



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

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

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>
Eprints ID : 10838

To cite this version :

Jacquet, Amélie and Rousset, Anne-Lise. *La production de colostrum chez la brebis : évaluation de la variabilité de la concentration et de la masse d'immunoglobulines G1(IgG1)*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2013, 124 p.

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

LA PRODUCTION DE COLOSTRUM CHEZ LA BREBIS : EVALUATION DE LA VARIABILITÉ DE LA CONCENTRATION ET DE LA MASSE D'IMMUNOGLOBULINES G1 (IgG1)

THESE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

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

JACQUET Amélie

Née, le 4 février 1987 à CHATEAUROUX (36)
ET

ROUSSET Anne Lise

Née, le 27 juillet 1988 à SAINT-FLOUR (15)

Directeur de thèse : M. Fabien CORBIERE

JURY

PRESIDENT :

M. Louis BUJAN

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

M. Fabien CORBIERE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

M. Xavier BERTHELOT

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

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

Directeur : M. A. MILON

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

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

PROFESSEURS 1^{re} CLASSE

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

PROFESSEURS 2^{de} CLASSE

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

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

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

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

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

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
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*
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 **WASET-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*
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*
M **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

REMERCIEMENTS

A M. le professeur Louis BUJAN

*Professeur des Universités
CHU Paule de Viguier
Biologie de la reproduction*

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

A Monsieur le Docteur Fabien CORBIERE,

*Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie des ruminants
Unité Mixte Technologique Santé des Petits Ruminants*

Qui a initié ce projet, l'a soutenu et nous a accompagnées dans notre travail,
Nos plus sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Xavier BERTHELOT,

*Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie de la reproduction
Unité Mixte Technologique Santé des Petits Ruminants*

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

A Monsieur Jean-Marc Gautier,
Ingénieur

Institut de l'Élevage, Unité Mixte Technologique Santé des Petits Ruminants

Qui a participé à ce projet et nous a aidés dans la mise en œuvre du protocole,
Nos remerciements et salutations distinguées.

A Monsieur Christian Pantel,
Chef d'exploitation de la station de FEDATEST

Qui nous a permis de mettre en œuvre ce protocole,
Nos plus sincères remerciements.

A Monsieur Kévin Chile,
Animateur du comité scientifique de FEDATEST
Races Ovines des Massifs Sélection, section Blanche du Massif Central

Qui nous a soutenus et a vivement œuvré pour la réussite de ce protocole,
Nos plus sincères remerciements.

A Monsieur Philippe Blasquez,
A Monsieur Joël Trémouillère,
A Monsieur Joël Saby,
Toute l'équipe de FEDATEST

Qui nous ont aidés jours et nuits, nous ont tant appris auprès des brebis,
Et sans qui ce travail n'aurait pu avoir lieu,
Nos plus sincères remerciements.

A Adrien,

Pour tout le bonheur que tu m'apportes, à tout ce que nous partageons et que nous partagerons, à Robin, à toi tout simplement, à notre amour.

A mes parents,

Sans qui je n'aurais jamais réalisé ces rêves. Merci pour votre soutien.

A Maman, à ta présence, à ton soutien omniprésent, à ta patience, à tous les surnoms que tu me donnes...

A Papa, à ta façon de tout savoir et de tout comprendre sans rien dire, à ton énergie, à ta passion pour la nature, aux champignons, aux truites, à tous les soins qui tu apportes à Pano...

A ma petite sœur,

A nos ressemblances et nos divergences, à nos confidences, à toi, Myloune, ma toute petite sœur...

A mes grands-parents,

A Mamie Josette, à *Tatie Denise*.

A Mamie Ninone,

A ta vie à Confolens, à ta force de caractère, à toute ton énergie dépensée, à ton soutien perpétuel, merci d'avoir partagé tes passions, d'avoir façonné mon enfance.
A toi, comme une évidence.

A mon oncle,

A ton soutien, à tous ces beaux moments à Confolens, à tes vaches, à toutes tes bestioles, à mes premiers pas vétérinaires...

A toute ma famille,

A mes oncles, à mes tantes, à toutes mes cousines, à mon seul cousin, à tous mes petits cousins, à la Mayenne, à la vie entre Paris et Aurillac.

A Dodie et Fred, à *Nico et Tiff*, à votre présence, à nos fou-rires, aux marathons.

A tous mes amis Toulousains,

A Amélie, à notre thèse, à tes macarons, à Saint-Amans, à notre amitié.

A Auréline, à ta présence et ta gentillesse, à tes setters, à la Corrèze.

A Isabelle, à Pipo, à tes robes de princesse, à ton amitié.

A Titi, au rugby, à ta toute petite voix, à ta sincérité, à ton amitié.

A Alex, à ton humour, à nos trois ans de cliniques ensemble.

A Pumba, à *Solène*, à *Katy*, à *Carole*, à *Franck*, à *Paul*, à *Audrey*, à *Amandine*, à *Pascale*, à *Philou*, à *Matatias*, à *Laure*, à *Nico*, à *Fabien*, à *Maxime*, à notre amitié, à votre bonne humeur, à toutes nos soirées, à tout ce qui nous reste à partager.

A MAV, à nos randonnées, au GR10, à nos raids, au club raid, à nos week-ends sportifs et culturels, à tous nos points communs.

A Alexis, à *Bastien*, à *Doui*, à *Léa*, à *Milène*, à notre périple berbère inoubliable, à la Flexattitude, à l'Aveyron, au Queyras, à la moutarde de Dijon, à Arcambal...

A Darty, aux raids, aux randonnées extrêmes, aux trails à la frontale, à ta générosité.

A Dodie, à *Delphine*, à *Fanny*, à *Sarah*, à *Flo*, à *Samuel*, à *Ester*, à tous les raideurs de l'ENVT, à *Lulu*, à *Antoine*...

A ma T1 bovine, à Jo, à Thibaud, à Val, à Ragotte, à Jeannou, à Marion, à Alexia, à Amandine, à Léa, à Marine, à Mathieu, à Clément, à Hugues, à Romain, à Maxime, à Rou, à Teresa, à Cécile, à Christel,
A mes copromos, à nos docs, à nos poulots...

A Kévin, à Marie, à Mumu, à Cyrielle, à votre équipe de choc, à votre bonne humeur
A toute la chaire de bovine, à Schelcher, à Maillard, à Cassard, à Meyer, à Foucras,
à Laurent, à Françoise...

A Léa,

A toute notre enfance ensemble, à ton amitié outre Manche, à ta présence, à ta beauté italienne, à ta bonne humeur, à toutes nos ressemblances, à Hazard et nos balades à cheval, à Lorcières, aux plongeurs dans la Truyère, aux fêtes de la myrtille, aux spaghettis, à ta vie anglaise, à ton amoureux irlandais...à tout ce que nous avons partagé et ce que nous partagerons...

A Thomas,

A ton soutien, à tous tes poneys indisciplinés.

Aux amis de la première heure,

A Christelle, à Michael, à Anthony, à Marcel, à Christophe, à Tristan, à Marion...
A l'étang, à nos soirées, à tous nos week-ends, à tout ce que nous avons partagé, au bonheur de se retrouver...

A tous les copains de La Vigière et du lycée, merci pour ces belles années...
A Maryline et Cyrille, à nos étés à Confolens, à la cabane, au mur de Delair, à la luge dans le ruisseau, aux courses de sac, au mille-bornes...

A toute l'association Absolu Raid,

A votre sur-motivation, à votre énergie, à tout ce que nous partageons, aux trails, aux raids, à votre grain de folie, à la mazaigue, à l'Aveyron, à l'aligot, aux AG...

A tout le team Race Land,

Merci pour cette magnifique aventure sportive aux accents ibériques, à toutes nos courses aux quatre coins du monde...

A la clinique de Saint-Flour,

A Olivier Salat, pour toutes vos connaissances, votre passion, merci de m'avoir permis de vous suivre depuis le début et accompagnée pas à pas,
A Michel Moisset, à Thierry Perrot, à Eric Cluzel, à Fabien Huet, très sincères remerciements pour votre soutien et votre confiance dans mes premiers pas vétérinaires...

A Marc, à Guillaume, à Florent, à Claire, à Aurélien, à Julie merci pour tout ce que vous m'apprenez, pour votre gentillesse, votre bonne humeur...

A Chantal, à Sandrine, à Nathalie, à Madame Perrot, à vos petits soins, à votre gentillesse.

A la clinique de Vaiges,

A Mehdi, à Anne-Françoise, à Farid, à Serge, à Marie, à Nadège, à Anita, à toutes vos familles,

A votre immense gentillesse et générosité, à votre accueil chaleureux aux pays où la pluie ne cesse jamais, à votre confiance pour mon premier rempla, merci de tout

cœur, aux Rouges-des-près, aux premières césariennes, à la platitude de la Mayenne, au dialecte plein de surprises des mayennais...

A la clinique du Vernet,

A Rémi Gautier, à Laurent Guenego, à Alexandre Medelenat, à Aurélie Zara,
A votre passion, à votre patience, à tout ce que vous m'avez appris.

A l'Institut agronomique et vétérinaire Hassan II,

A toute l'équipe du Laboratoire d'Analyses Génétiques, à Mohammed Piro, à tous les enseignants et les étudiants de l'IAV,
A votre accueil chaleureux, aux PCR, aux dromadaires, aux moutons de l'Atlas, au thé à la menthe, aux couscous du vendredi, à la beauté du Maroc.

Au laboratoire de cytogénétique de Toulouse,

A Monsieur le Professeur Alain Ducos, à Anne Calgaro,
Aux puzzles de chromosomes,

A la Jumenterie et au haras du pin,

Aux champs de poulains des plaines normandes, aux pommes, aux paisibles étalons Percherons et aux fougueux Pur-sangs.

A la clinique de Grenade,

A la découverte de la médecine et de la chirurgie équine,

A Denis Ramadier,

A votre gentillesse, à votre passion, à vos jolies Prim'Holsteins.

A mon Pano,

A Nina, à Eden, à Myrresse, à Tayo, à Lady...

« Fais de ta vie un rêve, et d'un rêve, une réalité. »
Antoine de Saint-Exupéry

Anne Lise

A mes parents,

Pour m'avoir toujours guidée et aidée dans mes choix, pour votre soutien dans les moments les plus difficiles

A mes frères,

Pour m'en avoir fait voir des vertes et des pas mûres, mais bon qu'est-ce que je ferais sans vous

A mon oncle Dominique,

Pour ses conseils d'agro et ses livres de chimie qui m'ont sauvé la vie

A Jean-Christophe,

Pour tes éternels encouragements

A Alejandro, Maria Helena, Ignacio y Marisol Del Castillo

Por este año inolvidable con ustedes que me hizo crecer mucho màs que lo pensaba

A Diego,

Por haberme soportado durante la prépa, por este maravilloso viaje hasta Chiloe, por tu entusiasmo, por todo lo que vivimos juntos

A Aurore,

Mon avocate préférée, pour notre complicité et notre amitié inébranlable

A Jean-Baptiste,

Mon confident, pour ta patience, ton écoute, ton soutien, pour avoir toujours été là pour moi

A Nina,

pour nos galères en prépa, pour notre WEIET de poulottes, pour nos péripéties chilobolivienne. On a réussi à réaliser notre rêve, comme tu l'as dit, on leur a cloué le bec !

A Isabelle,

Pour tout ce qu'on a partagé dès notre arrivée à l'école, pour tous ces ciné-clubs et toutes ces heures passées à la bd-thèque, pour nos interminables discussions dans le couloir du 3^{ème} étage du bâtiment B (je suis sûre qu'on manque à nos voisins), aux éclats de rire comme aux larmes que nous avons partagés, pour ta patience, ton écoute et tes conseils, pour ton amitié indispensable

A Tiffany,

Pour Monster Titi, pour les boums passées à faire l'avion, pour les soirées Kinect sans télé et sans Xbox, pour ton genou en mousse, pour ta fidélité en amitié

A Auréline,

Pour la clé à molette, pour tous les Ayyyyyaaaaannnnn, pour le vin de noix, pour le rosé, pour le badminton et pour tous les bons moments passés pendant ces 5 ans

A Anne Lise,

Pour les trèfles à quatre feuilles, pour les cours de conduite sur la neige, pour la Haute-Loire et ses brebis, pour les soupes, les compotes et les pommes, pour la

Mayenne et surtout pour m'avoir supportée, aidée, calmée, boostée, bref pour avoir été ma binôme de choc

A Pumba,

Pour tes Olaho, t'occupe et autres ciaooooo, pour tes gâteaux au chocolat pas cuits et tes piña colada ratées, pour le badminton, pour ta bonne humeur et pour être la plus grande feuille de toute l'histoire de l'ENVT

A Matatias,

Pour les révisions devant Roland Garros à la bd-thèque, pour avoir adopté notre promo et pour tes dessins fabuleux

A Alex, Audrey, Amandine, Carole, Katy, Pascale, Solène, Paul et Franck,

Pour tous les moments studieux et moins studieux passés ensemble, vive le groupe 1-2 !

