ANNEE 2015 THESE :

IMPACT D'UNE SUPPLEMENTATION TARDIVE EN IMMUNOGLOBULINES SUR LA CROISSANCE, LA TEMPERATURE, LA MORBIDITE ET LA MORTALITE PEDIATRIQUE CHEZ LE CHIOT

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

Sarah JOUGNEAU
Née le 23 octobre 1988 à Cahors (Lot)

Directeur de thèse : Pr Sylvie CHASTANT-MAILLARD

JURY

PRESIDENT :

ASSESSEURS :
Mme Sylvie CHASTANT-MAILLARD Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :
Mme Hanna MILA Docteur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur : Mme Isabelle CHMITELIN

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
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*
M. **DUCOS Alain**, *Zootechnie*
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 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*

N. 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*
Mme **DANIELS Hélène***, Microbiologie-Pathologie infectieuse*
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*
Mlle **LAVOUE Rachel***, Médecine Interne*
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 **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle,** *Alimentation*
M. **VOLMER Romain***, Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*
M. **VERWAERDE Patrick***, Anesthésie, Réanimation*
Mme **WARET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

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**, *Ophtalmologie*

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES 8
LISTE DES TABLEAUX 8
LISTE DES ABREVIATIONS 8
INTRODUCTION 9
PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE 10
I. Présentation de l'agent pathogène : le parvovirus canin CPV-2 10
1. Les parvovirus : propriétés générales 10
2. Cycle viral des parvovirus canin CPV-2 11
3. Survie du virus dans le milieu extérieur 11
4. Sources de contamination et excrétion virale du CPV-2 12
4.1 Sources de contamination 12
4.2 Transmission et excrétion virale 12
II. Pathogénicité et signes cliniques 13
1. Physiopathogénie 13
2. Les signes cliniques 14
III. Mécanismes de l'immunité chez le chiot 15
1. Acquisition de l'immunité systémique chez le chiot 15
1.1 Le colostrum à origine du transfert passif de l'immunité 15
a) Transfert de l'immunité maternelle 15
b) Décroissance de l'immunité d'origine maternelle 16
1.2 Production lactée: transfert d'IgA 17
1.3 Mise en place de l'immunité endogène du chiot 17
a) Développement général du système immunitaire 17
b) Rappels sur les populations de lymphocytes et leurs rôles dans l'immunité 18
c) Développement de l'immunité spécifique du chiot 19
2. L'immunité locale digestive chez le chiot 21
2.1 Le système lymphoïde digestif 21

2.2 Réactions immunitaires du système digestif 23
a) La réponse humorale : production d'IgA 23
b) Immunité à médiation cellulaire 26
d) Importance de l'immunité locale lors d'une infection par le CPV-2 26
PARTIE 2: ETUDE EXPERIMENTALE 29
I. Matériels et méthodes 29
1. Population étudiée 29
2. Supplémentation 30
3. Suivi clinique 32
3.1 Poids 32
3.2 Examen clinique 32
a) Examen cardio-vasculaire et respiratoire 32
b) Palpation abdominale 33
c) Ecoulements péri-orificiels 33
d) Température rectale 33
3.3 Score de morbidité et Sanitary Risk Index (SRI) 34
a) Score de morbidité 34
b) Sanitary Risk Index (SRI) 35
4. Analyses statistiques 35
PARTIE 3 : RESULTATS 36
I. Poids moyen et taux de croissance moyen 36
1. Population étudiée 36
1.1 Taux de croissance : période J21- J56 37
1.2 Taux de croissance : comparaisons des différentes périodes 38
2. Effets de la supplémentation 38
2.1 Taux de croissance : période J21- J56 38
2.2 Taux de croissance: comparaisons des différentes périodes 39
II. Température rectale 40
1.3 Population étudiée 40
1.1 Température rectale et format racial 40

1.2 Hyperthermie et format racial 41
1.2 Hyperthermie, format racial et périodes 42
2.3 Effets de la supplémentation 42
2.1 Température rectale et format racial 42
2.2 Hyperthermie et format racial 43
2.3 Hyperthermie, format racial et périodes 44
III. Morbidité 45
1. Population étudiée 45
1.1 Taux de morbidité totale J21-J56 45
1.2 Taux de morbidité totale par format racial de J21-J56 45
1.3 Taux de morbidité par format racial et par période 45
1.4 Taux de morbidité digestive J21-J56 46
1.5 Taux de morbidité digestive par format racial de J21-J56 46
1.1 Taux de morbidité digestive par format racial et par période 47
1.7 Score de morbidité par format racial de J21-J56 48
1.8 Score de morbidité par format racial et par période 48
2. Effets de la supplémentation 49
2.1 Taux de morbidité digestive J21-J56 49
2.2 Taux de morbidité digestive par période 50
2.3 Score de morbidité J21-J56 51
IV. Sanitary Risk Index (SRI) 52
1. Population étudiée 52
1.1 Sanitary Risk Index J21-J56 52
1.2 Sanitary Risk Index et format racial J21-56 52
1.3 Sanitary Risk Index : format racial et périodes 53
2. Effets de la supplémentation 54
V. Mortalité 55
1. Population étudiée 55
2. Effets de la supplémentation 55
PARTIE 4 : DISCUSSION 56

I. Les limites de l'étude: 56
1. Population étudiée 56
2. Utilisation des IgY : 57
II. Bilan des résultats: 58
1. Taux de croissance et format racial 58
2. Température rectale et format racial 59
3. Taux de morbidité, SRI et taux de mortalité 59
4. Effet de la supplémentation 61
CONCLUSION 64
BIBLIOGRAPHIE 65

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION

Le parvovirus canin (CPV-2) est un agent pathogène majeur qui circule principalement dans les élevages. Ce virus réparti dans le monde entier, possède trois sous-types antigéniques différents qui ont été décrits durant les trente dernières années. Le CPV-2 est non enveloppé, très résistant dans le milieu extérieur et pour lequel les moyens de lutte sont peu efficaces. Il est à l'origine de troubles gastro-entériques sévères pouvant conduire à la mort des chiots en période de sevrage ; il constitue donc une menace pour les élevages dans lesquels il sévit.

En effet, à la naissance le chiot est très vulnérable à tous les agents pathogènes environnants et plusieurs semaines lui seront nécessaires pour que son système immunitaire se mette en place et soit efficace. Plus particulièrement, l'immunité digestive locale aura un rôle indispensable lors d'infection par des agents entéropathogènes.

L'intérêt de notre étude présentée dans ce document consiste à évaluer les effets de l'administration d'immunoglobulines Y (IgY) sur deux virus entéropathogènes chez le chiot, le parvovirus (CPV-2) et le coronavirus (CCV). L'apport en IgY va constituer le mélange de supplémentation qui sera administré *per os* à des chiots entre leur 21ème et leur 56ème jour de vie (période pédiatrique). Notre étude portera sur 168 chiots de différentes races pour lesquels nous voulons améliorer l'immunité digestive spécifique. Nous allons étudier les effets de la supplémentation sur la croissance, la température, la morbidité et la mortalité des chiots.

Dans un premier temps, à travers une synthèse bibliographique, nous présenterons le parvovirus canin, sa pathogénicité ainsi que les signes cliniques qu'il peut engendrer. Nous verrons également en quoi le transfert d'immunité par la mère est primordial pour la survie des chiots puis nous étudierons la mise du système immunitaire du chiot en insistant sur l'importance de l'immunité locale digestive lors d'infection par des entéropathogènes. Enfin, la seconde partie de ce manuscrit sera consacrée à la présentation et à l'interprétation de nos résultats expérimentaux.

PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Présentation de l'agent pathogène : le parvovirus canin CPV-2

1. Les parvovirus : propriétés générales

Les parvovirus appartiennent à la famille des *Parvoviridae* ; ce sont des virus non enveloppés, de petites tailles (entre 18 et 26 nm de diamètre) et possédant une capside symétrique icosaédrique.

Ils ont été décrits la première fois chez le chien en 1978 et émergent du virus panleucopénique félin (Shackelton et al., 2005). Nous allons nous concentrer sur le parvovirus canin de type 2 (CPV-2), différent du CPV-1 qui est responsable de mort néonatale.

Le parvovirus canin de type 2 possède trois variants antigéniques (ou sous-types) nommés CPV-2a, CPV-2b et CPV-2c. Les sous-types CPV-2a et CPV-2b, respectivement découverts en 1980 et 1984, sont les plus communs et sont répartis dans le monde entier. Cependant, le sous-type CPV-2c a été mis en évidence plus récemment (en Italie en 2000) et diffère des autres variants de quelques acides aminés (Decaro et al., 2007). Il est décrit comme étant extrêmement virulent et pouvant entrainer un taux de morbidité élevé et des morts subites, même sur des chiens vaccinés (Goddard, Leisewitz, 2010).

Le parvovirus canin de type 2 possède un ADN simple brin, de petite taille (5kpb) compacté à l'intérieur de la capside. Le génome de CPV-2 code pour des protéines structurales de la capside (VP1 et VP2) et pour des protéines non structurales (NS1 et NS2) codant pour la réplication, l'expression du génome et l'assemblage de la capside (figure 1).

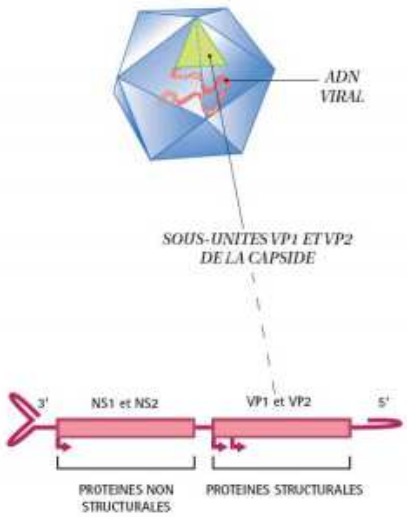


Figure 1: Représentation schématique du virus et du génome du CPV-2

2. Cycle viral des parvovirus canin CPV-2

Le parvovirus canin CPV-2 se réplique dans les épithélia muqueux pluristratifiés et principalement dans les cellules de l'épithélium digestif. Le virus va être amplifié dans les cellules de l'épithélium digestif et disséminé dans les fèces. Le virus se réplique uniquement dans le noyau des cellules en division et durant la phase S du cycle cellulaire. En effet, le virus utilise l'enzyme ADN polymérase de la cellule hôte afin de former un ADN double brin. Cette enzyme est uniquement présente durant la mitose cellulaire.

Les différentes étapes du cycle de réplication sont détaillées ci-dessous :

- **1) Attachement :** à un récepteur transferrine situé à la surface des cellules cibles et grâce aux protéines de surfaces VP1 et VP2.
- **2) Pénétration :** entrée du virus par endocytose dans la cellule en division (virus non enveloppé)
- **3) Phase d'éclipse et synthèse de protéines virales :** l'ADN viral est dirigé vers le noyau de la cellule (grâce à la partie N-terminale de VP1). L'ADN polymérase de la cellule infectée permet le passage de l'ADN viral monocaténaire à un ADN double brin. Les étapes de transcription et de traduction permettront la synthèse de protéines virales.
- **4) Production de nouveaux virions :** formation de multiples copies d'ADN viral par phénomène de réplication. Il y a assemblage des différentes particules virales dans le noyau de la cellule hôte.
- **5) Excrétion des virions :** Libération des nouveaux virions par lyse de la cellule hôte.

Les phénomènes de compétition entre le virus et la cellule hôte expliquent une partie de la virulence du CPV-2. En effet, transcription, traduction et réplication de l'ADN de la cellule hôte sont inhibés par le virus. De plus, la cellule est lysée par l'excrétion des nouveaux virions.

3. Survie du virus dans le milieu extérieur

Les parvovirus sont des virus très résistants dans le milieu extérieur (virus non enveloppés). En effet, ils résistent au froid, à la congélation, à un pH inférieur à 3 et peuvent survivre un an à température ambiante ou 60 minutes à 60°C. De nombreux traitements hygiéniques ne sont pas efficaces contre le parvovirus tels que les ammoniums quaternaires les alcools, les acides… Il est cependant inactivé par l'hypochlorite de sodium (eau de Javel diluée au 1/30ème), le glutaraldéhyde et la soude. Cependant, le temps de contact avec la

surface doit être suffisant et une désinfection des matières organiques doit être effectuée au préalable.

4. Sources de contamination et excrétion virale du CPV-2

4.1 Sources de contamination

La source majeure de contamination est effectuée principalement par les chiens infectés excrétant les virus dans leurs matières fécales. Le pelage (contaminé par le léchage), la salive et l'urine peuvent également contenir des particules virales mais en quantité nettement inférieure à celle contenue dans les fèces.

Les chiens récemment infectés, encore asymptomatiques peuvent aussi être une source de contamination pour leurs congénères. De plus, les Hommes (éleveur, personnel d'élevage, vétérinaire…) peuvent disséminer le virus au sein de l'élevage ou en dehors de celui-ci.

En revanche, l'espèce canine n'est pas la seule espèce pouvant être source de contamination. D'après l'étude menée par Clegg et al., 2012 dans un refuge de chiens et de chats, les sous-types CPV-2a ou CPV-2b ont été retrouvés dans les matières fécales des chats. Dans cette étude, les chats sont cliniquement sains mais 37% d'entre eux sont excréteurs de CPV-2a ou CPV-2b. Les chats peuvent donc être des vecteurs de contamination pour l'espèce canine et vice versa. De plus, le parvovirus canin pourrait également être à l'origine de signes cliniques chez le chat (Ikeda et al., 2002).

4.2 Transmission et excrétion virale

La transmission directe est essentiellement horizontale, elle se fait par voie oro-fécale entre un chien infecté et un chien sain. La transmission verticale est anecdotique, le virus CPV-2 ne passe pas la barrière placentaire.

La majorité des contaminations sont indirectes, elles s'effectuent via des objets et/ou des sols souillés par des matières fécales contaminées. Des contacts étroits ne sont donc pas nécessaires à la transmission du virus. On estime à 10^2 DCIT 50 la quantité de particules virales à ingérer par un chien sain pour être infecté. Or, les selles des chiens contaminés sont très riches en particules virales, entre 10^8 et 10^{11} en une journée. L'excrétion virale débute 3 jours post-infection et est maximale au 6ème jour. De plus, lorsque le chien semble guéri il va excréter des particules virales pendant 14 jours, le risque de contamination demeure donc très important durant cette période.

II. Pathogénicité et signes cliniques

1. Physiopathogénie

Les particules virales pénètrent dans l'organisme par voie orale et progressent dans les amygdales et dans les tissus lymphoïdes oro-pharyngé. La période d'incubation est courte, la virémie est détectable 1 à 5 jours post infection.

Après réplication dans les tissus lymphoïdes oro–pharyngé (cellules à index mitotique élevé) le virus progresse dans l'épithélium lingual, l'œsophage, l'intestin grêle (dès le 4ème jour) puis dans la rate, le thymus, les nœuds lymphatiques mésentériques, la moelle osseuse et les plaques de Peyer.

Le virus va diffuser de cellules en cellules pour atteindre les cellules germinales des cryptes de Lieberkühn, dans lesquelles il va se répliquer et les lyser. La colonisation des cellules intestinales s'effectue essentiellement par voie sanguine mais les virus peuvent également pénétrer dans les cellules via la lumière intestinale (résistance du virus au pH gastrique). Iléon et jejunum sont les portions intestinales les plus touchées. La lyse des entérocytes va entrainer une nécrose de l'épithélium digestif et une atrophie des villosités intestinales. Les conséquences cliniques principales seront des vomissements, de la diarrhée et une déshydratation du chiot (les signes cliniques seront détaillés dans la partie II.2). La présence de virus dans les selles est détectable 4 à 5 jours après l'infection ; ce qui coïncide avec l'apparition des premiers signes cliniques.

Enfin, la forte réplication du virus dans les organes lymphoïdes et dans la moelle osseuse entraine une lyse et une nécrose des cellules lymphoïdes. Des modifications hématologiques majeures peuvent être observées 4 à 6 jours post infection, telles qu'une lymphonénie, une leucopénie voir une panleucopénie.

La phase symptomatique dure entre 4 et 11 jours. Elle peut conduire à la mort de l'animal (figure 2).

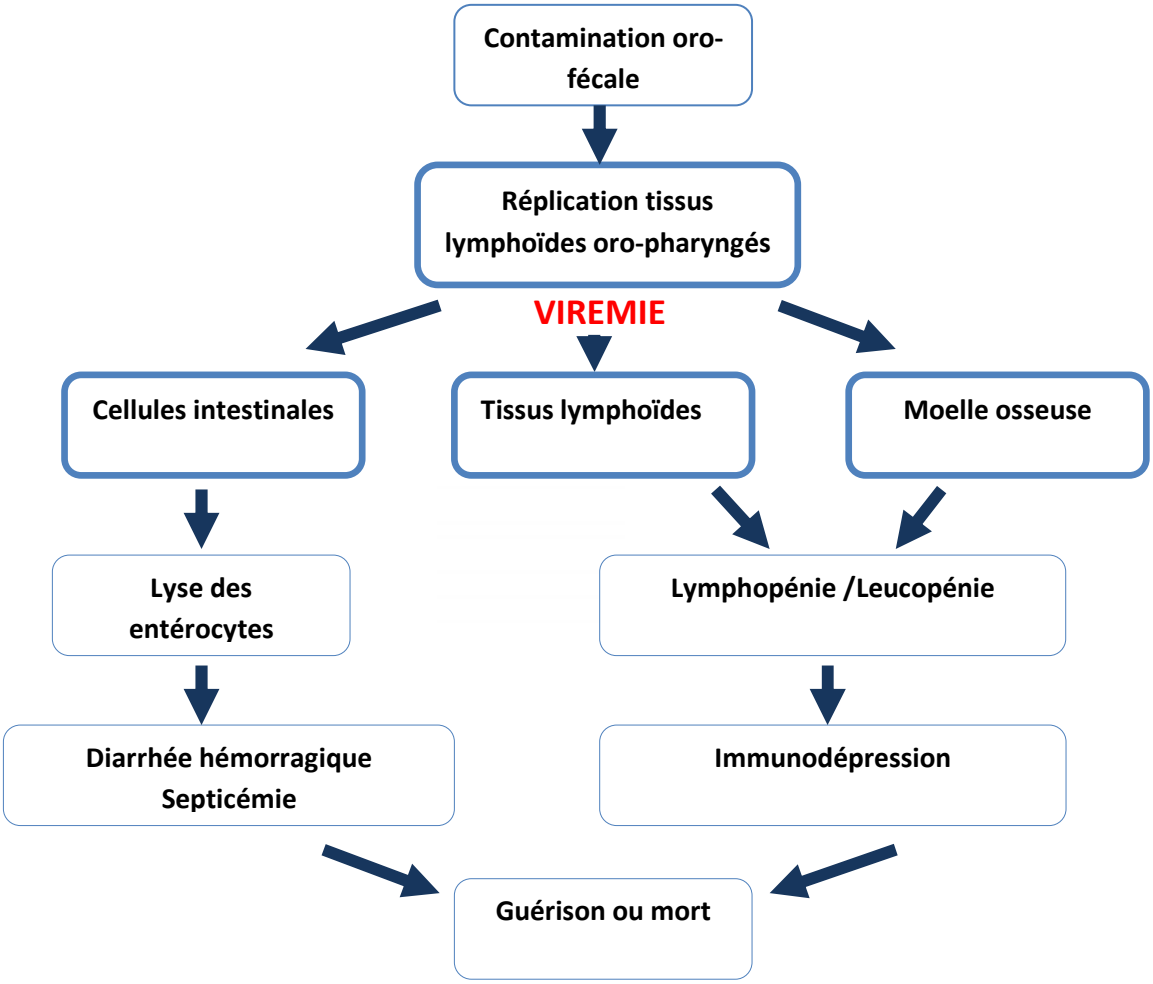


Figure 2: **Schéma de la pathogénicité de la parvovirose canine**

2. Les signes cliniques

Le parvovirus peut entrainer une forme entérique ou une forme cardiaque. La forme cardiaque est désormais anecdotique, elle touche les cellules du myocarde des chiots *in utéro* ou âgés de moins de 8 semaines. Nous allons nous concentrer sur la forme entérique du CPV-2 qui est la forme la plus fréquente et celle qui sévit dans notre élevage d'étude.

La majorité des chiots atteint par le CPV-2 ont entre 6 et 8 semaines (Grellet, 2014). Comme nous l'avons vu précédemment, le CPV-2 se multiplie dans les cellules à fort potentiel réplicatif, et celles-ci sont plus nombreuses chez les jeunes chiots.

Le parvovirus canin se manifeste cliniquement dans les 4 à 6 jours post infection. Les premiers symptômes sont peu spécifiques : anorexie, abattement et hyperthermie (40 à 41°C)(Greene, 2012). Le jour suivant apparaissent des vomissements. Ils peuvent être incoercibles et peuvent provoquer une oesophagite. La diarrhée apparait généralement 6 à 24h après les premiers vomissements, elle peut être hémorragique (rouge-noirâtre,

nauséabonde) ou mucoïde. Les vomissements et la diarrhée entrainent une perte de fluide et de protéines importantes pouvant entrainer une déshydratation et/ ou un choc hypovolémique. La pression artérielle, la couleur des muqueuses, la fréquence cardiaque et la température rectale doivent être étroitement surveillés (Goddard, Leisewitz, 2010).

Une douleur abdominale intense (dos voussé, abdomen tendu, palpation douloureuse) est très souvent rapportée. Le risque d'intussusception est présent (Rallis et al., 2000).

De plus, chez les chiots sévèrement atteints, le risque de développer une septicémie est relativement conséquent. En effet, la lyse des cellules intestinales favorise le risque de translocation bactérienne (Goddard, Leisewitz, 2010).

Pour conclure, il existe une corrélation positive entre l'intensité des signes cliniques et la sévérité de l'infection intestinale (Meunier et al., 1985). Le CPV-2, à l'origine de troubles gastroentéritiques peut entrainer un taux de mortalité pouvant atteindre 90% si le chiot n'est pas pris en charge rapidement. (Nandi, Kumar, 2010).

III. Mécanismes de l'immunité chez le chiot

À la naissance, le nouveau-né quitte l'environnement stérile de l'utérus et doit affronter un environnement riche en micro-organismes. Pour survivre il va devoir maîtriser les agents pathogènes qui l'entourent. Malgré un système immunitaire fonctionnel, sans la protection passive maternelle le chiot serait très vulnérable aux différents pathogènes.

1. Acquisition de l'immunité systémique chez le chiot

1.1 Le colostrum à origine du transfert passif de l'immunité

a) Transfert de l'immunité maternelle

À la naissance les chiots naissent avec très peu d'immunoglobulines circulantes en raison de la placentation endothéliochoriale. En effet, chez le chiot la transmission des immunoglobulines ne s'effectue non pas comme chez l'Homme par passage transplacentaire mais via l'ingestion de colostrum à la naissance (Tizard, 2013).

Le colostrum canin contient différentes classes d'immunoglobulines qui sont les IgG, les IgA, les IgM et les IgE (quasi absentes). Les proportions en immunoglobulines sont à peu près similaires selon les études. En effet, 24h après le part on retrouve dans le colostrum 60 à 73% d'IgG, 16 à 40% d'IgA et 1,4 à 11% d'IgM (Norcross, 1982) et (Schäfer-Somi et al., 2005).

