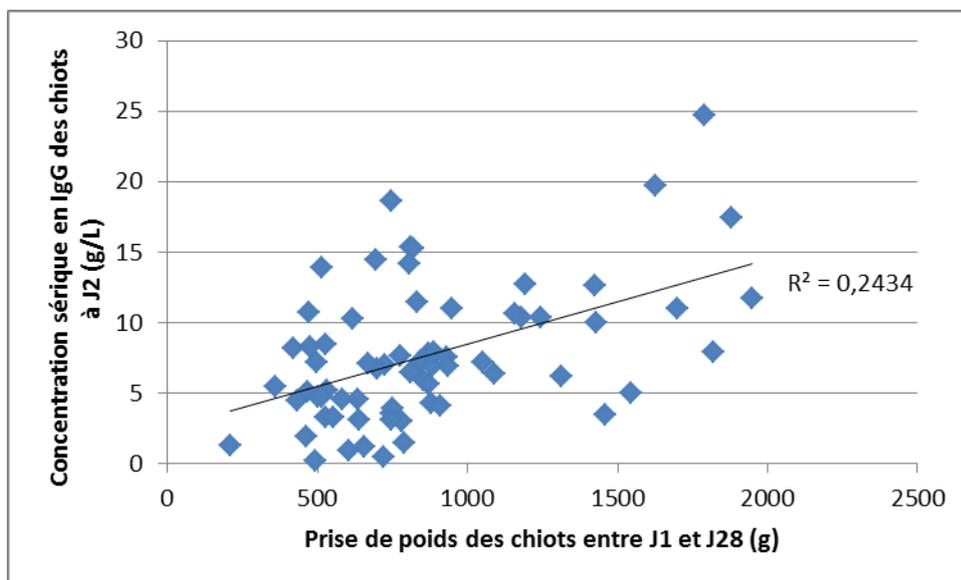
**Figure 37 : Concentration sérique des chiots en IgG à J2 en fonction de l'évolution du poids entre J1 et J7 (n = 74 chiots)**

Au 7<sup>ème</sup> jour, il existe toujours une corrélation entre la prise de poids depuis la naissance et la concentration sérique en IgG à J2 ( $R^2 = 0,366$  et  $p < 0,0001$ ) ; (figure 37).

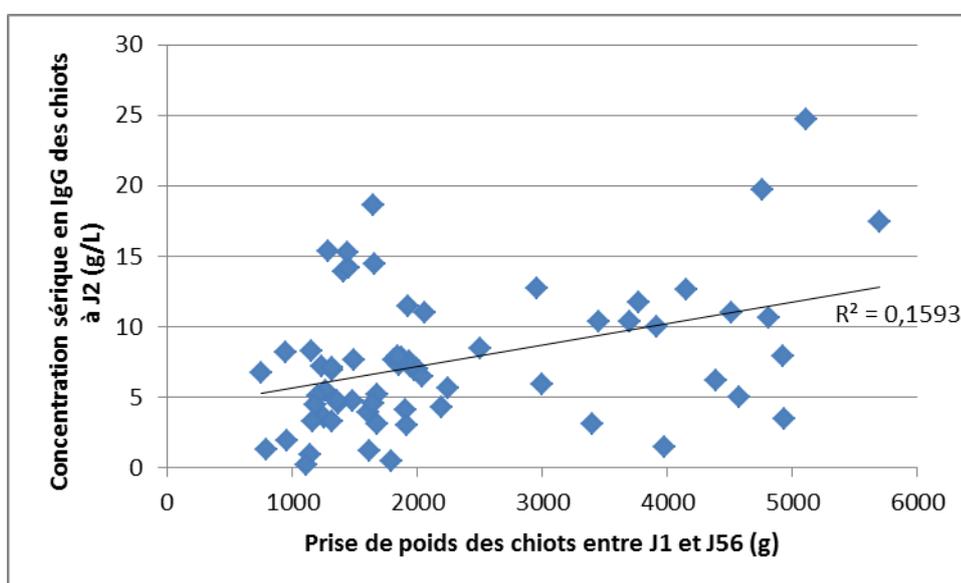


**Figure 38 : Concentration sérique des chiots en IgG à J2 en fonction de l'évolution du poids entre J1 et J14 (n = 70 chiots)**

De même, il existe encore un lien entre la prise de poids depuis la naissance à 14 jours d'âge et les IgG sériques des chiots à J2 ( $R^2 = 0,289$  et  $p < 0,0001$  ; figure 38). De même pour le 28<sup>ème</sup> jour (Figure 39) ( $R^2 = 0,242$  et  $p < 0,0001$ ).



**Figure 39 : Concentration sérique des chiots en IgG à J2 en fonction de l'évolution du poids entre J1 et J28 (n = 69 chiots)**



**Figure 40 : Concentration sérique des chiots en IgG à J2 en fonction de l'évolution du poids entre J1 et J56 (n = 66 chiots)**

A deux mois, il existe toujours une corrélation, mais elle semble plus faible qu'au début ( $R^2 = 0,159$  et  $p < 0,001$ ) (figure 40).

Ayant intégré différentes races dans l'étude, nous avons voulu savoir si cette corrélation était plus forte lorsque l'on exprimait la prise de poids en pourcentage par rapport au poids de naissance ou par rapport au poids atteint à la fin de l'étude (tableau 7).

Les résultats étant assez similaires, voire moins bons, les courbes ne sont pas représentées. Lorsque l'on s'intéresse au pourcentage de croissance (afin de s'affranchir de l'effet « taille adulte du chien »), nous obtenons toujours des valeurs de  $p < 0,05$  de J2 à J56. Le tableau 7 montre les coefficients de détermination ( $R^2$ ) obtenus pour chaque catégorie.

**Tableau 8 : Corrélations ( $R^2$ ) entre la concentration sérique en IgG à J2 et la prise de poids (absolue ou relative) selon la méthode de calcul et les jours de pesée**

Période de prise de poids	Tous	%J1	%Jx	%J56
J1 - J2	0,3951	0,3644	0,3777	0,1819
J1 - J7	0,3655	0,3335	0,2894	0,0955
J1 - J14	0,2890	0,2263	0,1681	0,0498
J1 - J28	0,2434	0,1008	0,0795	0,0089
J1 - J56	0,1593	0,0627	0,0652	0,0652

On voit donc qu'il y a une corrélation nette entre la prise de poids et la teneur en IgG des chiots à J2, corrélation qui s'affaiblit avec le temps.

## **3. Discussion**

### **3.1. Limites de l'étude**

#### **3.1.1. Population étudiée et collecte d'informations**

L'étude a été effectuée sur 108 chiots appartenant à 44 portées et de 13 races différentes. Ceci a un gros avantage en termes d'effectif. En effet, les études précédentes portant sur l'analyse du colostrum et du transfert passif de l'immunité chez les chiens ne concernaient qu'un nombre limité d'animaux, respectivement 5 mères et 22 chiots et 4 mères et 22 chiots (Ofstedal, 1984 ; S. Chastant-Maillard et al., 2012). De plus, beaucoup d'études ne portent que sur une race donnée ou un nombre limité de races (beagles pour Ofstedal, 1984 ; foxhound pour Potkay et Bacher, 1977 ; boxers pour Nielen et al., 1998 et pour Van der Beek et al., 1999 ; beagles pour Chastant-Maillard et al., 2012). Nous avons inclus 13 races différentes. Autre avantage de notre étude : les conditions de récolte des informations et échantillons. Souvent, les informations sont obtenues dans des élevages fermés destinés à la production d'animaux de laboratoire (Smith et Scammell, 1968 ; Potkay et Bacher, 1977) et ne permettent donc pas une représentation de la réalité du terrain. D'autres récoltent leurs informations directement auprès des éleveurs (Nielen et al., 1998 ; Van der Beek et al., 1999 ; Indrebo et al., 2007 ; Tonnessen et al., 2012). Cependant, on peut suspecter des imprécisions. Les éleveurs ne déclarent pas toujours les chiots euthanasiés pour des défauts de conformation, et ne feront pas toujours un diagnostic correct des maladies et des causes de décès. Dans notre cas, les informations sont récoltées dans un élevage par des personnes formées et qualifiées. On se trouve donc dans la situation d'un élevage classique avec une garantie sur la qualité des informations récoltées.

#### **3.1.2. Données manquantes**

La concentration sérique en IgG de chiots d'un très jeune âge reste très peu étudiée, la récolte de ces informations sur 108 chiots présente donc un outil précieux pour comprendre le fonctionnement et les facteurs de variation du transfert passif de l'immunité.

Cependant, quelques informations supplémentaires auraient permis de pousser la recherche de facteurs de variation un peu plus loin.

Pour commencer, le suivi des scores corporels des mères lors de la gestation jusqu'à la mise bas aurait pu avoir un intérêt afin de mettre en évidence une possible relation entre l'état corporel des mères et la qualité du colostrum produit. D'après Besser et Gay (1994), chez les bovins, les carences en protéines et en énergie n'ont pas d'influence sur la qualité du colostrum, et seul l'état de santé des mères peut l'influencer. Il aurait été intéressant d'étudier ce phénomène chez le chien.

Avoir le poids des mères pour pouvoir comparer le poids total de la portée à celui de la mère et ainsi s'affranchir de la taille de la race aurait été intéressant. Nous aurions pu voir

l'influence du poids de la portée (en pourcentage de celui de la mère) sur la composition du colostrum, ainsi que sur la concentration sérique en IgG des chiots.

Un autre facteur qu'il aurait été intéressant d'étudier est la parité des mères (ces données n'étaient pas disponibles pour notre étude). D'autant plus que Tonnessen et al. (2012) ont mis en évidence un lien entre la mortalité périnatale et la parité, avec un risque de mortalité périnatale plus élevé pour les chiots d'une femelle primipare. Dans notre cas, il aurait été intéressant d'étudier si la parité avait un effet sur la qualité du colostrum, ou sur l'efficacité du transfert passif par un autre facteur que la qualité du colostrum (défaut de soins maternels, défaut d'ingestion du colostrum, ...).

Certaines des valeurs calculées ne sont pas basées sur le même nombre de chiots que d'autres. En effet, les huit dernières portées n'ont pas pu être suivies jusqu'à l'âge de 56 jours, il manque donc des données de morbidité, de mortalité et de croissance sur ces chiots. Les données calculées pour ces paramètres ne concernent donc que 79 chiots.

### **3.1.3. Pistes alternatives**

Dans notre étude, nous avons décidé d'analyser les données en fonction de la taille des races et avons donc réparti les races présentes en petites races (Small) et grandes races (Large). Cependant, cette répartition est un peu ambiguë pour certaines races, notamment les races moyennes comme les Cockers. De plus, Tonnessen et al. (2012), dans leur étude sur 224 races différentes, ont mis en évidence des variations du taux de mortalité plus fortes entre races qu'entre formats raciaux. On peut donc se demander si cela peut être vrai également pour le transfert passif de l'immunité.

Nous nous sommes limités à l'étude des IgG sériques en totalité. Il serait intéressant de mener la même analyse avec le dosage d'anticorps spécifiques (dirigés contre l'herpès virus CHV1 ou le parvovirus, par exemple), leur comportement pouvant être différent de celui des IgG.

La quantité de colostrum ingéré par les chiots est quasiment impossible à évaluer dans des conditions où les chiots ont un accès libre à la tétine. Oftedal (1984) a cependant tenté d'évaluer cette ingestion sur des chiots plus âgés grâce à l'administration d'oxyde de deutérium ( $D_2O$ ) par voie orale. Ce type de procédure a deux inconvénients sur des nouveau-nés. Après l'ingestion du  $D_2O$ , un laps de temps de 2h est nécessaire avant la première collecte de sang donnant la valeur de base. Or le temps de la fermeture de la barrière intestinale permettant l'absorption des Ig est précoce chez le chien (Chastant-Maillard et al., 2012) ; les chiots perdraient donc 2h heures précieuses à leur survie. Ensuite, il est suspecté que l'ingestion précoce d'alimentation induit une fermeture de la barrière prématurée, comme c'est le cas chez le porcelet (Stott et al., 1979). Connaître la quantité de colostrum ingérée par les chiots permettrait de savoir si un chiot ingérant peu de colostrum mais de très bonne qualité peut avoir une protection équivalente à celle d'un chiot ingérant une quantité conséquente de colostrum d'une qualité inférieure. On pourrait nourrir les chiots avec du colostrum de qualité connue (et variable entre les chiots) avec une quantité connue (et variable) de colostrum donné. Une autre méthode pour mesurer la prise colostrale des chiots serait de doser le taux circulant de  $\gamma GT$  (si celle-ci est bien à peu près constante dans le colostrum utilisé).