A Céline, Marion, Alex et Maxime,

Pour nos débuts à l'ENVT et nos petits repas de groupe

A Agnès,

Pour notre expérience de WWOOFeuses en Californie et nos petits concerts toulousains

A Laure, Charlotte, Maud, Nico, Filou et tous les autres,

Aux McDo pré-partiel, aux McDo post-partiels, au McDo d'anniversaire, aux pizzas San Lorenzo, à l'aligot du marché de Noël et à toutes ces petites traditions culinaires qui vont me manquer

A Sylvie, Virginie, Babe et Isa,

Merci de m'aider et de me chouchouter autant, je ne pouvais rêver mieux pour entrer dans la vie active

A l'Aveyron,

Pour sa neige début octobre, pour la vraie vie

Amélie

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS.....	5
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	13
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	19
1. Composition du colostrum.....	20
1.1. Composition de base.....	20
1.2. Composition en immunoglobulines.....	20
1.3. Composition en leucocytes et autres facteurs antimicrobiens non spécifiques.....	21
2. Colostrogénèse	22
2.1. Transsudation et translocation des Ig maternelles	23
2.2. Passage para-cellulaire des leucocytes et immunoglobulines.....	32
2.3. Sécrétion et augmentation du volume colostrale.....	32
3. Endocrinologie de la colostrogénèse.....	33
3.1. Régulation hormonale du développement mammaire	33
3.2. Endocrinologie de la synthèse du colostrum	34
4. Facteurs de variation de la qualité du colostrum	38
4.1. Race	38
4.2. Age	38
4.3. Taille de la portée.....	39
4.4. Durée du tarissement	39
4.5. Alimentation et NEC en fin de gestation	40
4.6. Etat sanitaire et environnement.....	41
5. Sélection génétique et qualité du colostrum.....	41
6. Evaluation de la qualité du colostrum.....	44
6.1. Méthode directe : immunodiffusion radiale	44
6.2. Méthodes indirectes	44
ETUDE EXPERIMENTALE	53
1. Evaluation des performances intrinsèques de la réfractométrie et du pèse colostrum pour l'évaluation indirecte de la concentration en Immunoglobulines G1 du colostrum de brebis	54
1.1. Matériel et méthode.....	54
1.2. Résultats	57
2. Estimation du volume de colostrum et de la masse d'IgG1 produits par les brebis sur 12 heures – endocrinologie	66
2.1. Matériel et méthodes.....	66
2.2. Résultats	70
3. Discussion.....	95
3.1. Evaluation des performances intrinsèques de la réfractométrie et du pèse colostrum pour l'évaluation indirecte de la concentration en IgG1 du colostrum de brebis.....	95
3.2. Production de colostrum chez la brebis.....	97
3.2.3. Endocrinologie.....	100
CONCLUSION.....	102
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	104
ANNEXES	117

TABLE DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure d'une cellule épithéliale mammaire et mécanismes de sécrétion des constituants du colostrum chez la truie.....	22
Figure 2 : Représentation schématique de la structure du FcRn.....	25
Figure 3 : Représentation schématique de la structure des IgG et localisation de la liaison entre le FcRn et les IgG.....	25
Figure 4 : Représentation du complexe IgG-FcRn.	25
Figure 5 : Hybridation <i>in situ</i> de biopsies mammaires de brebis à 5 jours <i>post-partum</i>	26
Figure 6 : Immunohistochimie à partir de biopsies mammaires de brebis en péripartum.	27
Figure 7 : Représentation schématique de la structure du pIgR.....	29
Figure 8 : Représentation schématique de la structure des (IgA) ₂ et localisation de la liaison entre le pIgR et les (IgA) ₂	29
Figure 9 : Représentation schématique de la translocation des IgA dans la cellule épithéliale mammaire.	29
Figure 10 : Représentation schématique de la structure des IgE et localisation de la liaison entre le FcεRII et les IgE.	31
Figure 11 : Expression des récepteurs FcRn, pIgR et FcεRII dans le tissu mammaire pendant le tarissement, la gestation, la colostrogénèse, le début de lactation et la lactation, mesurée par RT-PCR.....	31
Figure 12 : Cinétique des dosages hormonaux (cortisol, prolactine, progestérone, œstrogènes), développement mammaire et dosage des IgG1 chez la vache.....	33
Figure 13 : Comparaison des régressions linéaires entre la concentration en IgG mesurée par IDR et l'indice de réfractométrie du colostrum bovin	46
Figure 14 : Distribution des concentrations en IgG mesurées par IDR.....	58
Figure 15 : Distribution des indices de réfractométrie.....	58
Figure 16 : Distribution des mesures au pèse colostrum.....	59
Figure 17 : Relation entre la mesure au pèse colostrum et la concentration en IgG mesurée par IDR.	610
Figure 18 : Relation entre la mesure au pèse colostrum et la concentration en IgG mesurée par IDR.....	61
Figure 19 : Relation entre l'indice de réfractométrie et la mesure au pèse colostrum.....	62
Figure 20 : Courbe ROC pour le réfractomètre.....	633
Figure 21 : Courbe ROC pour le pèse colostrum.....	64
Figure 22 : Fréquence de distribution des volumes totaux de colostrum produits sur 12 heures.....	711
Figure 23 : Relation entre le volume total de colostrum produit sur 12 heures et le volume produit à T0.....	72
Figure 24 : Relation entre le volume total de colostrum produit sur 12 heures et le volume produit sur 6 heures.	73
Figure 25 : Cinétique des concentrations moyennes en IgG et matière grasse sur 12 heures <i>post-partum</i>	74
Figure 26 : Fréquence de distribution des masses totales d'IgG produite sur 12 heures <i>post-partum</i>	75
Figure 27 : Evolution de la masse d'IgG produite sur 12 heures.	76

Figure 28 : Relation entre la masse d'IgG totale produite sur 12 heures et la masse d'IgG produite à T0.....	787
Figure 29 : Relation entre la masse d'IgG totale produite sur 12 heures et la masse d'IgG produite à T6.....	787
Figure 30 : Relation entre la masse totale d'IgG et le volume total de colostrum produit sur 12 heures <i>post-partum</i>	78
Figure 31 : Fréquence de distribution des masses totales de matière grasse produite sur 12 heures <i>post-partum</i>	79
Figure 32 : Evolution de la masse de matière grasse sur 12 heures.....	80
Figure 33 : Relation entre le volume total de colostrum et la masse totale de matière grasse produits sur 12 heures.	81
Figure 34 : Relation entre la masse totale d'IgG et la masse totale de matière grasse produites sur 12 heures.....	832
Figure 35 : Cinétique des concentrations plasmatiques en cortisol, progestérone et prolactine de J-16 à T12 par rapport à la mise bas.	86
Figure 36 : Cinétiques des dosages hormonaux de cortisol, progestérone et prolactine de J-18 à T12 <i>post-partum</i> pour 4 groupes de brebis définis par les quartiles de volume de colostrum produit sur 12 heures <i>post-partum</i>	88
Figure 37 : Cinétiques des dosages hormonaux de cortisol, progestérone et prolactine de J-16 à T12 <i>post-partum</i> pour 4 groupes de brebis répartis par quartiles de masse d'IgG1 produite sur 12 heures <i>post-partum</i>	921

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Composition moyenne du colostrum et du lait de brebis.	20
Tableau 2 : Composition en immunoglobulines du colostrum et du lait des bovins et de l'homme.....	20
Tableau 3 : Titres des différents isotypes d'immunoglobulines colostrales et ratio colostrum/plasma mesurées par ELISA chez la brebis pendant la colostrogénèse..	21
Tableau 4 : Effet de la race sur la quantité d'IgG1 colostrales.....	38
Tableau 5 : Effet de l'âge de la brebis sur la production d'IgG1 colostrales.....	38
Tableau 6 : Fréquence des haplotypes et génotypes du gène FCGRT chez la vache selon la qualité du transfert de l'immunité passive chez le veau	42
Tableau 7 : Corrélations entre les haplotypes de FCGRT et la qualité du colostrum chez les bovins.	42
Tableau 8 : Comparaison interspécifique des coefficients de corrélation entre l'indice de réfractométrie et la concentration en IgG mesurée par la méthode de référence.	46
Tableau 9 : Sensibilité et spécificité des réfractomètres optique et digital.....	47
Tableau 10 : Sensibilité et spécificité du réfractomètre pour la détection d'un colostrum de concentration < 50 g/L d'immunoglobulines.....	47
Tableau 11 : Sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative du réfractomètre pour la détection d'un colostrum de concentration < 50 g/L d'immunoglobulines.....	47
Tableau 12 : Comparaison interspécifique des coefficients de corrélation entre la densité mesurée au colostromètre et la concentration en IgG mesurée par la méthode de référence	49
Tableau 13 : Sensibilité, spécificité et VPN du colostromètre.....	49
Tableau 14 : Sensibilité et spécificité du colostromètre 1 pour la détection d'un colostrum de concentration < 50 g/L d'immunoglobulines.....	50
Tableau 15 : Sensibilité et spécificité du colostromètre 2 pour la détection d'un colostrum de concentration < 50 g/L d'immunoglobulines.....	50

Tableau 16 : Comparaison des coefficients de corrélation avec la concentration en IgG mesurée par IDR du réfractomètre digital et du colostromètre.	51
Tableau 17 : comparaison de la sensibilité et de la spécificité du réfractomètre digital et du colostromètre.....	51
Tableau 18 : statistiques descriptives des différentes mesures réalisées sur le colostrum.....	57
Tableau 19 : Extrait du calcul des sensibilités et spécificités du réfractomètre.....	63
Tableau 20 : Extrait du calcul des sensibilités et spécificités du pèse colostrum.....	64
Tableau 21 : Part de chaque traite dans la masse totale d'IgG	71
Tableau 22 : Moyennes des volumes produits à T0, T6 et T12.....	72
Tableau 23 : Part de chaque traite dans le volume total de colostrum produit sur 12 heures.	72
Tableau 24 : Masse d'IgG1 produite à chaque traite entre T0 et T1 heures.....	76
Tableau 25 : Part de chaque traite dans la masse totale de colostrum produit sur 12 heures	77
Tableau 26 : Masse de matière grasse produite à chaque traite entre T0 et T1 heures	80
Tableau 27 : Influence de la période d'étude sur la masse totale d'IgG, le volume de colostrum et la masse de matière grasse produits sur 12 heures.....	83
Tableau 28 : Résultats des bactériologies.....	85
Tableau 29 : Influence des mammites subcliniques sur la masse totale d'IgG, le volume de colostrum et la masse de matière grasse produits sur 12 heures	85
Tableau 30 : Comparaison des concentrations moyennes en cortisol, progestérone et prolactine à J-2, T0 et T12 entre 4 groupes de brebis classées selon le volume total de colostrum produit sur 12 heures.	90
Tableau 31 : Comparaison des concentrations moyennes en cortisol, progestérone et prolactine à J-2, T0 et T12 entre 4 groupes de brebis classées selon la masse totale d'IgG produite sur 12 heures	92
Tableau 32 : Comparaison des concentrations moyennes en cortisol, progestérone et prolactine à J-2, T0 et T12 entre 4 groupes de brebis classées selon la masse totale de MG produite sur 12 heures.....	93
Tableau 33 : Comparaison des concentrations moyennes en cortisol, progestérone et prolactine à J-2, T0 et T12 entre 2 groupes de brebis classées selon la NEC	94
Tableau 34 : Comparaison de la sensibilité et de la spécificité du réfractomètre et du colostromètre.....	96

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1 : Performances intrinsèques du réfractomètre	117
ANNEXE 2 : Performances intrinsèques du pèse colostrum	118
ANNEXE 3 : Matériel et méthode du protocole « Quantité » : cases d'agnelage	119
ANNEXE 4 : Résultats de bactériologie.....	120

LISTE DES ABREVIATIONS

ARN	Acide ribonucléique
ARNm	Acide ribonucléique messenger
β2m	Béta-2-microglobuline (protéine ou gène)
BMC	Blanc du Massif Central
CORAM	Collectif des races des massifs
DEGERAM	Développement de la génomique des races locales des massifs