Dans les minutes suivant la naissance, environ 40% des Ig ingérées seront absorbées par le chiot (Chastant-Maillard et al., 2013). Cependant, ce transfert en Ig est possible que pendant une très courte période après la naissance. Il y a en effet une limite temporelle à l'absorption des Ig par l'intestin, on parle de « fermeture de la barrière intestinale » et celle-ci débute dans les heures suivant la naissance. Dès 4h de vie l'absorption des Ig est très diminuée et dès 24h de vie l'absorption est nulle (Chastant-Maillard et al., 2012). Les immunoglobulines colostrales doivent donc être ingérées par le chiot dans les premières heures de vie. Le transfert des immunoglobulines vers le sang est le résultat d'un transport de macromolécules transitoire et non sélectif à travers l'épithélium de l'intestin grêle. Les Ig absorbées par le chiot sont ainsi libérées dans la circulation sanguine avec la lymphe intestinale.

Concernant le CPV-2, environ 90% des anticorps d'origine maternelle sont absorbés par le chiot lors de l'ingestion du colostrum (Pollock, Carmichael, 1982). Cependant, le taux d'anticorps reçu passivement par le chiot sera proportionnel au titre sérique en anticorps de la mère mais il dépendra également de la quantité, de la qualité du colostrum ingéré ainsi que du délai entre la naissance et l'ingestion du colostrum.

b) Décroissance de l'immunité d'origine maternelle

Comme vu précédemment, la concentration circulante en Ig augmente considérablement après les premières tétées (dans les 24-48h) mais elle va décroitre exponentiellement au cours du temps. En effet, la quantité d'anticorps d'origine maternelle (AOM) anti-CPV-2 va décroitre de moitié tous les 9,7 jours (Pollock, Carmichael, 1982). Une étude sur 120 chiots (Moraillon, 1982) a montré qu'au bout de 10-11 semaines de vie la quantité d'AOM était égale à zéro (avec des extrêmes entre 7 et 14 semaines). Cependant, le chiot devient sensible au CPV-2 lorsque le titre d'hémagglutination est inférieur à 1:80 (Mila et al., 2014) c'est-à-dire aux alentours de la 6ème semaine de vie du chiot.

1.2 Production lactée: transfert d'IgA

Au cours de la lactation, le colostrum va progressivement être remplacé par du lait. Les IgG composant essentiellement le colostrum vont rapidement être remplacées par des IgA. Juste après le part, le colostrum des chiennes contient quatre fois plus d'IgG que d'IgA or ce ratio va s'inverser dès le deux ou troisième jour post-partum avec un ratio IgA/IgG qui va augmenter rapidement (figure 3) (Heddle, Rowley, 1975). Les concentrations moyennes en immunoglobulines varient donc au cours de la production laitière. Nous détaillerons dans la partie III.2.2 en quoi les IgA interviennent dans l'immunité locale du tube digestif du chiot.

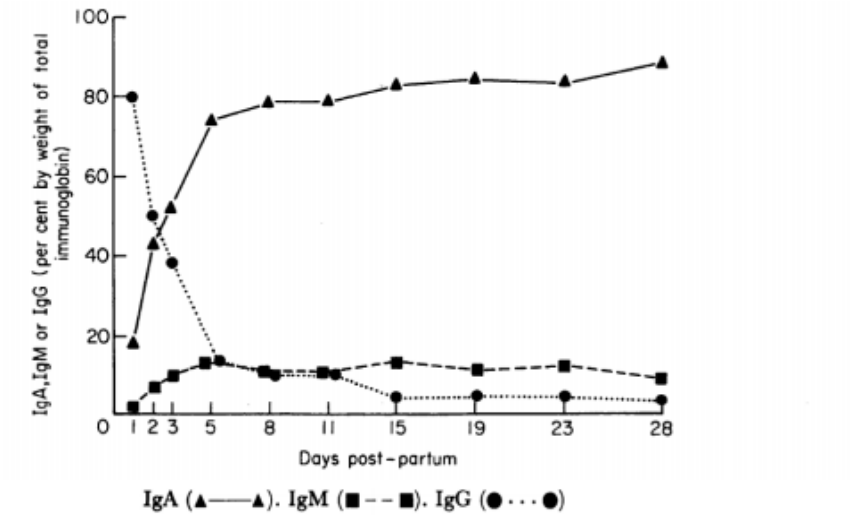


Figure 3: Evolution des concentrations des différentes classes d'immunoglobulines dans la sécrétion mammaire de chiennes de races variées selon Heddle et Rowley 1975 (n=14, chaque point représente la moyenne de 2 ou 4 chiennes)

L'immunité transmise de la mère au chiot est indispensable pour la survie du nouveau-né. Cependant, depuis la vie fœtale son système immunitaire se développe et se met en place.

1.3 Mise en place de l'immunité endogène du chiot

a) Développement général du système immunitaire

Chez le chiot, le système immunitaire spécifique (acquis) est compétent et mature dès la naissance mais naïf. En effet, le thymus est le premier organe lymphoïde à se développer. Il se développe entre le 23ème et le 33ème jour de gestation. Les lymphocytes vont le coloniser dès le 35ème jour de gestation. à partir du 45ème jour se développent la moelle osseuse, le tissu lymphoïde splénique ainsi que les plaques de Peyer (Day, 2007).

Dans les premières semaines de vie du chiot c'est le système immunitaire non spécifique (inné) qui va permettre la résistance aux microorganismes. Les monocytes, les macrophages et les polynucléaires neutrophiles vont capter les microorganismes, les internaliser et les détruire. Ces derniers utilisent des systèmes de reconnaissance non spécifique, ils constituent la première ligne de défense contre une infection (Roitt et al., 1994).

Le système immunitaire spécifique va se mettre en place progressivement, en effet, il va dépendre des stimulations antigéniques reçues par le chiot. Les lymphocytes vont être à l'origine des réponses immunitaires innées car elles reconnaissent les agents pathogènes de manière spécifique (Roitt et al., 1994).

b) Rappels sur les populations de lymphocytes et leurs rôles dans l'immunité

Les lymphocytes sont produits dans la moelle osseuse mais une étape de maturation de ces derniers est nécessaire afin qu'ils soient fonctionnels. La maturation des lymphocytes T (LT) s'effectue dans le thymus alors que celle des lymphocytes B (LB) s'effectue dans le cortex des nœuds lymphatiques.

Les lymphocytes T peuvent être regroupés en différentes sous-populations selon l'expression du récepteur de l'antigène (TCR). Le TCR interagit avec le peptide antigénique présenté par le complexe majeur d'histocompatiblité de classe 2 (CMH II) des cellules dendritiques. Il existe deux types de TCR, le TCR αβ (hétérodimère de polypeptides α et β) et le TCR γδ (hétérodimère de polypeptides γ et δ). Les cellules T à récepteur TCR αβ sont majoritaires, elles représentent plus de 90% des LT circulants. Ces cellules T expriment à leur surface soient un récepteur CD4+ soit un récepteur CD8+. Les cellules T à récepteur TCR γδ représentent une minorité et se localisent principalement dans les épithéliums de surface, elles expriment essentiellement à leur surface des récepteurs CD8+.

Les lymphocytes CD4+ peuvent être divisés fonctionnellement en deux groupes. Ils exercent une fonction dite auxiliaire (« Th ») et se distinguent par le type de cytokines qu'ils sécrètent :

- Les lymphocytes CD4+ Th1 sécrètent de l'interleukine 2 (IL-2) et de l'interféron γ (IFNγ). Ils participent à la prolifération et à la différenciation des LT cytotoxiques, des cellules natural killer (NK) et des macrophages. Ils ont un rôle primordial dans la réponse immunitaire face aux pathogènes intracellulaires (virus, bactéries).

- Les lymphocytes CD4+ Th2 sécrètent principalement de l'interleukine 4 (IL-4) de l'interleukine 5 (IL-5) de l'interleukine 10 (IL-10) et de l'interleukine 13 (IL-13). Ces lymphocytes activent les LB, permettent leur différenciation en plasmocytes et la sécrétion d'Ig.

Les lymphocytes CD8+ portent à leur surface le récepteur CD8+ et des récepteurs TCR αβ majoritairement. Le TCR interagit avec le peptide antigénique présenté par le CMH de classe 1 (CMH I) des cellules dendritiques. Cette reconnaissance entraîne l'activation des LT CD8+, qui prolifèrent puis se différencient en LT cytotoxiques. Cette prolifération et cette différenciation nécessitent la stimulation par l'interleukine 2, secrétée par les LT auxiliaires activés par le même antigène. Les LT cytotoxiques se fixent par leur TCR à l'antigène et libèrent des molécules cytotoxiques la détruisant. Les cellules infectées par des virus sont donc détruites par les lymphocytes T cytotoxiques.

Les LB portent à leur surface des récepteurs BCR qui correspondent à des anticorps membranaire. La majorité exprime des IgM et des IgD de surface. Les LB peuvent capter l'antigène par l'intermédiaire de leurs Ig de membrane. L'antigène est internalisé, dégradé en peptides et associé aux molécules de classe II du CMH pour être présenter aux LT auxiliaires. Les LB peuvent donc agir comme cellules présentatrices d'antigène. Les LT auxiliaires stimulent la prolifération clonale par la synthèse d'interleukines ainsi que la différenciation des LB en plasmocytes sécréteurs d'anticorps. Les anticorps sécrétés par les plasmocytes ont tous la même spécificité pour l'antigène.

Ainsi, les LT sont responsables de l'immunité cellulaire alors que les LB constituent l'immunité à médiation humorale.

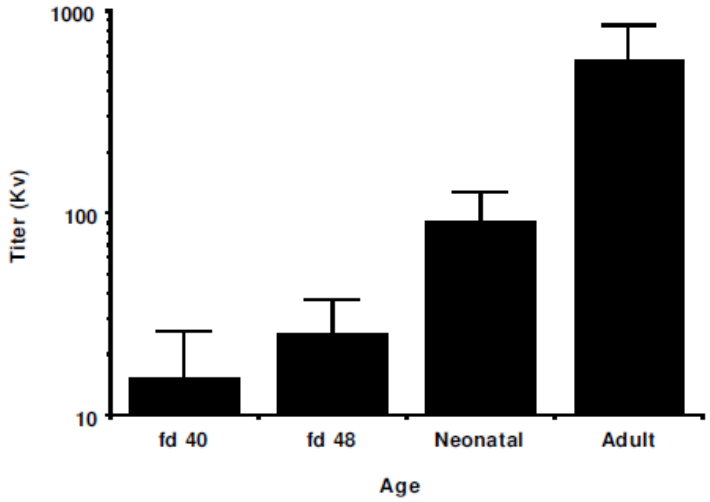
c) Développement de l'immunité spécifique du chiot

Concernant la maturation du système lymphoïde, peu de littérature est disponible chez le chiot. On sait que la numération lymphocytaire des chiots est plus élevée que chez les adultes. Durant les premières semaines de vie du chiot la concentration sanguine en lymphocyte augmente, alors que la concentration en neutrophiles diminue (Day, 2007). En effet, durant les 16 premières semaines de vie du chiot, la proportion de lymphocytes B chute alors que la proportion de lymphocytes T augmente (Felsburg, 2002). L'immunité cellulaire est donc favorisée durant les premières semaines de vie du chiot. Durant les 6 premiers mois de vie du chiot, au sein de la population de lymphocytes T, la proportion de lymphocytes CD4+ augmente, le ratio CD4+:CD8+ est élevé. Aux alentours de 10-12 mois la

proportion de CD4+ diminue et la proportion de lymphocytes CD8+ augmente, le ratio CD4+ :CD8+ est alors normal (Felsburg, 2002) (Day, 2007).

De plus, on sait que chez le chiot*, in utéro*, la réponse immunitaire spécifique est asymétrique, une réponse immunitaire de type Th2 est majoritaire. Chez de nombreuses espèces animales, l'immunité à médiation humorale est favorisée lors du développement fœtal. Cependant, après la naissance, une réponse immunitaire de type Th1 est favorisée, elle est plus adaptée dans la lutte contre les maladies infectieuses. Cette réponse Th1 est illustrée par les différentes cytokines produites. En effet, la quantité d'IL-10 diminue alors que la quantité d'IFNγ augmente après la naissance. Durant la vie fœtale, la production d'IFN-γ est limitée car ils peuvent causer des lésions placentaires. Cette production augmente progressivement dans la première année de vie du chiot.

Cependant, peu à peu, le chiot va produire ses propres anticorps. L'ampleur de la réponse humorale en termes de concentration en Ig circulantes varie avec l'âge du chiot. En effet, suite à une infection virale par le virus fX174, le titre en Ig circulantes a été mesuré chez le fœtus (à 40 et 48 jours), chez le chiot en période néonatale et chez le chien adulte (figure 4)(Felsburg, 2002). La production d'immunoglobuline est environ 3 fois plus importante en période néonatale (J0-J20) qu'en période fœtale alors qu'elle est 8 fois plus importante chez le chien adulte que chez le chiot en période néonatale.



<u>Figure 4:</u> Titre en anticorps après une immunisation (fœtale, néonatale ou à l'âge adulte) avec le virus fX174

Les différentes classes d'immunnoglobulines circulantes varient également avec l'âge du chiot. En effet, à l'âge de 2-3 mois la concentration en IgM circulantes est équivalente à celle d'un chien adulte. La concentration en IgG circulantes sera maximale au bout de 6-9

mois d'âge alors qu'elle sera maximale au bout d'un an pour les IgA (figure 5) (Felsburg, 2002).

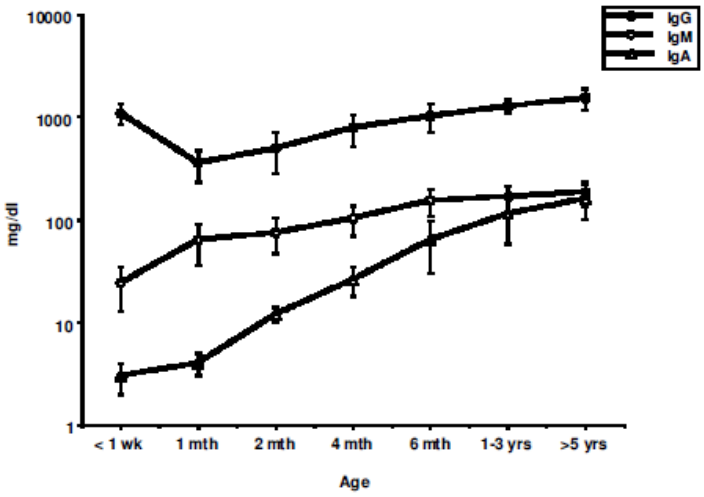


Figure 5: Concentration en immunoglobulines circulantes en fonction de l'âge chez le chien (IgG courbe du haut, IgM courbe du milieu, IgA courbe du bas)

Malgré le développement d'un système immunitaire « systémique » adapté, les muqueuses de l'organisme vont également faire l'objet d'une surveillance particulière de la part du système immunitaire. En effet, celles-ci sont particulièrement exposées à de nombreux pathogènes. Le sujet de l'étude portant sur les entéropathogènes seule l'immunité locale digestive sera détaillée.

2. L'immunité locale digestive chez le chiot

Une présence immunitaire est retrouvée tout le long du tube digestif, on parle de tissus lymphoïdes associés à l'intestin (GALT). Ces derniers se développent durant la vie fœtale du chiot, peu après le développement du thymus, c'est-à-dire aux alentours du 45ème jour de gestation.

2.1 Le système lymphoïde digestif

Les différents tissus lymphoïdes associés au tube digestif sont :

- **les lymphocytes intra-épithéliaux (LIE)** : ce sont des lymphocytes T situés entre les entérocytes dans l'épithélium de la muqueuse. Ils sont fonctionnels dès la naissance du chiot (Felsburg, 2002). Dans l'intestin grêle, entre 12 et 20% des cellules épithéliales sont des LIE, ils sont en plus grande quantité dans les villosités intestinales et sont répartis de manière égale entre le duodénum et l'iléon (Stokes,

Waly, 2006). La majorité des LIE sont des lymphocytes T CD8+ (récepteur CD8+ homodimérique αα) et le récepteur TCR est γδ, on parle de lymphocytes T γδ (Tizard, 2013).

- **les plaques de Peyer :** ce sont des formations lymphoïdes spécialisées majoritairement situées dans l'iléon et séparées de la lumière intestinale par les cellules M. Elles sont matures et fonctionnelles dès la naissance du chiot (Felsburg, 2002). On y distingue des follicules bien délimités très riche en LB, entourés d'une région interfolliculaire riche en LT et en cellules présentatrices d'antigènes (cellules dendritiques).

- **les cellules M (cellules Microfolds) :** ce sont des cellules épithéliales spécialisées situées au niveau des dômes des plaques de Peyer. Elles n'ont pas de microvillosités et ne sont pas surmontées d'une couche de mucus comme les autres cellules de l'épithélium digestif.

- **la *lamina propria :*** c'est une zone de résidence de nombreux lymphocytes, située sous la couche épithéliale digestive. Elle contient de nombreux LT qui sont essentiellement des LT CD4+ avec un récepteur TCR αβ. Ces derniers sont en grande quantité au niveau des villosités digestives et en faible quantité au niveau des cryptes. Au contraire, les LB et les plasmocytes sont majoritairement localisés au niveau des cryptes intestinales. Elle contient également de nombreux macrophages.

- **les nœuds lymphatiques associés à l'intestin (nœuds lymphatiques mésentériques) :** ils sont composés d'une région corticale et d'une région médullaire. En périphérie de la corticale on trouve les follicules contenant les LB et plus en profondeur on trouve des LT. Enfin, la région médullaire contient des LB.

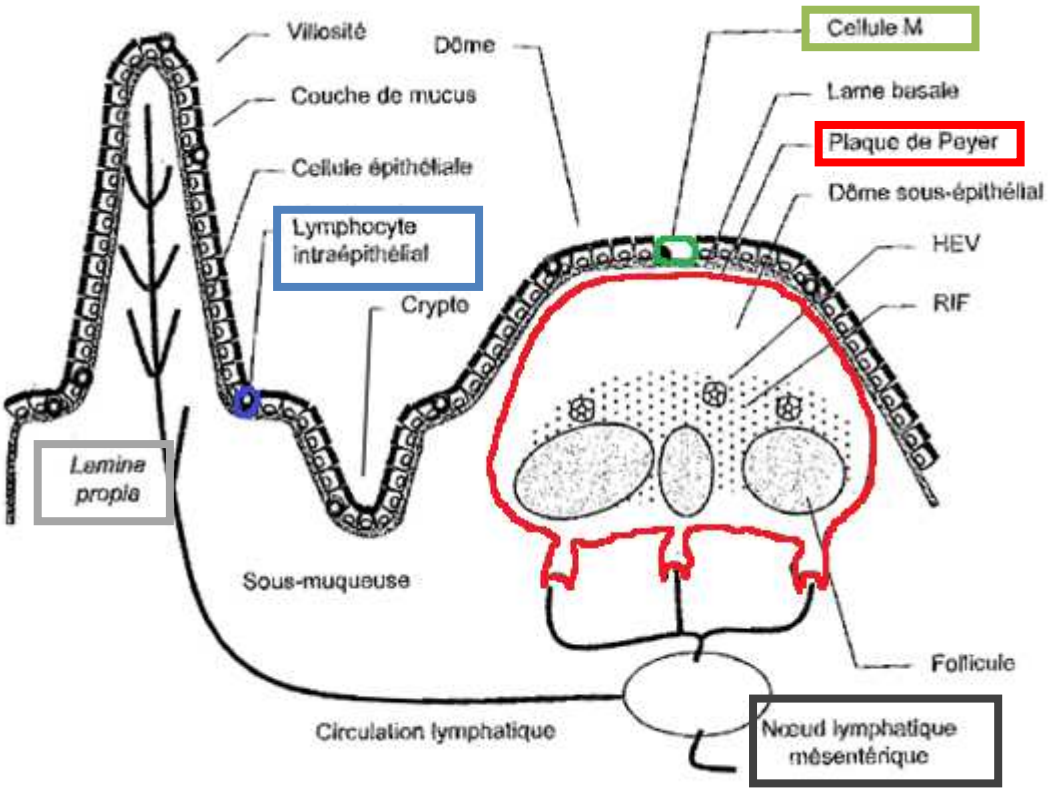


Figure 6: Eléments lymphoïdes de la muqueuse intestinale. HEV : veinule endothéliale haute RIF : région interfolliculaire. D'après (Cheroutre, Madakamutil, 2004) et (Espinosa, Chillet, 2010)

Enfin, les plaques de Peyer et les nœuds lymphatiques mésentériques constituent les sites inducteurs c'est-à-dire les sites où la réponse immunitaire sera initiée (interaction des antigènes de la lumière avec le système immunitaire). Parallèlement, *la lamina propria* est un site effecteur, il s'agit du site où la réponse immunitaire sera effectuée.

2.2 Réactions immunitaires du système digestif

L'épithélium digestif étant constamment exposé à des agents pathogènes, le système lymphoïde digestif y est particulièrement développé. Afin de prendre en charge les micro-organismes circulants dans le tube digestif les réactions immunitaires vont être complexes.

a) La réponse humorale : production d'IgA

Les antigènes circulants dans la lumière du tube digestif peuvent être « capturés » soit par les cellules M soit par les prolongements cytoplasmiques des cellules dendritiques.

Les cellules M sont des cellules épithéliales spécialisées capables de transférer les antigènes de la lumière intestinale vers le tissu lymphoïde sous épithélial. Elles sont au

niveau des dômes des plaques de Peyer et elles font transiter les particules antigéniques par transcytose aux cellules dendritiques (CD) sous-jacentes (figure 6 étape ❶).

Les cellules dendritiques peuvent aussi émettre des prolongements cytoplasmiques entre les entérocytes de l'épithélium et peuvent capter directement les antigènes présents dans la lumière intestinale (figure 6 étape ❶).

Les CD, cellules présentatrices d'antigène vont s'activer et migrer vers les aires contenant des LT c'est-à-dire dans les plaques de Peyer ou dans les NL mésentériques (figure 6 étape ❷). Les LT CD4+ vont être activés et vont coopérer avec les LB spécifique d'Ag. Les lymphocytes activés dans les plaques de Peyer rejoignent via la circulation lymphatique le NL mésentérique le plus proche où ils poursuivent leur différenciation (figure 6 étape ❸). Les lymphocytes effecteurs quittent le NL mésentérique par voie lymphatique et rejoignent le canal thoracique puis la circulation sanguine (figure 6 étape ❹). Dans les plaques de Peyer, les LB spécifiques d'antigène sont des LB productrices d'IgM, elles y subissent une commutation de classe et entrent dans la *lamina propria* comme plasmocytes sécréteurs d'IgA. Seuls quelques plasmocytes sécrètent des IgM mais ces derniers ont moins d'affinité pour les antigènes que les IgA. Les plasmocytes sécrètent majoritairement et en grande quantité des IgA monomériques et dimériques (figure 6 étapes ❺ et ❻) (Espinosa, Chillet, 2010). Les IgA dimériques sont transportés par les cellules épithéliales grâce aux récepteurs des Ig polymériques (pIgR). En effet la composante sécrétoire appartenant au pIgR est essentiel au transport de l'IgA sécrétoire dans la lumière du tube digestif (figure 6 étape ❼). Ce transport se fait par endocytose et préférentiellement dans les cryptes intestinales jéjunales et duodénales (Stokes, Waly, 2006) et (Vaerman, Heremans, 1969).