Van der Beek et al. (1999) ont classé les facteurs de risque de mortalité périnatale en trois catégories : risques ayant une origine génétique, risques communs aux chiots d'une même portée et risques individuels au sein d'une portée. Ce type de classification peut apporter un peu plus de clarté à l'étude. Cependant, dans leur étude, ils précisent qu'il est très difficile de faire cette distinction car les facteurs se recoupent souvent. Par exemple, les facteurs communs à une portée ont souvent également une composante génétique. Notre étude aurait néanmoins probablement gagné en clarté sur l'origine des variations en adoptant ce type de classification.

Toujours dans l'étude de Van der Beek et al. (1999), il est montré que la mortalité augmente de 0,5% pour chaque pourcentage de consanguinité supplémentaire. Inclure une étude de la consanguinité dans notre travail aurait un intérêt. Des analyses sont désormais disponibles pour déterminer le degré d'homozygotie dans l'espèce canine (MarsVeterinary). On pourrait ainsi analyser la part génétique impliquée dans la transmission passive de l'immunité et voir si la consanguinité a un effet négatif sur celle-ci.

## **3.2. Analyses des résultats**

### **3.2.1. Comparaison avec les données de la littérature (chiens et autres espèces domestiques)**

#### **3.2.1.1. La concentration en IgG dans le colostrum canin**

Nous avons étudié le colostrum de 44 mères à un jour post-partum et en avons dosé les IgG. Nous avons trouvé une concentration moyenne en IgG (en mélangeant les sécrétions de toutes les mamelles) de 20,1g/L.

Notre moyenne est supérieure à celles généralement rencontrées dans la littérature : 12 g/L pour Poffenbarger et al. (1991), 14,53 g/L pour Norcross (1982), 14,60 g/L pour Person (1978), 15 g/L pour Heddle et Rowley (1975), 17,9g/L pour Bertieri (2012) et 19,3 g/L pour Schäfer-Somi et al. (2005a). Ceci peut être expliqué par le faible nombre d'échantillons (2 à 10 chiennes seulement) utilisés dans les études citées ci-dessus. En effet, nous avons noté une très forte variabilité individuelle, 8 à 41,7g/L, retrouvée chez Bertieri (2012), avec des valeurs allant de 11,9g/L à 33,8g/L.

Si l'on compare nos valeurs à celles trouvées dans la littérature pour les autres espèces, on peut noter des différences importantes. Chez les chats, plusieurs études ont trouvé des valeurs se situant autour de 62 g/L d'IgG dans le colostrum (Day, 2007 ; Claus et al., 2006), valeurs trois fois plus élevées que ce que nous avons observé chez le chien. Les truies semblent également avoir un colostrum plus concentré en IgG : 58 g/L d'après Kruse (1983), valeurs confirmées par Quesnel (2011). Les ovins ont également des teneurs colostrales en IgG importantes : 87 g/L (Christley et al., 2002). Les bovins ont des concentrations très variables, dont certaines plus proches de celles observées chez le chien dans notre étude : 23.9 g/L pour certaines races laitières à plus de 130 g/L pour des vaches allaitantes (Besser et Gay, 1994 ; Weaver et al., 2000).

Face à cette forte variabilité se pose la question des facteurs influençant ces variations.

### 3.2.1.2. Facteurs de variation de la qualité colostrale

Nous avons étudié un certain nombre de facteurs de variation dont l'âge, la taille de la race, et la concentration sérique en IgG, pour lesquels aucun lien avec la concentration colostrale en IgG n'est apparu dans notre étude. La taille de la portée a également été étudiée mais n'a pas montré de lien avec le transfert passif de l'immunité ; il y a cependant un effet sur la quantité de colostrum produit. Ces résultats correspondent à ceux de Bertieri (2012), ayant étudié la qualité du colostrum en fonction de la taille et du poids de la portée.

Chez les autres espèces domestiques, des facteurs de variation ont été mis en évidence par différents auteurs.

Chez les vaches, les mères plus âgées semblent produire un colostrum plus riche en IgG que les jeunes (Norman et al., 1981). Il a été montré dans plusieurs études que les vaches primipares produisaient souvent des colostrums moins riches en IgG que les multipares (Kruse, 1970b ; Levieux, 1984). D'autres ont également montré que le colostrum de la seconde lactation était, dans une moindre mesure que la première, moins riche que lors des lactations suivantes (Weaver et al., 2000 ; Beam et al., 2009). En revanche, Gilbert et al (1988) ont trouvé que l'âge de la mère, indépendamment de sa parité, n'avait pas d'influence sur la composition du colostrum. La parité des mères a également montré son importance chez les truies (figure 41) : les primipares produisent également des colostrums moins riches en IgG que les multipares (Devillers et al., 2007 ; Quesnel, 2011 ; Cabrera et al., 2012).

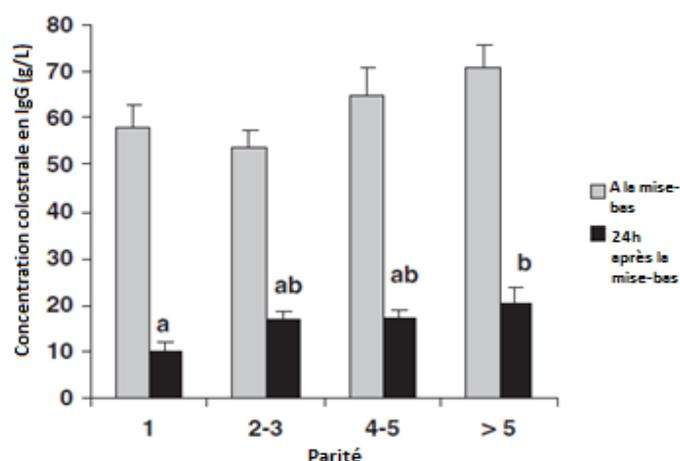
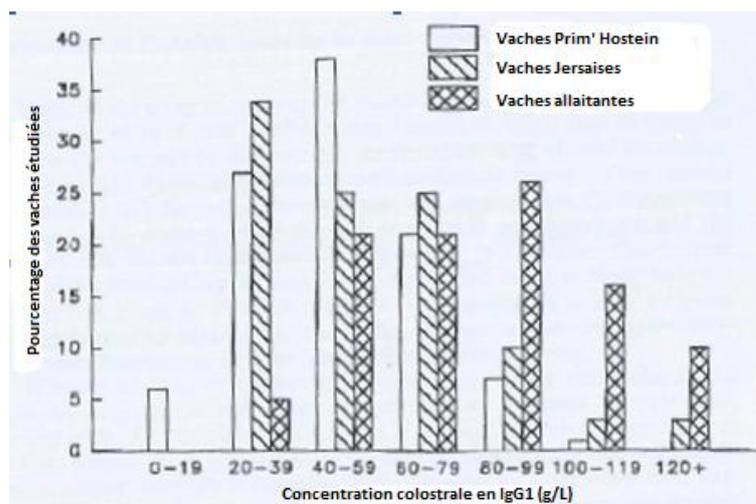


Figure 41 : Effet de la parité sur la concentration colostrale en IgG (Quesnel, 2011), n= 56 truies

Certaines études montrent que le colostrum des multipares est en moyenne 5% plus concentré que celui des primipares (Cabrera et al., 2012). Cet effet n'a pas pu être exploré dans notre étude par manque de données sur la parité des mères, mais il serait intéressant de voir si la parité a également un effet sur la qualité du colostrum chez le chien. Nous avons cependant pu mettre en évidence que chez les chiennes, les jeunes produisent un colostrum de qualité immunologique moins variable que les chiennes plus âgées.

Dans notre étude, aucun effet de la taille de la race n'a été noté. Chez les bovins, on note en revanche une grande importance de la race sur la qualité colostrale : les vaches allaitantes sont connues pour produire un colostrum en plus faible quantité mais beaucoup plus concentré en IgG que les vaches laitières (Levieux, 1984 ; Besser et Gay, 1994 ; Weaver et al., 2000 ; figure 42). Chez les porcs, Quesnel (2011) a mis en évidence une différence entre les races : les truies Large White produisent un colostrum plus riche que les croisées Large White x Landrace (71 g/L contre 60 g/L), mais ce résultat est en désaccord avec d'autres

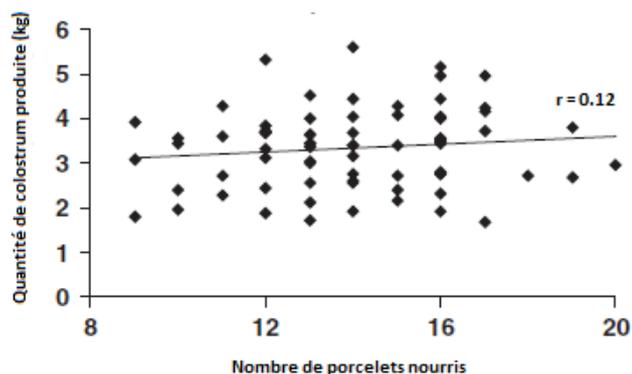
études qui n'observent pas de différences entre les races de truies (Inoue et al., 1980). L'effet de la race est également noté chez les brebis (Levieux, 1984).



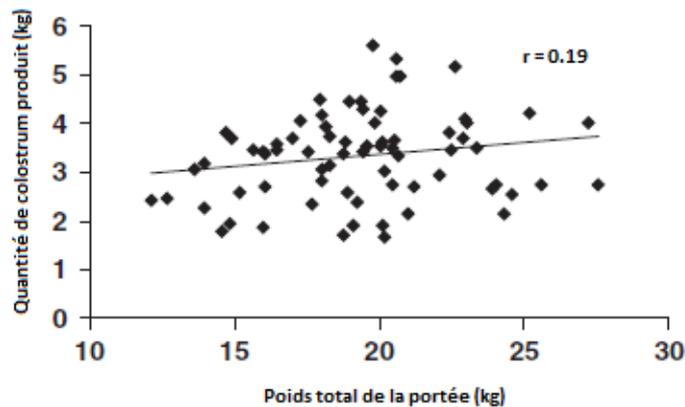
**Figure 42 : Concentration colostrale en immunoglobulines (g/L) chez des vaches de race Holstein, Jersey et des races à viande croisées. (Besser et Gay, 1994)**

La taille de la portée (en nombre de chiots nés vivants) n'avait, dans notre étude, aucune influence sur la qualité du colostrum. C'est aussi le cas chez les porcins, où le nombre de porcelets nés vivants n'influence pas la composition du colostrum produit (Devillers et al., 2007 ; figure 43). Ceci pourrait nous faire penser que des portées nombreuses auraient plus de chances d'avoir des défauts de transfert de l'immunité passive : les nouveau-nés devant se partager la même quantité de colostrum, les petits d'une portée nombreuse en auraient en moyenne une quantité moins importante.

De même, le poids total de la portée ne semble pas influencer la production colostrale, en qualité ni en quantité (Quesnel, 2011 ; figure 44).



**Figure 43 : relation entre la production colostrale (sur 24h) et le nombre de porcelets (Quesnel, 2011) (n = 72 truies)**



**Figure 44 : relation entre le poids de la portée et la production colostrale de la mère sur 24h (Quesnel, 2011) (n = 72 truies)**

Nous avons vu que, dans notre étude, aucun lien n'existait entre la concentration en IgG sériques de la mère et la concentration moyenne en IgG dans son colostrum. Chez les bovins, il semblerait qu'il n'y ait pas non plus de corrélation (Norman et al., 1981 ; Uetake et al., 2013). Chez le chat, certains auteurs ont en revanche trouvé un lien entre les IgG sériques et colostrales : le colostrum serait en moyenne 4,5 fois plus concentré en IgG que le sérum des mères ( $r = 0,54$ ,  $P < 0,001$ ) (Claus et al., 2006). Nous avons dans notre étude un colostrum en moyenne 2.9 fois plus concentré en IgG que le sérum de la mère l'ayant produit. De même pour les porcins, il existerait un lien entre la concentration en IgG sériques des mères et leur colostrum (Devillers et al., 2007). Pour examiner ce lien d'un peu plus près, il pourrait être intéressant d'exclure de l'étude les mères ayant un taux de protéines totales sériques trop élevé, indiquant qu'elles sont probablement malades, car une atteinte de l'état général pourrait entraîner une plus faible production de colostrum, faussant ainsi les résultats obtenus.