FcεRI	Fc récepteur spécifique des immunoglobulines E de forte affinité
FcεRII ou CD23	Fc récepteur spécifique des immunoglobulines E de faible affinité
FCGRT	Chaînes alpha du Fc récepteur néonatal (protéine ou gène)
bFcRn	Fc récepteur néonatal bovin
FcR	Fc récepteurs
FcRn	Fc récepteur néonatal
GH	Hormone de croissance (Growth Hormone)
IC _{95%}	Intervalle de confiance à 95 %
IDR	Immunodiffusion radiale
Ig	Immunoglobuline
IgA	Immunoglobuline isotype A
(IgA) ₂	Dimère d'immunoglobulines A
IgE	Immunoglobuline isotype E
IgG	Immunoglobuline isotype G
IgG1	Immunoglobuline isotype G1
IgG2	Immunoglobuline isotype G2
IgM	Immunoglobuline isotype M
J-chain	Peptide de jonction entre deux immunoglobulines A
m	Moyenne
MG	Matière grasse
n	Nombre (effectif)
NEC	Note d'état corporel
NV	Noir du Velay
OR	Odds Ratio
plgA	Polymère d'immunoglobulines A
plgM	Polymère d'immunoglobulines M
plgR	Poly-immunoglobulin receptor
P	Risque d'erreur de premier ordre ou risque alpha
PCR	Polymerase chain reaction
PGF2α	Prostaglandine F2α
PRL	Prolactine
r	Coefficient de corrélation de Pearson
RT-PCR	Real time polymerase chain reaction
SC	Composant sécrétoire
Se	Sensibilité
SNP	Single nucleotide polymorphism
Sp	Spécificité
TIP	Transfert de l'immunité passive
VPN	Valeur prédictive négative
VPP	Valeur prédictive positive

INTRODUCTION

Le **colostrum** est constitué des sécrétions accumulées dans la mamelle pendant les **dernières semaines de gestation**, enrichi en **immunoglobulines transsudées** du sang vers les alvéoles mammaires. Le colostrum procure au nouveau-né l'énergie requise pour sa thermorégulation, les premiers nutriments nécessaires à sa croissance et une grande quantité d'immunoglobulines, de leucocytes et différents facteurs antimicrobiens non spécifiques indispensables à sa protection.

Chez les ovins, la placentation syndesmochoriale est imperméable aux immunoglobulines maternelles. Les agneaux naissent donc agammaglobulinémiques et le **transfert de l'immunité maternelle** nécessite l'absorption de colostrum dans les premières heures de vie. Les immunoglobulines absorbées par l'agneau sont transportées dans des vésicules de pinocytose de la bordure en brosse vers la membrane basale de l'épithélium intestinal et rejoignent la circulation générale du nouveau-né par voie lymphatique puis veineuse. Cependant, autant le transfert des immunoglobulines dans le colostrum de la mère que la perméabilité de l'épithélium intestinal du nouveau-né sont transitoires et diminuent brutalement dans les 48 heures après la naissance. Le transfert de l'immunité passive requiert donc l'absorption d'un colostrum de qualité, en quantité suffisante, dans les premières heures de vie.

En élevage ovin, un défaut de transfert de l'immunité passive est un facteur majeur d'augmentation du risque de morbidité et/ou de mortalité et influence fortement la survie précoce et les performances futures des agneaux. Il dépend de la **quantité et de la qualité du colostrum produit par la brebis et bu par le nouveau-né, ainsi que du délai entre la naissance et la première prise colostrale**.

Peu d'études ont été réalisées dans l'espèce ovine. Elles ont toutefois mis en exergue une **variabilité** importante de la quantité et de la qualité du colostrum de brebis. L'identification des **facteurs de variation** repose sur une connaissance fine des mécanismes cellulaires et moléculaires de la **colostrogénèse** et de sa **régulation endocrinienne et génétique** afin de cibler les potentiels éléments de **maitrise de la qualité et de la quantité du colostrum**. L'essentiel des données de la littérature est issu de l'espèce bovine.

Dans cet objectif, afin d'évaluer la qualité du colostrum, il est nécessaire de disposer d'**outils de mesure** fiables, répétables et utilisables au pied de l'animal. Dans les espèces bovine, porcine et équine, la concentration en immunoglobulines colostrales est estimée indirectement par deux méthodes : la **réfractométrie** et le **pèse colostrum**. Les **valeurs intrinsèques** des ces deux méthodes d'analyses ont été estimées chez les bovins mais restent **non évaluées chez les ovins**.

De **nouvelles perspectives de sélection** permettant à terme de diminuer la mortalité des agneaux ont ouvert la voie de la recherche d'un schéma de **sélection génétique des brebis sur la qualité et la quantité de leur colostrum**. Des études de calcul de l'héritabilité de la masse totale d'immunoglobulines G1 colostrales, estimée à 0,45 par HALLIDAY (1978), ont nourri l'espoir d'une sélection des brebis sur ce caractère.

La **sélection génomique** repose sur l'identification de **mutations nucléotidiques ou SNP** (Single nucleotide polymorphism). Or, les effecteurs immunitaires du colostrum sont essentiellement les immunoglobulines, notamment l'isotype G1 (IgG1) qui représente environ 80 à 90 % des IgG, soit 85 à 90 % des immunoglobulines totales. Les IgG1 sont transsudées dans des vésicules du sang vers l'alvéole mammaire par le **FcRn**, un récepteur spécifique exprimé à la surface basolatérale des cellules épithéliales mammaires. Ce FcRn est un hétérodimère codé par **deux gènes** : le gène FCGRT qui code pour la partie membranaire (homologue de la chaîne alpha du complexe majeur d'histocompatibilité de type I) ; et le gène $\beta 2m$ qui code pour la partie cytoplasmique (beta-2-microglobuline). Plusieurs études menées chez les bovins par LAEGRIED et al. (2002), ZHANG et al. (2009), CLAWSON et al. (2004) et ZHAO et al. (2011) ont identifié **plusieurs SNP corrélés à une différence de quantité et de qualité du colostrum**.

Compte-tenu de ces résultats, l'objectif de **sélectionner les brebis sur la quantité et la qualité de leur colostrum** a motivé ces travaux de recherche. Dans le cadre de la convention interrégionale du Massif Central, le **CORAM** (collectif des races des massifs) en collaboration avec l'**UMT Santé des Troupeaux de Petits Ruminants**, a déposé un projet de recherche auprès du **DEGERAM** (développement de la génomique des races locales des massifs), animé par le centre de sélection UPRA Blanc du Massif Central de **FEDATEST**.

(1) Le premier objectif de notre étude était d'évaluer **les performances intrinsèques de la réfractométrie et du pèse colostrum pour l'évaluation indirecte de la concentration en immunoglobulines G du colostrum**.

(2) Le second objectif était d'évaluer la **production colostrale** et d'en évaluer la **variabilité interindividuelle**.

Notre étude repose sur deux hypothèses pour expliquer cette variabilité chez la brebis : elle est due, soit à une différence de profils endocriniens pendant la colostrogénèse ; soit, à une variation génétique de la capacité de transport des IgG à travers l'épithélium mammaire.

(3) C'est pourquoi, nous avons **évalué les cinétiques des concentrations sériques de progestérone, du cortisol et de la prolactine** afin de confirmer ou d'infirmer l'hypothèse d'un déterminisme endocrinien de la variabilité de la production colostrale.

Enfin, notre étude offre la perspective de **séquencer les gènes qui codent pour le FcRn (FCGRT et $\beta 2m$) et de corrélés les différents SNP à la quantité d'IgG colostrales**.

PREMIERE PARTIE :

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. COMPOSITION DU COLOSTRUM

1.1. Composition de base

Le colostrum de brebis est **très riche en protéines**, relié à un extrait sec et une densité bien plus élevés que le lait. La composition moyenne du colostrum de brebis est donnée dans le tableau 1. Ces concentrations moyennes sont cependant discutables car les variations interindividuelles et liées au moment de la traite (première traite versus les jours suivants) sont très importantes.

	Matières grasses	Matières protéines	Lactose	Caséines	Immunoglobulines	Matières minérales
Colostrum (g/L)	70-160	100-200	30-40	30-35	30-180	8-10
Lait (g/L)	70-75	55-60	45-55	45-50	0,5-1	8-10
Rapport Colostrum/Lait	1-1,5	2-4	0,8	0,8	50-200	1

Tableau 1 : Composition moyenne du colostrum et du lait de brebis. [Sources multiples]

Le colostrum dispense une grande quantité d'énergie aux agneaux, grâce à sa plus **forte teneur en matière grasse**, participant ainsi à la thermorégulation du nouveau-né.

Le colostrum couvre largement les besoins de l'agneau en minéraux, en calcium, en phosphore, en magnésium, en sodium, en potassium et en zinc. Les apports colostraux en fer, cuivre et manganèse sont insuffisants mais le statut minéral du nouveau-né n'en dépend pas totalement, puisque ces minéraux traversent le placenta syndesmochorial. Le colostrum est très riche en vitamines liposolubles (A, D et E).

1.2. Composition en immunoglobulines

Les **immunoglobulines** sont les composants essentiels au transfert de l'immunité passive dans le colostrum et le lait. Les concentrations en immunoglobulines G (IgG) dans le colostrum sont 10 à 40 fois supérieures aux concentrations sériques maternelles. Contrairement à celui de l'homme, le colostrum de bovin est particulièrement riche en **isotype G1** (IgG1) : il contient 40 à 50 mg/mL d'IgG1 soit environ 80% de la quantité totale d'immunoglobulines et seulement 4 mg/mL d'IgG2, alors que leurs concentrations plasmatiques sont très proches, environ 10 mg/mL. Les concentrations en IgG dans le lait représentent moins de 1 % des concentrations colostrales (respectivement 0,59 et 0,02 mg/ml d'IgG1 et d'IgG2) [BUTLER et HOWARD, 1973 ; STELWAGEN et al., 2009] [Tableau 2].

Espèces	Immunoglobulines	Concentration, mg/mL		% immunoglobulines totales	
		Colostrum	Lait	Colostrum	Lait
Bovins	IgG1	47,60	0,59	81,0	73,0
	IgG2	2,90	0,02	5,0	2,5
	IgA	3,90	0,14	7,0	18,0
	IgM	4,20	0,05	7,0	6,5
Homme	IgG	0,43	0,04	2,0	3,0
	IgA	17,35	1,00	90,0	87,0
	IgM	1,59	0,10	8,0	10,0

Tableau 2 : Composition en immunoglobulines du colostrum et du lait des bovins et de l'homme. [BUTLER et HOWARD, 1973]

Les concentrations colostrales et sériques des différents isotypes d'immunoglobulines ainsi que le ratio des concentrations colostrales/sériques mesurées chez la brebis sont données dans le tableau 3. Dans le colostrum de brebis, les IgG1 sont les plus abondantes (93,79 % ; 516389/550565). Les IgG2, IgA, IgM et IgE ne représentent respectivement que 5,96 %, 0,10 %, 0,08 % et 0,07 %. Le ratio des concentrations colostrales/(colostrales et plasmatiques) montre une accumulation décroissante des IgG1, puis IgA, IgM, puis IgE et enfin IgG2 dans le colostrum [HINE et al., 2010].

Isotypes	titre en immunoglobulines mesurées au cours de la colostrogénèse (prélèvement 12h post partum)		
	colostrum *	plasma *	ratio colostrum/plasma **
IgG1	516 389 (44 965)	61 077 (5 424)	0.85 a
IgG2	32 790 (4 781)	179 741 (17 855)	0.15 b
IgA	573 (66)	66 (7)	0.89 a
IgM	437 (73)	221 (25)	0.66 c
IgE	376 (42)	82 (11)	0.82 d

Tableau 3 : Titres des différents isotypes d'immunoglobulines colostrales et ratio colostrum/plasma mesurées par ELISA chez la brebis pendant la colostrogénèse (12h post partum) (n=24). [HINE et al., 2010]

* titre moyen d'Ig (+/- écart-type)

** ratio colostrum/plasma = titre d'IgG dans les sécrétions mammaires / (titre d'IgG dans les sécrétions mammaires + titre d'IgG dans le plasma) pour chaque isotype

La composition en immunoglobulines du colostrum produit par héli-mamelle ne présente pas de différence significative (n=21, P>0,2) [SHUBBER et DOXEY, 1978]. HALLIDAY (1978) a estimé que la corrélation entre les quantités d'IgG1 produites par héli-mamelle est de 0,891 (P<0,001).