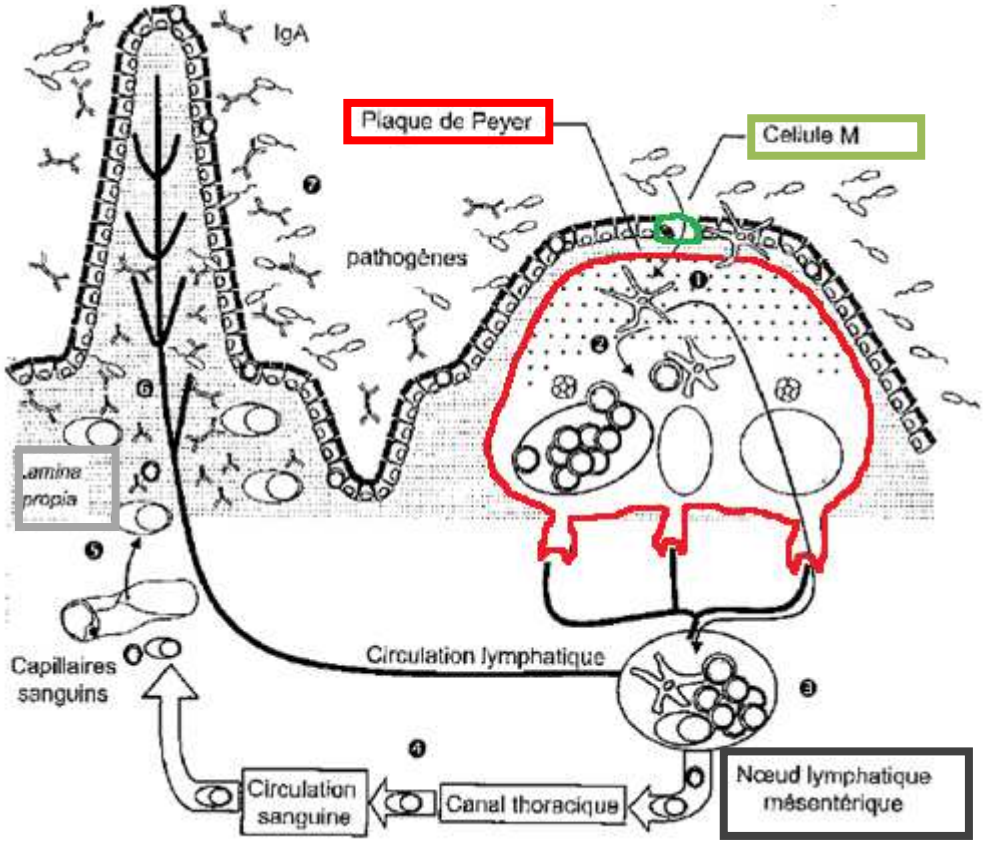


Figure 7: Organisation de la réponse immunitaire au niveau de la muqueuse de l'intestin grêle. D'après (Cheroutre, Madakamutil, 2004)et (Espinosa, Chillet, 2010).

Pour neutraliser les antigènes, les IgA peuvent agir de trois manières différentes. Leur principale fonction est d'empêcher l'adhérence des virus et des bactéries à la muqueuse intestinale. Les agents pathogènes ne pouvant pas adhérer aux entérocytes seront alors éliminés sans causer de signes cliniques. En outre, comme les IgA sont transportés par les entérocytes ils peuvent également agir à l'intérieur des ces cellules. Les IgA peuvent se lier aux particules virales nouvellement synthétisés et stopper la réplication du virus. Enfin, ils peuvent se lier aux antigènes qui ont pénétrés dans la muqueuse intestinale. Des complexes IgA-antigène vont se former, vont se lier au récepteur pIgR et vont être transportés dans la lumière intestinale par les entérocytes.

Concernant les propriétés générales des IgA, la pièce sécrétoire les protège contre les enzymes digestives, elles ont donc la particularité de résister aux protéases du tube digestif. De plus, leur pièce sécrétoire leur permet de rester dans le mucus et les IgA n'activent pas les voies du complément il n'a donc pas d'inflammation associée (Chapel, 2004). Enfin, les IgA ont un spectre de reconnaissance important ce qui augmente leur efficacité ; elles peuvent reconnaitre plusieurs pathogènes différents. Ainsi les IgA constituent l'immunité

spécifique contre les agents pathogènes et permettent leur élimination en préservant l'intégrité tissulaire.

b) Immunité à médiation cellulaire

Lorsque des antigènes échappent à la neutralisation par les IgA, il existe une seconde ligne de défense immunitaire détruisant les antigènes qui auront pénétré dans la muqueuse intestinale. Elle fait intervenir les lymphocytes intra-épithéliaux (LIE). En effet, lorsqu'un virus infecte une cellule épithéliale de la muqueuse ou lorsque la cellule subit un stress post infection, les LIE lysent la cellule infectée par la voie perforine- granzymes. Cette voie signifie que la cellule lymphoïde cytotoxique (LIE) libère des perforines et différentes enzymes au voisinage immédiat de la cellule épithéliale infectée. En présence de calcium, la perforine est polymérisée par une enzyme et forme des canaux dans la membrane de la cellule cible. Cette dernière est alors lysée (Janeway, 2009).

En plus de leurs propriétés cytotoxiques à médiation cellulaire, les LIE peuvent reconnaitre les antigènes et sécréter des cytokines comme l'interféron gamma (IFN γ). Ce dernier va accroitre les mécanismes de défense non spécifiques des macrophages tels que leur capacité à inhiber la multiplication des pathogènes intracellulaires. L'interféron gamma va également activer les cellules natural killer et va conférer aux cellules réceptives un état réfractaire aux infections virales. Enfin, les LIE jouent un rôle important dans la réparation des muqueuses, ils réparent les dommages de l'épithélium digestif (Tizard, 2013).

De plus, les cellules dendritiques intestinales ont un rôle crucial dans la protection de la muqueuse intestinale. En effet, les CD font la distinction entre la flore commensale et les agents pathogènes. Ces derniers présentent des marqueurs de pathogénicité qui sont reconnus par les cellules de l'épithélium intestinal et qui provoquent la sécrétion molécules pro-inflammatoire comme l'IL-8. Des neutrophiles et des monocytes sont alors recrutés pour phagocyter les agents pathogènes, il s'agit de l'immunité non spécifique (Westendorf et al., 2010).

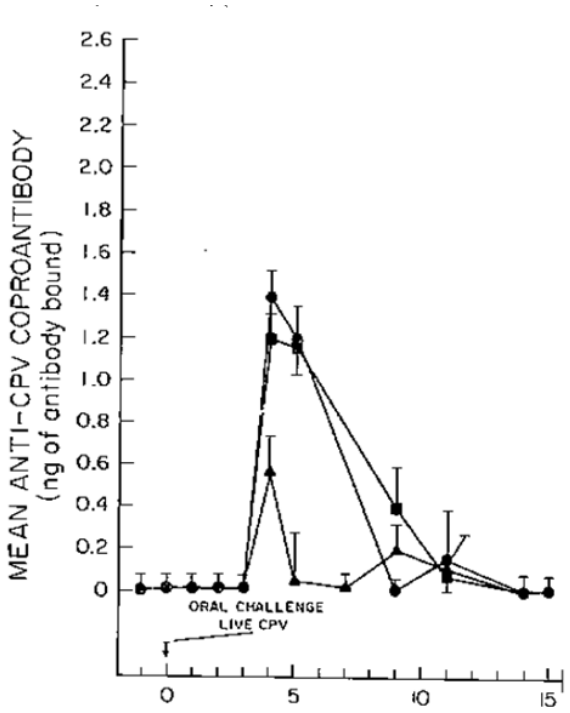
d) Importance de l'immunité locale lors d'une infection par le CPV-2

La réponse immunitaire lors d'une infection par le CPV-2 va désormais être détaillée en soulignant l'importance de l'immunité locale.

Une étude a cherché à déterminer quel type d'immunité prédomine lors d'une infection par le CPV-2 chez le chiot. L'immunité locale est-elle favorisée par rapport à l'immunité systémique ? (Rice et al., 1982).

À l'aide d'une méthode ELISA mise au point pour quantifier les différentes classes d'Ig anti-CPV-2, la quantité d'Ig dans le sérum et dans les fèces a été comparée aux signes cliniques et à la charge virale excrétée par des chiots infectés. Il a été mis en évidence que lorsque la quantité d'anticorps excrétés dans les fèces est importante, la charge virale excrétée est faible et l'évolution clinique des chiots est favorable. Il y a donc une corrélation entre la quantité d'anticorps excrétés, la charge virale et l'évolution clinique des chiots. Parmi les immunoglobulines retrouvées dans les fèces on retrouve en majorité des IgA, elles sont cependant quasi absentes dans le sérum des chiens atteints de parvovirose. De plus, des IgG et des IgM sont retrouvées dans les fèces en quantité inférieure, ces dernières sont également produites localement mais sont transportées de manière non spécifique dans la lumière intestinale. En opposition, la quantité d'anticorps anti-CPV-2 dans le sérum n'est pas corrélée à la charge virale excrétée ou à une évolution clinique favorable (Rice et al., 1982).

Afin de souligner l'importance de l' immunité locale lors d'une infection par le CPV-2, une autre étude (Nara et al., 1983) a quantifié et qualifié les anticorps anti CPV-2 dans des fèces de chiens infectés par voie orale. La réponse humorale spécifique a été étudiée. Les chiens infectés par voie orale répondent par une production locale d'Ig 3 à 4 jours post infection. Les Ig retrouvés dans les fèces sont d'abord des IgM et des IgA puis on retrouve 4 jours post infection des IgG en quantité moindre (figure 6). Quinze jours post infection la quantité d'immunoglobulines présente dans les fèces redevient proche de zéro.



<u>Figure 8:</u> Concentrations moyennes en anticorps anti CPV-2 dans les fèces chez des chiens (n=3), inoculation de CPV-2 vivants par voie orale. IgG▲–▲ IgM ●–● et IgA ■–■ d'après (Nara et al., 1983).

Le parvovirus canin est comme nous l'avons vu dans cette première partie un entéropathogène majeur du chiot, responsable de mortalité pédiatrique. Ce virus peut cependant être associé au coronavirus (CCV). Dans une étude sur 266 chiots (Grellet et al., 2014), 20,3% d'entres eux étaient excréteurs de CCV alors que seulement 0,4% des chiots présentaient une infection mixte (CPV-2 et CCV). L'implication du CCV dans les entérites est controversée, par contre il pourrait jouer un rôle de facteurs aggravant lors d'infection par le CPV-2 (Grellet, 2014).

L'objectif de notre étude est de « piéger » les virus (CPV-2 et CCV) dans le tube digestif des chiots par un mélange contenant des IgY. Les IgY sont des anticorps récupérés dans le jaune d'œuf de poules vaccinées. Les IgY anti-CPV2 et anti-CCV constituerons le mélange de supplémentation, il sera administré par voie orale à des chiots entre leur 21ème et leur 56ème jour de vie. L'effet de cette supplémentation sera évalué sur la croissance, la température, la morbidité et la mortalité des chiots durant la période pédiatrique.

PARTIE 2: ETUDE EXPERIMENTALE

I. Matériels et méthodes

1. Population étudiée

Les données de cette étude ont été recueillies dans l'élevage nommé « chenil des quatre vents » (département du Pas-de-Calais, 62) du 15 août 2013 au 30 novembre 2013. Les quinze races suivantes ont été inclues dans l'étude: Berger Allemand, Bichon Frisé, Bichon Maltais, Bouvier Bernois, Boxer, Caniche, Cocker Anglais, Cocker Américain, Golden Retriever, Jack Russel, Labrador Retriever, Lhassa apso, Shih tzu, Spitz Allemand, West Highland White Terrier.

Au total, 54 portées (toutes races confondues) sont inclues dans l'étude, représentant 168 chiots (tableau 1). De la naissance (J0) au 21ème jour de vie (J21) on parle de période néonatale. Du 21ème jour de vie (J21) au 56ème jour de vie (J56) on parle de période pédiatrique, période correspondant à notre étude.

Les chiots sont classés en fonction de leur race et de leur poids. En effet, si le poids du chien adulte est inférieur à 15kg, le chiot appartient au groupe « petites races », si le poids du chien adulte est compris entre 15 et 25kg il appartient au groupe « moyennes races » et si le poids du chien adulte est supérieur à 25kg il appartient au groupe « grandes races ». Seuls les cockers (Anglais et Américain) appartiennent au groupe « moyennes races », donc dans la suite de l'étude ces chiots seront regroupés sous l'appellation « petites races ». Le nombre de chiots par format racial ainsi que le sex ratio durant la période pédiatrique sont détaillés dans le tableau 1.

Période pédiatrique J21-J56		
	Nombre de chiots	**Proportion de la population étudiée**
Petites races	100	60%
Grandes races	68	40%
Sex ratio Mâle : femelle		52 :48

Tableau 1: Effectif des chiots durant la période pédiatrique

Une fois ce classement effectué, un classement par poids de naissance est réalisé mais ce classement est utilisé pour l'étude concernant la période néonatale (J0-J21). Cependant, au 21ème jour, les chiots sont de nouveau classés en fonction de leur poids à J21.

La classification des chiots est faite à l'aide d'une classification en quartiles. Q1 correspond au premier quartile, ce qui signifie que 25% des chiots ont un poids à J21 inférieur à la valeur de Q1. Q2 correspond au 2ème quartile, ce qui signifie que 25% des chiots ont un poids compris entre la valeur de Q1 et la valeur de Q3. Q3 correspond au 3ème quartile, ce qui signifie que 25% des chiots ont un poids compris entre la valeur de Q2 et la valeur de Q4. Q4 correspond au 4ème quartile, ce qui signifie que 25% des chiots ont un poids supérieur à la valeur de Q4.

Poids à J21 (g) / Format racial	Q1	Q2	Q3	Q4
Petites races	<490	490-609	609-760	>760
Moyennes races	<677	677-824	825-990	>990
Grandes races	<1020	1020-1229	1230-1478	>1478

Tableau 2: Classification des chiots en fonction du format racial et du poids des chiots à J21

2. Supplémentation

À J21, au sein de chaque portée, les chiots sont randomisés en fonction de leur race et de leur poids, ils sont alors séparés en deux groupes distincts : les chiots non supplémentés (Non supp) et les chiots supplémentés (Supp). Les effectifs et le sex ratio sont rapportés dans le tableau 3.

Période pédiatrique J21-J56		
Total chiots	168 chiots	
	Non supplémentés	**Supplémentés**
Petites races	49	51
Grandes races	32	36
Total	81	87
Sex ratio Mâle : Femelle	56 :44	48 :52

Tableau 3: Effectif et sex ratio des chiots non supplémentés et supplémentés

La fabrication de la supplémentation s'appuie sur l'extraction de jaune d'œuf de poule, enrichi en CPV-2 et CCV. Ce jaune d'œuf est riche en IgY spécifiques (IgY anti- CPV2 et anti-CCV) car les poules ont été vaccinées contre ces virus. Le jaune est séparé du reste de l'œuf puis il est déshydraté afin d'extraire les IgY spécifiques induits par le processus vaccinal.

Supplémenter les chiots consiste à administrer un mélange par voie orale composé d'immunoglobulines Y anti-CPV2 et anti-CCV diluées dans de l'eau. Le groupe de chiots non supplémenté reçoit une quantité d'eau identique à la quantité de mélange de supplémentation reçue par les chiots supplémentés. Le mélange à administrer aux chiots est composé d'un gramme de poudre d'œuf contenant des IgY anti-CPV2 auquel on ajoute un gramme de poudre d'œuf contenant des IgY anti-CCV, ces 2 grammes de poudre sont dilués dans 5,6mL d'eau. Cette dilution a été calculée d'après l'article de Van Nguyen et al., (2006) afin que chaque chiot reçoive 360mg de mélange pour 100g de poids vif par jour. De plus, avec cette dilution le mélange a une texture adaptée à une administration par voie orale. Les chiots dit « supplémentés » reçoivent donc 1mL de solution pour 100g de poids vif, per os, une fois par jour du 21ème jour au 56ème jour inclus. Les chiots dit « non supplémentés » reçoivent 1mL d'eau pour 100g de poids vifs per os, une fois par jour. Les chiots étant pesés une fois par semaine, la quantité de solution à administrer est recalculée toutes les semaines. L'administration s'effectue par voie orale à l'aide d'une seringue (format de la seringue adapté à la quantité à administrer) (figure 9).

Figure 9: Administration par voie orale du mélange de supplémentation

3. Suivi clinique

À la naissance, les chiots sont identifiés à l'aide d'un collier de laine (couleurs différentes pour chaque chiot d'une même portée). À chaque chiot correspond alors une couleur ainsi qu'une lettre de l'alphabet. Cette identification permettra d'effectuer un suivi clinique individuel des chiots de la naissance à J56. En l'occurrence dans cette étude du 21ème jour de vie au 56ème.

3.1 Poids

Les pesés s'effectuent à l'aide d'une balance électronique précise à 0,1g prés (figure 10). Tous les chiots sont pesés à J21, ce qui permet d'effectuer la répartition en quartile ainsi que la randomisation (non supplémentés vs supplémentés). Les chiots sont ensuite pesés toutes les semaines (J21, J28, J35, J42, J49, J56).

Figure 10: Pesée d'un chiot labrador retriever à J21

3.2 Examen clinique

L'examen clinique des chiots est réalisé toutes les semaines du 21ème au 56ème jour. (J21, J28, J35, J42, J49, J56).

a) Examen cardio-vasculaire et respiratoire

L'examen cardio-vasculaire des chiots consiste à prendre une fréquence cardiaque, à identifier des anomalies cardiaques (rythmes, souffles) et à évaluer la couleur des muqueuses oculaires et gingivales des chiots. Une auscultation des voies aériennes est également effectuée et la fréquence respiratoire est évaluée.

L'ensemble de ces critères sont scorés de 0 à 2 (tableau 4) et reportés dans la fiche de suivi (figure 11). Par exemple si un chiot présente à l'examen clinique une fréquence cardiaque comprise entre 180 et 220 battements par minute on lui attribue la note de 1.

Paramètres cliniques \ Scores	0	1	2
Fréquence cardiaque (bpm)	<180	180-220	>220
Fréquence respiratoire (mpm)	<6	6-15	>15
Auscultation voie aériennes	Anormale (Crépitements, bruits augmentés)	Douteuse (Bruits légèrement augmentés)	Normale
Couleur des muqueuses	Cyanosée	Pâle	Rosée

Tableau 4: Scores traduisant l'examen cardio-vasculaire et respiratoire des chiots

b) Palpation abdominale

Une palpation abdominale des chiots est réalisée toutes les semaines. Si la palpation abdominale est normale on attribue la note de 2, si le chiot est inconfortable ou légèrement douloureux on attribue la note de 1 et si le chiot est très inconfortable ou douloureux on attribue la note de 0. Les notes sont reportées dans la fiche de suivi (figure 11).

c) Ecoulements péri-orificiels

Lors de l'examen clinique hebdomadaire, la présence d'écoulements oculaires et/ou nasaux est reportée. S'il y a absence d'écoulement on attribue la note de 2, si les écoulements sont faibles on attribue la note de 1, si les écoulements sont importants on attribue la note de 0. Les notes sont reportées dans la fiche de suivi (figure 11).

d) Température rectale

La prise de température rectale est effectuée à l'aide d'un thermomètre électronique tous les jours de J21 à J56. Chaque température rectale est reportée dans la fiche de suivi (figure 11).

LITTER NR:	BITCH ID:	BREED:	PARTURITION: (date, hour)	
PUPPY ID:	color:	F ☐ M ☐	Q1 ☐ Q2 ☐ Q3 ☐ Q4 ☐	L ☐ 0 ☐	Died:

	D21	D28	D35	D42	D49	D56
Weight						
Suppl. Dose						
Rectal Temperature						
Hydratation						
Mucosa color						
HR						
RR						
Irritability/ Chest auscult						
Motility/ abdomen palp						
Eye discharge						
Nasal Discharge						
Diarrhea						

Figure 11: **Fiche de suivi utilisée lors de chaque examen clinique**

3.3 Score de morbidité et Sanitary Risk Index (SRI)

a) *Score de morbidité*

Les symptômes/paramètres suivants (tableau 5) sont reportés sur les fiches de suivis lors de l'examen clinique hebdomadaire. On évalue si le chiot présente de la diarrhée (1 fois ou plus) et/ou des vomissements (1 fois ou plus) et/ou s'il a perdu du poids et/ou s'il est hospitalisé. Un nombre de point est attribué si le chiot présente un de ces paramètres. Le total des points permet d'attribuer un score de morbidité, ce score est compris entre 0 et 5. Prenons pour exemple un chiot qui a eu la diarrhée 2 fois (2 points), qui a perdu du poids (1 points) et qui a été hospitalisé (1 point), un score de morbidité égal à 4 va lui être attribué.

Présence de symptômes / Symptômes	Oui	Non
Diarrhée	1fois : 1 point 2 fois ou > : 2 points	0 point
Vomissement	1 fois ou >1 fois : 1 point	0 point
Perte de poids	1 fois ou > 1 fois : 1 point	0 point
Hospitalisation	1 fois ou > 1 fois : 1 point	0 point

Tableau 5: **Score de morbidité**

b) *Sanitary Risk Index (SRI)*

Le Sanitary Risk Index (SRI) représente la probabilité qu'un chiot soit malade et/ou qu'il soit mort pendant une période donnée. Le SRI est calculé avec la formule ci-dessous.

$$SRI\ (\%)=\frac{Nombre\ de\ chiots\ malades\ vivants\ entre\ Ja\ et\ Jb+Nombre\ de\ chiots\ morts\ entre\ Ja\ et\ Jb}{Nombre\ de\ chiots\ vivants\ \text{à}\ Jb}\ x100$$

Par exemple, pour la période J21-J28, si sur 100 chiots 9 ont été malades et parmi eux 2 sont morts le SRI est égal à $\frac{7+2}{100-2}x100$ soit de 9,2%.

4. Analyses statistiques

Les moyennes sont indiquées avec l'écart type sous la forme moyenne $\pm$ écart type. Les résultats nécessitant la comparaison de moyennes ont été traités à l'aide du logiciel TANAGRA®Freeware (Tanagra 1.4, Lyon). Le test de Student nous a permis de comparer les moyennes deux à deux lorsque les données étaient réparties de manière normale avec des variances égales. Si ce n'était pas le cas le test non paramétrique nommée Mann et Whitney a permis de comparer les moyennes. Ces tests ont été utilisés pour comparer les poids, les taux de croissance, les températures rectales et le score de morbidité des chiots de petites et grandes races supplémentés ou non.

Le test du Chi deux réalisé dans Excel a permis de comparer les pourcentages de chiots en hyperthermie, des taux de morbidité (totales et digestives), des Sanitary Risk Index (SRI), des chiots de petites et grandes races supplémentés ou non.