La densité optique a également été étudiée. En effet, les Ig étant des protéines et représentant 37% des protéines du lait (Schäfer-Somi et al., 2005a), on pourrait penser que la densité optique reflète la quantité d'Ig présentes. C'est le cas chez les bovins, chez lesquels la densité optique du colostrum est utilisée pour évaluer sa qualité immunologique (Chigerwe et al., 2008 ; Morill et al., 2012 ; Quigley et al., 2013). Nos analyses n'ont pas permis de mettre en évidence une corrélation statistiquement significative entre la densité optique du colostrum et sa concentration en IgG. Ceci aurait été un outil facile et rapide pour estimer la qualité du colostrum par l'éleveur au sein de l'élevage, mais, chez le chien, cela ne semble pas être possible. Il faut cependant retenir que nos observations sont basées sur une seule paire de mamelles, ce qui, comme on va le voir juste après peut fausser l'analyse.

En ce qui concerne la comparaison des sécrétions des différentes mamelles, une très grande variabilité a été trouvée. Certaines mamelles produisent un colostrum plus concentré que d'autres, mais le numéro de ces mamelles est variable d'un individu à l'autre. Au contraire, Bertieri (2012) avait mis en évidence une concentration sensiblement équivalente entre les mamelles. Cette variabilité entre mamelles a deux conséquences : d'une part, il sera difficile de conclure sur la qualité du colostrum à partir de l'analyse de la sécrétion d'une mamelle en particulier. D'autre part, le comportement de tétée (la ou les mamelle(s) choisie(s) par le chiot avant la fermeture de la barrière intestinale) va avoir un impact sur la qualité du transfert passif de l'immunité.

### **3.2.1.3. La concentration sérique en IgG des nouveau-nés**

Après avoir étudié le colostrum, nous nous sommes intéressés à la concentration sérique en IgG des chiots à l'âge de 2 jours. Nous avons trouvé une moyenne de 6,62 g/L, largement inférieure que les données de Chastant-Maillard et al. (2012) qui, en conditions optimales (administration du colostrum très précocement), obtiennent une moyenne proche de 20 g/L. Ces valeurs restent cependant inférieures à celles mesurées dans d'autres publications (Schaffer-Somi et al., 2005a). Cela peut s'expliquer par l'alimentation expérimentale, dans l'étude de Chastant-Maillard et al. (2012), en un seul repas de colostrum et donc une ingestion totale moindre que chez un chiot en tétée libre. De plus, cette étude montre la moyenne de seulement sept individus et donc une faible représentativité.

Chez les autres espèces domestiques, des valeurs plus élevées sont également obtenues. Chez le chat, des études ont montré que cette concentration se situait autour de 19 g/L (Claus et al., 2006). Chez l'agneau, on trouve à 24h d'âge des concentrations aux alentours de 25 g/L (Massimini et al., 2006). Chez le veau, des valeurs comprises entre 10 et 30 g/L ont été trouvées par différents auteurs (Levieux, 1984 ; Morin et al., 1997). Les porcelets ont des concentrations sériques en IgG à un jour situées autour de 24 g/L (Kruse, 1983).

La mortalité pré-sevrage dans notre étude est de 15,2%, dont les trois quarts ont lieu en période néonatale (trois premières semaines de vie). Dans une autre étude, ce taux est généralement compris entre 17 et 30% (Indrebo et al., 2007). Il faut cependant retenir que dans notre étude les mort-nés sont exclus du taux de mortalité car ils n'ont pas été enregistrés lors des mises bas, ce qui n'est pas le cas dans la plupart des études.

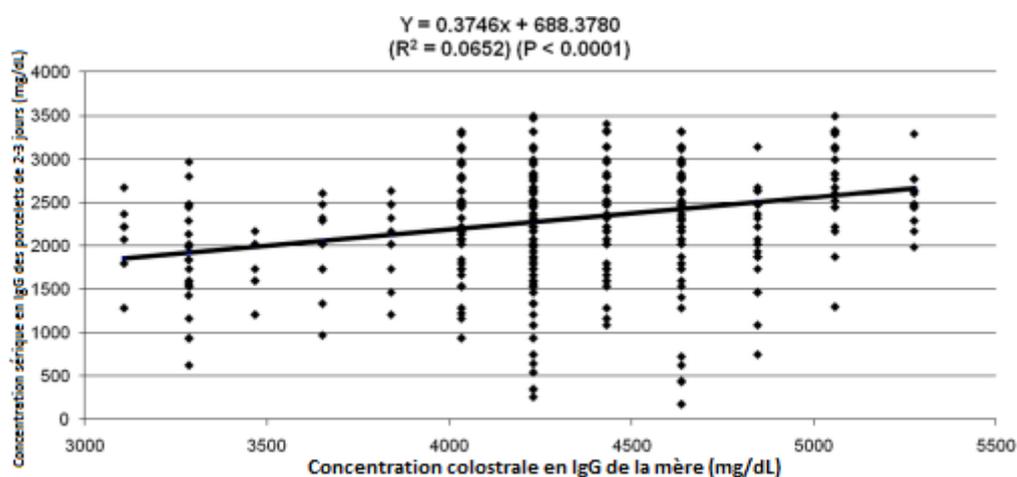
Nous avons voulu voir si un lien existait dans notre population entre les taux de mortalité/morbidité et la valeur seuil critique mise en évidence par Mila (2012). Nous avons également observé que les chiots ayant moins de 2,3 g/L d'IgG sériques à deux jours avaient des risques plus élevés de morbidité (taux de morbidité chez les chiots dont la concentration sérique en IgG est sous le seuil de 93%) et mortalité (taux de mortalité chez les chiots dont la concentration sérique en IgG est sous le seuil de 43%). Des valeurs seuils ont également été trouvées dans d'autres espèces. Chez le veau, cette valeur seuil se situe aux alentours de 10 g/L d'IgG sériques (Morin et al., 1997 ; Beam et al., 2009 ; Stilwell et Carvalho, 2011). D'autres auteurs ont trouvé un seuil de concentration en protéines sériques totales en-dessous duquel le veau a plus de chances d'avoir des problèmes avant le sevrage ; ce seuil serait autour de 50 g/L de protéines sériques totales (Besser et Gay, 1994). Chez le porcelet, un seuil critique est également établi à 10 g/L par Cabrera et al. (2012). Le seuil critique identifié chez le chien est donc fortement inférieur à celui trouvé dans les autres espèces. Ceci peut être expliqué par une moyenne générale de concentration sérique en IgG plus faible chez le chien que dans les autres espèces.

### **3.2.1.4. Facteurs de variation de la concentration sérique des jeunes**

Nous avons analysé les valeurs de façon quantitative mais aussi qualitativement, par rapport au seuil critique de 2,3 g/L, défini par Mila et al. (2012), en-dessous duquel les chiots présentent un risque accru de morbidité et de mortalité dans les 21 premiers jours de vie. Nous avons analysé nos données en fonction de différents facteurs de variation et également par rapport à ce seuil.

Une grande variabilité entre les chiots a été observée, allant de 0,21 g/L à 24,6 g/L. Ceci se retrouve également dans les autres espèces. Chez les porcelets, des valeurs entre 5 et 35 g/L d'IgG à deux jours d'âge sont mises en évidence (Kruse, 1983 ; Devillers et al., 2011 ; Cabrera et al., 2012). Il en est de même chez les veaux : une très forte variabilité est rapportée (Morin et al., 1997 ; Beam et al., 2009). Des valeurs entre 5 et 50 g/L sont montrées chez l'agneau (Massimini et al., 2006). Chez le chat, des valeurs entre 3.5 et 60 g/L sont rapportées (Claus et al., 2006). On voit que dans toutes les espèces, une très grande variabilité de la concentration sérique en IgG au cours des premiers jours de vie est rapportée, ce qui concorde avec nos propres résultats sur les chiens.

Le premier facteur étudié était la qualité immunologique du colostrum de la mère. Nous n'avons pas trouvé de lien entre la teneur colostrale en IgG et la concentration sérique en IgG des chiots de deux jours. Chez les porcins, Cabrera et al. (2012) ont trouvé que seulement 6% de la variabilité des IgG des chiots venaient de la teneur du colostrum en IgG (figure 45).



**Figure 45 : Effet de la concentration colostrale en IgG sur la concentration sérique des porcelets en IgG à 2-3 jours d'âge (Cabrera et al., 2012) (n = 75 mères, m = 745 porcelets)**

Pour un même volume colostrale ingéré, des veaux ayant reçu du colostrum riche en IgG ont des concentrations sériques en IgG à 24 et 48 heures d'âge plus élevées que des veaux ayant bu un colostrum plus pauvre (Morin et al., 1997). Chez le chat, une corrélation a également été montrée entre ces deux variables (Claus et al., 2006). Ces études montrent bien le lien entre la qualité du colostrum et le transfert passif de l'immunité, ce qui est en désaccord avec nos résultats. Ce qui peut être expliqué par le fait que d'autres facteurs ont beaucoup d'importance également sur l'absorption des IgG par le chiot dans notre étude.

Nous avons en revanche trouvé une corrélation entre le poids de naissance et la concentration sérique des chiots en IgG ( $R = 0,369$ ,  $p = 0,001$ ). Cette corrélation est également retrouvée dans d'autres espèces. Chez les porcins, une corrélation positive existe entre la quantité de colostrum ingérée, les concentrations en IgG sériques des porcelets et leur poids de naissance (Devillers et al., 2011). Un faible poids de naissance est également corrélé avec une plus faible teneur en IgG sériques et un taux de mortalité plus élevé chez les ovins (Christley et al., 2003). En revanche, Massimini et al. (2006) n'ont pas pu mettre cette corrélation en évidence. Ce lien entre poids de naissance et transfert passif de l'immunité peut être expliqué par le fait que des nouveau-nés chétifs vont avoir moins d'énergie pour aller trouver la mamelle et pour ingérer une quantité suffisante de colostrum, recevant ainsi moins

d'IgG que les nouveau-nés plus vigoureux. En revanche, des nouveau-nés trop gros ayant plus de risques de souffrir lors de la mise-bas, certains auteurs ont trouvé qu'un poids très élevé avait une corrélation négative avec le transfert de l'immunité (Christley et al., 2006). Ceci est en accord avec notre étude : on peut voir qu'il existe un lien entre le poids de naissance et les concentrations en IgG sériques, excepté pour les chiots de plus de 400g, qui semblent avoir des teneurs sériques en IgG plus faibles. Mais ces résultats ne sont pas statistiquement significatifs. Le fait de diviser notre effectif de chiots en quatre groupes a affaibli la puissance statistique de l'étude. Il serait intéressant de regarder la relation entre le quartile de naissance et le transfert passif de l'immunité sur un plus grand nombre de chiots. Un faible poids de naissance peut être synonyme de chiot chétif ou de chiot de petite race. Il est donc important de faire la distinction par rapport à la race du chiot. En étudiant qualitativement l'influence de la race sur le transfert passif de l'immunité, nous avons mis en évidence que 11,6% des chiots de grandes races se trouvent sous le seuil critique de 2.3 g/L d'IgG sériques, contre 21,5% des chiots de petites races. Chez les chiots de petite race, notre taux de mortalité néonatale était 12.3%, contre 2.3% seulement chez les chiots de grande race. Nos résultats concernant le format de la race divergent fortement de ceux de Tonnessen et al. (2012) : ils observent un taux de mortalité néonatale plus élevé chez les chiots de grande taille ; ils expliquent ceci par le fait que les grandes races ont des durées de mise-bas plus longues car des portées plus nombreuses et que souvent les chiots souffrent lors de la mise bas. Même ceux naissant vivants auraient ainsi plus de chances de mourir dans les premiers jours de vie. Nos résultats suggèrent que les petites races sont plus sensibles que les grandes races. Une hypothèse pour expliquer ce phénomène est que les chiots de petites races sont plus sensibles à l'hypothermie si l'environnement n'est pas assez chauffé, et sont alors moins vifs pour aller téter le colostrum de leur mère. D'autre part, Tonnessen et al. (2012), ont analysé les données par race et non pas par taille de race comme nous l'avons fait. Dans notre étude, les petites races sont représentées par 10 races alors que les grandes ne sont représentées que par 3 races. On peut donc se demander si cette répartition est représentative, ou si certaines races au sein d'un même format racial n'auraient pas un comportement différent.