1.3. Composition en leucocytes et autres facteurs antimicrobiens non spécifiques

Outre des immunoglobulines, d'autres **facteurs immunitaires non spécifiques** sont retrouvés dans le colostrum : neutrophiles, macrophages, composant sécrétoire SC, complément, oligosaccharides, gangliosides, protéines de la phase aiguë de l'inflammation, cytokines anti ou pro-inflammatoires, ribonucléases et des protéines à activité antimicrobienne directe. La plupart de ces composants provient de cellules spécialisées qui transitent dans la glande mammaire. Par exemple, des neutrophiles et des macrophages infiltrent le parenchyme mammaire pour phagocyter directement des bactéries mais aussi pour synthétiser localement de nombreuses cytokines, radicaux oxygénés et peptides antimicrobiens qui se retrouvent ensuite dans le colostrum. Les cellules épithéliales mammaires synthétisent également des **facteurs antimicrobiens non spécifiques** : transferrines, β -défensine et des protéines capables de fixer les lipopolysaccharides [REITER, 1978 ; STELWAGEN et al., 2009].

Les leucocytes colostraux traversent l'épithélium intestinal pour passer dans le sang du nouveau-né, grâce à des récepteurs cellulaires LFA-1 (CD11a), CD 43 et L-sélectine (CD62L) [REBER et al., 2006].

Dans l'objectif de cibler les potentiels éléments de **maitrise de la quantité et de la qualité du colostrum**, une connaissance fine des mécanismes cellulaires et moléculaires de la **colostrogénèse** et de sa **régulation endocrinienne et génétique** est indispensable.

2. COLOSTROGENESE

La colostrogénèse n'a fait l'objet que de très **peu d'études chez la brebis** : c'est pourquoi l'essentiel des données de la littérature a été issu des espèces bovine et porcine.

Chronologiquement, la **colostrogénèse** se scinde en deux phases, suivant des mécanismes différents [Figure 1] [DEVILLERS et al., 2006] :

- d'une part, les composants sériques sont prélevés et transférés pour **s'accumuler dans la glande mammaire** selon deux voies :
 - le **passage trans-cellulaire (transcytose)** : concerne les immunoglobulines plasmatiques et de nombreux facteurs de croissance et hormones ;
 - le **passage para-cellulaire** : permet la translocation de leucocytes et de quelques immunoglobulines.
- d'autre part, une **phase sécrétoire** permet l'**augmentation du volume** de colostrum produit et la dilution des constituants sériques transsudés. Les protéines et la matière grasse colostrales suivent deux voies différentes :
 - **l'exocytose** ;
 - la **sécrétion des gouttelettes lipidiques**.

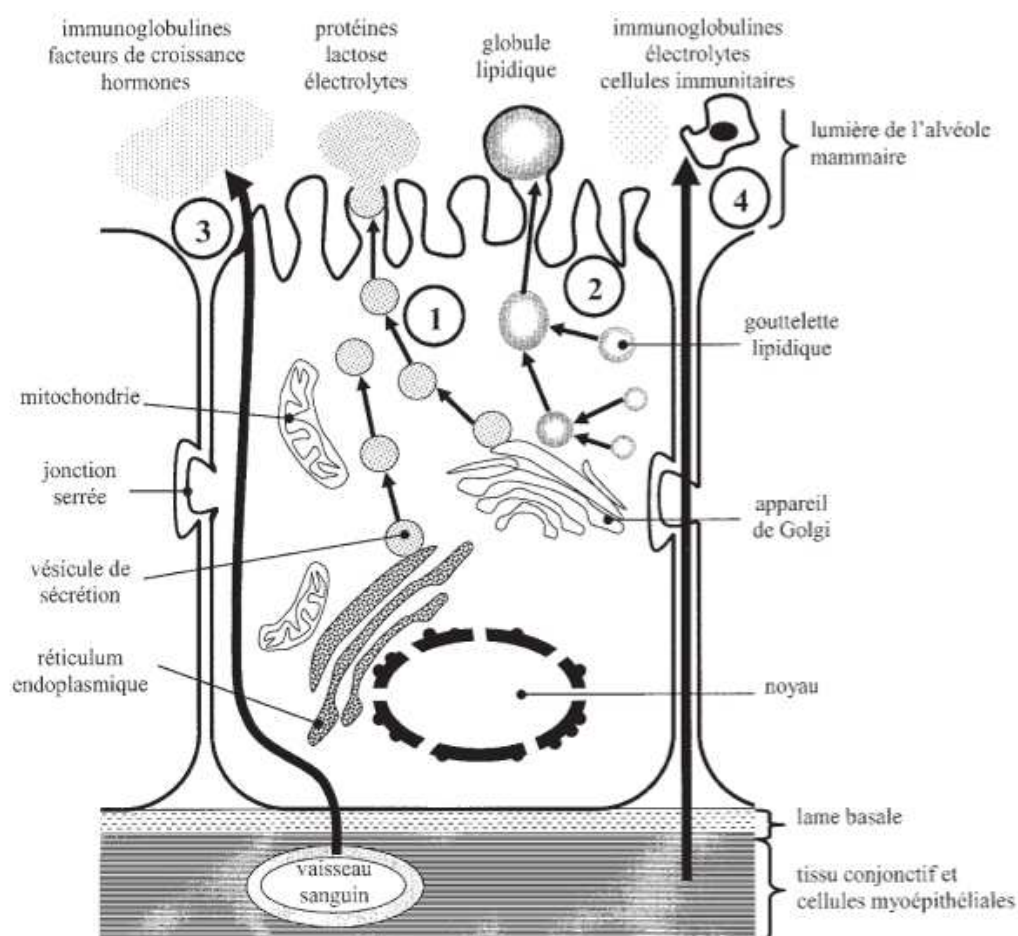


Figure 1 : Structure d'une cellule épithéliale mammaire et mécanismes de sécrétion des constituants du colostrum chez la truie. [DEVILLERS et al., 2006]

- 1- Exocytose
- 2- Sécrétion des gouttelettes lipidiques
- 3- Voie trans-cellulaire
- 4- Voie para-cellulaire.

Les voies de sécrétion (exocytose des protéines et sécrétion des gouttelettes lipidiques) sont les mêmes en phases colostrale et lactée, alors que les **voies trans-cellulaire et para-cellulaire** sont **spécifiques de la colostrogénèse**.

2.1. Transsudation et translocation des Ig maternelles

La quasi-totalité des IgG, 50 à 70 % des IgM et 50% des IgA sont **directement filtrées à partir du sérum** [NEWBY et BOURNE, 1977]. Le reste, moins de 5% des IgG, 50% des IgA et 30 à 50% des IgM sont synthétisées localement par les plasmocytes présents dans la glande mammaire [LARSON et al., 1980].

L'épithélium glandulaire de la mamelle forme une barrière entre le compartiment vasculaire et la lumière alvéolaire. Les cellules épithéliales mammaires sont liées entre elles par des **jonctions serrées** qui permettent le passage d'ions, de petites molécules, de peptides et de lipides.

Les ratios décroissants des concentrations colostrales/(colostrales et plasmatiques) des différents isotypes d'Ig indiquent un transfert préférentiel des IgG1, des IgA, des IgE et des IgM. La différence entre isotypes peut résulter :

- soit d'une différence de filtration à travers l'endothélium vasculaire due, par exemple, à une différence de taille des molécules ;
- soit d'une différence de synthèse locale d'Ig par les plasmocytes dans le parenchyme mammaire ;
- soit d'une différence d'expression de récepteurs spécifiques d'un isotype d'Ig ;
- soit d'une différence d'affinité du ligand pour son récepteur, dans le cas des IgM et des IgA qui partagent le même récepteur ;
- soit, dans le cas d'Ig qui ne traversent pas la cellule épithéliale mammaire, d'une différence de migration des plasmocytes entre les cellules épithéliales mammaires.

Une faible partie des immunoglobulines cheminerait du sang jusqu'à la lumière alvéolaire entre les cellules épithéliales mammaires, en passant par les jonctions serrées (voie para-cellulaire) [LACY-HULBERT et al., 1999]. Mais, la majorité des immunoglobulines est transférée selon un **transport trans-cellulaire, sélectif**, mettant en jeu des **récepteurs spécifiques** à la surface des cellules épithéliales mammaires.

Organisées en acini, les cellules épithéliales mammaires sont polarisées : la surface au contact de l'endothélium vasculaire forme le **pôle basal** alors que la surface qui délimite la lumière constitue le **pôle apical**. Les pôles basal et apical sont liés par un réseau de **vésicules de transport** intracellulaires qui assurent la **transsudation et la translocation** des molécules du sang vers le colostrum. Ce transfert moléculaire trans-cellulaire, appelé **transcytose**, est permis par des **récepteurs transmembranaires** qui fixent une molécule spécifique (IgG1, IgA, IgM et IgE), l'internalise dans une vésicule cytoplasmique qui traverse la cellule jusqu'au pôle apical.

Chez la vache, le transfert des immunoglobulines sériques débute **plusieurs semaines avant la mise bas**, est maximal 1 à 3 jours avant la parturition et **cesse brutalement 2 jours post-partum** [SASAKI et al., 1976].

2.1.1. Fc récepteur néonatal (FcRn) : transfert des IgG

Des concentrations colostrales en IgG1 très supérieures aux concentrations plasmatiques en IgG1 et aux concentrations colostrales en IgG2 suggèrent un mécanisme de transport membranaire sélectif des IgG1.

La présence de récepteurs de forte affinité pour les IgG1 a été suggérée par BRAMBEL et al. (1958) et SASAKI et al. (1977). HAMMER et MOSSMANN (1978) ont établi l'existence de **récepteurs des fragments Fc** des IgG1 (IgG1-Fc) sur l'épithélium acinaire de la glande mammaire de la vache au cours de la colostrogénèse (10 jours prépartum). Les complexes IgG1-Fc ont été détectés par immunohistochimie. Les IgG1 se fixent sur leurs récepteurs spécifiques en phase colostrale mais non en cours de lactation. Les IgG2, IgM et IgA ne se fixent pas sur ces mêmes récepteurs à la surface des cellules épithéliales mammaires. Ces observations suggèrent donc le rôle des récepteurs IgG1-Fc dans le transport spécifique des IgG1 du plasma vers le colostrum.

BARRINGTON et al. (1997) ont confirmé ces résultats en mettant en évidence l'expression de récepteurs spécifiques à IgG1 à la surface des cellules épithéliales mammaires des bovins par immunohistochimie à partir de biopsies mammaires réalisées sur 12 Prim'Holsteins. Les récepteurs spécifiques des IgG1 sont exprimés au pôle apical des cellules alvéolaires mammaires pendant la colostrogénèse alors qu'ils disparaissent dans la mamelle en lactation. Les IgG2 ne présentent de récepteurs spécifiques ni pendant la colostrogénèse, ni pendant la lactation.

Ce **transfert sélectif des IgG1** fait donc intervenir un récepteur spécifique appelé le **récepteur néonatal Fc** ou **FcRn** (ou récepteur de Brambel).

Les récepteurs FcR sont des molécules à la surface des membranes cellulaires qui fixent le fragment Fc des immunoglobulines. Chaque FcR reconnaît un isotype ou quelques isotopes d'immunoglobulines de structures très proches. On peut distinguer deux classes de FcR: une classe de FcR, présents à la surface des cellules effectrices, entraînent différentes réponses biologiques après fixation d'un immun-complexe (FcY pour les IgG, Fcε pour les IgE et le Fcα pour les IgA) ; l'autre classe de FcR est responsable du transport des immunoglobulines à travers les barrières épithéliales (FcRn et le récepteur poly IgA (pIgR)) [RAVETCH, 1997].

Le FcRn a été identifié initialement chez le rat : il permet le **transport trans-épithélial** des immunoglobulines maternelles à travers la barrière intestinale du nouveau-né [RODEWALD, 1976 ; SIMISTER et REES, 1985]. Localisé dans la bordure en brosse des entérocytes chez les rongeurs, ce récepteur fixe les IgG1 du colostrum ingéré et permet leur transfert à travers les entérocytes pour les concentrer dans le flux vasculaire du nouveau-né [RODEWALD et KRAEHENBUHL, 1984 ; HE et al., 2008]. Le FcRn a aussi été détecté dans la glande mammaire des souris en lactation : ce qui suggère son rôle dans la régulation du transfert des IgG1 dans le lait. Chez l'homme, les immunoglobulines maternelles sont transférées à travers le placenta directement dans le sang du fœtus pendant la vie intra-utérine via le FcRn. De plus, l'expression du FcRn dans différents tissus (hépatique, rénal,

mammaire, pulmonaire et intestinal) suggère son rôle de transporteur des IgG dans ces organes. La présence du FcRn a aussi été démontrée à la surface des cellules endothéliales vasculaires qui protègent les IgG circulant et l'albumine de la dégradation et augmentent significativement leur demi-vie, participant ainsi à l'homéostasie des concentrations sériques en IgG1 et albumine [GUETIE et WARD, 2000 ; ANDERSON et al., 2006].