Le logiciel TANAGRA® Freeware et le logiciel SAS® (version 9.3 ; SAS Institute Inc., Cary, N.C,USA) nous ont permis de réaliser des test ANOVA et des analyses multivariées (procédure statistique PROC MIXED pour la randomisation) afin de comparer plus de deux séries de données et de rechercher les effets liés au format racial et/ou de la période sur la température rectale, les taux de croissance, les scores de morbidité et sur les SRI des chiots de petites et grandes races supplémentés ou non.

Deux valeurs seront considérées comme significativement différentes lorsque $p<0,05$ et seront considérées comme significativement très différentes lorsque $p<0,001$.

PARTIE 3 : RESULTATS

I. Poids moyen et taux de croissance moyen

1. Population étudiée

Le poids moyen à J21 des 100 chiots de petites races est de 780,4g ± 256,4g (moyenne ± écart type) alors que le poids moyen des 68 chiots de grandes races est de 1280,9g ± 367,5g. À J21, il y a une différence significative ($p < 0,01$) de poids moyen entre les chiots de petites races et les chiots de grandes races (figure 12).

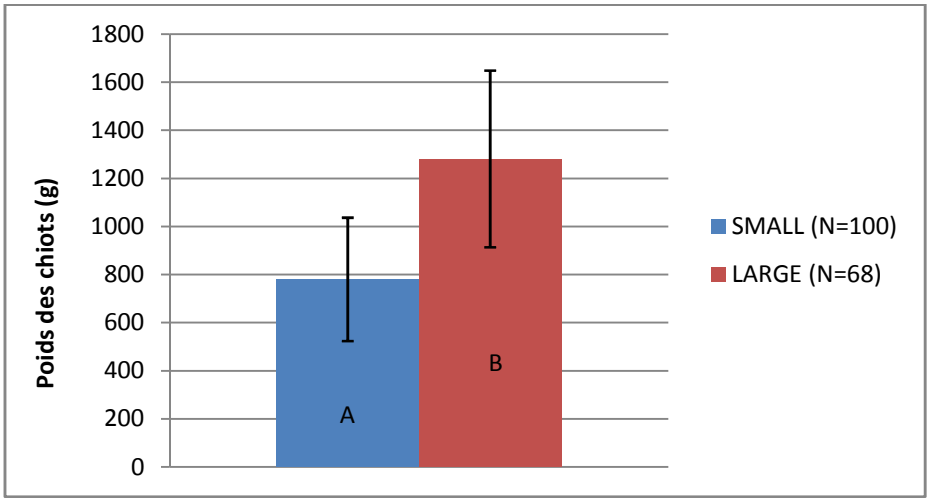


Figure 12: Effet du format racial sur le poids moyen des chiots à J21. *Les lettres majuscules différentes montrent qu'il y a une différence significative entre le poids moyen des chiots de petites races et le poids moyen des chiots de grandes races à J21.*

Au sein d'un même format racial (petites ou grandes races) il est nécessaire de vérifier que les groupes expérimentaux (non supplémentés/supplémentés) sont comparables en terme de poids moyen de « départ » (à J21) (figure 13).

Concernant les chiots de petites races, le poids moyen de ceux qui ne seront pas supplémentés est de 810,1g ±236,9g alors que le poids moyen des chiots qui recevront une supplémentation est de 751,9g ±273,2g. Il n'y a pas de différence significative entre ces poids moyen ($p=0,13$). De même, concernant les chiots de grandes races, le poids moyen de ceux qui ne seront pas supplémentés est de 1278,1g ±400g alors que le poids moyen des chiots qui recevront une supplémentation est de 1283,3g ± 341,9g. Il n'y a pas de différence significative entre ces poids ($p=0,48$).

Pour un format racial fixé il n'y a donc pas de différence significative à J21 entre le poids moyen des chiots qui vont être supplémentés et le poids moyen des chiots qui ne seront pas supplémentés.

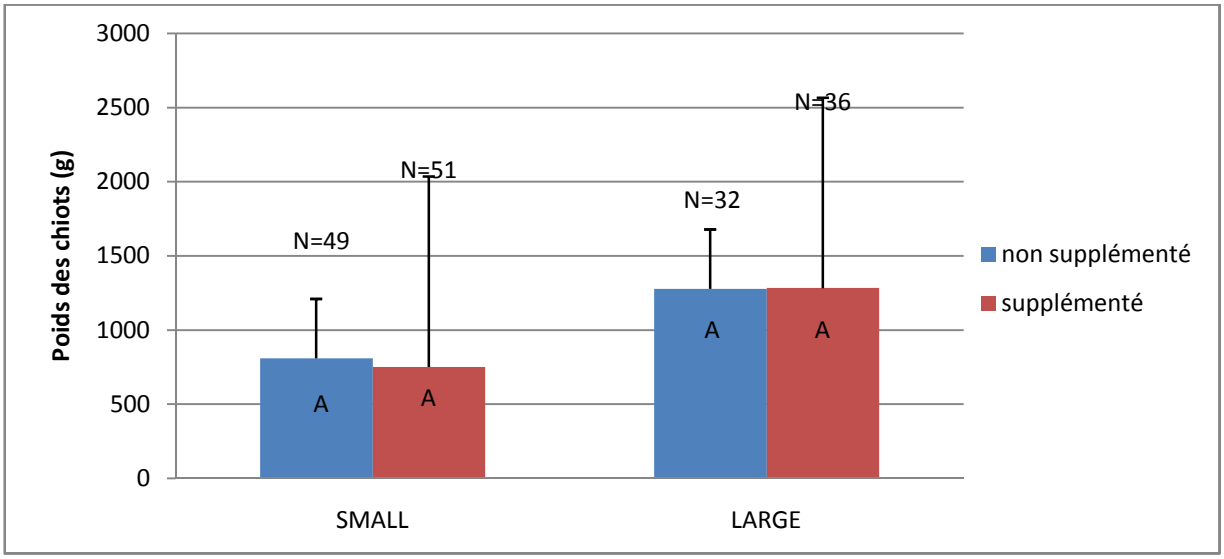


Figure 13: Effet du format racial sur le poids moyen des chiots à J21. *Les lettres majuscules identiques montrent que pour un format racial fixe il n'y a pas de différence significative à J21 entre le poids moyen des chiots qui vont être supplémentés et le poids moyen des chiots qui ne seront pas supplémentés.*

1.1 Taux de croissance : période J21- J56

Le taux de croissance d'un chiot sur la période J21-J56 est calculé avec la formule ci-contre : $Taux\ de\ croissance\ de\ J21\ \text{à}\ J56\ (\%) = \frac{Poids\ J56 - Poids\ J21}{Poids\ J21}\ x\ 100$

Le taux de croissance moyen pour les chiots de petites races est de 159% $\pm$ 50% alors que le taux de croissance moyen pour les chiots de grandes races est de 203% $\pm$92%. Il y a une différence significative (p=0,05) des taux de croissance moyen entre les chiots de petites races et les chiots de grandes races pour la période J21-J56 (figure 14).

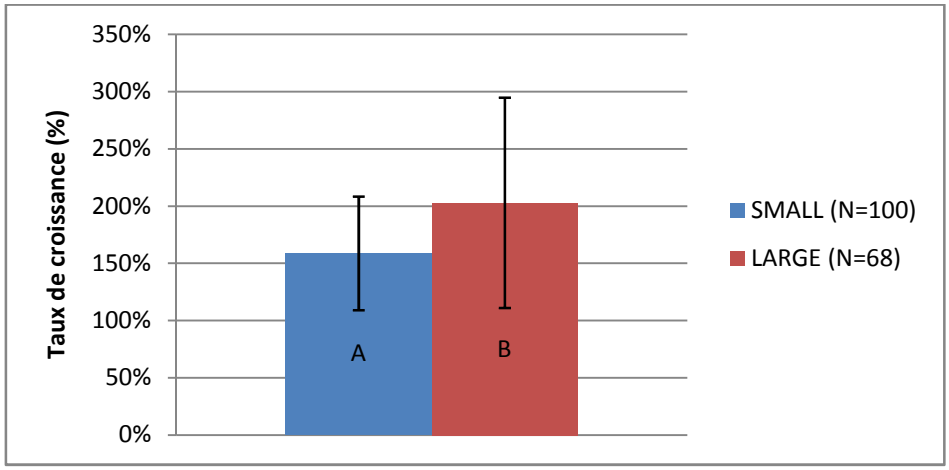


Figure 14: Effet du format racial sur le taux de croissance moyen de J21 à J56. *Les lettres majuscules différentes montrent qu'il y a une différence significative entre les taux de croissance des chiots de petites races et des chiots de grandes races pour la période de J21 à J56.*

1.2 *Taux de croissance : comparaisons des différentes périodes*

D'après l'analyse statistique multivariée, il y a une différence très significative entre les taux de croissance, pour un format racial fixe, durant les différentes périodes (p<0,001) (figure 15).

Pour les chiots de petites races, il y a une différence significative entre les taux de croissance de chaque période. Concernant les chiots de grandes races, les taux de croissance sont significativement différents entre les périodes J21-J28 et J28-J35 (p=0,007) et entre J28-J35 et J35-J42 (p<0,001). De J35 à J56 il n'y a pas de différence significative entre les taux de croissance des différentes périodes pour les chiots de grandes races.

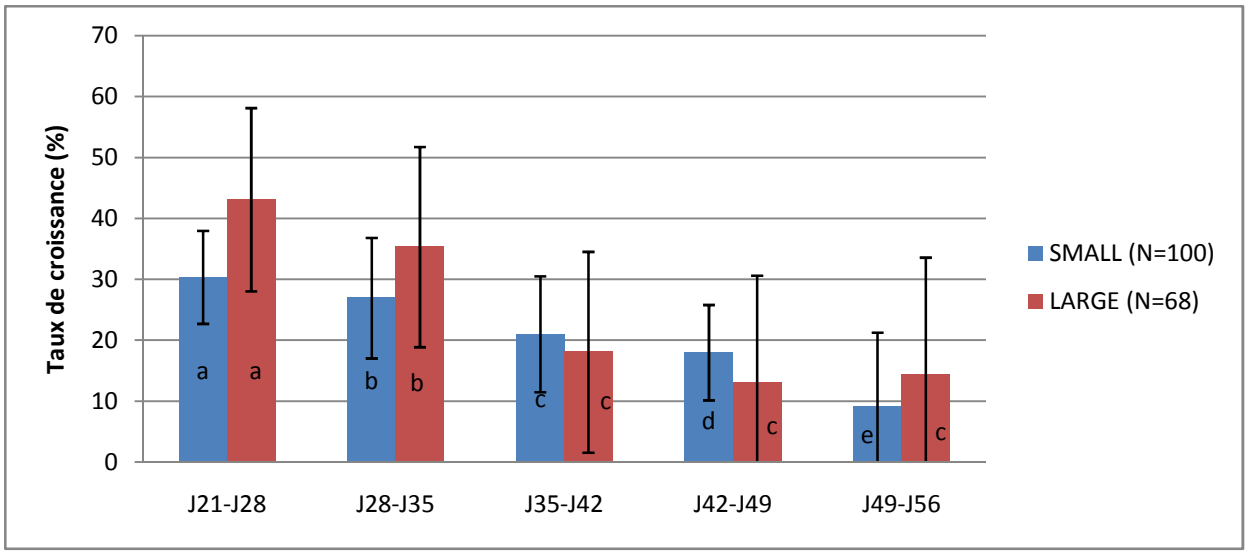


Figure 15: Effet du format racial et de la période étudiée sur le taux de croissance moyen des chiots. *Les lettres minuscules différentes montrent qu'il existe une différence significative des taux de croissance moyen des chiots, pour un format racial fixe entre deux périodes.*

2. Effets de la supplémentation

Comme démontré dans la PARTIE 3 I. 1. à J21, le poids moyen des chiots de petites races non supplémentés est comparable au poids moyen des chiots de petites races qui seront supplémentés. De même le poids moyen des chiots de grandes races non supplémentés est comparable au poids moyen des chiots de grandes races qui seront supplémentés (figure 13).

2.1 *Taux de croissance : période J21- J56*

Le taux de croissance moyen pour les chiots de petites races non supplémentés est de 149% ± 45% alors que le taux de croissance moyen pour les chiots de petites races supplémenté est de 168% ±52%.

Le taux de croissance moyen pour les chiots de grandes races non supplémentés est de 214% ± 86% alors que le taux de croissance moyen pour les chiots de grandes races supplémentés est de 193% ±97%.

Il n'y a pas de différence significative (p=0,94) des taux de croissance entre les chiots non supplémentés et les chiots supplémentés sur la période J21-J56 (figure 16).

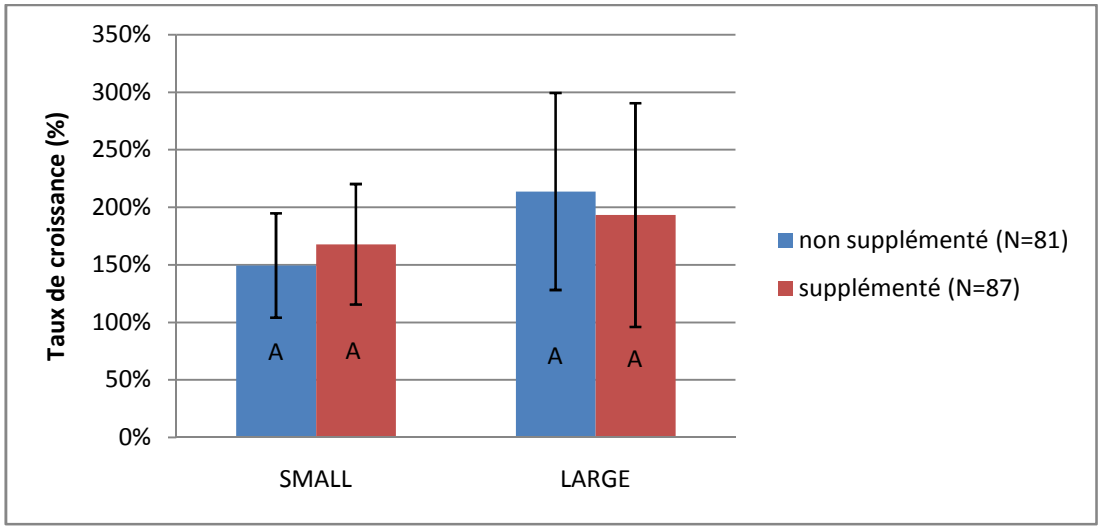


Figure 16: Effet du format racial et de la supplémentation sur le taux de croissance moyen des chiots de J21 à J56. *Les lettres majuscules identiques signifient qu'il n'y a pas de différence significative des taux de croissance moyen (J21-J56) entre les chiots supplémentés et non supplémentés pour un format racial fixé.*

2.2 Taux de croissance: comparaisons des différentes périodes

D'après l'analyse multivariée, aucun effet significatif de la supplémentation n'est observé sur le taux de croissance moyen pour un format racial fixe et durant les différentes périodes (p=0.74) (figure 17). (breed size*late*time)

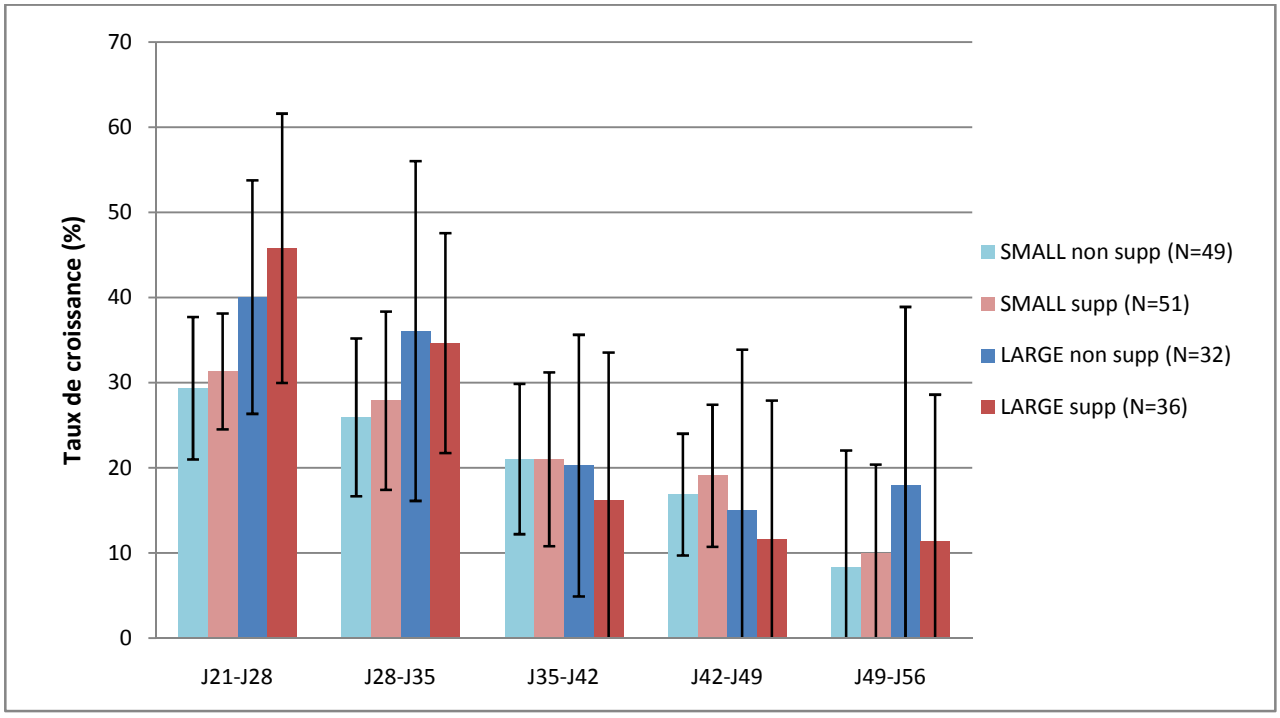


Figure 17: Effet de la supplémentation sur le taux de croissance moyen hebdomadaire sur différentes période en fonction du format racial.

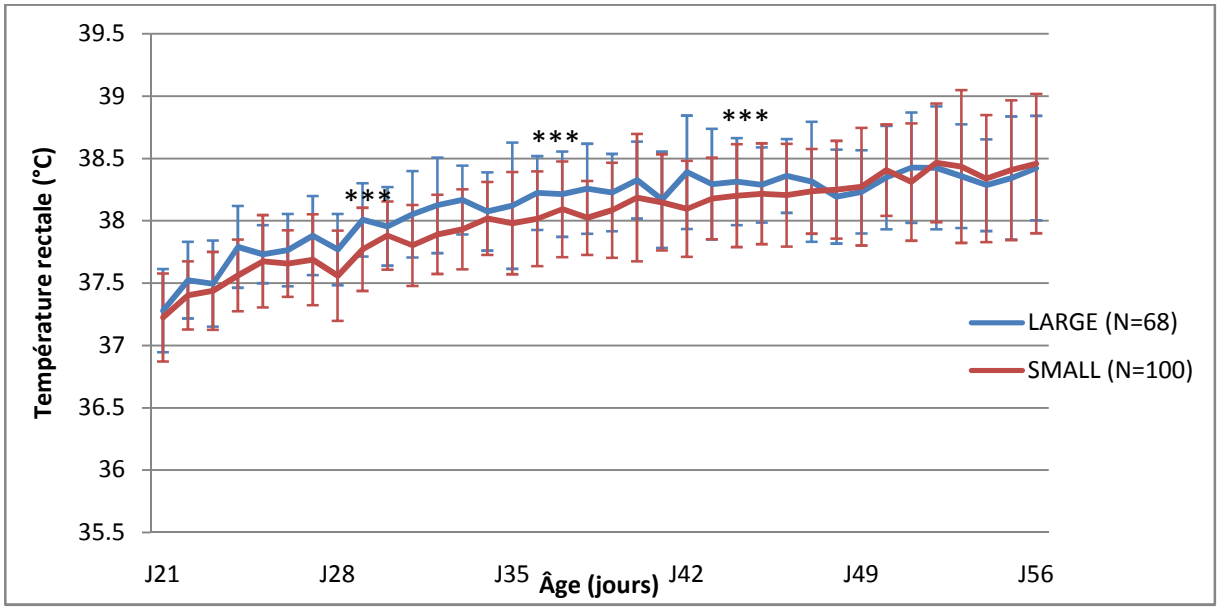
II. Température rectale

1.3 Population étudiée

1.1 Température rectale et format racial

Entre J21 et J56, il y a une différence très significative de température rectale entre les formats raciaux (p<0,001). On a plus précisément une différence très significative entre les chiots de petites races (PR) et les chiots de grandes races (GR) à **J28** (p<0,001 ; PR : T°C= 37,5°C ± 0,4°C ; GR: T°C= 37,7°C ± 0,3°C) ; à **J35** (p<0,001 ; PR: T°C= 37,9°C ± 0,4°C ; GR: T°C= 38,1°C ± 0,5°C) et à **J42** (p<0,001 ; PR : T°C= 38,1°C ± 0,4°C ; GR : T°C= 38,4°C ± 0,4°C) (figure 18).

Aucune différence n'a été mise en évidence entre les chiots de petites races et les chiots de grandes races à J21 (p=0,66 ; PR : T°C= 37,2°C ± 0,3°C ; GR : T°C= 37,3°C ± 0,3°C), à J49 (p=0,38 ; PR : T°C= 38,3°C ± 0,5°C ; GR: T°C= 38,2°C ± 0,3°C) et à J56 (p=0,89 ; PR : T°C= 38,4°C ± 0,5°C ; GR : T°C= 38,4°C ± 0,4°C).

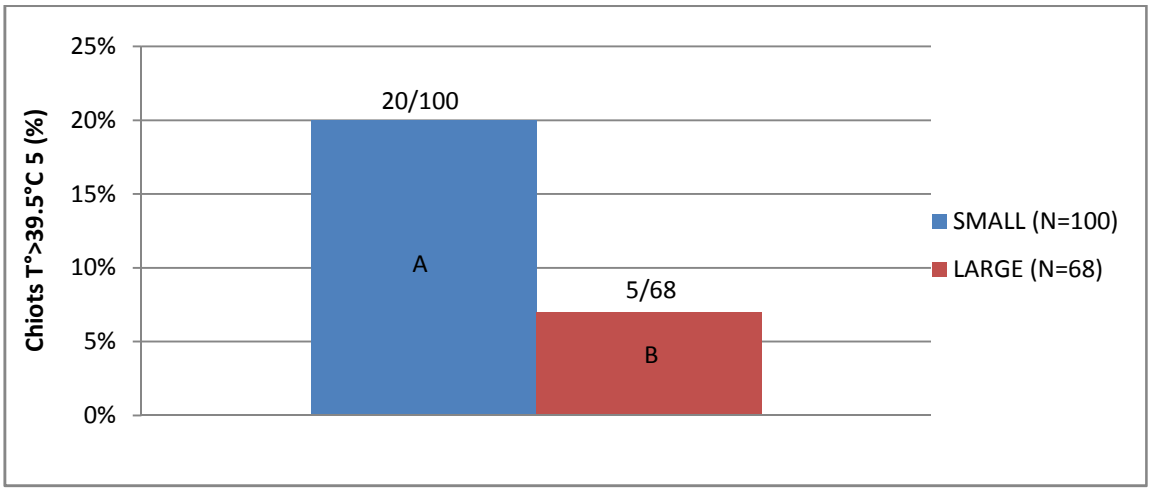


<u>Figure 18:</u> Evolution de la température rectale en fonction du format racial, de J21 à J56. Le symbole *** signifie qu'il existe une différence très significative entre les formats raciaux à une date fixe (à J28, J35 et J42 p<0,001).