Chez les bovins et les ovins, on peut observer une différence de transfert d'immunité entre les races. Mais ces variations peuvent être expliquées en partie par la différence de composition colostrale entre les races, par la différence de comportement maternel, ainsi que par la différence de comportement du petit, plus ou moins vif et capable de téter rapidement selon la race (Levieux, 1984 ; Gilbert et al., 1988). Une différence dans l'efficacité d'absorption des IgG semble également exister : dans des conditions standardisées, on peut voir une différence dans le pourcentage d'IgG absorbées, et donc dans la quantité d'IgG sériques des veaux selon la race (Selman, 1971b ; Levieux, 1984).

Nous nous sommes également intéressées à la taille des portées. En effet, pour Tonnessen et al. (2012), la mortalité périnatale semble être plus élevée (19,9%) chez les portées nombreuses (>12 chiots) avec une mortalité minimale (6%) pour les portées de 7 chiots. Dans notre étude, nous avons trouvé une différence statistiquement significative de la concentration sérique en IgG à J2 entre les différentes tailles de portées. Nos résultats suggèrent que les grandes portées ont un transfert passif moins efficace que les autres tailles de portée. Ce qui va dans le sens de notre hypothèse de départ selon laquelle l'ingestion de colostrum serait moins importante dans les grandes portées (du fait de la compétition et de la durée de la mise-bas).

De plus, nous observons pour les grandes portées ( $\geq 6$  chiots pour les petites races et  $\geq 7$  chiots pour les grandes races), les portées moyennes (de 3 à 5 chiots pour les petites races et de 3 à 6 chiots pour les grandes races) et les petites portées (entre 1 et 2 chiots) respectivement 17%, 11,4% et 30% de chiots sous le seuil critique d'IgG sériques. Il ne faut pas oublier encore une fois que dans l'étude de Tonnessen et al. (2012), les chiots mort-nés sont inclus et représentent une grande partie des morts dans les grandes portées (surtout pour les races géantes : mortalité néonatale de 11,6%, et 6,7% de mort-nés ; les mort-nés représentent donc 58% de la mortalité néonatale chez les races géantes d'après Tonnessen et al. (2012)). Nos résultats suggèrent quant à eux que les grandes portées sont plus sensibles que les moyennes, mais les petites portées sont les plus sensibles de toutes. Ceci peut s'expliquer par le fait que les petites portées génèrent généralement des chiots de grande taille et donc une mise-bas difficile, les chiots prendront donc probablement plus de temps pour atteindre les tétines, s'ils sont affaiblis par une mise bas difficile. Nous avons également vu que les chiots de petites portées n'absorbent pas plus d'IgG que ceux de portées plus grandes, ce qui est en accord avec ce que nous avons vu précédemment, que les mères n'adaptent pas la concentration de leur colostrum au nombre de chiots mais sans doute plutôt la quantité de colostrum produit.

Chez les ovins, il a été mis en évidence que les portées multiples avaient en général un transfert de l'immunité passive beaucoup moins bon que les agneaux dits 'simples' (seul agneau d'une portée), et un risque de mortalité plus élevé (Christley et al., 2003).

Nous n'avons pas mis en évidence d'effet du sexe du chiot sur la transmission de l'immunité. Certaines études menées chez des bovins vont également dans ce sens (Norman et al., 1981 ; Muggli et al., 1984). Des différences ont néanmoins été mises en évidence dans certaines études chez les bovins, avec un meilleur transfert passif de l'immunité chez les femelles (Beam et al., 2009). Mais cette différence peut être expliquée par la plus grande valeur économique des femelles en races laitières, incitant les éleveurs à les surveiller de plus près, voire à les aider à prendre leur colostrum. Une autre hypothèse est que, les mâles naissant plus gros, ils ont un volume sanguin plus élevé, et donc, à quantité égale d'IgG ingérées, ils auraient une plus faible concentration sérique (Gilbert et al., 1988). Cependant, l'observation inverse a été faite chez les agneaux : les mâles, qui naissent en moyenne plus lourds que les femelles, présentent un taux d'IgG sériques plus élevé (Christley et al., 2003).

Nous avons comparé la concentration sérique en IgG des mères par rapport à la concentration sérique en IgG des chiots. Une faible corrélation a été mise en évidence après l'exclusion des valeurs aberrantes ( $R^2 = 0,115$ ). Ceci est en accord avec les résultats publiés sur les chats par Claus et al. (2006). Chez les bovins, Norman et al. (1981) ont mis en évidence l'héritabilité du caractère « concentration sérique en IgG1 ». Nous avons également comparé avec notre seuil critique : 20,5% des chiots dont la mère a une concentration sérique inférieure à la moyenne se trouvent sous le seuil, contre seulement 10% pour les mères au-dessus du seuil. Les chiennes ayant un taux sérique d'IgG élevé ont donc plus de chances d'assurer un bon transfert de l'immunité à leurs chiots.

Les infections sont la deuxième cause de mortalité après l'asphyxie (Nielen et al., 1998 ; Münnich et Lübke-Becker, 2004 ; Münnich, 2008 ; Chastant-Maillard et al., 2012 ; Tonnessen et al., 2012). L'infection a été la première cause de mortalité lors de notre étude

(40%), suivie par les traumatismes et les accidents (fausse déglutition). Les agents infectieux les plus communs chez les nouveau-nés sont *E. coli*, *Staphylococcus* et *Streptococcus* (Münnich et Lübke-Becker, 2004 ; Münnich, 2008). Ceux-ci peuvent provoquer des signes cliniques assez frustrés chez les chiots, mais aussi des signes de choc septique, dyspnée, diarrhée, perte de poids, anorexie, fièvre, hypothermie, ... (Münnich et Lübke-Becker, 2004). Lors de notre étude, les signes les plus rencontrés étaient diarrhée et infections pulmonaires, ces dernières étant associées au plus fort taux de mortalité. Une étude a montré que plus de 60% des lignées d'*E. coli* rencontrées chez les chiots sont issues de leur mère ou même d'autres adultes présents dans le chenil. Le lait a été mis en cause dans la transmission de germes au chiot. En effet, Schäfer-Somi et al. (2003) ont montré qu'il existe un nombre important de mammites subcliniques chez la chienne (10 à 15%). Cependant, il n'a été possible de retrouver les mêmes germes dans le lait de la mère et sur les organes des chiots en septicémie que dans très peu de cas (4/33), et essentiellement chez des mères présentant des mammites cliniques. Dans tous les autres cas, les germes étaient différents (Schäfer-Somi et al., 2003). On retient donc que le lait est une source de pathogènes probablement mineure.

Nous avons également remarqué un lien entre la prise de poids des chiots et leur concentration sérique en IgG ( $R^2 = 0,40$ ,  $p < 0,001$ ). Ce résultat est en accord avec ce qu'on peut trouver dans la littérature pour les autres espèces. Chez les bovins, un défaut de transfert passif d'immunité est souvent associé à une croissance plus lente de l'animal (Stilwell et Carvalho, 2006). Chez les ovins, il y a une forte corrélation entre les IgG sériques des agneaux à deux jours et leur gain en poids moyen quotidien jusqu'au sevrage (Halliday, 1978 ; Massimini et al., 2006). De la même manière, les porcelets dont la concentration sérique en IgG est élevée prennent en moyenne deux kilogrammes de plus au sevrage que ceux ayant un déficit du transfert de l'immunité (Devillers et al., 2011). Il faut néanmoins distinguer deux choses : une faible croissance avant J2 et un faible taux d'IgG sériques à J2 peuvent être secondaires à une faible consommation colostrale ; et une faible croissance après J2 sur un chiot ayant peu d'IgG sériques montre plutôt le côté « fragile » du chiot ayant un déficit du transfert passif de l'immunité.

Au deuxième jour, 31,8 % des chiots dont le gain de poids depuis la naissance est en dessous de la moyenne de la population se trouvent sous le seuil critique, contre 0 % chez les chiots dont la prise de poids est supérieure à la moyenne.

39 % des chiots ont perdu du poids entre J0 et J2. Ces chiots avaient une teneur moyenne en IgG à J2 de 3,8 g/L, contre 8,9 g/L pour les chiots ayant pris du poids (ou n'en n'ayant pas perdu). 43% des chiots ayant perdu du poids se trouvent sous le seuil critique de 2,3 g/L d'IgG sériques à J2, contre 2% des chiots ayant pris du poids.

La corrélation observée entre la prise de poids dans les deux premiers jours et la teneur sérique en IgG à J2 permet de présumer d'une bonne absorption d'IgG sur un chiot ayant une bonne croissance dans les deux premiers jours de vie. Ceci est cohérent car si le chiot prend du poids, on peut penser qu'il boit suffisamment de colostrum et qu'il ingère donc une bonne quantité d'IgG.

### **3.2.2. Conséquences pratiques et perspectives**

Les deux facteurs de variation essentiels de la qualité du transfert passif de l'immunité et qui mériteraient d'être étudiés sont le délai entre naissance et ingestion de colostrum et la quantité de colostrum ingéré chez le chiot. Un certain nombre de conseils peuvent être donnés

aux éleveurs. Placer les chiots aux télines de la mère rapidement après la mise-bas va les aider à raccourcir le délai d'ingestion du colostrum et donc favoriser le transfert de l'immunité. Ceci sera d'autant plus important pour les mises-bas difficiles dont résultent des chiots affaiblis. Il va également être important pour l'éleveur de surveiller le poids du chiot : nous avons vu que la croissance du chiot a un lien étroit avec la transmission de l'immunité et une bonne croissance pourra donc être témoin d'un risque de morbidité et de mortalité diminué. La détermination d'une quantité de colostrum ingérée optimale pour un transfert passif efficace serait extrêmement utile aux éleveurs canins.

Il a été montré qu'en cas de manque de colostrum, la vie du chiot est en danger. Pour contrer ce manque, plusieurs options ont été envisagées.

Bouchard et al. (1992) ont montré qu'en l'absence de colostrum, l'administration per os de sérum de chiens adultes en bonne santé permet d'obtenir un transfert passif de l'immunité, mais avec une absorption plus faible et des concentrations sériques en IgG bien inférieures à celles observées avec une prise colostrale correcte. Il administrait dans son étude 8 mL de substitut quelque que soit le poids du chiot, à la naissance et à 12h de vie. Même en donnant des résultats moins bon qu'avec du colostrum maternel, cela peut dans certain cas sauver la vie des chiots. Le sérum peut s'administrer par voie orale ou en voie sous cutanée.

Une autre alternative est l'utilisation de colostrum congelé, comme c'est souvent le cas chez les animaux de rente. Cependant aucune étude n'a été réalisée sur le colostrum canin. Il est donc difficile de savoir comment le colostrum canin réagit à la congélation. Chez les bovins, il est possible de conserver le colostrum congelé à -20°C pendant 6 mois et réfrigéré à 1-2°C pendant une semaine. La décongélation doit se faire au bain-marie à 50°C, et non pas à température ambiante pour limiter la prolifération de germes, ni au four à micro-ondes pour ne pas détruire les IgG (Bertieri, 2012).

L'administration d'IgG d'autres espèces a été étudiée. Chez le chat, Crawford et al. (2003) ont administré des IgG équine à des chatons, mais le temps de demi-vie et l'efficacité de ces IgG ne permettent pas d'espérer des résultats très probants. Il existe néanmoins déjà des concentrés d'IgG bovins dans le commerce. Aucune étude n'a été faite chez le chien.

Notre étude a permis d'identifier une grande variabilité inter et intra chienne au niveau de la qualité colostrale mais pas de facteur de variation. Nous savons cependant, par l'étude d'autres espèces, que l'état de santé de la mère peut affecter la qualité du colostrum qu'elle produit. Il sera donc conseillé aux éleveurs de faire des bilans de santé de leur reproductrices et surtout de faire des examen pré- et post-partum. Le suivi de score corporel est très intéressant. Il est également conseillé de donner une alimentation adaptée et couvrant tous les besoins de la mère dès la fin de gestation, de façon à favoriser la production de colostrum, tant en quantité qu'en qualité.