Le FcRn est un **hétérodimère** composé d'un homologue de la **chaîne alpha du complexe majeur d'histocompatibilité de type I (CMH-1)** ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$) glycoprotéine membranaire (**FCGRT**) et de la **beta-2-microglobuline ($\beta 2m$)** [KASCKOVICS, 2004] [Figure 2]. Les IgG1 se fixent au niveau des domaines CH2 et CH3 ($C_{\gamma 2}$ - $C_{\gamma 3}$) du fragment Fc sur les domaines $\alpha 1$ et $\alpha 2$ du FcRn (FCGRT) [GHETIE et WARD, 2000 ; TESAR et BJORKMAN, 2010] [Figures 3 et 4].

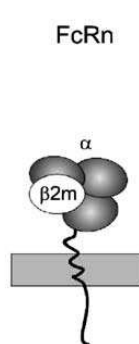


Figure 2 : Représentation schématique de la structure du FcRn. [KASCOVICS, 2004]

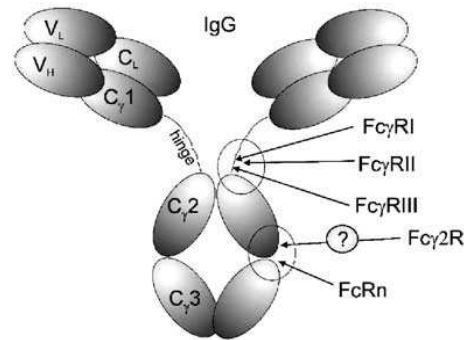


Figure 3 : Représentation schématique de la structure des IgG et localisation de la liaison entre le FcRn et les IgG. [KASCOVICS, 2004]

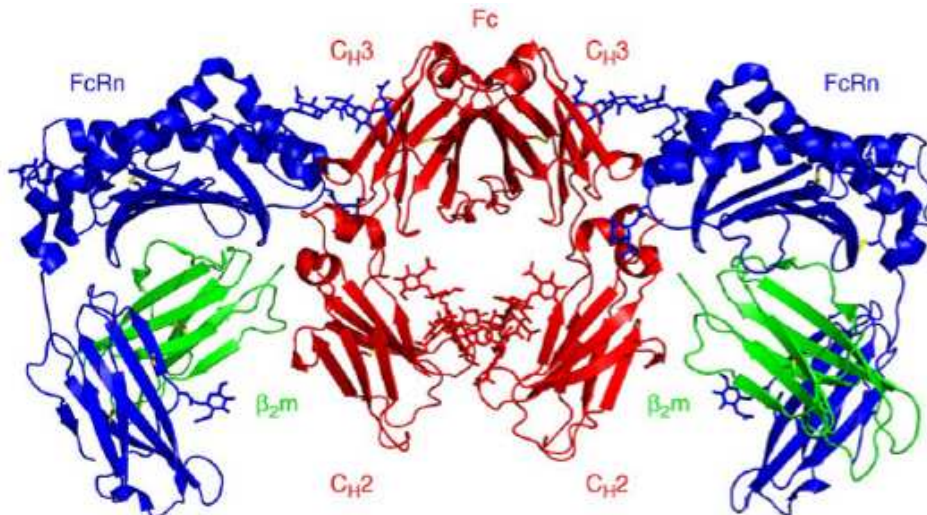


Figure 4 : Représentation du complexe IgG-FcRn. [TESAR, 2010]

bleu : $\alpha 1$ et $\alpha 2$ du FCGRT (chaînes lourdes)
vert : $\beta 2m$ (chaîne légère)
rouge : fragment Fc de l'IgG (domaines CH2 et CH3)

Le transfert intestinal des immunoglobulines chez les ruminants est non-spécifique, sans sélection d'isotype, ce qui explique que le profil en immunoglobulines sériques de l'agneau soit semblable au profil en immunoglobulines colostrales. Il est de très courte durée (premiers jours de vie) ; l'intestin devient imperméable aux immunoglobulines [LECCE et MORGAN, 1962]. Cependant, il a été clairement démontré que le FcRn est exprimé à la surface des

cellules épithéliales des cryptes du duodénum chez les ruminants. Il permet de recycler les IgG1 absorbées qui se retrouvent ainsi dans la lumière intestinale, participant aux défenses locales du tube digestif dans les premiers jours de vie [BESSER et al., 1988 ; MAYER et al., 2002]. L'absence du FcRn dans les villosités des entérocytes confirme que le transfert des IgG du colostrum de la lumière intestinale vers le sang du nouveau-né ne dépend pas du FcRn chez les ruminants.

En comparaison avec les mécanismes de transport spécifique des IgG1 à travers l'épithélium intestinal du nouveau-né chez le rat et l'homme, l'hypothèse du rôle du FcRn dans le transfert sélectif des IgG1 colostrales chez les ruminants a été minutieusement étudiée en péripartum.

A partir de biopsies mammaires de brebis gestantes en péripartum (à J-24, J-10, J1, J5, J14 et J75 de l'agnelage), les ARNm codant pour les chaînes alpha des FcRn ont été recherchés par hybridation in situ. Il a été montré une forte expression de ces ARNm dans les cellules épithéliales mammaires des acini et des canaux excréteurs de J-24 à J14 [Figure 5] [MAYER et al., 2002].

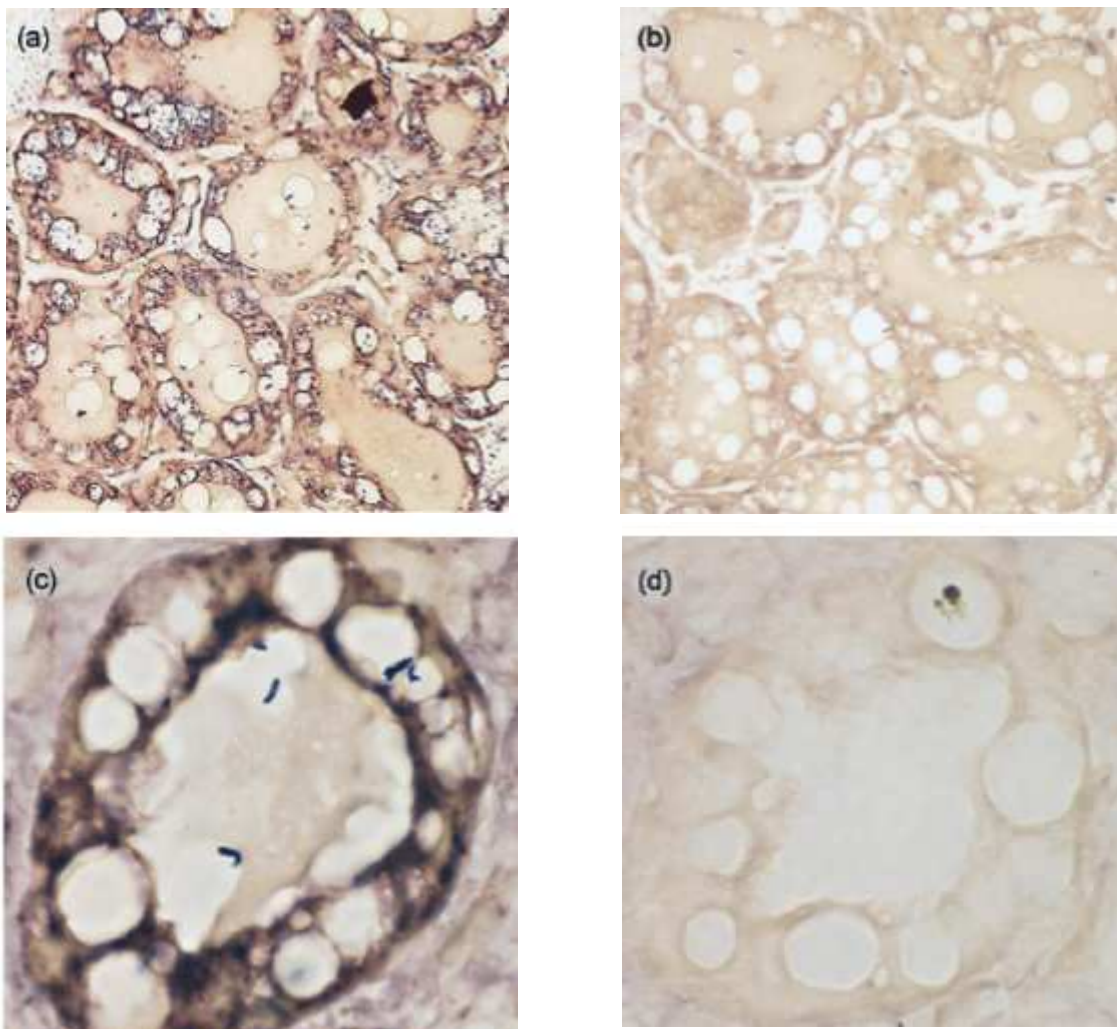


Figure 5 : Hybridation in situ de biopsies mammaires de brebis à 5 jours post-partum. [MAYER et al., 2002]

- (a) hybridation avec les ARNm anti-sens complémentaire du FcRn (x 40)
- (b) témoin : hybridation avec les ARNm sens du FcRn (même zone de lecture) (x 40)
- (c) idem (a) (x 100)
- (d) idem (b) (x 100)

Ces résultats ont été confirmés par immunohistochimie. Le cytoplasme des cellules épithéliales mammaires des acini et des canaux excréteurs est marqué de façon homogène avant la mise bas alors qu'une différence significative de la distribution des FcRn est observée en *post-partum*. A J1 et J5 *post-partum*, les FcRn sont présents uniquement au pôle apical des cellules épithéliales [Figure 6]. Cette différence de distribution du FcRn avant et après la mise bas, soutient l'hypothèse que le FcRn joue un rôle majeur dans la **transsudation des immunoglobulines sériques vers la lumière alvéolaire**.

Les récepteurs FcRn apparaissent, dès l'involution mammaire, sur la **membrane basale ou intercellulaire (pôle basolatéral)** des cellules épithéliales mammaires nouvellement formées au niveau des acini. La **fixation des IgG1 sur le FcRn** entraîne alors la formation d'une **vésicule de transport** qui **traverse le cytoplasme jusqu'au pôle apical** des cellules pour déverser son contenu dans la **lumière alvéolaire** [MAYER et al., 2002].