1.2 Hyperthermie et format racial

L'hyperthermie chez le chiot correspond à une température rectale supérieure à 39,5°C (Peterson, Kutzler, 2011).

De J21 à J56, 20 chiots de petites races sur 100 sont en hyperthermie (température supérieure à 39,5°C) alors que 5 chiots de grandes races sur 68 le sont (figure 19). Une différence significative entre le pourcentage de chiots de petites races et le pourcentage de chiots de grandes races ayant une température rectale supérieure à 39.5°C a été mise en évidence (p=0,02).



<u>Figure 19:</u> Effet du format racial sur la température rectale T>39.5°C durant la période pédiatrique. *Les lettres majuscules différentes montrent qu'il y a une différence significative entre le pourcentage de chiots de petites races et le pourcentage de chiots de grandes races ayant une température rectale supérieure à 39.5°C.*

1.2 *Hyperthermie, format racial et périodes*

Concernant le pourcentage de chiots en hyperthermie, une différence très significative entre les formats raciaux et les périodes a été mise en évidence (p<0,001), c'est pourquoi, pour un format racial fixe, les périodes sont comparées entre elles. Durant la période J42-J48, 3 chiots de petites races sur 100 sont en hyperthermie alors que 13 le sont durant la période J49-J56. Au sein des chiots de petites races, il y a une différence significative entre les périodes J42-J48 et J49-J56. (p=0,016) Concernant les chiots de grandes races aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les périodes (figure 20).

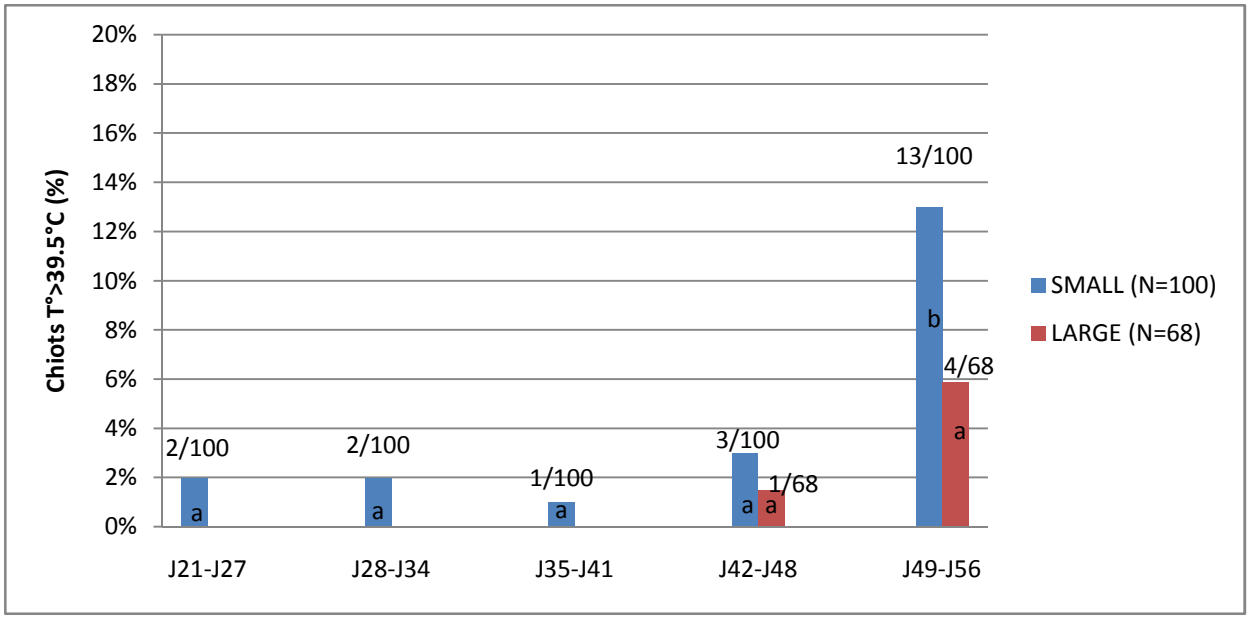


Figure 20: Effet du format racial et de la période sur la température rectale (T>39.5°C). *Les lettres minuscules différentes montrent qu'il existe une différence significative de la proportion de chiots en hyperthermie (température rectale supérieure à 39.5°C), pour un format racial fixe entre deux périodes.*

2.3 Effets de la supplémentation

2.1 *Température rectale et format racial*

Aucun effet de la supplémentation n'a été mis en évidence entre les formats raciaux en fonction du temps. Pour un âge donné, au sein d'un même format racial, il n'y a aucun effet significatif de la supplémentation (p>0,05) (figure 21).

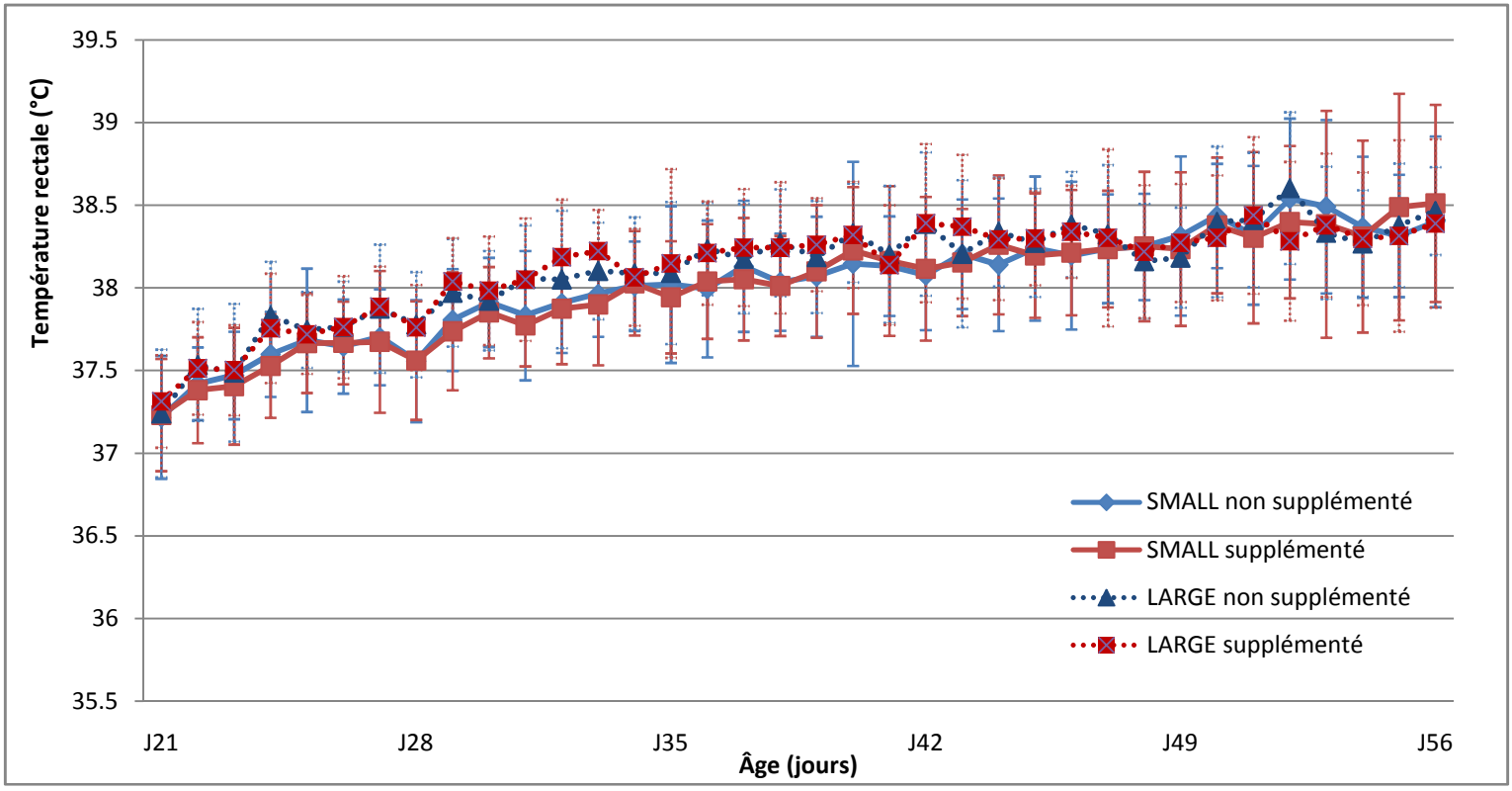


Figure 21: Effet de la supplémentation sur la température rectale en fonction du format racial. *Aucun effet de la supplémentation n'a été mis en évidence sur la période J21-J56.*

2.2 Hyperthermie et format racial

Entre J21 et J56, 7 chiots de petites races non supplémentés sur 49 (soit 14,3%) ont été en hyperthermie alors que 13 chiots de petites races supplémentés sur 51 (soit 25,5%) l'ont été. La supplémentation n'a pas montré d'effet significatif sur la température rectale (T> 39.5°C) des chiots de petites races (p=0,16). Concernant les chiots de grandes races, 2 chiots non supplémentés sur 32 (soit 9,4%) ont été en hyperthermie alors que 3 chiots supplémentés sur 36 (soit 8,3%) l'ont été. La supplémentation n'a pas montré d'effet significatif sur la température rectale (T> 39.5°C) des chiots de grandes races (p=0,59). On peut donc en déduire que la supplémentation n'a pas eu d'effet significatif sur la proportion de chiots en hyperthermie quelque soit le format racial.

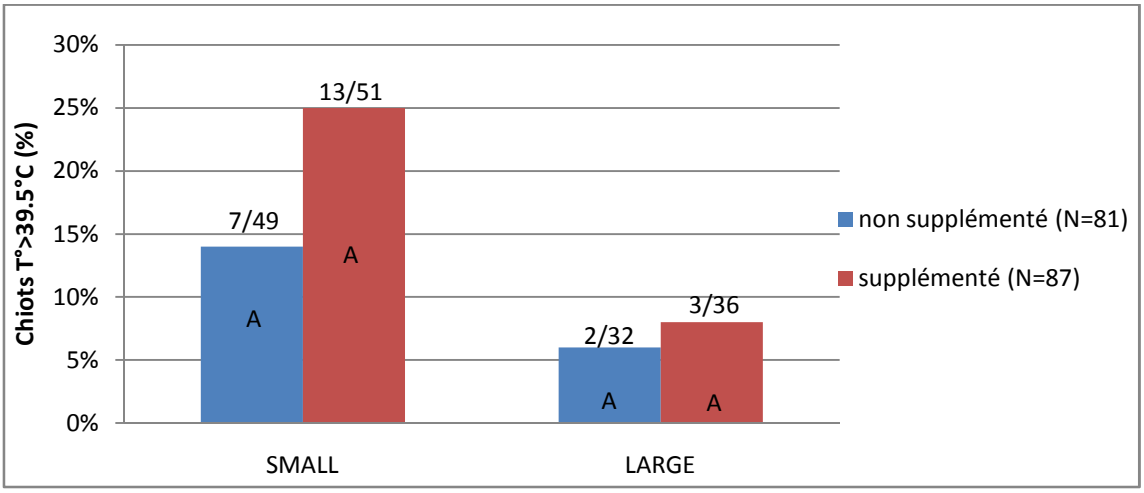


Figure 22: Effet de la supplémentation et du format racial sur la température rectale T°>39.5°C durant la période pédiatrique. *Les lettres majuscules identiques signifient, pour un format racial fixe, qu'il n'y a pas d'effet de la supplémentation sur la proportion de chiots en hyperthermie.*

2.3 Hyperthermie, format racial et périodes

D'après l'analyse statistique il y a une différence significative entre les pourcentages de chiots en hyperthermie sur les différentes périodes (p<0,001).

Concernant les chiots de petites races non supplémentés, il n'y a pas de différence entre les pourcentages de chiots en hyperthermie sur les différentes périodes. Pour les chiots de petites races supplémentés il y a une différence significative entre les périodes J42-J48 et J49-J56. En effet, 2 chiots sur 51 (soit 3,9%) ont été en hyperthermie entre J42 et J48 alors que 9 chiots sur 51 (soit 17.6%) l'ont été entre J49 et J56. Concernant les chiots de grandes races, aucun effet de la supplémentation n'a été démontré entre les pourcentages de chiots en hyperthermie sur les différentes périodes.

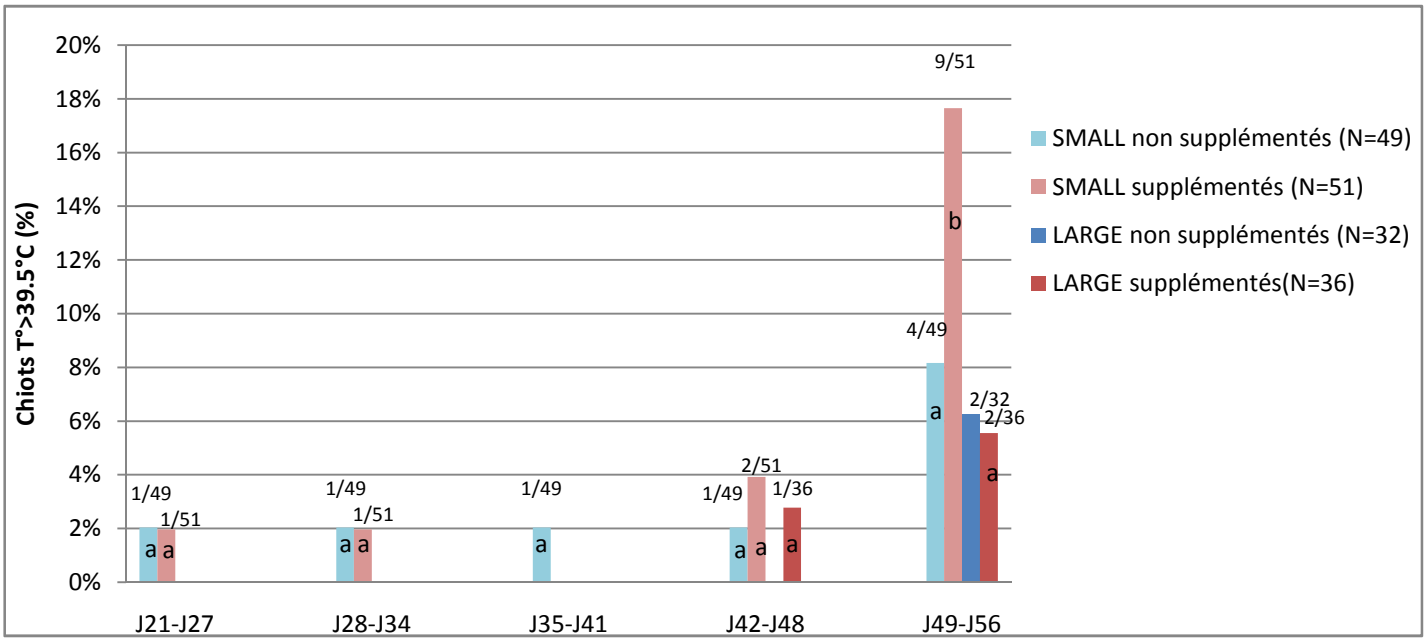


Figure 23: Effet de la supplémentation et du format racial sur la température rectale T°>39,5°C en fonction de différentes périodes. *Les lettres minuscules différentes montrent, pour un format racial et un type de supplémentation fixes, qu'il existe une différence significative entre les pourcentages de chiots en hyperthermie, entre deux périodes données.*

III. Morbidité

1. Population étudiée

1.1 Taux de morbidité totale J21-J56

Le taux de morbidité totale inclus les chiots qui ont présenté des anomalies cliniques (épiphora, jetage…) et/ou de la diarrhée et/ou des vomissements et/ou une perte de poids et/ou qui ont été hospitalisés. Le taux de morbidité totale sur la période J21-J56 est de 87,5%, soit 147 chiots malades sur 168 au total.

1.2 Taux de morbidité totale par format racial de J21-J56

Le taux de morbidité totale est de 86% pour les chiots de petites races (soit 86 chiots sur 100) et de 89,7% pour les chiots de grandes races (soit 61 chiots sur 68). Il n'existe pas de différence significative entre le taux de morbidité des chiots de petites et des chiots de grandes races (p=0,47) (figure 24).

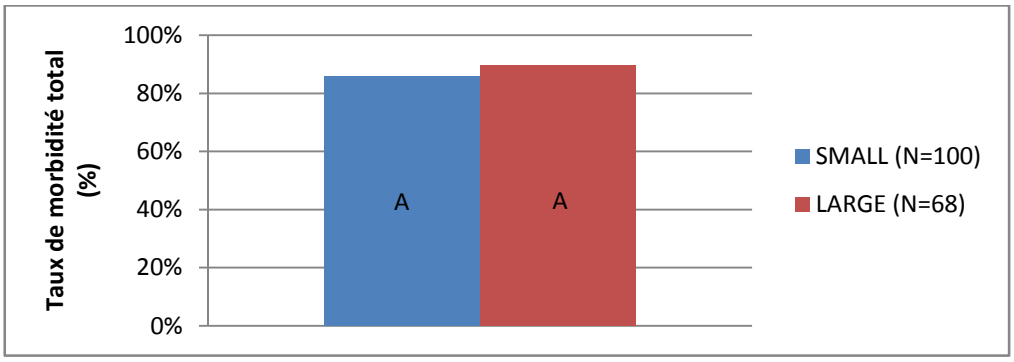


Figure 24: Effet du format racial sur le taux de morbidité total de J21 à J56. *Les lettres majuscules identiques signifient qu'il n'y a pas de différence significative entre les taux de morbidité des chiots de petites et de grandes races.*

1.3 Taux de morbidité par format racial et par période

L'analyse statistique met en évidence une différence significative entre les taux de morbidité en fonction des différentes périodes (p<0,001).

Une différence significative est mise en évidence entre les taux de morbidité des chiots de petites races (27% soit 27 chiots sur 100) et des chiots de grandes races (43% soit 29 chiots sur 68) entre J35 et J41 (p=0,03). Les taux de morbidité ne sont pas significativement différents entre les chiots de petites et de grandes races durant les 4 autres périodes.

On note cependant que le taux de morbidité varie de façon significative pour les chiots de petites races entre J42-J48 et J49-J56 (p<0,001) : le taux de morbidité des chiots de petites races est 3 fois plus élevé durant leur huitième semaine de vie que durant leur

quatrième (64% versus 20%). De même, le taux de morbidité des chiots de grandes races varie de façon significative entre J28-J34 et J35-J41 (p=0,01) : le taux de morbidité des chiots de grandes races est 2,5 fois plus élevé durant leur huitième semaine de vie que durant leur quatrième (59% versus 24%) (figure 25).

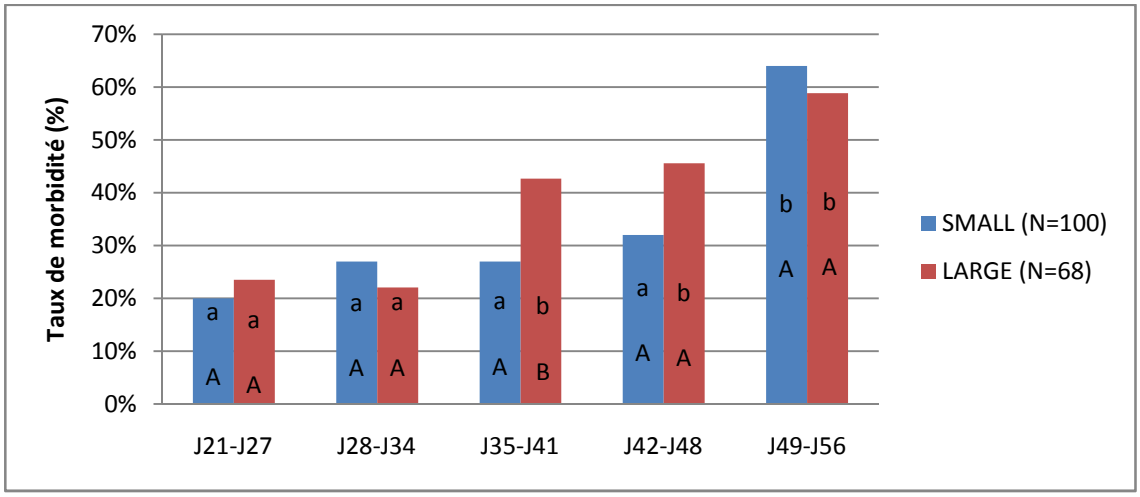


Figure 25: Effet du format racial et de l'âge des chiots sur le taux de morbidité. *Les lettres majuscules identiques signifient qu'il n'y a aucune différence significative des taux de morbidité entre les formats raciaux pour une période fixe. Les lettres minuscules différentes montrent qu'il existe une différence significative des taux de morbidité, pour un format racial fixe entre deux périodes.*

La morbidité totale comprend tous les chiots qui ont eu un signe clinique anormal (épiphora, jetage…) durant la période pédiatrique. Ce taux de morbidité est très élevé mais il n'est pas représentatif des chiots réellement malades et ayant eu une atteinte de l'état général. Pour cela, **le taux de morbidité digestive** a été envisagé.

1.4 Taux de morbidité digestive J21-J56

Le taux de morbidité digestive comprend les chiots qui ont présenté de la diarrhée et/ou des vomissements et/ou ceux qui ont perdu du poids et/ou ceux qui ont été hospitalisés. Le taux de morbidité digestive pour la période pédiatrique est de 53% (soit 89 chiots malades sur 168).

1.5 Taux de morbidité digestive par format racial de J21-J56

Le taux de morbidité digestive est de 43% pour les chiots de petites races (soit 43 chiots sur 100) et de 67,6% pour les chiots de grandes races (soit 46 chiots sur 68). Le format racial a une influence sur le taux de morbidité digestive, en effet la différence entre ces taux est très significative (p<0,001) (figure 26).

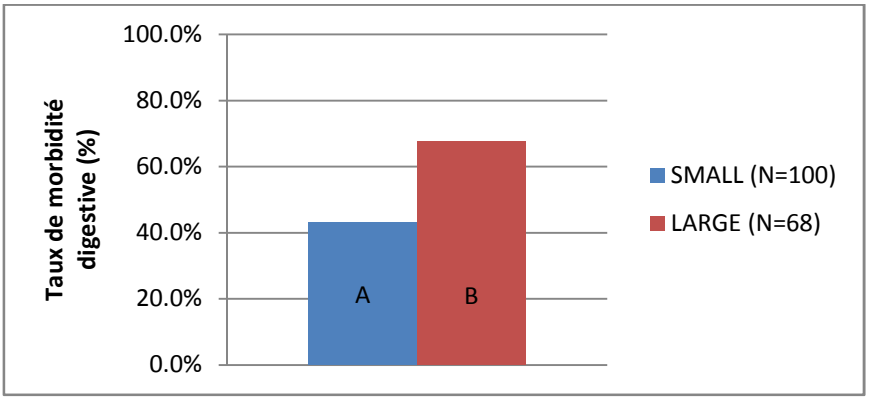


Figure 26: Effet du format racial sur le taux de morbidité digestive. *Les lettres majuscules différentes signifient qu'il y a une différence significative entre les taux de morbidité digestive des chiots de petites races et des chiots de grandes races (p<0,001).*

1.6 Taux de morbidité digestive par format racial et par période

L'analyse statistique met en évidence une différence significative entre les taux de morbidité digestive entre les différentes périodes (p<0,001).