## CONCLUSION

L'importance de la prise colostrale pour la survie du jeune est démontrée chez un grand nombre d'espèces (bovin, ovin, porcin, équin) et maintenant dans l'espèce canine. Notre étude a montré la variabilité de la qualité colostrale (à la fois entre les mères et entre les mamelles d'une même mère) et la très grande variabilité du transfert passif de l'immunité chez le chien, avec de grandes différences entre les chiots d'une même portée. Il semblerait néanmoins que la concentration sérique d'IgG au deuxième jour de vie des chiots soit en lien avec le poids de naissance. Il pourrait donc être intéressant pour les éleveurs de surveiller de plus près les chiots de petite taille, en les amenant à la mamelle, ou en leur administrant du colostrum (prélevé directement sur la mère ou provenant d'une banque de colostrum) par sondage gastrique. Il peut être intéressant dans ces cas de varier les mamelles car comme nous l'avons mis en évidence dans cette étude, il y a une très forte variabilité entre les paires de mamelles d'une même chienne. Si l'ingestion plus faible de colostrum chez les chiots de faible poids est liée à une faiblesse qui amène à moins de prise colostrale, ceci pourrait être une technique intéressante. Elle utilise cependant des moyens humains assez importants. C'est à l'éleveur de se fixer des seuils à partir duquel il accepte de passer du temps pour espérer diminuer la morbidité et la mortalité qu'il observe avant le sevrage. Nous avons mis en évidence certains indicateurs de l'efficacité du transfert passif de l'immunité (le poids des chiots à la naissance, leur croissance sur les deux premiers jours). Le seuil critique de 2,3 g/L d'IgG sériques chez les chiots est quant à lui difficilement utilisable en pratique car le prélèvement de sang à la jugulaire est très invasif.



**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

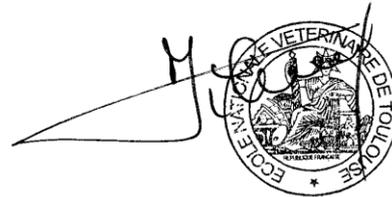
**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussignée, **Sylvie CHASTANT-MAILLARD**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **GONNIER Milène** intitulée « *Etude du colostrum et du transfert passif de l'immunité dans l'espace canine* » rapporte une étude expérimentale originale menée en conditions d'élevage chez des chiennes et leurs chiots.» et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

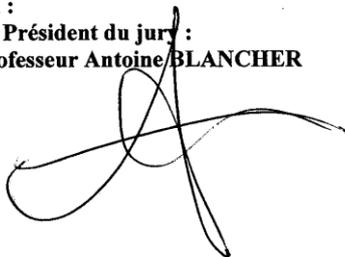
Fait à Toulouse, le 9 septembre 2013  
Professeure Sylvie CHASTANT-MAILLARD  
Enseignant chercheur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :  
Le Directeur de l'Ecole Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
Professeur Alain MILON



Vu :  
Le Président du jury :  
Professeur Antoine BLANCHER



Vu et autorisation de l'impression :  
Le Président de l'Université  
Paul Sabatier  
Professeur Bertrand MONTHUBERT



Melle **GONNIER Milène**  
a été admis(e) sur concours en : 2008  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 21/06/2012  
a validé son année d'approfondissement le : 12/07/2013  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Ecole nationale Vétérinaire- 23, chemin des capelles - 31076 Toulouse Cedex 3 - France

**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

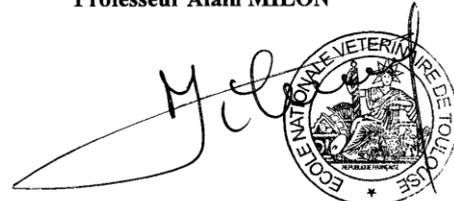
**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussignée, **Sylvie CHASTANT-MAILLARD**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **ROSSIG Lisa** intitulée « *Etude du colostrum et du transfert passif dans l'espèce canine* » *rapporte une étude expérimentale originale menée en conditions d'élevage des chiennes et leurs chiots.* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 9 septembre 2013  
**Professeure Sylvie CHASTANT-MAILLARD**  
Enseignant chercheur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :  
Le Directeur de l'Ecole Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
Professeur Alain MILON



Vu :  
Le Président du jury :  
Professeur Antoine BLANCHER



Vu et autorisation de l'impression :  
Le Président de l'Université  
Paul Sabatier  
Professeur Bertrand MONTHUBERT



**Mlle ROSSIG Lisa**  
a été admis(e) sur concours en : 2008  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 21/06/2012  
a validé son année d'approfondissement le : 12/07/2013  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Ecole nationale Vétérinaire- 23, chemin des capelles - 31076 Toulouse Cedex 3 - France

# **BIBLIOGRAPHIE**

ADKINS Y., LEPINE A.J., LONNERDAL B. (2001). Changes in protein and nutrient composition of milk throughout lactation in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, **62**, 1266-1272.

BEAM A.L., LOMBARD J.E., KOPRAL C.A., GARBER L.P., WINTER A.L., HICKS J.A., SCHLATER J.L. (2009). Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations, *Journal of Dairy Science*, **92-8**, p. 3973-3980.

BEBIAK D.M., LAWLER D.F., REUTZEL L.F. (1987). Nutrition and management of the dog. *Veterinary clinics of North America. Small animal practice*. **17**, 531-533.

BERTIERI M.-B. (2012). *Etude de la concentration en immunoglobulines des sécrétions mammaires chez le chien*. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse, 76 p.

BESSER T., GAY C. (1994). The importance of colostrum to the health of the neonatal calf. *Veterinary clinics of North America. Food animal practice*. **10** (1), 107-117.

BESSER T.E., McGUIRE T.C., GAY C.C., PRITCHETT L.C. (1988). Transfert of functional immunoglobulin G (IgG) antibody into the gastrointestinal tract accounts for IgG clearance in calves, *Journal of Virology*, **62**, 2234-2237.

BEUGNET F., BOURDOISEAU G., DANG H. (1995). In : *Abrégé de parasitologie clinique des carnivores domestiques ; Volume 1*. Clichy : Kallianxis, 86 - 87, 105.

BOUCHARD G., PLATA MADRID H., YOUNGQUIST R.S., BUENING G.M., GANJAM V.K., et al. (1992). Absorption of an alternative source of immunoglobulin in pups, *American Journal of Veterinary Research*, **53**, p. 230-233.

BOURNE F.J. (1977). The mammary gland and neonatal immunity, *Veterinary Science Communication*, **1**, 141-151.

CABRERA R.A., LIN X., CAMPBELL J.M., MOESER A.J., ODLE J. (2012). Influence of birth order, birth weight, colostrum and serum immunoglobulin G on neonatal piglet survival, *Journal of Animal Science and Biotechnology*, **3:42**, p.1-9.

CASAL M.L., JEZYK P.F., GIGER U. (1972). Transfer of colostrale antibodies from queens to their kittens. *American Journal of Veterinary Research*, **57**, 1653-1658.

- CENTER S.A., RANDOLPH J.F., MAN WARREN T., SLATER M. (1991). Effect of colostrum ingestion on gamma-glutamyltransferase and alkaline phosphatase activities in neonatal pups, *American Journal of Veterinary Research*, **52(3)**, 499-504.
- CHASTANT-MAILLARD S., FREYBURGER L., MARCHETEAU E., THOUMIRE S., RAVIER J.-F., REYNAUD K. (2012). Timing of the Intestinal Barrier Closure in Puppies, *Reproduction in Domestic Animals*, **47**, suppl.6, 190-193.
- CHIGERWE M., TYLER J.W., MIDDLETON J.R., DILL J.S., STEEVENS B.J. (2008). Comparison of four methods to assess colostral IgG concentration in dairy cows, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **233 (5)**, 761-766.
- CHRISTLEY R.M., MORGAN K.L., PARKIN T.D.H., FRENCH N.P. (2002). Factors related to the risk of neonatal mortality, birth-weight and serum immunoglobulin concentration in lambs in the UK, *Preventive Veterinary Medicine*, **57**, p. 209-226.
- CLAUS M.A., LEVY J.K., MACDONALD K., TUCKER S.J., CRAWFORD P.C. (2006). Immunoglobulin concentrations in feline colostrum and milk, and the requirement of colostrum for passive transfer of immunity to neonatal kittens, *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **8**, 184-191.
- CORTESE V. (2009). Immunologie néonatale, *Veterinary Clinics of North America : Food Animal Practice*, **25(1)**, 221-227.
- CRAWFORD C., HANEL R.M., LEVY J.K. (2003). Evaluation of treatment of colostrums-deprived kittens with equine IgG. *American Journal of Veterinary Research*, **64**, 969-975.
- DAY M.J. (2007). Immune System Development in the Dog and Cat. *Journal of Comparative Pathology*, **137**, S10-S15.
- DEVILLERS N., FARMER C., LE DIVIDICH J., PRUNIER A. (2007). Variability of colostrum yield and colostrum intake in pigs, *Animal*, **1:7**, p. 1033-1041.
- DEVILLERS N., LE DIVIDICH J., PRUNIER A. (2011). Influence of colostrum intake on piglet survival and immunity, *Animal*, **5:10**, p. 1605-1612.
- ERHARD M.H., LUFT C., REMLER H.P., STANGASSINGER M. (2001). Assessment of colostral transfer and systemic availability of immunoglobulin G in new-born foals using a newly developed enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) system, *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **85 (5-6)**, 164-173.
- EUZEBY J., cours d'immunologie dispensés à l'ENVT, 2009.
- GILBERT R.P., GASKINS C.T., HILLERS J.K., BRINKS J.S. (1988). Inbreeding and immunoglobulin G1 concentrations in cattle, *Journal of Animal Science*, **66**, p. 2490-2497.
- GOMET N. (2003). *Prophylaxie de la transmission des maladies de la chienne à ses chiots*. Thèse de doctorat vétérinaire, Nantes, 102 p.

GUSTAFSON JM, BURGESS EC, WACHAL MD, STEINBERG H (1993). Intrauterine transmission of *Borrelia burgdoferi* in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, **54**, 882-890.

HALLIDAY R. (1978). Immunity and health in young lambs, *Veterinary record*, **103**, 489-492.

HANDS M.S., THATCHER C.D., REMILLARD R.L., ROUDEBUSH P. (2000). Chiens en croissance. In : *Nutrition Clinique des animaux de compagnie. 4è édition*. Topeka : Mark Morris Institute, p.262-269.

HAYASAKI M (1982). Passive transfer of anti-*Dirofilaria immitis* hemagglutinating antibody from the mother dog to its offspring. *Japanese. Journal of Veterinary Science*, **44**, 781-786.

HEDDLE R.J., ROWLEY D. (1975). Dog Immunoglobulins. *Immunology*, **29**, 185-195.

HUNZINKER W., KRAEHENBUHL J.P. (1998). Epithelial Transcytosis of Immunoglobulins, *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, **3**, 287-302.

HURLEY W., THEIL P. (2011). Perspectives on Immunoglobulins in Colostrum and Milk. *Nutrients*, **3**, 442-474.

INDREBO A., TRANGERUD C., MOE L. (2007). Canine neonatal mortality in four large breeds. *Acta Veterinaria Scandinavia*, **49** (Suppl 1): S2.

INOUE T., KITANO K., INOUE K. (1980). Possible factors influencing the immunoglobulin G concentration in swine colostrums, *American Journal of Veterinarian Research*, **41**(7), 1134-1136.

JOHNSTON S.D., ROOT KUSTRITZ M.V., OLSON P.N.S. (2001). *Canine and Feline Theriogenology*, Chapitre 5 – Canine Pregnancy, p 81 – 86.

KRUSE P.E. (1983). The importance of colostrum immunoglobulins and their absorption from the intestine of the newborn animals. *Annales de Recherche Vétérinaire*, **14** (4), 349-353.

KRUSE V. (1970). Yield of colostrum and immunoglobulins in cattle at the first milking after parturition. *Journal of Animal Production*, **12**, 619-626.

LARSON B.L., HEARY H.L., DEVERY J.E. (1980). Immunoglobulin production and transport by the mammary gland, *Journal of Dairy Science.*, **63**, 665-671.

LE BERRE K. (1996). *La mortalité néonatale du chiot*. Thèse de doctorat vétérinaire, Nantes, 136 p.

LENOZ-ROLAND M. (1998). Mortalité des chiots nouveau-nés : influence du déroulement de la gestation, de la mise bas et de l'allaitement, *Le Point Vétérinaire*, **29**, 17-23.

LEVIEUX D (1984). Transmission de l'immunité passive colostrale : le point des connaissances. In : Jarrige R, *Physiopathologie et pathologie périnatales chez les animaux de ferme*. Paris : INRA , p. 345-369.

LONNERDAL B., KEEN C.L., HYRLEY L.S., FISCHER G.L. (1981). Developmental changes in the composition of Beagle dog milk. *American Journal of Veterinary Research*, **42**, 662-666.

LUSSIER B. (2002). Pathologie des glandes mammaires chez le chien et le chat, *Le Médecin Vétérinaire du Québec*, **32**, 67-69.

MARS VETERINARY ; <http://www.marsveterinary.com>

MASSIMINI G., BRITTI D., PELI A., CINOTTI S. (2006). Effect of passive transfer status on preweaning growth performance in dairy lambs, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **229-1**, p.111-115.