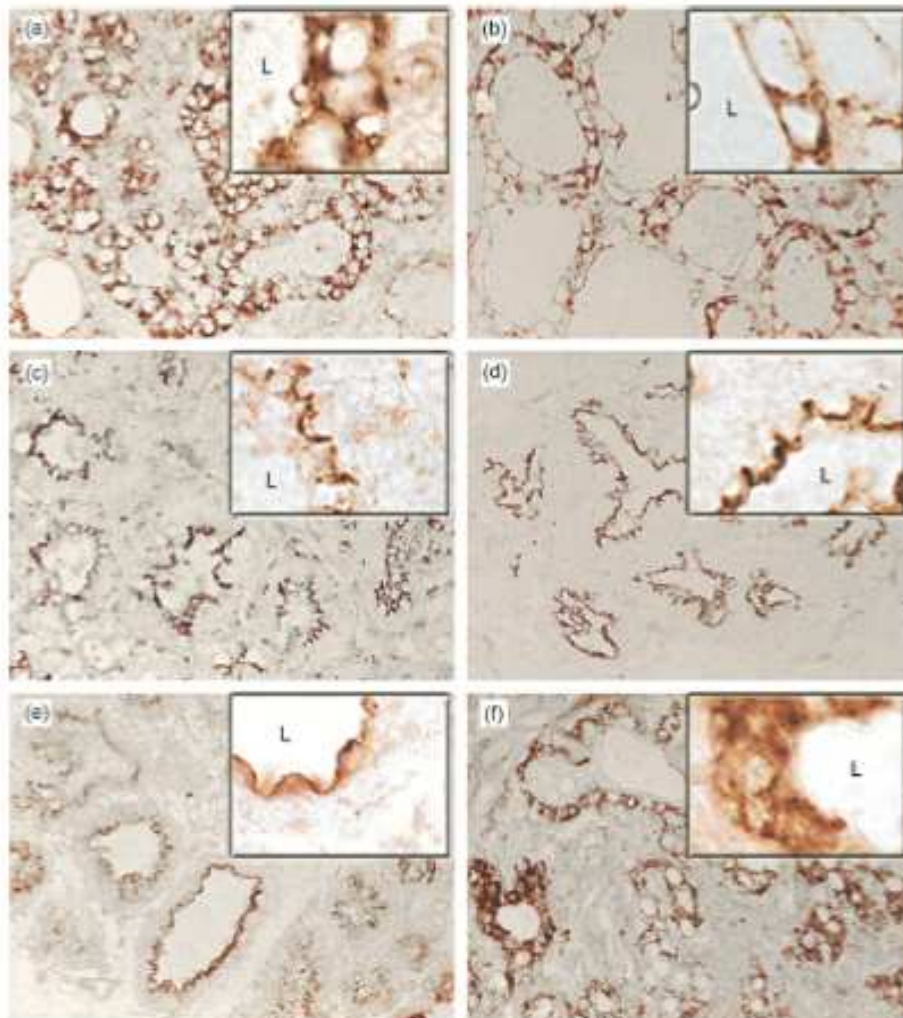


Figure 6 : Immunohistochimie à partir de biopsies mammaires de brebis en péripartum. [MAYER et al., 2002]

- (a) Détection forte et diffuse des FcRn dans le cytoplasme des cellules des acini et des canaux à J-24
- (b) Détection forte et diffuse des FcRn dans le cytoplasme des cellules des acini et des canaux à J-10
- (c) Détection des FcRn au pôle apical des cellules épithéliales mammaires à J1
- (d) Détection des FcRn au pôle apical des cellules épithéliales mammaires à J5
- (e) Détection des FcRn au pôle apical des cellules épithéliales mammaires à J14
- (f) Localisation diffuse des FcRn dans le cytoplasme des cellules épithéliales mammaires à J 75
- (g) Lumière des *acini*

observations au microscope optique x 40 et x 100.

La présence de transcriptomes de FcRn dans la mamelle après involution mammaire a confirmé son rôle dans le transport des IgG [KACSKOVICS, 2004].

Le rôle du FcRn dans l'accumulation des IgG1 dans le colostrum est également suggéré par la mise en évidence d'une corrélation entre différents haplotypes du gène FcRn bovin (bFcRn) (chaîne lourde et la bêta 2-microglobuline) chez la vache et les concentrations sériques en IgG1 chez le veau ainsi que les concentrations colostrales en IgG1 [CLAWSON, 2004 ; LAEGREID, 2002].

Des souris transgéniques capables de surexprimer le gène codant pour la chaîne lourde et la bêta 2-microglobuline du FcRn bovin (bFcRn) dans leur glande mammaire en lactation ont montré que les concentrations en IgG augmentent dans le sérum et dans le lait : ces observations montrent que la surexpression du bFcRn est responsable de la protection des IgG du catabolisme et augmente leur durée de vie dans le flux sanguin. Cependant, aucune accumulation d'IgG1 endogènes de souris, ni d'IgG1 bovines injectées n'entraîne une rétention des IgG1 dans le sérum ni d'accumulation d'IgG1 dans le lait [LU et al., 2007]. Ces résultats ont été controversés : les divergences spécifiques de fonctions du FcRn entre les murins et les ruminants remettent en question l'interprétation de ces observations [CERVENAK et KACSKOVICS, 2009].

L'affinité des IgG1 pour le FcRn est **pH-dépendante**. Le FcRn fixe l'IgG1 à un pH légèrement acide au pôle basolatéral des cellules épithéliales mammaires. Le complexe IgG1/FcRn traverse la cellule dans une vacuole cytoplasmique à pH acide : les **résidus d'histidine du site de fixation** permettent une forte affinité entre le FcRn et l'immunoglobuline à un faible pH et protègent ainsi l'IgG de la dégradation. L'endosome migre jusqu'au pôle apical de la cellule épithéliale. L'affinité entre l'IgG1 et le FcRn est plus faible à pH neutre : l'IgG1 est alors libérée dans la lumière des acini [ANDERSON et al., 2006].

La régulation intracellulaire du transfert des IgG1 du pôle basolatéral vers le pôle apical repose sur la partie cytoplasmique du FcRn ($\beta 2m$) [TESAR et BJORKMAN, 2010]. La $\beta 2m$ est essentielle pour l'expression du FcRn à la surface des cellules épithéliales mammaires. En effet, en l'absence de la $\beta 2m$, le FcRn reste dans le réticulum endoplasmique [PRAETOR et HUNZIKER, 2002]. De plus, en l'absence de la $\beta 2m$, l'affinité des IgG1 pour le FcRn est plus faible [KIM et al., 2008].

La fonction de transcytose du FcRn nécessite donc l'expression des **deux gènes** qui codent pour ce récepteur : les gènes FCGRT et $\beta 2m$.

2.1.2. Polymeric Immunoglobulin Receptor (pIgR) : transfert des IgA

Chez les ruminants, les **IgA** sériques circulent sous **forme dimérique (IgA)₂** ou **polymérique (pIgA)** [SCICCHITANO et al., 1984]. Les IgA du colostrum des bovins sont synthétisées par des plasmocytes résidant dans le parenchyme de la mamelle, attirés par une production locale de chémokines [WILSON et BUTCHER, 2004]. Au contact des cellules épithéliales mammaires, les IgA dimériques (IgA)₂ ou polymériques (pIgA) se fixent sur les **récepteurs pIgR** (polymeric immunoglobulin receptor) exprimés au **pôle basolatéral** des cellules puis, traversent les cellules pour être déversées dans la lumière alvéolaire [Figures 7 et 8]. Au pôle apical, une **protéinase clive le pIgR** et libère le fragment du pIgR lié par liaison covalente aux IgA, le **composant sécrétoire SC** (SC-(IgA)₂ ou SC-pIgA, appelé SIgA) [Figure 9] [APODACA et al., 1994 ; KACSKOVICS, 2004].

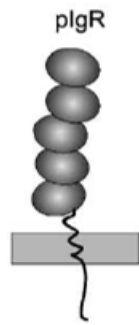


Figure 7 : Représentation schématique de la structure du pIgR. [KASCOVICS, 2004]

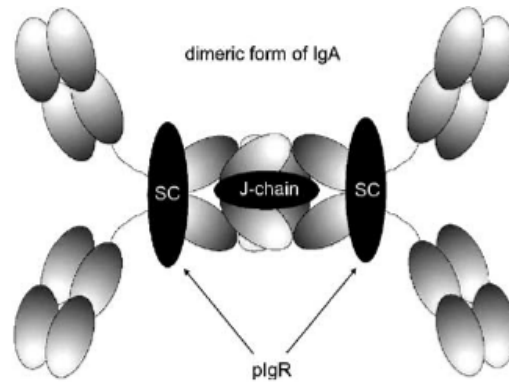


Figure 8 : Représentation schématique de la structure des $(IgA)_2$ et localisation de la liaison entre le pIgR et les $(IgA)_2$. [KASCOVICS, 2004]
 SC : composant sécrétoire
 J-chain : peptide de jonction entre deux IgA

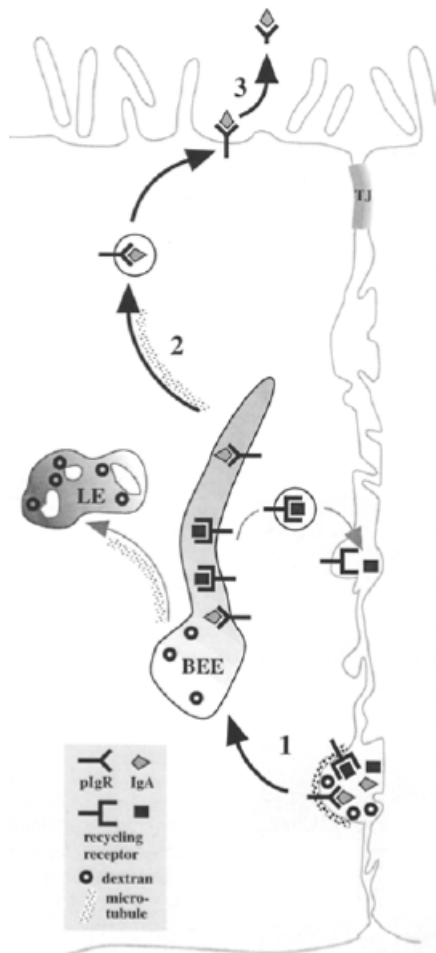


Figure 9 : Représentation schématique de la translocation des IgA dans la cellule épithéliale mammaire. [APODACA et al., 1994]

BEE : basolateral early endosome
 LE : late endosome
 TJ : tight junction

1. Fixation des IgA sur les pIgR au pôle basolatéral des cellules épithéliales mammaires. Les IgA fixées spécifiquement et des molécules solubles se retrouvent dans l'endosome.
2. L'endosome se compartimente en plusieurs vésicules cytoplasmiques. Les IgA fixées aux pIgR dans l'endosome migrent jusqu'au pôle apical des cellules.
3. Au pôle apical, une protéinase clive les pIgR et libère le composant sécrétoire (fragment du pIgR).

Si aucune immunoglobuline n'est fixée sur le pIgR, le SC libre est sécrété dans la lumière alvéolaire. Le composant sécrétoire protège les immunoglobulines de la dégradation et participe également aux défenses immunitaires passives du nouveau-né [PHALIPON et CORTHESEY, 2003]. Isolé à partir de colostrum humain, le composant SC est capable de se fixer sur *Escherichia coli* entérotoxigène (ETEC), ce qui protégerait les cellules épithéliales intestinales de l'adhésion puis de l'invasion par ces bactéries [PERRIER et al., 2006].

Bien que la fonction principale du pIgR soit le transport des IgA, ce récepteur est également capable de transporter les IgM pentamériques (pIgM) [KACSKOVICS, 2004].

Le gène qui code pour le pIgR, localisé sur le chromosome 16 des bovins, présente un polymorphisme génétique : deux formes de pIgR ont été identifiées chez les bovins et ovins [KULSETH et al., 1995]. L'expression de la plus courte forme de pIgR (perte des deuxième et troisième domaines extracellulaires qui se lient aux immunoglobulines) est extrêmement faible par rapport à la forme longue dans la glande mammaire des brebis [KULSETH et al., 1995]. L'expression du gène qui code pour le pIgR dans la mamelle de la brebis et sa régulation ont été étudiées récemment. Il a été montré que l'expression des pIgR augmente dès le troisième trimestre de gestation et s'intensifie trois jours après l'agnelage pour être maximale pendant la lactation. L'expression du pIgR est sous le contrôle d'hormones (prolactine, glucocorticoïdes) et de cytokines produites localement (interféron gamma) [RINCHEVAL-ARNOLD et al., 2002].

2.1.3. Fc récepteur à IgE de faible affinité (FcεRII, CD23) : transfert des IgE

Les concentrations moyennes en **IgE colostrales** sont environ trois fois plus importantes que les concentrations sériques en IgE : respectivement 0,1 mg/mL et 0,03 mg/mL [PFEFFER et al. 2005]. De plus, 48 heures après la naissance, les concentrations plasmatiques en IgE chez l'agneau, indétectables avant la prise colostrale, sont égales aux concentrations plasmatiques en IgE de la mère après ingestion du colostrum : ce qui confirme le transfert colostrale des IgE au nouveau-né. Comme pour les IgG1 et le FcRn, PFEFFER et al.(2005) ont suggéré le rôle du **récepteur de faible affinité pour les IgE (FcεRII ou récepteur CD23)** dans le **transport sélectif des IgE à travers l'épithélium mammaire**. Deux hypothèses ont été émises : soit les IgE se fixent sur les récepteurs CD23 à la surface des cellules épithéliales mammaires (comme les IgG1 sur leur FcRn) et migrent vers le pôle apical par transcytose ; soit les IgE se fixent à la surface des leucocytes qui migrent dans la lumière alvéolaire par les jonctions serrées et sont libérés dans le colostrum.

Il existe deux récepteurs à IgE de structure très différente : le Fc récepteur à IgE de forte affinité (FcεRI) et le Fc récepteur à IgE de faible affinité (FcεRII ou récepteur CD23).

Le FcεRI est exprimé à la surface des mastocytes, granulocytes basophiles et granulocytes éosinophiles activés : il fixe les complexes antigène-IgE monomériques, participant ainsi à la réponse allergique et inflammatoire [KACSKOVICS, 2004].