Le format racial a une influence sur le taux de morbidité digestive, les taux de morbidité digestive entre les formats raciaux ne seront donc pas comparés.

On note cependant que le taux de morbidité digestive varie de façon significative pour les chiots de petites races entre J42-J48 et J49-J56 (p<0,001) : le taux de morbidité des chiots de petites races est 17 fois plus élevé durant leur huitième semaine de vie que durant leur quatrième (34% versus 2%). De même, le taux de morbidité des chiots de grandes races varie de façon significative entre J28-J34 et J35-J41 (p<0,001) : le taux de morbidité digestive des chiots de grandes races est 13 fois plus élevé durant leur huitième semaine de vie que durant leur quatrième (40% versus 3%) (figure 27). L'augmentation du taux de morbidité digestive s'effectue la huitième semaine de vie pour les chiots de petites races alors qu'il augmente dès la sixième semaine pour les chiots de grandes races.

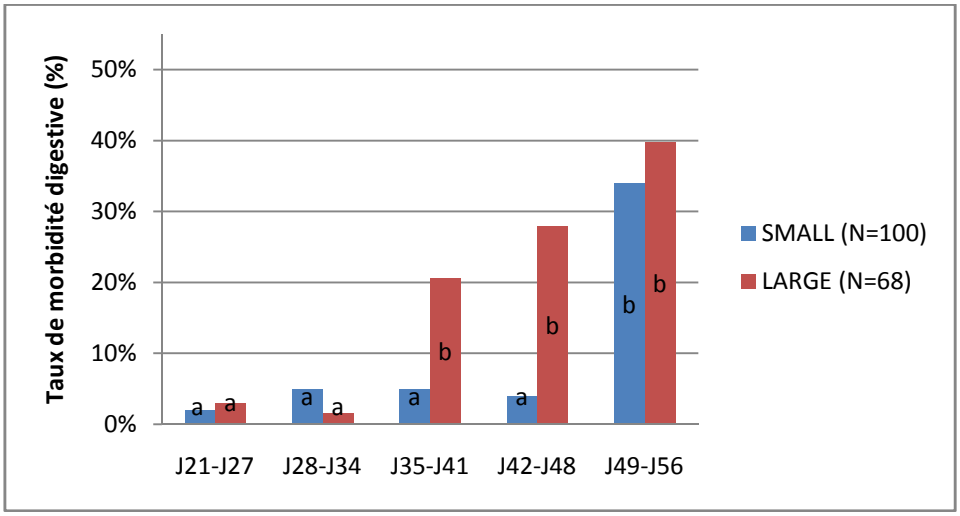


Figure 27: Effet du format racial sur le taux de morbidité digestive en fonction de la période. *Les lettres minuscules différentes montrent qu'il existe une différence significative des taux de morbidité digestive, pour un format racial fixe entre deux périodes.*

1.7 Score de morbidité par format racial de J21-J56

Le score de morbidité moyen pour les chiots de petites races est de 0,8 ± 1,1 alors que le score de morbidité moyen pour les chiots de grandes races est de 1,8 ± 1,6. Le format racial influe significativement le score de morbidité (p=0,02) (figure 28).

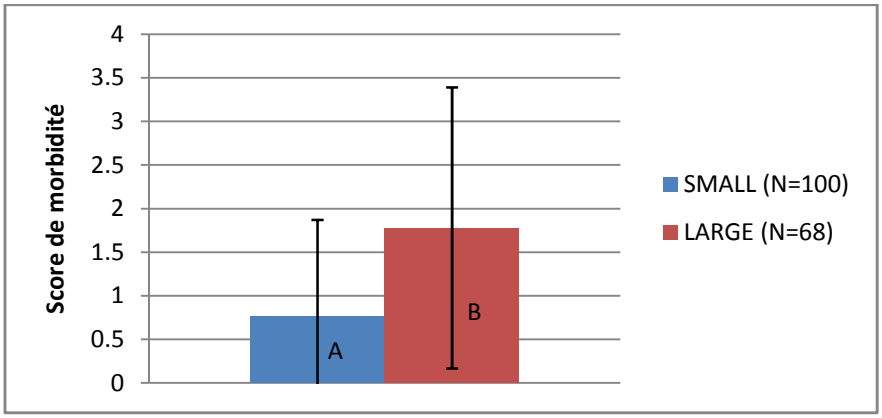


Figure 28: Effet du format racial sur le score de morbidité de J21 à J56. *Les lettres majuscules différentes signifient qu'il y a une différence significative entre les scores de morbidité des chiots de petites races et des chiots de grandes races (p=0,02).*

1.8 Score de morbidité par format racial et par période

L'analyse statistique met en évidence une différence significative entre les scores de morbidité des différentes périodes (p=0,003).

Pour les chiots de petites races, de J21 à J48, il n'y a pas de différence significative entre les scores de morbidité des différentes périodes. Cependant, il y a une différence très significative entre les périodes J42-J48 et J49-J56 (p<0,001) (figure 21).

Pour les chiots de grandes races, il n'y a pas de différence significative entre les scores de morbidité des deux premières périodes (J21-J27 et J28-J34) (p=0,65). Cependant, entre J28-J34 et J35-J42 les scores de morbidité sont significativement différents (p=0,001). De plus, les scores de morbidité sont également significativement différents entre J42-J48 et J49-J56 (p=0,01) (figure 29). On remarque que les chiots de petites races ont des scores de morbidité élevés durant la huitième semaine alors que pour les chiots de grandes races cette augmentation a lieu durant la quatrième semaine. Ces résultats sont en accord avec résultats des taux de morbidité digestive.

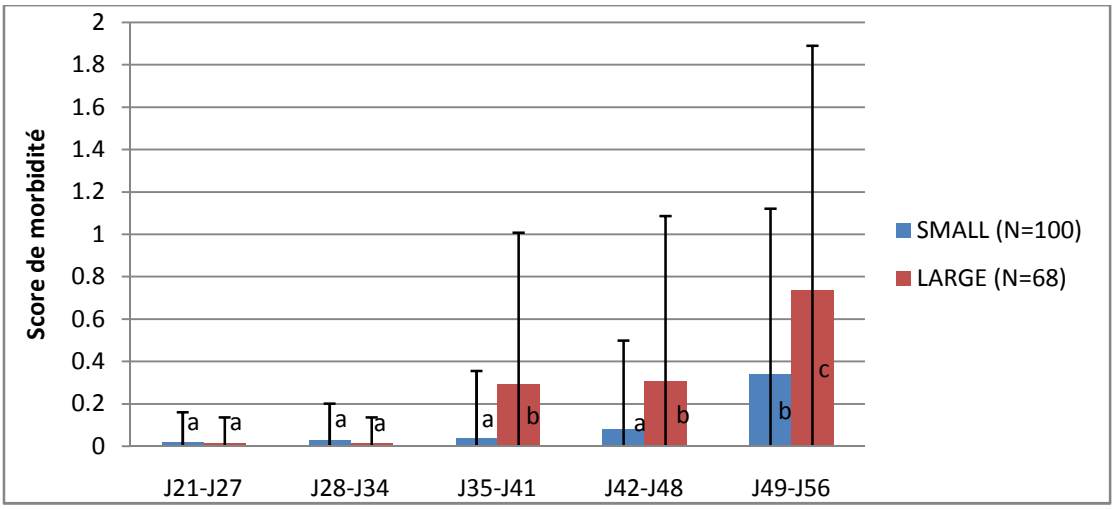


Figure 29: Effet du format racial sur le score de morbidité en fonction de la période. . *Les lettres minuscules différentes montrent qu'il existe une différence significative entre les scores de morbidité pour un format racial fixe.*

2. Effets de la supplémentation

Désormais, nous allons nous concentrer sur les effets de la supplémentation sur **les taux de morbidité digestive** et sur les scores de morbidité.

2.6 Taux de morbidité digestive J21-J56

Le taux de morbidité digestive est identique pour les chiots non supplémentés et supplémentés, il est de 53% (non supplémentés : 43 chiots sur 81 ; supplémentés : 46 chiots sur 87). Le taux de morbidité digestive pour les chiots de petites races non supplémentés est de 42,9% alors qu'il est de 43,1% pour les chiots de petites races supplémentés (p= 0,98). Pour les chiots de grandes races non supplémentés le taux de morbidité digestive est de 68,8% ; ce taux est de 66,7% pour les chiots de grandes races supplémentés (p=0,93) (figure 30). La supplémentation n'a donc aucun effet significatif sur le taux de morbidité digestive quelque soit le format racial.

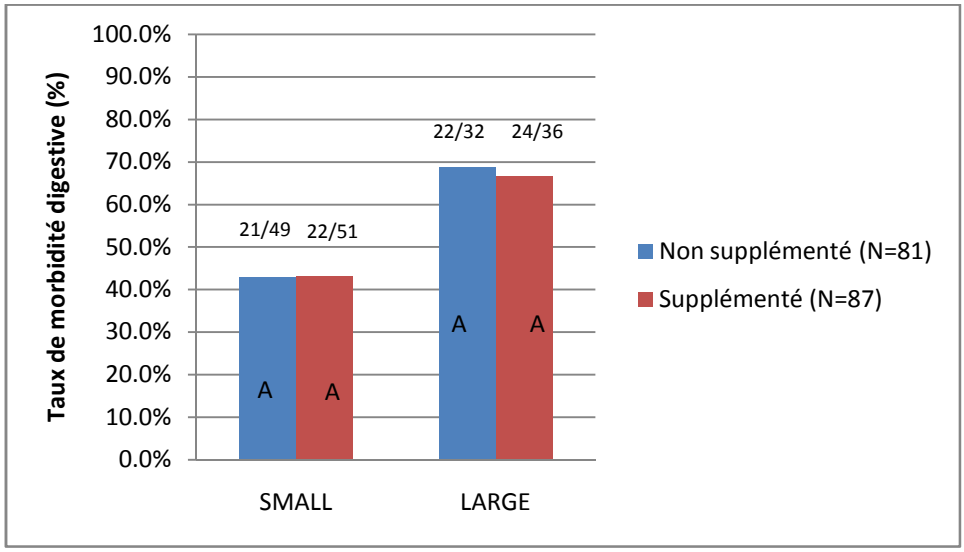


Figure 30: Effet de la supplémentation et du format racial sur le taux de morbidité digestive. *Les lettres majuscules identiques signifient qu'il n'y a aucune différence significative des taux de morbidité digestive des chiots supplémentés et non supplémentés, pour un format racial fixe.*

2.2 Taux de morbidité digestive par période

L'analyse statistique met en évidence un effet de la supplémentation sur le taux de morbidité digestive en fonction de la période et du format racial ($p<0,001$). L'influence du format racial et de la période sur le taux de morbidité digestive ont été détaillés dans la PARTIE 3 III.1.6. Seuls les effets de la supplémentation en fonction de la période vont être détaillés. Pour la période J28-J34, le taux de morbidité digestive est significativement plus élevé pour les chiots de petites races supplémentés que pour les non supplémentés ($p=0,02$). Concernant les autres périodes, aucun effet de la supplémentation n'a été mis en évidence (figure 31).

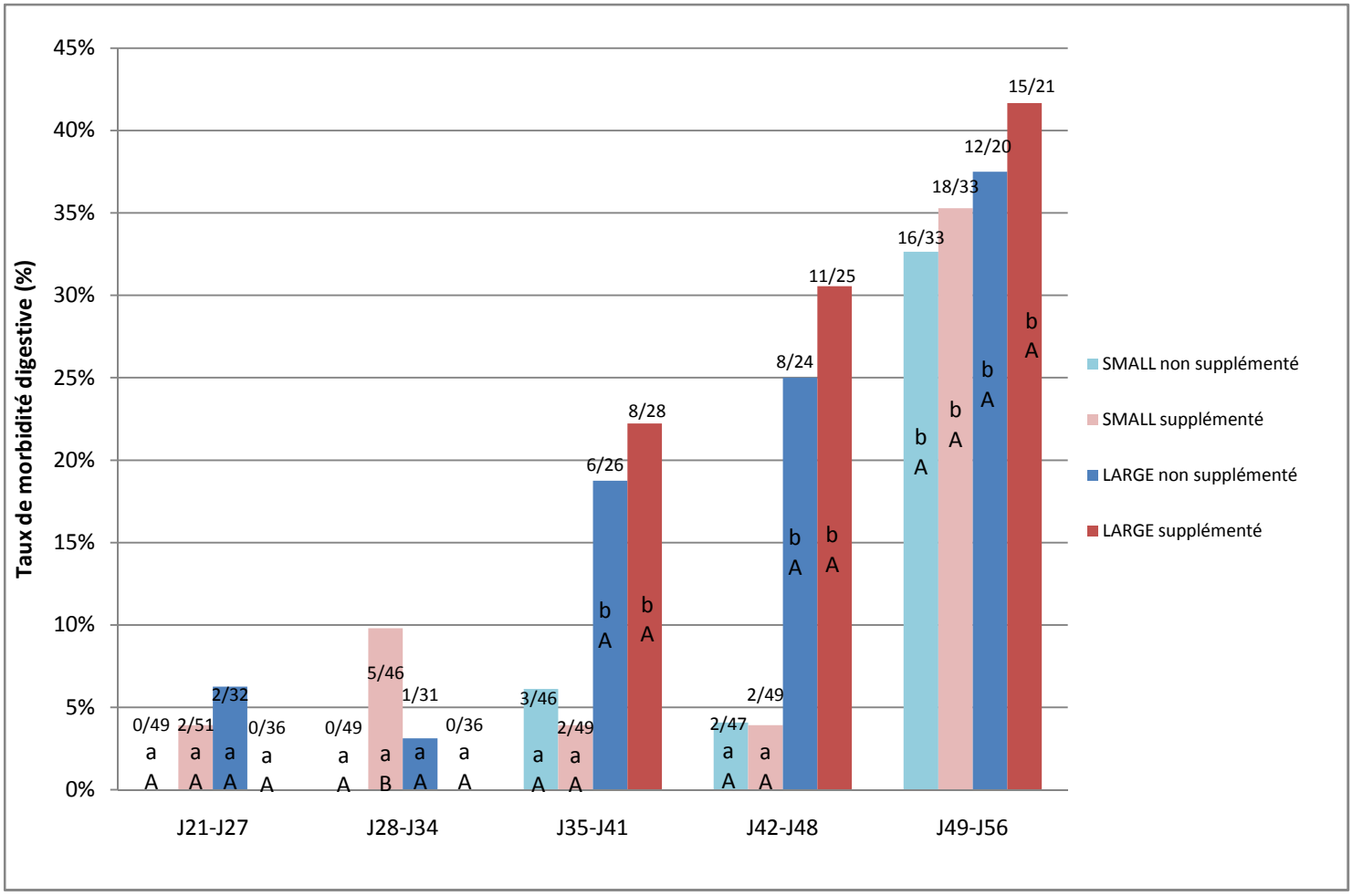


Figure 31: Effet de la supplémentation, du format racial et de la période sur le taux de morbidité digestive. *Les lettres majuscules identiques montrent qu'il n'y a pas de différence significative des taux de morbidité digestive pour une période et un format racial fixés. Les lettres minuscules différentes montrent qu'il existe une différence significative des taux de morbidité digestive pour un format racial fixe, un type de supplémentation entre deux périodes.*

2.3 Score de morbidité J21-J56

Le score de morbidité pour les chiots de petites races non supplémentés est de 0,8 ± 1,2 et pour les chiots de petites races supplémentés il est de 0,7± 1. Pour les chiots de grandes races non supplémentés le taux est de 1,7 ± 1,5 et pour les chiots de grandes races supplémentés il est de 1,8 ± 1,7.

La supplémentation n'a aucun effet significatif sur le score de morbidité quelque soit le format racial des chiots (p=0,75) (figure 32).

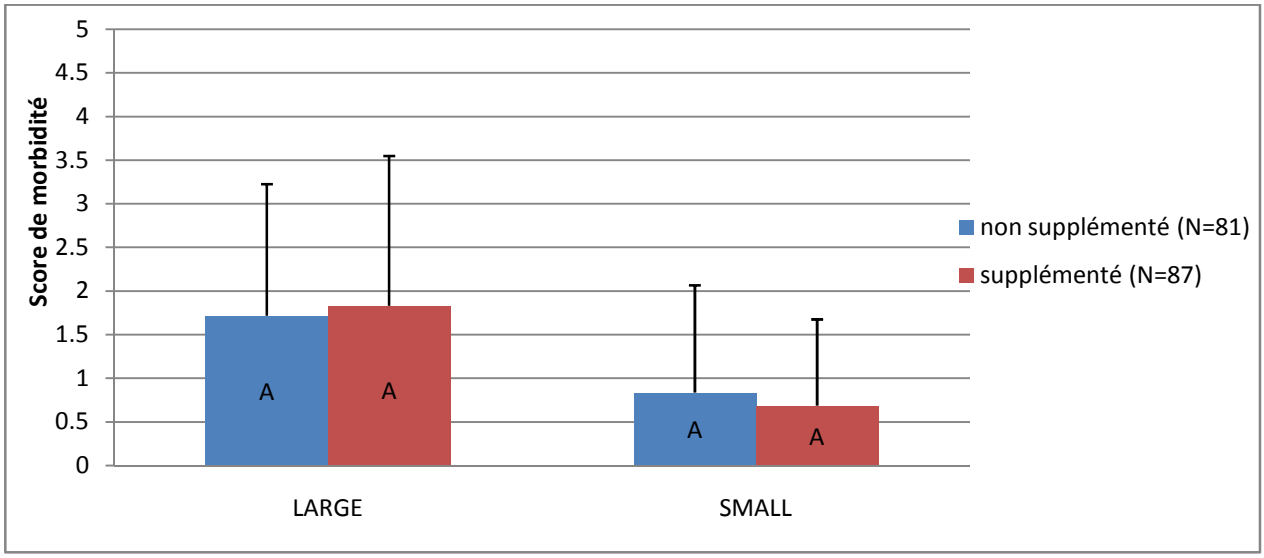


Figure 32: Effet de la supplémentation sur le score de morbidité en fonction du format racial. *Les lettres majuscules identiques signifient qu'il n'y a aucune différence significative entre les scores de morbidité des chiots supplémentés et non supplémentés, pour un format racial fixe.*

IV. Sanitary Risk Index (SRI)

1. Population étudiée

1.1 Sanitary Risk Index J21-J56

Le Sanitary Risk Index (SRI) représente la probabilité qu'un chiot soit malade et/ou mort pendant une période donnée. Les chiots dit « malades » sont ceux qui ont présenté de la diarrhée et/ou des vomissements et/ou ceux qui ont perdu du poids et/ou ceux qui ont été hospitalisés. La formule de calcul du SRI est détaillée dans la partie 2 I.3.3.b.

De J21 à J56, le SRI est de 55,6% soit 81 chiots malades vivants et 8 chiots morts pour un nombre total de chiots égal à 168.

1.2 Sanitary Risk Index et format racial J21-56

De J21 à J56, le SRI des chiots de petites races est de 44,3% (soit 40 chiots malades vivants et 3 chiots morts pour un nombre total de chiots égal à 100) et le SRI des chiots de grandes races est de 73% (soit 41 chiots malades vivants et 5 chiots morts pour un nombre total de chiots égal à 68). Le format racial a une influence très significative sur le Sanitary Risk Index ($p<0,001$) (figure 33).

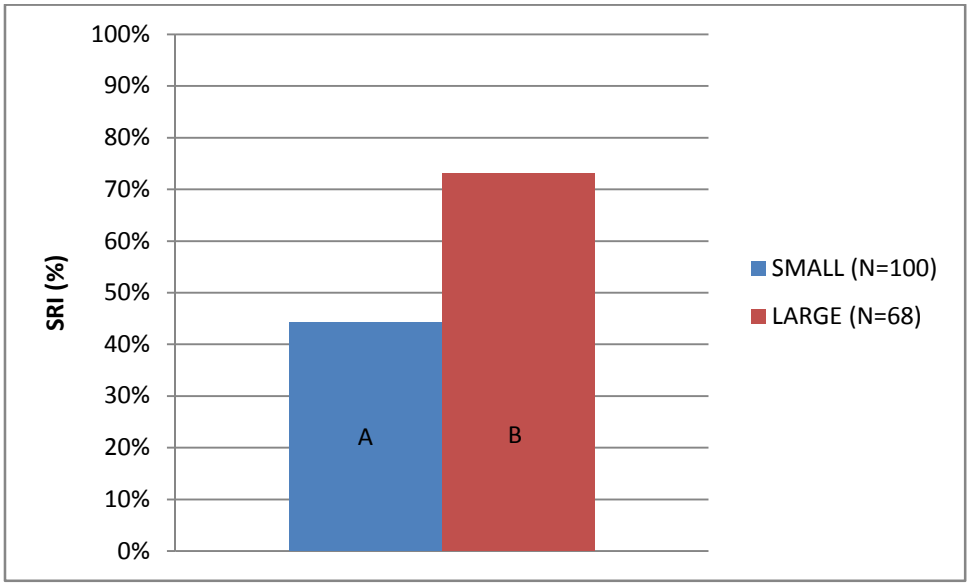


Figure 33: Effet du format racial sur le Sanitary Risk Index. *Les lettres majuscules différentes montrent qu'il y a une différence significative entre les SRI des chiots de petites races et le SRI des chiots de grandes race (p<0,001).*

1.3 Sanitary Risk Index : format racial et périodes

L'analyse statistique met en évidence une différence significative entre les SRI des différentes périodes (p<0,001). Pour les chiots de petites races, de J21 à J48, le SRI est compris entre 2% et 5% alors que le SRI est de 34,7% pour la période J49-J56. La différence de SRI entre J42-J48 et la dernière période (J49-J56) est très significative (p<0,001). Concernant les chiots de grandes races, entre J21 et J34 le SRI est compris entre 1% et 3% alors que entre J35 et J56 le SRI est compris entre 20% et 42,2%. La différence de SRI entre J28-J34 et J35-J41 est très significative (p=0,001) (figure 34). Concernant les chiots de petites races l'augmentation du SRI (c'est-à-dire la probabilité qu'un chiot soit malade et/ ou mort) est tardive (J49-J56) alors que pour les chiots de grandes races cette augmentation est plus précoce (J35-J56).