MAYER B, ZOLNAI A, FRENYO LV, JANCSIK V, SZENTIRMAY Z, HAMMARSTROM L, KACSKOVICS I (2002). Redistribution of the sheep neonatal Fc receptor in the mammary gland around the time of parturition in ewes and its localization in the small intestine of neonatal lambs. *Immunology*, **107**, 288-296.

MILA H., FEUGIER A., GRELLET A, CARREZ B., ANNE J., GONNIER M., MARTIN M., ROSSIG L., CHASTANT-MAILLARD S. Failure of passive immune transfer in puppies, risk factors and consequences. 16<sup>th</sup> EVSSAR Congress Reproduction and Pediatrics in Dogs, Cats, Short Communication (2013).

MIX E., GOERTSCHES R., ZETTL U. (2006). Immunoglobulins – basic considerations, *Journal of Neurology*, **253**, V9-V17.

MORILL K.M., CONRAD E., POLO J., LAGO A., CAMPBELL J., QUIGLEY J., TYLER H. (2012). Estimate of colostrum immunoglobulin G concentration using refractometry without or with caprylic acid fractionation, *Journal of Dairy Science*, **95 (7)**, 3987-3996.

MORIN D.E., McCOY G.C., HURLEY W.L. (1997). Effects of Quality, Quantity, and Timing of Colostrum Feeding and Addition of a Dried Colostrum Supplement on Immunoglobulin G1 Absorption in Holstein Bull Calves, *Journal of Dairy Science*, **80**, p. 747-753.

MUGGLI N.E., HOHENBOKEN W.D., CUNDIFF L.V. (1984). Inheritance of maternal immunoglobulin G1 concentration by the bovine neonate, *Journal of Animal Science*, **59(1)**, 39-48.

MUNNICH A. (2008). The pathological newborn in small animals : the neonate is not a small adult. *Veterinary Research Communication*, **32** (Suppl 1), S81-S85.

MUNNICH A., LUBKE-BECKER A. (2004). *Escherichia coli* infections in newborn puppies – clinical and epidemiological investigations. *Theriogenology*, **62**, p. 562-575.

NIELEN A.L.J., VAN DER GAAG I., KNOL B.W., SCHUKKEN Y.H. (1998). Investigation of mortality and pathological changes in a 14 month birth cohort of boxer puppies. *Veterinary record*, **142**, p. 602-606.

- NORCROSS N. L. (1982). Secretion and composition of colostrum and milk. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **181**, p. 1057-1060.
- NORMAN L.M., HOHENBOKEN W.D. (1981). Genetic differences in concentration of immunoglobulins G1 and M and colostrum of cows and in serum of neonatal calves, *Journal of Animal Science*, **53-6**, 1465-1471.
- OFTEDAL O.T. (1984). Lactation in the Dog : Milk Composition and Intake by Puppies. *The journal of nutrition*, ???
- PERSON J.M. (1978). Le système immunitaire du chien. *Receuil de Médecine Vétérinaire*, **154**, p. 507-522.
- POFFENBARGER E.M., OLSON P.N., CHANDLER M.L., SEIN H.B., VARMAN M. (1991). Use of adult dog serum as a substitute for colostrum in the neonatal dog. *American Journal of Veterinary Research*, **52**, p. 1221-1224.
- POLLOCK R.V., CARMICHAEL L.E. (1982). Maternally derived immunity to canine parvovirus infection : transfert, decline and interference with vaccination, , *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **180 (1)**, 37-42.
- POTKAY S., BACHER J.D. (1977). Morbidity and mortality in a closed foxhound breeding colony. *Laboratory Animal Science*, **27-1**, p. 78-83.
- QUESNEL H. (2011). Colostrum production by sows : variability of colostrum yield and immunoglobulin G concentrations, *Animal*, **5-10**, p. 1546-1553.
- QUIGLEY J. (2004). The role of oral immunoglobulins in systemic and intestinal immunity of neonatal calves. Iowa USA, Diamond V Mills, Cedar Rapids, p.1-13.
- QUIGLEY J.D., LAGO A., CHAPMAN C., ERIKSON P., POLO J. (2013). Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum, *Journal of Dairy Science*, **96 (2)**, 1148-1155.
- REYNOLDS, H. Y., JOHNSON, J. S. (1970d). Quantitation of canine immunoglobulins, *Journal of Immunology*, **105**, 698.
- SALMON H., BERRI M., GERDTS V., MEURENS F. (2009). Humoral and cellular factors of maternal immunity in swine, *Developmental and Comparative Immunology*, **33**, 384-393.
- SCHÄFER SOMI S., SPERGSEER J., BREITENFELLNER J., AURICH J.E. (2003). Bacteriological Status of Canine Milk and Septicaemia in Neonatal Puppies – a Retrospective Study. *Journal of Veterinary Medicine*, **B 50**, p. 343-346.
- SCHÄFER SOMI S., BAR SCHADLER S., AURICH J.E. (2005a). Proteinuria and immunoglobulinuria in the neonatal dogs. *Veterinary Record*, **157**, p. 378-382.
- SCHÄFER SOMI S., BAR SCHADLER S., AURICH J.E. (2005b). Immunoglobulins in nasal secretions of dog puppies from the birth to six weeks of age. *Research Veterinarian Science*, **78**, 143-150.

- SEGALINI V. (2007). *Le colostrum des carnivores domestiques*. Thèse de doctorat vétérinaire, Alfort, 119 p.
- SELMAN I.E., McEWAN A.D., FISHER E.W. (1971). Absorption of immune lactoglobulin by newborn dairy calves. *Research in Veterinary Science*, **12**, 205-210.
- SLADE H.B., SCHWARTZ S.A. (1987). Mucosal immunity : the immunology of breast milk. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **80**, 348-358.
- SMITH C.F., HOOKE F.G. (1976). Ancylostoma in dogs, *New Zealand Veterinary Journal*, **24**, 95-96.
- SMITH G.K.A., SCAMMELL L.P. (1968). Congenital abnormalities occurring in a beagle breeding colony. *Laboratory Animals*, **2**, p. 83-88.
- STALEY TE, BUSH LJ (1985). Receptor Mechanisms of the Neonatal Intestine and Their Relationship to Immunoglobulin Absorption and Disease. *Journal of Dairy Science*, **68**, 184-205.
- STILWELL G., CARVALHO R.C. (2011). Clinical outcome of calves with failure of passive transfer as diagnosed by a commercially available IgG quick test kit, *Canadian Veterinary Journal*, **52**, 524-526.
- STOKES C., BOURNE J.F. (1989). Mucosal Immunity. In : *Halliwel REW, Gorman NT, eds. Veterinary clinical immunology*. Philadelphia : WB Saunders Co, p. 164-192.
- STOTT G.H., MARX D.B., MENEFFEE B.E., NIGHTENGALE G.T. (1979). Colostral immunoglobulin transfer in calves. I – Period of absorption, *Journal of Dairy Science*, **62**, 1632-1638.
- TIZARD I.R. (2011). Antibodies : soluble antigen receptors. In : *Veterinary immunology*. Ninth edition. Saint-Louis : Elsevier Saunders, p.165-174.
- TIZARD I.R. (2011). Immunity in the Fetus and Newborn. In : *Veterinary immunology*. Ninth edition. Saint-Louis : Elsevier Saunders, p.225-239.
- TONNESSEN R., SVERDRUP BORGE K., NODTVEDT A., INDREBO A. (2012). Canine perinatal mortality : a cohort study of 224 breeds. *Theriology*, **77(9)**, 1788-1801.
- UETAKE K., AKIYAMA K., TANAKA T. (2013). Relationship between stress levels of the antepartum cow and her newborn calf, *Animal Science Journal*.
- VALET J.L., MILES J.R., REMPEL L.A. (2013). A simple novel measure of passive transfer of maternal immunoglobulin is predictive of preweaning mortality in piglets, *The Veterinary Journal*, **195(1)**, 91-91.
- VAN DER BEEK S., NIELEN A.L.J., SCHUKKEN Y.H., BRASCAMP E.W. (1999). Evaluation of genetic, common-litter, and within-litter effects on preweaning mortality in a birth cohort of puppies. *American Journal of Veterinary Research*, **60**, p. 1106-1110.

VOLDOIRE E. (2002). *Physiologie et pathologie néonatales du chiot de moins de 15 jours*. Thèse de doctorat vétérinaire, Lyon, 121 p.

WEAVER D.M., TYLER J.W., VANMETRE D.C., HOSTETLER D.E., BARRINGTON G.M. (2000). Passive Transfer of Colostral Immunoglobulins in Calves, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **14**, 569-577.

WHEELER T.T., HODGKINSON A.J., PROSSER C.G., DAVIS S.R. (2007). Immune components of colostrum and milk – a historical perspective, *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, **12**, 237-247.

WINTERS W.D. (1981). The dependent decreases of maternal canine virus antibodies in newborn pups. *The Veterinary Record*, **108**, 295-299.

# ANNEXES

## **ANNEXE 1 :**

16<sup>th</sup> EVSSAR Congress : Reproduction and Pediatrics in Dogs, Cats

Short communications : “**Failure of passive immune transfer in puppies: risk factors and consequences**” by Mila et al. (2013).

## **ANNEXE 2 :**

16<sup>th</sup> EVSSAR Congress : Reproduction and Pediatrics in Dogs, Cats

Poster presentation : “**Variability in immunoglobulin G concentration in dog colostrums**” by Mila et al. (2003).

## **ANNEXE 3 :**

Liste des médicaments avec leur indication de sûreté chez les chiennes et chattes gestantes. Johnston et al. (2001).



## 16<sup>th</sup> EVSSAR Congress

### Reproduction and Pediatrics in Dogs, Cats

Toulouse, France

5-6<sup>th</sup> July, 2013



Editors: Tom Rijsselaere, Ragnvi Hagman, Hanna Mila,

Sylvie Chastant-Maillard & Wojciech Nizański

**ANNEXE 1**

**EVSSAR**

# Short communications

Abstracts

**Failure of passive immune transfer in puppies: risk factors and consequences**

H. Mila<sup>1</sup>, A. Feugier<sup>2</sup>, A. Grellet<sup>2</sup>, B. Carrez<sup>3</sup>, J. Anne<sup>1</sup>, M. Gonnier<sup>1</sup>, M. Martin<sup>1</sup>, L. Rossig<sup>1</sup>, S. Chastant-Maillard<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unité Toulousaine d'Élevage et Reproduction (UTER), UMR INRA/ENVIT 1225 Host-pathogen interactions, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Toulouse, France. <sup>2</sup>Royal Canin, Aimargues, France. <sup>3</sup>Elevage des 4 Vents, Tangry, France.

E-mail: h.mila@envt.fr

**Introduction and aims.** Neonatal mortality from infectious diseases is of high prevalence in puppies (1). In piglets, lambs and calves, failure of passive immune transfer is associated with increased mortality and morbidity (2). The aim of this study was to evaluate the impact of passive immune transfer on neonatal mortality in puppies (within the first three weeks of age) and to define factors which influence absorption of immunoglobulin G (IgG) before the intestinal barrier closure.

**Material and methods.** Blood was collected from the jugular vein from 149 puppies from 34 litters at two days of age. Colostrum was collected from their dams one day after whelping. Immunoglobulin G concentration was assayed in serum and colostrum by ELISA test (Dog IgG-Quantitation Kit, Bethyl Lab, Montgomery, USA). Puppies were weighed at birth and two days of age for weight gain calculation. Mortality was recorded until three weeks of age and a necropsy of each dead puppy was performed. Multivariable statistical analyses were used to evaluate factors which influence neonatal mortality and impact of IgG levels at two days of age (SAS software). Considered factors were: IgG levels in colostrum and puppy serum, sex, birth weight, weight gain over the first two days of life, age of the dam and litter size. The optimal cut-off value of IgG concentration was estimated for defining puppies at higher risk of death (ROC curve).

**Results.** The median serum IgG concentration in puppies reached 6.1 g/L (range: 0.2-24.7 g/L), while median colostrum IgG was 19.4 g/L (range: 5.4-36.1 g/L). Twelve per cent (18/149) of puppies died between 2-21 days after birth. Risk of neonatal mortality was influenced by puppy IgG concentration at two days of age ( $p=0.014$ ) and weight gain over the first two days of life ( $p=0.01$ ). Median serum IgG concentration was 1.7 g/L (range: 0.2-24.7 g/L) in puppies dying over 21 days after birth vs. 6.7 g/L (range: 0.2-9.6 g/L) in puppies still alive at Day 21. All dead puppies (18/18) vs. 50.6% of alive puppies lost weight between 0-2 days of life. The IgG concentration below which the risk of neonatal death was increased was calculated at 2.3 g/L. Litter size and weight gain between 0-2 days after birth were correlated with puppy IgG concentration. Thirty-six per cent (16/45) of puppies from large litters vs. 10% (10/104) of puppies from small and medium litters presented  $\text{IgG} \leq 2.3$  g/L ( $p=0.011$ ). Forty-one per cent (25/61) of puppies which lost weight had  $\text{IgG}$  of  $\leq 2.3$  g/L vs. only 1% (1/88) of puppies which gained weight within the first two days of life ( $p<0.001$ ).