Le **récepteur FcεRII** (ou CD23) a été retrouvé à la **surface de nombreuses cellules** : lymphocytes B, T, monocytes, granulocytes éosinophiles, plaquettes, cellules dendritiques et **cellules épithéliales**. Il appartient à la famille des lectines de type C (C-type lectin). Bien qu'appartenant aux récepteurs de faible affinité pour les IgE, le récepteur FcεRII fixe les IgE monomériques avec une plus forte affinité que les autres Fc récepteurs de faible affinité [Figure 10]. YANG et al. (2000) ont décrit le rôle du récepteur FcεRII dans la transcytose des complexes Ag-IgE du pôle apical vers le pôle basolatéral des cellules épithéliales intestinales du rat.

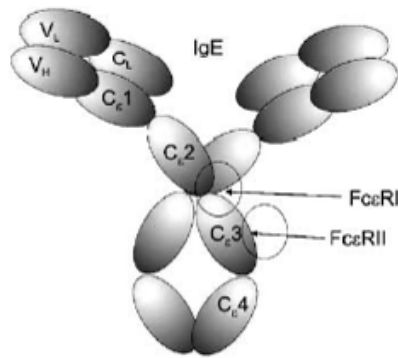


Figure 10 : Représentation schématique de la structure des IgE et localisation de la liaison entre le FcεRII et les IgE. [KASCOVICS, 2004]

HINE et al. (2010) ont dosé les différents isotypes d'immunoglobulines colostrales (IgG1, IgA, IgM et IgE) et les ont corrélés à l'expression des trois récepteurs (FcRn, pIgR et FcεRII (CD23)) dans la glande mammaire de la brebis pendant la colostrogénèse par RT-PCR quantitative. L'expression des ARNm des récepteurs FcRn, pIgR et FcεRII reflète les concentrations de leur ligand [Figure 11]. Par similitudes avec les transferts FcRn/IgG1 et le pIgR/IgA, ces résultats mettent en exergue le rôle du FcεRII (CD23) dans le transport sélectif des IgE à travers l'épithélium mammaire de la brebis. Il faut souligner une limite à cette étude : le FcεRII n'est pas uniquement exprimé à la surface des cellules épithéliales mammaires mais également à la surface des lymphocytes, monocytes, granulocytes et plaquettes. La plus forte expression du FcεRII au tarissement pourrait résulter de la concentration en cellules lymphoïdes plus élevée au tarissement qu'en lactation.

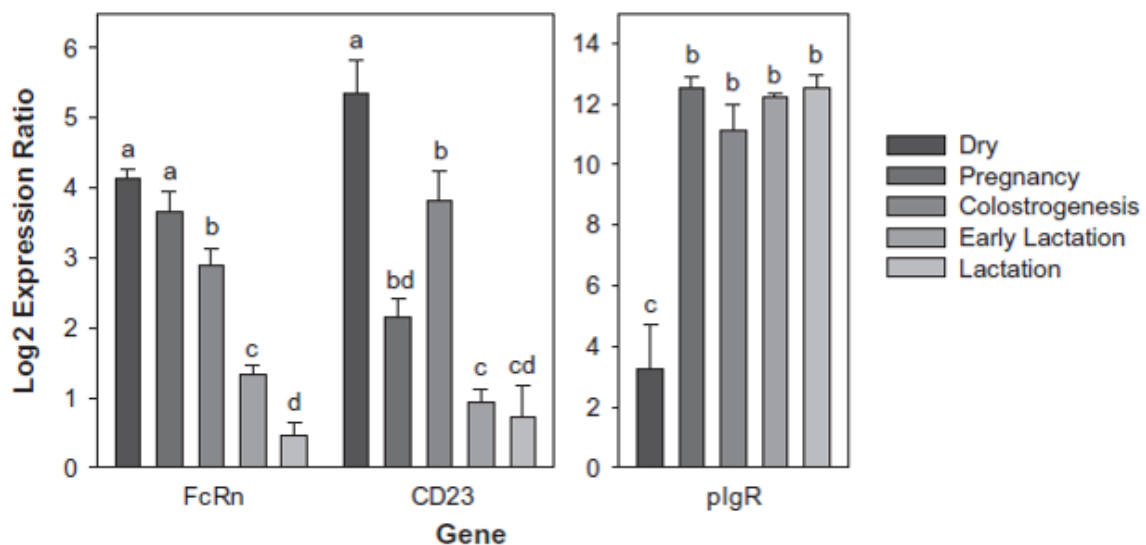


Figure 11 : Expression des récepteurs FcRn, pIgR et FcεRII dans le tissu mammaire pendant le tarissement (Dry), la gestation (Pregnancy), la colostrogénèse (Colostragenensis), le début de lactation (Early lactation) et la lactation (Lactation), mesurée par RT-PCR. [HINE et al., 2010]

2.2. Passage para-cellulaire des leucocytes et immunoglobulines

Une partie des IgG, IgA et IgM est **synthétisée localement** par des plasmocytes d'origine sanguine présents dans le parenchyme mammaire. Les plasmocytes à IgG1 sont les plus représentés (85%), suivis des plasmocytes à IgM (13%), alors que les plasmocytes à IgA sont peu nombreux (2%) [COLLINS et al., 1986].

Au cours de la gestation, les **jonctions serrées**, qui assurent l'étanchéité de l'épithélium mammaire, sont ouvertes et permettent le passage, entre les cellules épithéliales, des leucocytes, de quelques immunoglobulines plasmatiques et des électrolytes vers la lumière alvéolaire.

La **fin de la première phase** de la colostrogénèse est marquée par :

- la **diminution de l'expression des Fc récepteurs FcRn et CD23** ;
- la **fermeture des jonctions serrées** entre les cellules épithéliales mammaires.

L'expression des récepteurs FcRn (spécifique des IgG1) et pIgR (spécifique des IgA) ainsi que la fermeture des jonctions serrées sont donc régulées par une cascade d'évènements endocriniens en *péripartum* [BARRINGTON et al., 2001].

2.3. Sécrétion et augmentation du volume colostrale

Dans un deuxième temps, immédiatement après la mise bas, la **synthèse de la caséine et du lactose** augmente et le transfert des protéines sériques cesse. Par **effet osmotique**, le **volume** des sécrétions augmente.

Les protéines et le lactose sont synthétisés dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi de la cellule épithéliale mammaire. Ces molécules synthétisées, ainsi que des électrolytes monovalents (Na^+ , K^+ , Cl^-), sont contenus dans des vésicules de sécrétion qui cheminent jusqu'au pôle apical des cellules et fusionnent avec la membrane plasmique, libérant ainsi, par **exocytose**, leur contenu dans la lumière des alvéoles.

La **matière grasse** du colostrum provient de **gouttelettes lipidiques**, contenues dans le cytoplasme, après fusion et migration vers le pôle apical des cellules et enveloppement par la membrane cellulaire apicale. Les lipides sont libérés sous la forme de globules lipidiques dans la lumière alvéolaire [DEVILLERS et al., 2006].

3. ENDOCRINOLOGIE DE LA COLOSTROGENESE

La colostrogénèse et la lactogénèse sont sous la dépendance d'équilibres hormonaux complexes qui ne sont pas encore totalement élucidés chez la brebis.

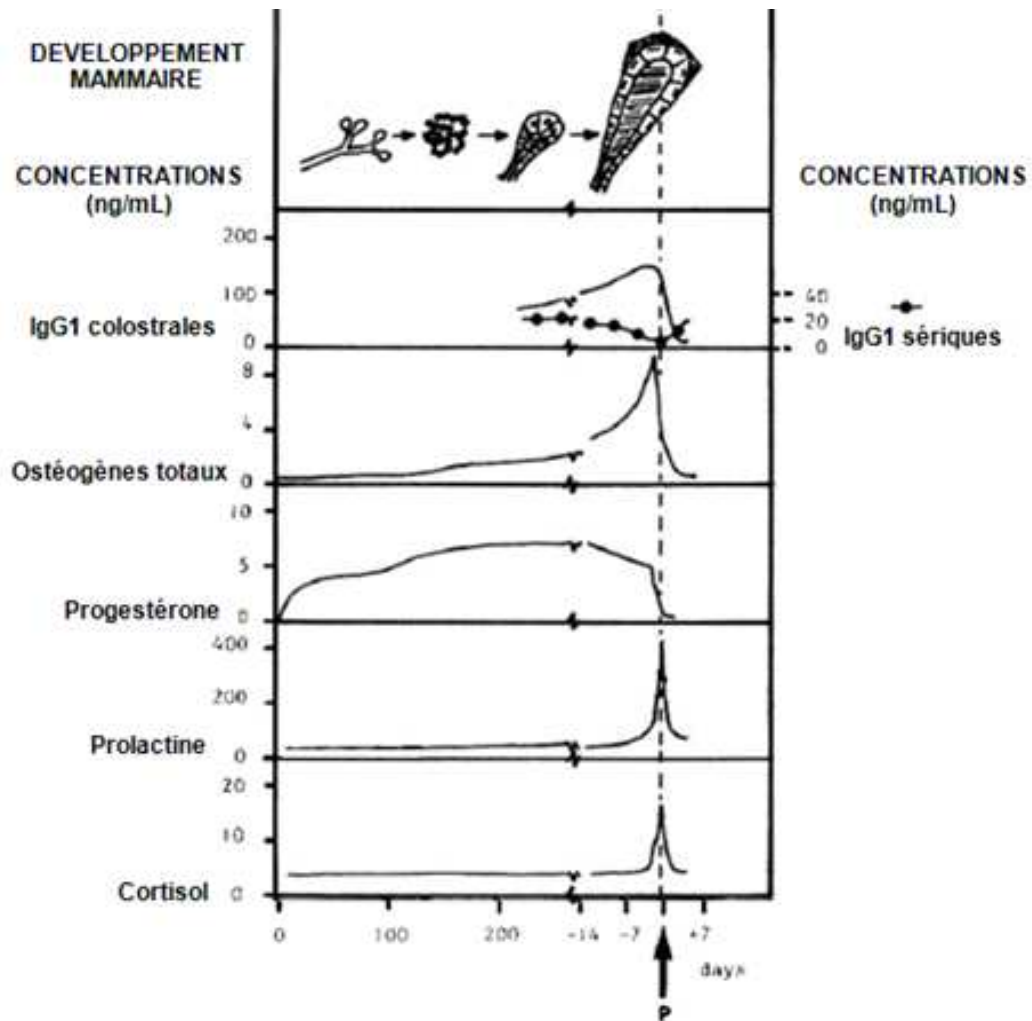


Figure 12 : Cinétique des dosages hormonaux (cortisol, prolactine, progestérone, œstrogènes), développement mammaire et dosage des IgG1 chez la vache. [DELOUIS, 1978]
P : mise bas

En fin de gestation, la concentration plasmatique de **progestérone** diminue progressivement et chute en prépartum ; en même temps, la concentration de **17-beta-œstradiol** augmente. Un pic des concentrations de **prolactine** et de **corticoïdes** est observé au moment du vêlage [Figure 12] [DELOUIS, 1978]. Des études ont mis en exergue la corrélation entre les modifications des profils hormonaux et le développement mammaire et ont établi, en partie, le déterminisme endocrinien de la colostrogénèse.

3.1. Régulation hormonale du développement mammaire

La synthèse du colostrum nécessite le développement d'un parenchyme mammaire fonctionnel. La régulation du développement du tissu sécréteur de la mamelle est particulièrement importante car le nombre de cellules sécrétrices et le poids de la glande mammaire déterminent en partie son potentiel de sécrétion [FORSYTH, 1986 ; NIELSEN et al., 2001].

L'apparition de la **structure lobulo-alvéolaire du parenchyme mammaire** fait suite à une cascade d'événements endocriniens impliquant successivement :

- (1) des **hormones d'origine ovarienne et fœto-placentaire** (œstrogènes, en particulier le 17-beta-œstradiol, et progestérone) ;
- (2) puis des **hormones antéhypophysaires** (prolactine) ;
- (3) et des **hormones surrénaliennes** (corticoïdes).

Cette cascade endocrinienne survient relativement tôt au cours de la gestation et permet *in fine* le développement de la glande mammaire pour la mise bas [SCHANBACHER et al., 1975 ; DELOUIS, 1978] [Figure 12].

(1) REECE (1956) a montré que, chez la souris, l'**augmentation de la concentration plasmatique d'œstrogène** entraîne la croissance des canaux mammaires et la concentration élevée de progestérone combinée avec les œstrogènes provoque le développement lobulo-alvéolaire.