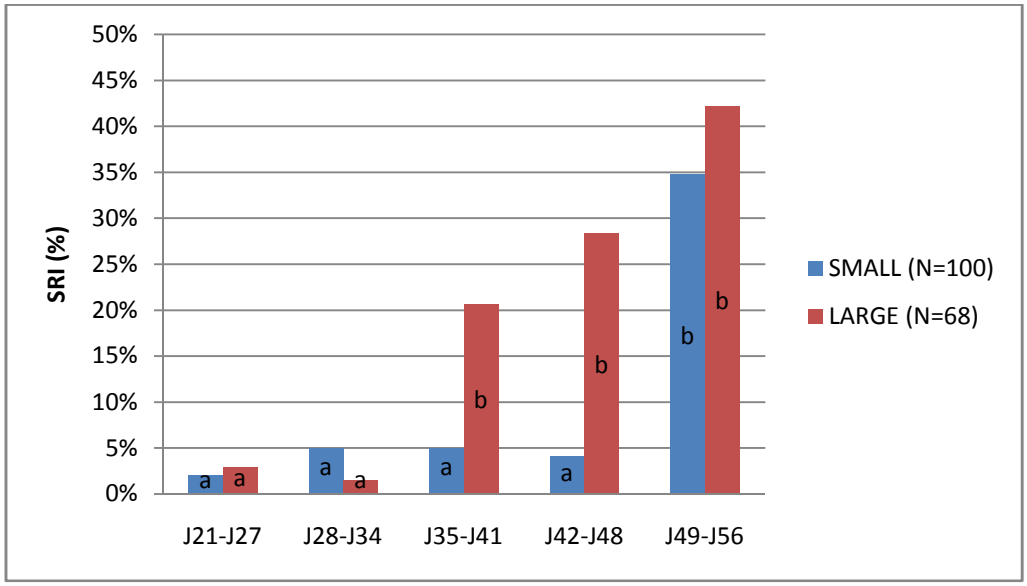


Figure 34: Effet du format racial sur le SRI en fonction de la période. *Les lettres minuscules différentes montrent qu'il existe une différence significativ, pour un format racial fixe, entre les SRI de deux périodes.*

2. Effets de la supplémentation

Le SRI des chiots de petites races non supplémentés est de 44,7% (soit 19 chiots malades vivants et 2 chiots morts pour un nombre total de chiots égal à 49) alors que le SRI des chiots de petites races supplémentés est de 44% (soit 21 chiots malades vivants et 1 chiot mort pour un nombre total de chiots égal à 51). Concernant les chiots de grandes races non supplémentés le SRI est de 75,9% (soit 19 chiots malades vivants et 3 chiots morts pour un nombre total de chiots égal à 32) alors que le SRI des chiots de grandes races supplémentés est de 70,6% (soit 22 chiots malades vivants et 2 chiots morts pour un nombre total de chiots égal à 36). La supplémentation n'a aucun effet significatif sur le SRI au sein d'un format racial. En effet, il n'y a pas de différence de SRI entre les chiots de petites races (p= 0,94) ni entre les chiots de grandes races (p=0,64) (figure 35).

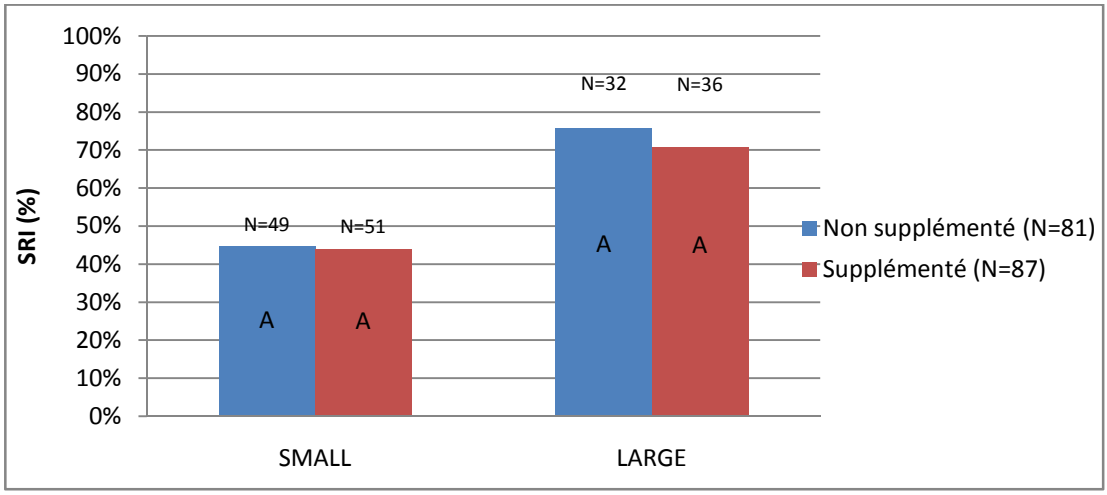


Figure 35: Effet de la supplémentation et du format racial sur le SRI. *Les lettres majuscules identiques signifient qu'il n'y a aucune différence significative entre les SRI des chiots supplémentés et non supplémentés, pour un format racial fixe.*

V. Mortalité

1. Population étudiée

Durant la période pédiatrique, 8 chiots sont morts au total (5 de grandes races et 3 de petites races), soit 4,76% de la population totale à J21 (N=168). La totalité des chiots morts durant cette période avait présenté des troubles digestifs aigus (diarrhées, vomissements). D'après les résultats nécropsiques et les analyses bactériologiques ?, la cause de mortalité principale durant cette période est une infection virale alliant les virus CPV-2 et CCV. Le taux de mortalité varie en fonction de la période étudiée : en effet 75% de la mortalité pédiatrique est concentrée sur la période J49-J56 (figure 36). La mortalité apparaît donc tardivement, en effet tous les chiots sont morts durant leur 7ème ou 8ème semaine de vie.

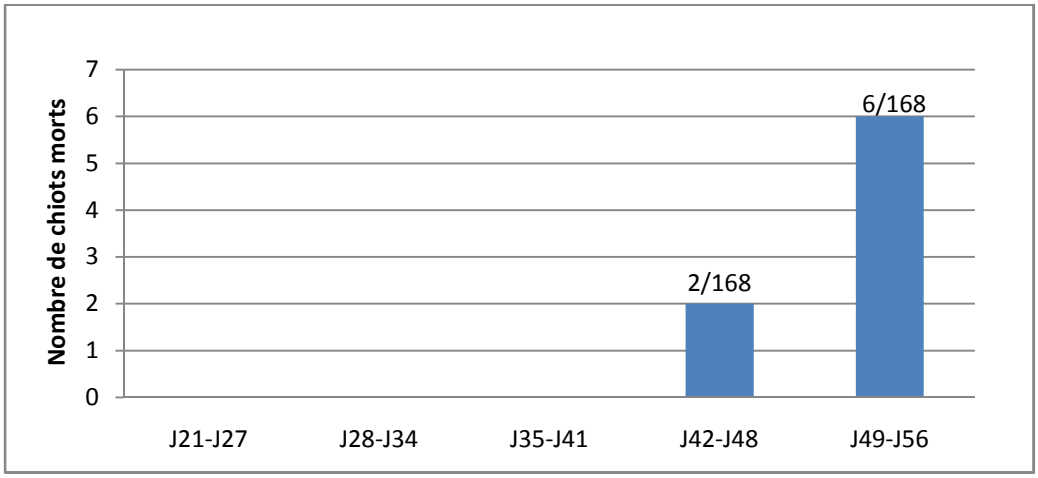


Figure 36: Nombre de chiots morts par semaine durant la période pédiatrique. *Les rapports indiqués en haut des colonnes correspondent aux nombres de chiots morts sur le nombre de chiots total à J21.*

De plus, sur le nombre total de chiots morts, 37,5% étaient des chiots de petites races (3 chiots) alors que 62,5% (5 chiots) étaient des chiots de grandes races. L'analyse statistique n'a pas été effectuée car l'effectif de chiots morts est trop faible.

2. Effets de la supplémentation

Le taux de mortalité des chiots non supplémentés est de 6,2% (5 chiots) contre 3,4% (3 chiots) pour les chiots supplémentés. Le nombre de chiots morts durant la période pédiatrique est très faible, aucune analyse statistique n'a donc été réalisée. La supplémentation ne semble pas avoir d'effet sur le taux de mortalité des chiots. L'analyse statistique n'a pas été effectuée. (D'après l'analyse multivariée, la supplémentation n'a eu aucun effet significatif sur le taux de mortalité des chiots (p=0,39) et quel que soit leur format racial (p=0,9) → Hanna).

PARTIE 4 : DISCUSSION

I. Les limites de l'étude:

1. Population étudiée

Un nombre important de chiots a été inclus dans notre étude : 168 chiots, 54 portées et 15 races différentes (petits, moyens et grands formats). Ils ont tous été soumis aux mêmes conditions d'élevage. En effet, ils ont reçu la même gamme d'alimentation (adaptée au format du chiot) et des protocoles de vermifugation et de vaccination identiques. Ils ont également été soumis aux mêmes conditions environnementales. Les chiots sont tous exposés aux mêmes agents infectieux, à des conditions d'hygiène similaires (nettoyage des box identique pour toutes les portées) et à des ambiances semblables (luminosité, températures, chauffage…).

L'effectif de notre étude est particulièrement conséquent si on le compare à l'unique publication traitant de l'utilisation des IgY chez le chiot, en effet, celle-ci porte sur 10 animaux (Van Nguyen et al., 2006). De plus, le « chenil des quatre vents » offre un panel racial large. Ceci nous permet de nous abstraire des effets liés à un format racial et de prendre en compte les différences physiologiques qui existent entre les races. Enfin, cette diversité raciale laisse penser que l'on est représentatif de la population canine même si la proportion entre les petites et les grandes races n'est pas respectée (5 races de grands formats et 10 races de petits formats).

Cependant, réaliser une étude dans un seul élevage présente des inconvénients. Les résultats obtenus peuvent ne pas être extrapolables à d'autres situations d'élevages. En effet, la prévalence et la circulation d'agents pathogènes sont différentes en fonction des élevages. Par exemple, au « chenil des quatre vents » les box des chiots sont nettoyés très fréquemment avec une solution à base d'eau de javel (solution irritante pour les voies respiratoires). Est-ce que cette solution prévient la circulation d'agents pathogènes ? Ne fragilise t-elle pas les voies respiratoires des chiots? On peut donc penser que pour plus de représentabilité des résultats, les manipulations auraient pu être effectuées dans différents élevages.

2. Utilisation des IgY :

Extraire les immunoglobulines Y contenues dans le jaune d'œuf de poule est une méthode peu invasive. En effet, les poules sont vaccinées contre une bactérie ou un virus pathogène dans l'espèce de destination (le CPV-2 chez le chien par exemple). En réponse à l'introduction de cet agent pathogène, les poules vont produire des IgY spécifiques. Grâce à des méthodes faisant intervenir la déshydratation et la précipitation des protéines, les IgY spécifiques vont être extraites du jaune d'œuf. On décrit également cette méthode comme non douloureuse car elle nécessite uniquement la collecte des œufs et non des prises de sang par exemple. Enfin, cette technique a aussi pour avantage d'être productive. Un jaune d'œuf contient entre 140 et 360mg d'IgY, donc une poule pondeuse peut produire entre 17 et 30g d'IgY par an (Schade et al., 2005).

L'efficacité in vitro des IgY a été démontrée. Ikemori et al. (1993) ont étudié l'affinité des IgY pour des *E. coli* entérotoxiques. Des poules et des vaches ont été immunisées avec cet entéropathogène, les anticorps spécifiques ont été extraits des jaunes d'œufs (volaille) et du colostrum/sérum (bovin). Ils ont comparé l'affinité des anticorps spécifiques pour ce pathogène et ont montré que les IgY se fixent mieux aux Ag de surface des *E. coli* entérotoxiques que les anticorps homologues bovins. Un autre étude menée par Sunwoo et al. (2002) a démontré l'effet des IgY sur *E. coli* O157:H7. D'après cette étude, les liaisons spécifiques entre les IgY et les composants de surface des colibacilles entraineraient une importante inhibition de la croissance bactérienne des *E. coli* O157:H7.

Par ailleurs, l'efficacité des IgY in vivo a été démontrée dans différentes espèces. Kweon et al, (2000) ont étudié l'effet des IgY sur le coronavirus responsable de la diarrhée épidémique porcine (DEP). Trente six porcelets âgés de 3 jours ont été infectés avec une souche de coronavirus et 17 d'entres eux ont reçu un traitement par voie orale à base d'IgY, deux fois par jour pendant 15 jours. Les résultats montrent une morbidité similaire entre le groupe de porcelets traités avec des IgY et le groupe placebo. Cependant, la mortalité pour le groupe de porcelets traités est de 40% alors qu'elle est de 70% pour le groupe placebo.

Vega et al, (2011) ont testés l'efficacité des IgY sur le rotavirus, agent pathogène majeur responsable de diarrhée néonatale chez le veau. Les auteurs ont cherché à mettre en évidence le rôle des IgY dans l'immunité locale des veaux. Ne voulant pas interférer avec l'immunité transférée par la mère, l'administration des IgY a été faite après la fermeture de la barrière intestinale du veau. Après avoir ingéré du colostrum maternel, vingt veaux âgés de deux jours ont été infectés par une souche de rotavirus. Trois lots ont été réalisés : un lot

de veaux a été supplémenté avec des IgY provenant de poules immunisées contre le rotavirus (**Groupe 1** : n=5), un autre lot a été supplémenté avec des IgY provenant de poules non immunisés contre le virus (**Groupe 2** : n=6) et un lot témoin non supplémenté (**Groupe 3** : n=9). Les deux lots supplémentés (groupe 1 et 2) ont reçu la supplémentation du 2ème jour au 14ème jour de vie. Parmi les veaux du groupe 1, 80% d'entre eux n'ont pas présenté de diarrhée, cependant parmi les veaux des groupes 2 et 3, 100% ont présenté de la diarrhée. La supplémentation en IgY spécifiques a donc un effet protecteur contre la diarrhée des veaux. Les auteurs ont également démontré les effets de la supplémentation en IgY sur le gain de poids des veaux. Les animaux supplémentés en IgY spécifiques (groupe 1) ont gagné en moyenne 7,06kg en 21 jours alors que ceux des autres groupes ont un gain de poids de 3,72kg. Enfin, 7 à 14 jours post-infection, le virus n'est plus détecté et des IgM et des IgA sont retrouvés en plus grande quantité dans les fèces de veaux supplémentés (groupe 1 et 2). Le fait de supplémenter les veaux avec des IgY entraine une réponse immunitaire précoce et des signes cliniques moindres.

Ces différentes études (in vivo et in vitro) soulignent l'effet bénéfique des IgY contre un agent pathogène défini. Elles confèrent essentiellement une immunité locale digestive, c'est pourquoi l'utilisation des IgY est particulièrement intéressante lors d'infection par un entéropathogène.

Cependant, utiliser des IgY peut présenter un inconvénient lors de la commercialisation de celles-ci. Ces immunoglobulines sont extraites de jaune d'œuf, or, l'importation de produits à base d'œufs est compliquée voire interdite en Australie. En effet, tous les produits à base d'œufs doivent être mis en quarantaine et doivent faire l'objet, dans certaines conditions, d'un permis d'importation.

II. Bilan des résultats:

1. Taux de croissance et format racial

Une différence significative a été mise en évidence entre les taux de croissance des chiots de petites races et des chiots de grandes races sur la période pédiatrique. Les chiots de grandes races ont un taux de croissance significativement supérieur à celui des chiots de petites races entre J21 et J56. De plus, pour les chiots de petites et de grandes races les taux de croissance sont significativement plus élevés durant leur 4ème et 5ème de vie. Trangerud et al, (2007) démontre que le taux de croissance est identique entre les races, mais la durée de

la croissance varie en fonction du format racial (11 semaines pour les races dites « Toy », 14 à 16 semaines pour les petites et moyennes races et jusqu'à 20 semaines pour les races géantes. Par ailleurs, les chiots de petites races ont une croissance plus rapide durant leurs 5 premières semaines de vie alors que les croissances des chiots de moyennes grandes races sont linéaires (Belin, 2013). Dans notre étude les taux de croissance ont seulement été étudiés entre la 4ème et la 8ème semaine de vie (période pédiatrique). Les données recueillies concernent une trop courte période pour pouvoir interpréter les résultats des taux de croissance.

2. Température rectale et format racial

D'après Peterson, Kutzler, (2011), le seuil d'hyperthermie a été fixé à 39,5°C. Le pourcentage de chiots en hyperthermie est plus important pour les chiots de petites races que pour les chiots de grandes races durant la période pédiatrique. Ces résultats ne sont pas en accord avec l'étude de Piccione et al, (2010) qui ne met pas en évidence de différence de température entre les chiots de différents formats raciaux. Ce fort pourcentage d'hyperthermie chez les chiots de petites races (20% versus 7,3% pour les chiots de grandes races) pourrait être corrélé à un taux de morbidité élevé, c'est-à-dire à des chiots présentant un syndrome fébrile. Cette hypothèse est peu probable, car nous verrons par la suite que les chiots de petites races ont présenté des taux de morbidité bien moins élevés que les chiots de grandes races. Cette élévation de température peut être reliée à un stress plus important lors de la manipulation et lors de la prise de température des chiots de petites races.

3. Taux de morbidité, SRI et taux de mortalité

Grellet et al., (2014) ont cherché à mettre en évidence la prévalence des virus entéropathogènes chez le chiot en élevage (n=266). Au moins un pathogène du tube digestif a été décelé chez 77,1% des chiots de cette étude. 14,7% d'entre eux excrétaient le CPV-2, 20,3% le CCV et 0,4% étaient excréteurs des deux virus. De plus, les auteurs soulignent que la prévalence de CPV-2 et CCV est largement plus importante dans les élevages que chez les chiots élevés chez des particuliers. La forte concentration d'animaux ainsi que les contacts étroits entre les chiots favorisent la contamination environnementale et par conséquent la circulation des virus. Enfin, parmi les entéropathogènes étudiés dans cette étude (parasites, bactéries, virus) le CPV-2 a été identifié comme étant le principal agent pathogène responsable de diarrhée aigüe chez le chiot. Il est plus fréquemment observé chez les chiots âgés de 6 à 8 semaines. Par ailleurs, l'implication du CCV dans la diarrhée chez le chiot est encore controversée (Sokolow et al., 2005)(Schulz et al., 2008).

Dans le cadre de notre étude portant sur les entéropathogènes, il semble plus approprié d'interpréter les taux de morbidité digestive que les taux de morbidité totale. En effet, le taux de morbidité digestive prend seulement en compte les chiots ayant présenté des troubles digestifs, une hyperthermie et/ou une perte de poids. Tous les chiots « hospitalisés » avaient au moins présentés un de ces symptômes. Le taux de morbidité digestive apparaît significativement plus élevé pour les chiots de grandes races que pour les chiots de petites races (67,6% versus 43%). Les données dans la littérature sont en accord avec ce résultat. En effet, Houston et al., (1996) ont étudié les races prédisposées à développer le CPV-2. Les races de grands formats comme les rottweilers, les dobermans et les bergers allemands arrivent en tête. Les caniches ou les cockers spaniels sont cependant bien moins touchés par ce virus. De plus, Taguchi et al., (2012) ont démontré qu'après la vaccination les chiens de grands formats ont un titre en anticorps anti-CPV-2 plus faible que les chiens de petits formats. Les chiens de grands formats seraient donc plus susceptibles d'être infectés par le CPV-2. Dans notre étude, les chiots de grandes races présentent des troubles digestifs plus précocement que les chiots de petites races. Les taux de morbidité digestive sont élevés à partir de la 6ème semaine alors qu'ils le sont à partir de la 8ème semaine pour les chiots de petites races. On peut expliquer cela par le fait que les chiots de grandes races soient plus touchés par des entéropathogènes et donc l'expression des signes cliniques est moins localisée dans le temps.

Nos résultats concernant les scores de morbidité et le Sanitary Risk Index (SRI) sont identiques à ceux des taux de morbidité digestive. En effet, les scores de morbidité et les SRI sont plus élevés pour les chiots de grands formats que pour les chiots de petits formats. De plus, l'augmentation des scores de morbidité et des SRI est plus précoce pour les chiots de grandes races que pour les chiots de petites races.

Concernant la mortalité des chiots, elle est uniquement concentrée sur les deux dernières semaines de la période pédiatrique (7 et 8ème semaines), 5 chiots de grands formats sont morts contre 3 de petits formats. Le CPV-2 a une prévalence plus importante durant ces dernières semaines, la mortalité des chiots correspond donc à la période d'infection des chiots par le parvovirus. Les chiots de grandes races ont des taux de morbidité digestive, des scores de morbidité et des SRI supérieurs aux chiots de petites races, il est donc cohérent que la mortalité soit supérieure au sein de ce format racial.

4. Effet de la supplémentation

La supplémentation apportée aux chiots n'a conféré aucun effet bénéfique sur les paramètres étudiés. En effet, la supplémentation ne montre aucun effet significatif sur les taux de croissance, le SRI et les taux de mortalité quelque soit le format racial et la période étudiée.

Nos résultats ne sont pas en accord avec la seule étude portant sur l'utilisation des IgY chez le chiot (Van Nguyen et al., 2006). Cette étude démontre l'effet protecteur des IgY contre l'infection due au CPV-2 chez le jeune. Elle a été effectuée sur 10 chiots Beagle âgés de 2 mois, infectés par voie orale avec une souche de ce virus. Trois groupes de chiots ont été réalisés, le premier groupe (n=3) a reçu 2g de poudre d'œuf par chiot (contenant des IgY spécifiques anti-CPV-2), le deuxième groupe (n=3) a reçu 0,5g de poudre d'œuf (contenant des IgY spécifiques anti-CPV-2) et 1,5g de poudre d'œuf sans IgY spécifique et le troisième groupe (n=4) a reçu 2g de poudre d'œuf ne contenant pas d'IgY spécifique. Pour les trois groupes la supplémentation était donnée par voie orale, trois fois par jour pendant 5 jours puis 2 fois par jour pendant 2 jours. Aucun symptôme n'a été observé chez les 3 chiots supplémentés du premier groupe, alors que parmi ceux du deuxième groupe, 2 chiots sur 3 ont présenté des signes cliniques d'infection par le CPV-2. Cependant, les manifestations cliniques des chiots du deuxième groupe étaient moins sévères que ceux du groupe témoin (n'ayant pas reçu d'IgY spécifique). Enfin, chez les chiots ayant reçu des IgY spécifiques (groupe 1 et 2) leur gain de poids était significativement plus élevé que chez les chiots du groupe témoin. Malgré le faible nombre de chiot présents dans cette étude, la supplémentation en IgY a diminué les taux de morbidité, de mortalité et a permis d'augmenter la croissance des chiots. Cette étude démontre donc l'efficacité de la protection immunitaire conférée au chiot via la supplémentation et montre que cette protection est fonction de la quantité d'IgY administrée. Chez le chiot, il s'agit de la seule étude portant sur l'utilisation des IgY. Par contre, chez le porcelet, Chernysheva et al., (2004), ont cherché a mettre en évidence l'effet protecteur des IgY spécifiques contre la colibacillose. Ils ont inclus 48 porcelets de 22 jours d'âge. La supplémentation a été effectuée *per os* sur des porcelets de 3 semaines. Les porcelets supplémentés et les porcelets témoins ont des taux de morbidité et de mortalité identiques. La charge bactérienne inoculée était peut être trop importante d'après les auteurs, mais ils émettent aussi l'hypothèse que l'activité des IgY pourrait être diminuée par la pepsine et l'acidité gastrique. Cette dernière hypothèse avait également été décrite par Yokoyama et al., (1993);

ces auteurs mettent en évidence une diminution importante de l'efficacité des IgY après leur passage dans l'estomac de porcelets. Pour palier à la dégradation gastrique potentielle des IgY, Li et al., (2009) ont étudié l'effet d'IgY micro-encapsulées sur des *E. coli* entérotoxiques chez le porc. Ils ont démontré l'effet bénéfique des IgY encapsulées sur les taux de morbidité et sur les gains de poids des porcelets supplémentés tardivement (à partir de J40). Les porcelets ayant reçu des IgY non encapsulées ont des taux de morbidité plus élevés que les porcelets supplémentés mais plus faibles que les porcelets témoins. Par ailleurs, de nombreuses autres études ont révélé l'efficacité des IgY dans l'immunité locale de différentes espèces malgré qu'elles ne soient pas encapsulées. D'après Kweon et al., (2000) la supplémentation a permis de diminuer de moitié les taux de mortalité chez des porcelets infectés par le coronavirus responsable de la diarrhée porcine. Vega et al., (2011) ont obtenues des résultats similaires chez des veaux infectés par un rotavirus et Van Nguyen et al., (2006) ont démontré l'efficacité locale des IgY chez des chiots atteints de parvovirose.