**Conclusions.** Serum IgG concentration less than 2.3 g/L at two days of age and loss of weight within the first two days of life are the risk factors associated with high mortality during the first three weeks after birth. This study demonstrates that the neonatal mortality in puppies might be related to passive immune transfer and early growth rate. Attention has thus to be paid on the colostrum intake for an adequate immune protection, as well as energy supply, especially in large litters, in order to diminish the neonatal mortality in puppies. However, reduced colostrum intake (low IgG concentration) due to undetected pathology should be taken into consideration.

**References.** (1) Munnich et al., *Vet Res Commun* 2008;32:S81-S85. (2) Devillers et al., *Animal* 2011;5:1605-1612.

ANNEXE 2

EVSSAR

---

---

# Poster presentation

Abstracts

**Variability in immunoglobulin G concentration in dog colostrum**

H. Mila<sup>1</sup>, A. Feugier<sup>2</sup>, A. Grellet<sup>2</sup>, B. Carrez<sup>3</sup>, J. Anne<sup>1</sup>, M. Gonnier<sup>1</sup>, M. Martin<sup>1</sup>, L. Rossig<sup>1</sup>, S. Chastant-Maillard<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UMR INRA/ENVT 1225 Host-pathogen interactions, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Toulouse, France. <sup>2</sup>Royal Canin, 650 Avenue de la Petite Camargue, Aimargues, France. <sup>3</sup>Elevage des 4 Vents, Tangry, France. E-mail: h.mila@envt.fr

**Introduction and aims.** Colostrum is a source of 90-95% of total passive immunity in puppies. In the sow, anterior mammary glands (MG) produce better quality and higher quantity of colostrum than posterior, in positive correlation with the number of alveoli<sup>1</sup>. In the bitch, the posterior MG (4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup>) are more developed in early lactation and more preferred for suckling by puppies<sup>2</sup>. The aim of this study was to evaluate the variability between teats and between bitches regarding immunoglobulin G (IgG) concentration in colostrum and to define maternal factors which influence IgG concentration in the colostrum.

**Material and methods.** Forty four bitches from different breeds were included in the study. The age of the bitch, breed and litter size were registered. One ml of colostrum and 3 ml of blood were collected between 8-24 hours after whelping. MG were classified according to the anatomical localization as anterior (3 cranial pairs) or posterior (2 caudal pairs). Each pair of MG was milked separately. IgG concentration was evaluated in serum and colostrum by already validated method<sup>3</sup> - ELISA test (Dog IgG-Quantitation Kit, Bethyl Lab, Montgomery, USA). The average IgG values and % of coefficient of variation (CV) were calculated for each bitch to be used in multivariable statistical analyses and analyses of covariance (SAS software). Results are presented as means ±SD.

**Results.** Forty four bitches between 2 and 8 years of age (mean age = 5.1±1.6 years) were included in the study. 70 % (31/44) of bitches belonged to small breeds (<25 kg). IgG concentration evaluated in colostrum from 180 pairs of MG (from 3 to 5 samples per bitch), averaged 20.8±8.1 g/L with large variations (range: 0.8-61.4). Mean serum IgG concentration was 8.1±4.3 g/L also with large variations (range: 4.3-30.9). IgG concentration in colostrum was not significantly associated with the IgG concentration in the serum of bitches (p=0.84). Average CV between IgG concentrations from different MG was 42%±32.1. IgG concentration in colostrum from anterior MG was not significantly different from IgG concentration in colostrum from posterior MG (20.7±12.3 g/L vs. 20.3±10.1 g/L; p=0.4). Mean IgG concentration in colostrum was not significantly influenced by breed size (p=0.21), litter size (p=0.28) or age of the bitch (p=0.57).

**Conclusions.** Immune quality of colostrum thus displays a huge variability, in bitch (among teats) as well as among bitches. Nevertheless, no mammary gland appeared to produce consistently the colostrum of higher IgG concentration, comparing to sows. Therefore it is impossible to advise suckling a preferential MG pair to improve immune transfer. It needs further evaluation regarding nutritional supply, since in the queen posterior teats provide milk of higher energy concentration<sup>4</sup>. Mean immune quality of colostrum was also shown to be highly variable among bitches, what may expose some litters to a higher risk of passive immune failure. Since no maternal variation factor (age, breed, litter size) was identified, the improvement of passive immune transfer needs further investigation.

**References.**

1) Nielsen et al. *Livest. Prod. Sci.* 2001;67:273-279. 2) Orfanou et al. *Anat. Histol. Embryol.* 2010; 39:473-478. 3) Schäfer-Somi et al. *Res. Vet. Sci.* 2005;78:143-150. 4) Jacobsen et al. *J. Anim. Physiol. and Anim. Nutr.* 2004;88:46-58.

### **ANNEXE 3**

Liste des médicaments avec leur indication de sûreté chez les chiennes et chattes gestantes.

JOHNSTON S.D., ROOT KUSTRITZ M.V., OLSON P.N.S. (2001). Canine and Feline Theriogenology. Chapitre 5 – Canine Pregnancy, p 81 – 86.

■ ■ ■ **Table 5-10.** Safety of Drugs in Pregnancy in the Dog and Cat

<b>Drug</b>	<b>Recommendation*</b>	<b>Comments</b>
<i>Antimicrobial Drugs</i>		
Amikacin	C	Aminoglycoside antibiotics easily cross the placenta and may cause 8th nerve toxicity or nephrotoxicity.
Ampicillin	A	Crosses the placenta but has not been shown to be harmful to fetus.
Amoxicillin	A	Crosses the placenta but has not been shown to be harmful to fetus.
Carbenicillin	A	Crosses the placenta but has not been shown to be harmful to fetus.
Cephalosporins	A	Crosses the placenta but has not been shown to be harmful to fetus.
Chloramphenicol	C	May decrease protein synthesis in fetus, particularly in bone marrow.
Ciprofloxacin	D	Do not use during pregnancy; quinolones have been associated with articular cartilage defects.
Clavulanic acid–amoxicillin (Clavamox, Beecham)	A	Crosses the placenta but has not been shown to be harmful to fetus.
Clindamycin	A	Crosses the placenta but has not been shown to be harmful to fetus.
Cloxacillin	A	Crosses the placenta but has not been shown to be harmful to fetus.
Dicloxacillin	A	Crosses the placenta but has not been shown to be harmful to fetus.
Doxycycline	D	Tetracyclines can cause bone and teeth malformations in fetus and may cause toxicity in mother.
Enrofloxacin	D	See ciprofloxacin.
Erythromycin	A	Appears to be safe except for erythromycin estolate, which has been shown to increase the risk of hepatotoxicity in women.
Gentamicin	C	Aminoglycoside antibiotics easily cross the placenta and may cause 8th nerve toxicity or nephrotoxicity. However, specific toxicities from gentamicin have not been reported, and it may be used for a serious infection in place of a suitable alternative.
Hetacillin	A	Crosses the placenta but has not been shown to be harmful to fetus.
Kanamycin	C	Aminoglycoside antibiotics easily cross the placenta and may cause 8th nerve toxicity or nephrotoxicity.
Lincomycin	A	Crosses the placenta but has not been shown to cause problems in fetus.
Metronidazole	C	Teratogenic in laboratory animals, but there is no information for dogs and cats. It should be avoided during the first three weeks of pregnancy.
Neomycin	A	Not absorbed sufficiently to cause systemic effects after oral administration.
Oxacillin	A	Crosses the placenta but has not been shown to be harmful to fetus.
Oxytetracycline	D	Toxic to fetus and may increase risk of hepatitis in mother (see tetracycline).
Penicillin G (benzyl penicillin)	A	Crosses the placenta but has not been shown to be harmful to fetus.
Streptomycin	D	See gentamicin. Streptomycin is associated with higher incidence of 8th nerve toxicity than other aminoglycosides.
Sulfonamides	B	Sulfonamides cross the placenta and have produced congenital malformations in rats and mice, but problems have not been reported in dogs or cats; in people, they have caused neonatal icterus when administered near term. Avoid long-acting sulfonamides.
Tetracycline	D	Tetracyclines can cause bone and teeth malformations in fetus and may cause toxicity in mother.
Trimethoprim-sulfadiazine (Tribrissen, Coopers)	B	Manufacturer states that it is safe during pregnancy in dogs; see also trimethoprim and sulfonamides.

*Table continued on following page*

■ ■ ■ **Table 5-10.** Safety of Drugs in Pregnancy in the Dog and Cat *Continued*

<b>Drug</b>	<b>Recommendation*</b>	<b>Comments</b>
Trimethoprim	B	Teratogenic in rats but probably safe in other species. Folate antagonism and bone marrow depression are possible with prolonged use.
Ticarcillin	A	Crosses the placenta but has not been shown to be harmful to fetus.
Tobramycin	C	Aminoglycoside antibiotics easily cross the placenta and may cause 8th nerve toxicity or nephrotoxicity.
Tylosin	B	No information is available.
<i>Antifungal Drugs</i> Amphotericin-B	C	There are no known teratogenic effects, but amphotericin is extremely toxic. Use only if the disease is life threatening, in absence of a suitable alternative.
Griseofulvin	D	Teratogenic in rats; causes multiple skeletal and brain malformations in cats.
Ketoconazole	B	Teratogenic and embryotoxic in rats; antiandrogenic; stillbirths have been reported in dogs.
Miconazole	A	Apparently safe if applied topically.
<i>Antiparasitic Drugs</i> Amitraz	C	Manufacturer states that reproduction studies have not been done; no information available.
Diethylcarbamazine	A	Manufacturer states that the drug may be given to dogs throughout gestation.
Dithiazanine iodide (Dizan, TechAmerica)	B	No information is available; iodide salts may cause congenital goiter if administered for prolonged periods during pregnancy.
Fenbendazole	A	Safe. Has been administered to pregnant bitches without producing adverse effects.
Dichlorvos (Task, Solvay)	B	Caution is advised when administering cholinesterase inhibitors to pregnant animals; it should not be administered to puppies or kittens, but studies in pregnant dogs and cats suggest that there are no adverse effects during pregnancy.
Ivermectin	A	Safe. Reproduction studies in dogs, cattle, horses, and pigs have not shown adverse effects.
Levamisole	C	No information available.
Mebendazole	A	Safe. In reproduction studies in dogs, it was not teratogenic or embryotoxic.
Piperazine	A	Safe. No known contraindications for the use of piperazine.
Praziquantel	A	Safe. No adverse effects were seen when tested in pregnant dogs and cats.
Thiacetarsamide (Caparsolate sodium, CEVA)	C	No specific information regarding toxicity to fetus is available. It can be hepatotoxic and nephrotoxic, and heartworm adulticide should be postponed until after parturition.
Bunamidine	A	Has been administered to pregnant bitches without problems and is safe in pregnant cats. Slight interference with spermatogenesis has been seen in male dogs.
Pyrantel	A	Safe. Toxicity studies have not shown any adverse effects.
Thenium	A	Safe. Manufacturer states that except in young puppies, there are no known contraindications.
Thiabendazole	B	Thiabendazole is not teratogenic in laboratory animals, but high doses have produced toxemia in ewes.
Trichlorfon	C	Caution is advised when administering organophosphates to pregnant animals. Congenital toxicoses have been reported following administration to pregnant sows. Manufacturer states that trichlorfon should not be administered to pregnant mares, but there are no recommendations for dogs and cats.
<i>Anticancer Drugs</i> Doxorubicin hydrochloride (Adriamycin, Adria)	C	May produce malformations in newborn or embryotoxicity.