Dans notre étude, les doses de supplémentation utilisées sont identiques à celles de l'étude de Van Nguyen et al., (2006). Nos résultats ne révèlent pourtant pas d'efficacité de la supplémentation chez les chiots. Au vue du grand nombre d'animaux compris dans notre étude, la supplémentation n'a pu être administrée qu'une seule fois par jour alors que dans l'étude de Van Nguyen et al., (2006) les chiots recevaient du mélange de supplémentation 2 à 3 fois par jour. On peut donc émettre l'hypothèse que l'administration unique de supplémentation est non suffisante. L'immunité locale conférée par les IgY est optimale lorsque les IgY « tapissent » la muqueuse intestinale. La quantité d'IgY doit donc être suffisante pour que les Ig puissent neutraliser les agents pathogènes (Jin et al., 1998). Pour cela, plusieurs administrations quotidiennes d'IgY paraissent nécessaires. En outre, si l'on suppose que les IgY sont dégradées trop rapidement c'est-à-dire avant qu'elles accèdent au tube digestif, on pourrait envisager d'apporter une quantité supérieure d'IgY dans le mélange de supplémentation.

Enfin, dans notre étude il y a un nombre plus important de chiots de petites races supplémentés en hyperthermie que de chiots de petites races non supplémentés en hyperthermie, sur la période J49-J56. De plus, les chiots de ce même groupe (petites races, supplémentés) présentent un taux de morbidité plus élevé que les chiots non supplémenté sur la période J28-J34. La supplémentation a eu un effet « néfaste » sur deux paramètres (hyperthermie et taux de morbidité) et sur deux périodes précises. Parmi les études citées précédemment, aucune ne décrit des effets défavorables de la supplémentation en IgY.

Malgré les conditions d'hygiène mises en œuvre lors de la manipulation des chiots (gants jetés entre chaque portée, désinfection des tabliers, des bottes, des seringues entre chaque portée…), on peut se demander si la manipulation quotidienne d'un aussi grand nombre de chiots ne peut pas favoriser la circulation des agents pathogènes ? Cette hypothèse est à prendre en compte. Cependant, les chiots pour lesquelles la supplémentation aurait eu un effet négatif sont des chiots de petites races ; ce qui est en opposition avec nos résultats de morbidité et de mortalité ou ce sont des chiots de grandes races qui sont les plus largement touchés par les entéropathogènes. On peut donc supposer que ces résultats traduisant des effets défavorables de la supplémentation sont indépendants du mélange administré.

Les effets de l'administration tardive d'un mélange de supplémentation (après la fermeture de la barrière intestinale) auraient pu être mis en évidence par le dosage des IgY anti-CPV-2 et anti-CCV dans les fecès des chiots. La quantité d'IgY excrétée pourrait être comparée aux signes cliniques et à la charge virale excrétée par les chiots malades. De plus, une mesure de la quantité d'IgA excrétée pourrait révéler si la supplémentation à un effet sur la réponse immunitaire locale du chiot.

Enfin, on peut se demander si l'administration d'une supplémentation tardive peut avoir un impact sur la réponse vaccinale des chiots. Une étude menée par Satyaraj et al., (2013) met en évidence les effets d'une supplémentation en colostrum bovin sur des chiens adultes vaccinés contre la maladie de Carré. Les résultats de cette étude montrent un effet sur l'immunité locale de la supplémentation avec une augmentation des IgA dans les fecès de chiens ayant reçu du colostrum. De plus, les résultats mettent en évidence un taux d'anticorps spécifiques de la maladie de Carré bien plus élevé chez les chiens supplémentés avec du colostrum. Un effet systémique de la supplémentation en colostrum a été démontré dans cette étude avec une meilleure réponse vaccinale des chiens supplémentés. Les effets de la supplémentation en IgY sur la réponse vaccinale chez le chien n'ont pas encore été étudié (aucune étude ?). Après avoir supplémenté des chiots avec des IgY, des expérimentations ultérieures pourrait étudier la réponse vaccinale après une vaccination contre la parvovirose canine.

CONCLUSION

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'efficacité d'un apport tardif en IgY anti-CPV-2 et anti-CCV sur l'immunité locale du chiot. La supplémentation en IgY n'a pas montré d'effet protecteur significatif sur la croissance, la température, la morbidité et la mortalité des chiots.

Toutefois, diverses études ont mis en évidence une efficacité locale intestinale des IgY sur l'expression de virus variés entéropathogènes. Vega et al., (2011), Kweon et al., (2000) ont démontré le rôle bénéfique d'une administration quotidienne d'IgY sur les taux de mortalité et de morbidité dans différentes espèces. Par ailleurs, bien que le nombre de chiots soit faible, une étude très prometteuse démontre l'efficacité de la supplémentation en IgY dans la réponse immunitaire locale du jeune (Van Nguyen et al., 2006). Cette étude souligne également que la protection immunitaire conférée est fonction de la quantité d'IgY ingérée. Dans notre étude, le fait que la supplémentation n'ait montré aucun effet bénéfique sur les paramètres étudiés, peut être dû à un apport en IgY insuffisant ou à une dégradation précoce des IgY dans l'estomac. De plus, la supplémentation a été apportée en une seule prise quotidienne. L'efficacité des IgY serait améliorée par des administrations répétées au cours de la journée. En effet, celles ci agissent comme les IgA, elles sont donc plus efficaces lorsqu'elles tapissent la muqueuse intestinale. On retient donc que l'administration unique de supplémentation est non suffisante. De nouvelles expérimentations pourraient être mises en œuvre afin de modifier le protocole expérimental en tenant compte des hypothèses énoncées.

Enfin, Satyaraj et al., (2013) mettent en évidence une élévation du taux d'immunoglobulines sériques après un épisode de vaccination, chez des chiens supplémentés avec du colostrum bovin. Une prochaine étude pourrait chercher à révéler un effet bénéfique des IgY sur la réponse vaccinale de chiots.

BIBLIOGRAPHIE

BELIN, Marion, 2013. *Croissance et mortalité du chiot en élevage*. Thèse de doctorat vétérinaire. S.l. : s.n. TOU 3 - 4063

CHAPEL, Helen, 2004. *Immunologie clinique: de la théorie à la pratique, avec cas cliniques*. Bruxelles : De Boeck. ISBN 978-2-8041-4538-5.

CHASTANT-MAILLARD, S., FREYBURGER, L., MARCHETEAU, E., THOUMIRE, S., RAVIER, J. F. et REYNAUD, K., 2012. Timing of the intestinal barrier closure in puppies. In : *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*. décembre 2012. Vol. 47 Suppl 6, p. 190‑193. DOI 10.1111/rda.12008.

CHASTANT-MAILLARD, S., FREYBURGER, L., MARCHETEAU, E., THOUMIRE, S., RAVIER, J.F. et REYNAUD, K., 2013. Fermeture de la barrière intestinale chez le chiot. In : *Le point vétérinaire*. Juin 2013. n° 336, p. 58‑62.

CHERNYSHEVA, Larisa V., FRIENDSHIP, Robert M., DEWEY, Catherine E. et GYLES, Carlton L., 2004. The effect of dietary chicken egg-yolk antibodies on the clinical response in weaned pigs challenged with a K88^+ Escherichia coli isolate. In : *Journal of Swine Health and Production*. 2004. Vol. 12, n° 3, p. 119–121.

CHEROUTRE, Hilde et MADAKAMUTIL, Loui, 2004. Acquired and natural memory T cells join forces at the mucosal front line. In : *Nature Reviews Immunology*. avril 2004. Vol. 4, n° 4, p. 290‑300. DOI 10.1038/nri1333.

CLEGG, S.R., COYNE, K.P., DAWSON, S., SPIBEY, N., GASKELL, R.M. et RADFORD, A.D., 2012. Canine parvovirus in asymptomatic feline carriers. In : *Veterinary Microbiology*. mai 2012. Vol. 157, n° 1-2, p. 78‑85. DOI 10.1016/j.vetmic.2011.12.024.

DAY, M.J., 2007. Immune System Development in the Dog and Cat. In : *Journal of Comparative Pathology*. juillet 2007. Vol. 137, p. S10‑S15. DOI 10.1016/j.jcpa.2007.04.005.

DECARO, Nicola, DESARIO, Costantina, ADDIE, Diane D., MARTELLA, Vito, VIEIRA, Maria João, ELIA, Gabriella, ZICOLA, Angelique, DAVIS, Christopher, THOMPSON, Gertrude, THIRY, Ethienne et OTHERS, 2007. Molecular epidemiology of canine parvovirus, Europe. In : *Emerging infectious diseases*. 2007. Vol. 13, n° 8, p. 1222.

ESPINOSA, Éric et CHILLET, Pascal, 2010. *Immunologie*. Paris : Ellipses. ISBN 978-2-7298-6076-9.

FELSBURG, P. J., 2002. Overview of immune system development in the dog: comparison with humans. In : *Human & Experimental Toxicology*. 1 septembre 2002. Vol. 21, n° 9, p. 487‑492. DOI 10.1191/0960327102ht286oa.

GODDARD, Amelia et LEISEWITZ, Andrew L., 2010. Canine Parvovirus. In : *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. novembre 2010. Vol. 40, n° 6, p. 1041‑1053. DOI 10.1016/j.cvsm.2010.07.007.

GREENE, Craig E. (éd.), 2012. *Infectious diseases of the dog and cat*. 4th ed. St. Louis, Mo : Elsevier/Saunders. ISBN 978-1-4160-6130-4.

GRELLET, Aurélien, 2014. *Évaluation de la santé digestive du chiot en élevage Facteurs de risque des diarrhées de sevrage* [en ligne]. Saarbrücken : Presses Académiques Francophones. [Consulté le 5 août 2015]. ISBN 978-3-8381-4145-9. Disponible à l'adresse : http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:101:1-201406145936.

GRELLET, Aurélien, CHASTANT-MAILLARD, Sylvie, ROBIN, Coralie, FEUGIER, Alexandre, BOOGAERTS, Cassandre, BOUCRAUT-BARALON, Corine, GRANDJEAN, Dominique et POLACK, Bruno, 2014. Risk factors of weaning diarrhea in puppies housed in breeding kennels. In : *Preventive Veterinary Medicine*. novembre 2014. Vol. 117, n° 1, p. 260‑265. DOI 10.1016/j.prevetmed.2014.07.016.

HEDDLE, R. J. et ROWLEY, D., 1975. Dog immunoglobulins. I. immunochemical characterization of dog serum, parotid saliva, colostrum, milk and small bowel fluid. In : *Immunology*. 1975. Vol. 29, n° 1, p. 185.

HOUSTON, D. M., RIBBLE, C. S. et HEAD, L. L., 1996. Risk factors associated with parvovirus enteritis in dogs: 283 cases (1982-1991). In : *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 février 1996. Vol. 208, n° 4, p. 542‑546.

IKEDA, Yasuhiro, NAKAMURA, Kazuya, MIYAZAWA, Takayuki, TOHYA, Yukinobu, TAKAHASHI, Eiji et MOCHIZUKI, Masami, 2002. Feline host range of canine parvovirus: recent emergence of new antigenic types in cats. In : *Emerging infectious diseases*. 2002. Vol. 8, n° 4, p. 341–346.

IKEMORI, Y., PERALTA, R. C., KUROKI, M., YOKOYAMA, H. et KODAMA, Y., 1993. Research note: avidity of chicken yolk antibodies to enterotoxigenic Escherichia coli fimbriae. In : *Poultry Science*. décembre 1993. Vol. 72, n° 12, p. 2361‑2365.

JANEWAY, Charles, 2009. *Immunobiologie*. Bruxelles : De Boeck. ISBN 978-2-8041-0793-2.

JIN, L. Z., BAIDOO, S. K., MARQUARDT, R. R. et FROHLICH, A. A., 1998. In vitro inhibition of adhesion of enterotoxigenic Escherichia coli K88 to piglet intestinal

mucus by egg-yolk antibodies. In : *FEMS immunology and medical microbiology*. août 1998. Vol. 21, n° 4, p. 313‑321.

KWEON, C. H., KWON, B. J., WOO, S. R., KIM, J. M., WOO, G. H., SON, D. H., HUR, W. et LEE, Y. S., 2000. Immunoprophylactic effect of chicken egg yolk immunoglobulin (Ig Y) against porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) in piglets. In : *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science*. septembre 2000. Vol. 62, n° 9, p. 961‑964.

LI, Xiao-Yu, JIN, Li-Ji, UZONNA, Jude E., LI, Shu-Ying, LIU, Jun-Jun, LI, Hua-Qiang, LU, Ya-Nan, ZHEN, Yu-Hong et XU, Yong-Ping, 2009. Chitosan–alginate microcapsules for oral delivery of egg yolk immunoglobulin (IgY): In vivo evaluation in a pig model of enteric colibacillosis. In : *Veterinary Immunology and Immunopathology*. mai 2009. Vol. 129, n° 1-2, p. 132‑136. DOI 10.1016/j.vetimm.2008.12.016.

MEUNIER, P. C., COOPER, B. J., APPEL, M. J. G., LANIEU, M. E. et SLAUSON, D. O., 1985. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: sequential virus distribution and passive immunization studies. In : *Veterinary Pathology Online*. 1985. Vol. 22, n° 6, p. 617–624.

MILA, Hanna, GRELLET, Aurélien, DESARIO, Costantina, FEUGIER, Alexandre, DECARO, Nicola, BUONAVOGLIA, Canio et CHASTANT-MAILLARD, Sylvie, 2014. Protection against canine parvovirus type 2 infection in puppies by colostrum-derived antibodies. In : *Journal of Nutritional Science* [en ligne]. 2014. Vol. 3. [Consulté le 10 juillet 2015]. DOI 10.1017/jns.2014.57. Disponible à l'adresse : http://www.journals.cambridge.org/abstract_S2048679014000573.

MORAILLON, A, 1982. La parvovirose canine. In : *Recueil de Médecine Vétérinaire*. 1982. Vol. 158, n° 687-705.

NANDI, S. et KUMAR, Manoj, 2010. Canine Parvovirus: Current Perspective. In : *Indian Journal of Virology*. juin 2010. Vol. 21, n° 1, p. 31‑44. DOI 10.1007/s13337-010-0007-y.

NARA, P. L., WINTERS, K., RICE, J. B., OLSEN, R. G. et KRAKOWKA, S., 1983. Systemic and local intestinal antibody response in dogs given both infective and inactivated canine parvovirus. In : *American Journal of Veterinary Research*. novembre 1983. Vol. 44, n° 11, p. 1989‑1995.

NORCROSS, N. L., 1982. Secretion and composition of colostrum and milk. In : *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15 novembre 1982. Vol. 181, n° 10, p. 1057‑1060.

PETERSON, Michael Edward et KUTZLER, Michelle Anne (éd.), 2011. *Small animal pediatrics: the first 12 months of life*. St. Louis, Mo : Saunders/Elsevier. ISBN 978-1-4160-4889-3.

PICCIONE, Giuseppe, GIUDICE, Elisabetta, FAZIO, Francesco et MORTOLA, Jacopo P., 2010. The daily rhythm of body temperature, heart and respiratory rate in newborn dogs. In : *Journal of Comparative Physiology. B, Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*. août 2010. Vol. 180, n° 6, p. 895‑904. DOI 10.1007/s00360-010-0462-1.

POLLOCK, R. V. et CARMICHAEL, L. E., 1982. Maternally derived immunity to canine parvovirus infection: transfer, decline, and interference with vaccination. In : *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1 janvier 1982. Vol. 180, n° 1, p. 37‑42.

RALLIS, T. S., PAPAZOGLOU, L. G., ADAMAMA-MORAITOU, K. K. et PRASSINOS, N. N., 2000. Acute Enteritis or Gastroenteritis in Young Dogs as a Predisposing Factor for Intestinal Intussusception: a Retrospective Study. In : *Journal of Veterinary Medicine Series A*. octobre 2000. Vol. 47, n° 8, p. 507‑511. DOI 10.1046/j.1439-0442.2000.00318.x.

RICE, J. B., WINTERS, K. A., KRAKOWKA, S. et OLSEN, R. G., 1982. Comparison of systemic and local immunity in dogs with canine parvovirus gastroenteritis. In : *Infection and immunity*. 1982. Vol. 38, n° 3, p. 1003–1009.

ROITT, Ivan Maurice, BROSTOFF, Jonathan, MALE, David K, REVILLARD, Jean-Pierre, FRIDMAN, Wolf H, DAËRON, M et KOURILSKY, François, 1994. *Immunologie*. Bruxelles : De Boeck-Wesmael. ISBN 978-2-8041-1745-0.

SATYARAJ, Ebenezer, REYNOLDS, Arleigh, PELKER, Robyn, LABUDA, Jeff, ZHANG, Peifang et SUN, Peichuan, 2013. Supplementation of diets with bovine colostrum influences immune function in dogs. In : *British Journal of Nutrition*. décembre 2013. Vol. 110, n° 12, p. 2216‑2221. DOI 10.1017/S000711451300175X.

SCHADE, Rüdiger, CALZADO, Esteban Gutierrez, SARMIENTO, Rodolfo, CHACANA, Pablo Anibal, PORANKIEWICZ-ASPLUND, Joanna et TERZOLO, Horacio Raul, 2005. Chicken egg yolk antibodies (IgY-technology): a review of progress in production and use in research and human and veterinary medicine. In : *Alternatives to laboratory animals: ATLA*. avril 2005. Vol. 33, n° 2, p. 129‑154.

SCHÄFER-SOMI, Sabine, BÄR-SCHADLER, Sabine et AURICH, Jörg E., 2005. Immunoglobulins in nasal secretions of dog puppies from birth to six weeks of

age. In : *Research in Veterinary Science*. avril 2005. Vol. 78, n° 2, p. 143‑150. DOI 10.1016/j.rvsc.2004.07.011.

SCHULZ, B. S., STRAUCH, C., MUELLER, R. S., EICHHORN, W. et HARTMANN, K., 2008. Comparison of the prevalence of enteric viruses in healthy dogs and those with acute haemorrhagic diarrhoea by electron microscopy. In : *The Journal of Small Animal Practice*. février 2008. Vol. 49, n° 2, p. 84‑88. DOI 10.1111/j.1748-5827.2007.00470.x.

SHACKELTON, Laura A., PARRISH, Colin R., TRUYEN, Uwe et HOLMES, Edward C., 2005. High rate of viral evolution associated with the emergence of carnivore parvovirus. In : *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005. Vol. 102, n° 2, p. 379–384.

SOKOLOW, Susanne H., RAND, Courtney, MARKS, Stanley L., DRAZENOVICH, Niki L., KATHER, Elizabeth J. et FOLEY, Janet E., 2005. Epidemiologic evaluation of diarrhea in dogs in an animal shelter. In : *American Journal of Veterinary Research*. juin 2005. Vol. 66, n° 6, p. 1018‑1024.

STOKES, Chris et WALY, Nashwa, 2006. Mucosal defence along the gastrointestinal tract of cats and dogs. In : *Veterinary Research*. mai 2006. Vol. 37, n° 3, p. 281‑293. DOI 10.1051/vetres:2006015.

SUNWOO, H. H., LEE, E. N., MENNINEN, K., SURESH, M. R. et SIM, J. S., 2002. Growth inhibitory effect of chicken egg yolk antibody (IgY) on Escherichia coli O157: H7. In : *JOURNAL OF FOOD SCIENCE-CHICAGO-*. 2002. Vol. 67, n° 4, p. 1486–1494.

TAGUCHI, Masayuki, NAMIKAWA, Kazuhiko, MARUO, Takuya, SAITO, Miyoko, LYNCH, Jonathan et SAHARA, Hiroeki, 2012. Effects of body weight on antibody titers against canine parvovirus type 2, canine distemper virus, and canine adenovirus type 1 in vaccinated domestic adult dogs. In : *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne De Recherche Vétérinaire*. octobre 2012. Vol. 76, n° 4, p. 317‑319.

TIZARD, Ian R., 2013. *Veterinary immunology*. 9th ed. St. Louis, Mo : Elsevier/Saunders. ISBN 978-1-4557-0362-3. SF757.2 .T59 2013

TRANGERUD, C., GRONDALEN, J., INDREBO, A., TVERDAL, A., ROPSTAD, E. et MOE, L., 2007. A longitudinal study on growth and growth variables in dogs of four large breeds raised in domestic environments. In : *Journal of Animal Science*. 1 janvier 2007. Vol. 85, n° 1, p. 76‑83. DOI 10.2527/jas.2006-354.

VAERMAN, J.-P. et HEREMANS, J. F., 1969. Distribution of various immunoglobulin containing cells in canine lymphoid tissue. In : *Immunology*. 1969. Vol. 17, n° 4, p. 627.

VAN NGUYEN, Sa, UMEDA, Kouji, YOKOYAMA, Hideaki, TOHYA, Yukinobu et KODAMA, Yoshikatsu, 2006. Passive protection of dogs against clinical disease due to Canine parvovirus-2 by specific antibody from chicken egg yolk. In : *Canadian journal of veterinary research*. 2006. Vol. 70, n° 1, p. 62.

VEGA, C., BOK, M., CHACANA, P., SAIF, L., FERNANDEZ, F. et PARREÑO, V., 2011. Egg yolk IgY: Protection against rotavirus induced diarrhea and modulatory effect on the systemic and mucosal antibody responses in newborn calves. In : *Veterinary Immunology and Immunopathology*. août 2011. Vol. 142, n° 3-4, p. 156‑169. DOI 10.1016/j.vetimm.2011.05.003.

WESTENDORF, Astrid M., FLEISSNER, Diana, HANSEN, Wiebke et BUER, Jan, 2010. T cells, dendritic cells and epithelial cells in intestinal homeostasis. In : *International Journal of Medical Microbiology*. janvier 2010. Vol. 300, n° 1, p. 11‑18. DOI 10.1016/j.ijmm.2009.08.009.

YOKOYAMA, H., PERALTA, R. C., SENDO, S., IKEMORI, Y. et KODAMA, Y., 1993. Detection of passage and absorption of chicken egg yolk immunoglobulins in the gastrointestinal tract of pigs by use of enzyme-linked immunosorbent assay and fluorescent antibody testing. In : *American Journal of Veterinary Research*. juin 1993. Vol. 54, n° 6, p. 867‑872.