■ ■ ■ **Table 5-10.** Safety of Drugs in Pregnancy in the Dog and Cat *Continued*

<b>Drug</b>	<b>Recommendation*</b>	<b>Comments</b>
Azathioprine	C	May produce congenital malformations but has been used in pregnant women safely. It may be a suitable alternative to other drugs when immunosuppressive therapy is required.
Chlorambucil	C	May produce malformations in newborn or embryotoxicity.
Cisplatin	C	May produce congenital malformations, embryotoxicity, or nephrotoxicity.
Cyclophosphamide	C	May produce malformations in newborn or embryotoxicity.
Methotrexate	C	May produce malformations in newborn or embryotoxicity.
Vincristine	C	May produce malformations in newborn or embryotoxicity.
<i>Analgesic Drugs</i>		
Acetaminophen	C	Safety not established in dogs; toxic in cats.
Aspirin	C	Embryotoxicity has been seen in laboratory animals but not in other species. Late in pregnancy, it may produce pulmonary hypertension and bleeding problems.
Flunixin meglumine	C	Safety in pregnancy has not been determined.
Gold (aurothioglucose)	D	Laboratory animal studies clearly show increased congenital malformations.
Ibuprofen	C	Safety in dogs and cats not established.
Indomethacin	C	Can be toxic in adult dogs: can cause premature closure of ductus arteriosus if administered near term.
Phenylbutazone	C	Safety has not been established. Long-term use can depress bone marrow.
Salicylates	C	Embryotoxicity has been seen in laboratory animals but not in other species. Late in pregnancy, it may produce pulmonary hypertension and bleeding disorders.
<i>Anesthetic and Preanesthetic Drugs</i>		
Acepromazine	B	Phenothiazines should be avoided near term; they may produce neonatal CNS depression.
Atropine	B	Crosses the placenta and has been used safely but may cause fetal tachycardia.
Butorphanol	B	Safe for short-term use. Neonatal depression can be treated with naloxone.
Codeine	B	Safe for short-term use. Neonatal depression can be treated with naloxone.
Diazepam	C	See anticonvulsants.
Fentanyl	B	Safe for short-term use. Neonatal depression can be treated with naloxone.
Glycopyrrolate	B	Safe. Does not cross placenta as readily as atropine. Studies in rats and rabbits have not revealed teratogenic effects.
Halothane	C	Decreased learning ability has been reported in rats after <i>in utero</i> exposure; depression may be seen in neonates after cesarean section; excessive uterine bleeding may be seen when administered during cesarean section.
Isoflurane	B	Probably safe. Depression may be seen in neonates after cesarean section.
Ketamine	B	Probably safe. Depression may be seen in puppies delivered by cesarean section; may increase intrauterine pressure and induce premature labor.
Lidocaine	A	All local anesthetics appear to be safe when used for a local nerve block or epidural anesthesia.
Meperidine	B	Opiates can produce neonatal sedation and respiratory depression, but the effects can be reversed with the administration of naloxone.
Methoxyflurane	C	Neonatal depression is seen when used for cesarean section.

■ ■ ■ **Table 5-10.** Safety of Drugs in Pregnancy in the Dog and Cat *Continued*

<b>Drug</b>	<b>Recommendation*</b>	<b>Comments</b>
Morphine	B	Opiates can produce neonatal sedation and respiratory depression, but the effects can be reversed with the administration of naloxone.
Naloxone	A	Has been shown to be safe when administered to newborns within a few minutes after birth.
Nitrous oxide	B	Probably safe. Used frequently for cesarean section without adverse effects.
Oxymorphone	B	Opiates can produce neonatal sedation and respiratory depression, but the effects can be reversed with the administration of naloxone.
Pentobarbital	D	Associated with high incidence of neonatal mortality.
Thiamylal	C	Easily crosses the placenta; all barbiturates produce respiratory depression in fetus; however, thiobarbiturates are not as toxic as pentobarbital.
Thiopental	C	Easily crosses the placenta. All barbiturates produce respiratory depression in fetus; however, thiobarbiturates are not as toxic as pentobarbital.
<i>Gastrointestinal Drugs</i>		
Antacids	A	Safe. Not absorbed systemically.
Antiemetics	B	Probably safe if administered short term.
Cimetidine	B	Safety has not been established, but no reports of toxicity in humans.
Dimenhydrinate	B	Safe if used short term.
Diphenhydramine	B	Safe if used short term.
Diphenoxylate	C	Studies have reported adverse effects in laboratory animals, but no adverse effects have been reported in pregnant dogs, cats, and humans.
Laxatives	B	All laxatives, except Castor Oil (Squibb), are considered safe if they are used short term. Castor Oil causes premature uterine contractions.
Loperamide	C	Same comment as diphenoxylate.
Metoclopramide	B	Safe in laboratory animals, but no studies available for cats or dogs.
Methscopolamine	C	Safety not established.
Misoprostol	D	Synthetic prostaglandin, causes a termination of pregnancy.
Prochlorperazine	B	No reports of toxicity when administered short term.
Ranitidine	B	Safety has not been established, but no reports of toxicity were reported in humans.
Sucralfate	A	Probably safe. Not absorbed systemically.
Sulfasalazine	B	Salicylate component is not absorbed enough to produce adverse effects; sulfonamide may produce neonatal icterus when used near term.
<i>Cardiovascular Drugs</i>		
Atropine	B	Probably safe but may produce fetal tachycardia.
Captopril	C	Has been shown to be embryotoxic in laboratory animals and goats.
Digitalis	A	Probably safe. No adverse effects seen in humans and laboratory animals.
Furosemide	B	No adverse effects have been reported.
Dopamine	B	Probably safe at therapeutic doses.
Heparin	B	Does not appear to cross placenta.
Hydralazine	B	Probably safe. There have been reports of minor toxicity in rats, but it has been administered safely to pregnant women.
Isoproterenol	C	May cause fetal tachycardia; beta-adrenergic drugs inhibit uterine contractions.
Lidocaine	B	Probably safe. May cause fetal bradycardia.
Nitroglycerin	C	No information available.
Nitroprusside	C	There is a risk of fetal cyanide toxicity with prolonged use.
Procainamide	B	Probably safe. May cause fetal bradycardia.
Propranolol	C	May cause fetal bradycardia, respiratory depression, and neonatal hypoglycemia; avoid use near term.
Quinidine	B	Probably safe. May cause fetal bradycardia.

■ ■ ■ **Table 5-10.** Safety of Drugs in Pregnancy in the Dog and Cat *Continued*

<b>Drug</b>	<b>Recommendation*</b>	<b>Comments</b>
Theophylline	B	No reports of adverse effects.
Thiazide diuretics	C	May cause increased incidence of perinatal mortality.
Warfarin	D	Causes embryotoxicity and congenital malformations, neural tube defects in laboratory animals and humans.
<i>Anticonvulsant Drugs</i>		
Diazepam	C	Has been associated with congenital defects in mice, rats, and people.
Phenobarbital	B	Has been associated with rare congenital defects and bleeding tendencies in newborn but may be safer than other anticonvulsants.
Phenytoin	C	Teratogenic in rats, mice, and people.
Primidone	C	Same risks as phenobarbital and has been associated with increased incidence of hepatitis in adult dogs.
Valproic acid	C	May cause congenital malformations.
<i>Muscle Relaxants</i>		
Dantrolene	C	Safety not established.
Dimethyltubocurarine	B	Quarternary base with negligible placental transfer; it does not affect the fetus unless administered in large doses.
Gallamine	B	Quarternary base with negligible placental transfer; it does not affect the fetus unless administered in large doses.
Methocarbamol	C	Safety not established; manufacturer states that it should not be administered during pregnancy.
Pancuronium	B	Quarternary base with negligible placental transfer; it does not affect the fetus unless administered in large doses.
Succinylcholine	B	Quarternary base with negligible placental transfer; it does not affect the fetus unless administered in large doses.
<i>Endocrine Drugs</i>		
Betamethasone	C	Corticosteroids have been associated with increased incidence of cleft palate and other congenital malformations, and they may induce premature labor and abortion in dogs.
Cortisone	C	Corticosteroids have been associated with increased incidence of cleft palate and other congenital malformations, and they may induce premature labor and abortion in dogs.
Dexamethasone	C	Corticosteroids have been associated with increased incidence of cleft palate and other congenital malformations, and they may induce premature labor. Dexamethasone has caused abortion and fetal death in dogs.
Diethylstilbestrol (DES)	D	Malformation of male and female genitourinary systems.
Estradiol cypionate (ECP)	D	Malformation of male and female genital tracts and bone marrow depression.
Flumethasone	C	Corticosteroids have been associated with increased incidence of cleft palate and other congenital malformations, and they may induce premature labor and abortion in dogs.
Mitotane ( <i>o</i> , <i>p</i> -DDD)	D	Adrenocortical necrosis.
Prednisolone	C	Although prednisolone has been administered to pregnant women without adverse effects, caution is advised (see dexamethasone). Prednisolone may be used in serious diseases in absence of a suitable alternative.
Stanozolol	D	Manufacturer states that it should not be administered to pregnant dogs and cats.
Testosterone	D	Causes masculinization of female fetus.
Thyroxine	B	Does not cross placenta easily and has not been associated with any problems.

■ ■ ■ **Table 5-10.** Safety of Drugs in Pregnancy in the Dog and Cat *Continued*

<b>Drug</b>	<b>Recommendation*</b>	<b>Comments</b>
<i>Miscellaneous Drugs</i>		
Ammonium chloride	B	May cause fetal acidosis; discontinue use during pregnancy.
Aspartame (NutraSweet)	A	No risk.
Dimethylsulfoxide (DMSO)	C	Teratogenic in laboratory animals; manufacturers state that it should not be applied to breeding animals.

## ETUDE DU COLOSTRUM ET DU TRANSFERT PASSIF DE L'IMMUNITE CHEZ LE CHIEN

Chez l'espèce canine, les nouveau-nés naissent presque agammaglobulinémiques et sont donc très vulnérables. L'immunité qui leur est apportée par le colostrum de leur mère est donc une protection essentielle à leur survie. Le transfert passif de l'immunité de la mère au chiot par le colostrum a ici été étudié dans l'espèce canine. L'efficacité de ce transfert repose sur trois catégories de facteurs de variation : la qualité du colostrum, définie par sa concentration en immunoglobulines G (IgG) ; le volume de colostrum ingéré par le chiot ; l'efficacité de l'absorption intestinale des Ig par le chiot. Dans une population de 45 chiennes et 108 chiots de 13 races différentes, les facteurs de variation de la qualité du colostrum ainsi que de l'efficacité du transfert passif ont été étudiés. Les concentrations en IgG ont été dosées dans le sang et le colostrum des mères à J1, ainsi que sur le sang des chiots à J2.

Notre étude montre que la qualité du colostrum est très variable entre les chiennes ainsi qu'entre les paires de mamelles d'une même chienne ; quant à l'efficacité du transfert passif, elle est influencée par le poids à la naissance du chiot et la concentration sérique en IgG de la mère. De même, la croissance du chiot aux cours des deux premiers jours de sa vie a un lien fort avec l'efficacité du transfert de l'immunité. Enfin, le taux sérique en IgG des chiots à J2 est directement lié au risque de mortalité et de morbidité au cours des 3 premières semaines. Il semble donc important d'améliorer l'efficacité du transfert passif afin de diminuer le taux de mortalité néonatale. Pour ce faire, la quantité et la précocité de la buvée de colostrum sont plus important que la qualité de celui-ci.

Mots-clés : immunoglobulines G, mamelle, colostrum, chien, immunité passive

## STUDY OF THE COLOSTRUM AND THE PASSIVE IMMUNITY TRANSFER IN DOGS

In dogs, the newborn is nearly agammaglobulinemic at its birth and therefore very vulnerable. The immunity that is given to them by their mother's colostrum is essential for their survival. The passive transfer of immunity from the bitch to the pup through the colostrum has been studied here. The success of the transfer is ruled by three types of variation factors: the colostrum's quality, defined by its IgG concentration; the volume of colostrum taken in by the pup; the success of the intestinal Ig absorption by the pup. The variation factors of the colostrum's quality and the passive transfer of immunity have been studied in a group of 44 bitches and 108 puppies. The mothers' IgG blood and colostrum concentrations have been measured on D1 post partum and the puppies' blood IgG concentration on D2.

Our study shows that the colostrum's quality is very variable between the bitches and between the teats of the same bitch; moreover the success of the passive transfer of immunity is influenced by the birth weight of the puppy and its mothers IgG blood concentration. As well, the pups' growth in its two first days of life has a strong link with the success of the passive transfer. Finally, the puppies IgG blood concentration at D2 is linked to the risk of mortality and morbidity in the three first weeks of life. It is important to improve the success of the passive transfer to reduce the neonatal mortality. In order to do this, the quantity and delay of the colostrum intake is more important than its quality itself.

Key-words : immunoglobulins G, mammary gland, colostrums, passive immunity, dog