En effet, SCHANBACHER et al. (1975) et DELOUIS (1978) ont montré que le traitement de génisses à base de progestérone et de 17-beta-œstradiol permet la formation d'une structure lobulo-alvéolaire complète.

Chez la brebis, l'augmentation de la concentration plasmatique d'œstrogène vers 80 jours de gestation, alors que la progestéronémie est élevée, est suivie quelques jours plus tard par la formation d'alvéoles. La concentration d'œstrogène à 110 jours de gestation est d'ailleurs corrélée avec la quantité de lait produite pendant la lactation suivante [DELOUIS et TERQUI, 1974].

Pour FORSYTH (1986), c'est la teneur élevée en progestérone et la hausse progressive des concentrations plasmatiques de 17-beta-œstradiol qui permettent la mammogénèse.

(2) La **prolactine** intervient également dans le développement mammaire. Son action est évaluée par la mesure de la concentration de l'alpha-lactalbumine dont l'augmentation correspond au développement de la mamelle [MCFADDEN et al., 1987].

(3) Enfin, les **glucocorticoïdes** ont une action stimulatrice sur la croissance lobulo-alvéolaire chez la brebis [DELOUIS et DENAMUR, 1967].

3.2. Endocrinologie de la synthèse du colostrum

Pendant l'initiation de la lactation, c'est-à-dire en **fin de gestation et dans les 48 heures suivant la mise bas**, les concentrations plasmatiques de **progestérone, 17-beta-œstradiol, relaxine, cortisol, prolactine** et de **prostaglandine** évoluent rapidement. Ces hormones agissent sur la synthèse des constituants du colostrum et donc sur l'évolution de sa composition.

En effet, durant la fin de la gestation, la transcytose des IgG1 sériques vers la lumière alvéolaire (début de la colostrogénèse) coïncide avec des changements hormonaux :

- environ 1 mois avant la mise bas, la concentration d'œstrogènes augmente ;
- environ 1 semaine avant la mise bas, les concentrations de corticostéroïdes, GH (Growth Hormone) et de prolactine (PRL) augmentent ;
- et 1 à 2 jours avant la mise bas, la concentration de progestérone chute [TUCKER, 1985].

3.2.1. Progestérone

La chute de la concentration de progestérone en début de lactation chez la vache, semble être le signal de l'initiation de la lactogénèse [GUY et al., 1994].

Chez les bovins, la concentration de progestérone diminue progressivement 2 à 3 semaines avant la mise bas et chute brutalement 2,5 jours avant le vêlage pour atteindre une concentration inférieure à 1 ng/mL [CONVEY, 1974 ; KUHN, 1969]. Ces variations de concentration de progestérone coïncident avec le transfert des IgG1 vers la mamelle : la transcytose des IgG1 débute les 2 à 3 dernières semaines de gestation (10 à 17 jours selon SCHANBACHER et al. (1975) et est maximal au moment de la mise bas [STABENFELDT, 1974] (les 3 derniers jours avant la mise bas pour [SASAKI et al., 1976]), soit, au moment où la concentration de progestérone est la plus faible. De plus, la chute de la concentration de progestérone coïncide avec l'apparition des FcRn à la surface des cellules épithéliales [HAMMER et al., 1969].

L'induction d'une lactation par injection, chez des bovins, de progestérone et d'œstrogène a permis de montrer qu'avant d'initier la lactation, les concentrations en IgG1 augmentent dans les sécrétions qui ressemblent alors à du colostrum [SMITH et SCHANBACHER, 1973 ; WINGER et al., 1995]

Seule, la progestérone ne permet pas d'induire la sécrétion de colostrum, mais elle potentialise l'effet du 17-beta-œstradiol : les sécrétions lactées sont alors plus importantes [SCHANBACHER et al., 1971] ainsi que le transfert des IgG1 [SMITH et al., 1971].

Une concentration en progestérone inférieure à 10 ng/ml est nécessaire, chez la brebis, à l'augmentation du flux sanguin dans la mamelle [BURD et al., 1978] ce qui pourrait alors augmenter le transfert des IgG1.

Des études chez la souris ont montré que la progestérone retarderait la fermeture des jonctions serrées [NGUYEN et NEVILLE, 1998 ; NGUYEN et al., 2001].

La progestérone inhibe la synthèse des constituants du colostrum et du lait. Les concentrations plasmatiques de progestérone sont négativement corrélées aux concentrations colostrales de lactose chez la truie [MARTIN et al., 1978 ; WILLCOX et al., 1983 ; DEVILLERS et al., 2004].

3.2.2. 17-beta-œstradiol

Chez la truie, lors des 3 derniers jours de gestation, la concentration de 17-beta-œstradiol augmente jusqu'à atteindre un plateau [ROBERTSON, 1974 ; BALDWIN, 1975] puis chute rapidement juste avant la mise bas [ROBERTSON et KING, 1974 ; TAVERNE et al., 1982 ; DEVILLERS et al., 2004]. La concentration de 17-beta-œstradiol continue ensuite sa chute jusqu'à devenir indétectable après la délivrance. En effet, le placenta est la principale source d'œstrogène [BALDWIN et STABENFELDT, 1975].

ERB et al. (1969) et HUNTER et al. (1970) ont constaté que l'augmentation de la concentration urinaire d'œstrogène chez la vache en gestation coïncide avec la capacité des cellules épithéliales mammaires à transférer les IgG1.

3.2.3. Prolactine

Les concentrations plasmatiques de prolactine chez la brebis sont faibles et constantes pendant la gestation jusqu'aux derniers jours avant la mise bas où elles augmentent brutalement puis chutent en *post-partum* [FORSYTH, 1976].

En plus de son rôle dans la différenciation des cellules épithéliales mammaires [AKERS et al., 1981*a,b*; MCFADDEN et al., 1997], la prolactine est indispensable à la mise en place de la lactation : l'utilisation de bromocriptine (antagoniste de la prolactine) empêche la lactation chez la truie [WHITACRE et THRELFALL, 1981 ; TAVERNE et al., 1982 ; FARMER et al., 1998]. La prolactine a donc un rôle clé dans la lactogénèse [AKERS et al., 1981*b*] car elle stimule la synthèse et la libération de l'alpha-lactalbumine, sous unité régulant la lactose synthétase [GOODMAN et al., 1983].

Le suivi de l'alpha-lactalbumine, qui est donc un marqueur de la lactogénèse, associé à celui de l'expression des récepteurs IgG1 par immunohistochimie ont permis de montrer que la **prolactine**, aussi bien *in vitro* [BARRINGTON et al., 1997] qu'*in vivo* [BARRINGTON et al., 1999], en plus de stimuler la lactogénèse, réduit **l'expression des FcRn à la surface des cellules épithéliales mammaires**.

Les récepteurs de la prolactine, comme les FcRn, sont situés sur la membrane basale des cellules épithéliales. L'augmentation du nombre de récepteurs à la prolactine pourrait réduire l'expression des FcRn. D'autant plus que la prolactine régule l'expression de ses propres récepteurs : l'augmentation de la concentration de prolactine augmente le nombre de ses récepteurs [TUCKER, 1974]. Cependant, la synthèse des récepteurs de la prolactine est inhibée par des concentrations élevées de progestérone et la liaison prolactine-récepteur ne peut se faire que quand les concentrations de progestérone diminuent en fin de gestation.

Les effets de stimulation de la lactation et d'inhibition de l'expression des FcRn semblent donc dirigés par des seuils différents de concentration de prolactine [BARRINGTON et al., 1999]

La progestérone inhibe alors que le cortisol potentialise les effets lactogènes de la prolactine [DELOUIS, 1978 ; DELOUIS et al., 1980].

La prolactine stimule la formation des jonctions serrées chez la vache [BARRINGTON et al., 2001 ; NGUYEN et al., 2001] contribuant ainsi à limiter le passage des IgG vers la mamelle. Cependant, ce rôle des jonctions serrées est probablement minime. En effet, le transfert para-cellulaire ne concerne qu'une infime proportion des IgG.

3.2.4. Corticoïdes

Comme la prolactine, les corticoïdes permettent l'initiation de la lactogénèse [CONVEY, 1974 ; COLLIER et al., 1977] et la fin de la colostrogénèse chez les ruminants.

L'injection de corticoïdes à des brebis en gestation induit la lactation [DELOUIS et DENAMUR, 1967].

Des injections de dexaméthasone à des doses pharmacologiques à des vaches en fin de gestation (moment où elles concentrent au maximum les IgG1 dans la glande mammaire) provoquent une diminution brutale des concentrations colostrales en IgG1 [WINGER et al., 1995]. BRANDON et LASCELLES (1975) ont

obtenu des résultats similaires, constatant que les corticoïdes longue action entraînent la parturition mais réduisent la quantité de colostrum. BAILEY et al. (1973) et FIELD et al., (1989) ont montré que l'induction prématurée du vêlage avec des injections de prostaglandines F2 α (PGF2 α) entraîne une diminution de la quantité d'IgG colostrales. Ces deux études suggèrent donc que l'arrêt de la gestation par augmentation des concentrations de cortisol et de PGF2 α diminue le transfert des IgG colostrales plutôt que les effets d'une hormone spécifique.

Cependant, des études ont mis en évidence que si la gestation est écourtée, même plusieurs semaines avant terme, la colostrogénèse a lieu chez toutes les vaches mais des différences sont observées sur la vitesse et le moment de la diminution des concentrations colostrales en IgG1 [MCFADDEN et al., 1995].

La synthèse des études de BAILEY et al. (1973), FIELD et al. (1989) et MCFADDEN et al. (1995) permet de supposer que les **glucocorticoïdes et les PGF2 α raccourcissent la colostrogénèse** en induisant prématurément la lactation associée au vêlage.

Les corticoïdes semblent contrecarrer l'effet inhibiteur de la progestérone sur la lactogénèse. En effet, les corticoïdes augmentent la quantité de récepteurs à la prolactine dans la glande mammaire [DELOUIS et al., 1980 ; TUCKER, 1981] et potentialisent son action sur les cellules épithéliales mammaires [DELOUIS et al., 1980 ; HOUDEBINE et al., 1985]

Les corticoïdes ont eux aussi une action stimulant la formation des jonctions serrées dans la glande mammaire chez la vache [STELWAGEN et al., 1994,1998, 2000] ce qui pourrait accentuer leur rôle dans la diminution du transfert des IgG.

L'augmentation des concentrations de glucocorticoïdes dans le sang à la mise bas joue donc un rôle important dans l'arrêt de la colostrogénèse.

3.2.5. Autres hormones

Une augmentation de la concentration de **GH** est observée en *prépartum* [BASSETT et al., 1970 ; BLOM et al., 1976]. L'injection de GH à des vaches gravides entraîne une augmentation transitoire des concentrations d'IgG1 dans les sécrétions alvéolaires. Mais, à la mise bas, aucune différence significative n'est observée par rapport aux vaches non traitées [HADSELL et al., 1993].

Les mécanismes sont peu clairs mais il est possible que la GH puisse augmenter le transfert des IgG1 en privilégiant le flux sanguin vers la mamelle.

Même si aucune publication n'établit clairement son implication dans la régulation de la colostrogénèse, elle semble jouer un rôle dans la régulation du développement mammaire et la production de lait.

La composition du colostrum présente une **variabilité interindividuelle élevée**. Plusieurs facteurs de variation ont été soulignés : la **race**, l'**âge** de la brebis, la **taille de la portée**, la **durée du tarissement**, l'**alimentation** et l'**état sanitaire** de la brebis.

4. FACTEURS DE VARIATION DE LA QUALITE DU COLOSTRUM

4.1. Race

La **variabilité interr raciale de la concentration en IgG** du colostrum n'a fait l'objet que de très peu de travaux chez les ovins.

HALLIDAY (1978) a montré que la race des brebis influence la quantité totale d'IgG1 colostrales produites. La production d'IgG1 est la plus élevée chez les brebis de race Finnish Landrace alors qu'elle est la plus faible chez les brebis de race Southdown ($0,05 < P < 0,1$) [Tableau 4].

race	n	masse moyenne d'IgG1 colostrales (g)
Cheviot	59	14,7 +/- 3,90
Merino	53	12,7 +/- 4,37
Finnish Landrace	30	16,6 +/- 3,24
Finnish x Dorset Horn	7	14,4 +/- 6,21
Scottish Blackface	75	12,6 +/- 3,59
Merino x Cheviot	11	11,4 +/- 4,97
Southdown	35	5,9 +/- 4,03

Tableau 4 : Effet de la race sur la quantité d'IgG1 colostrales. [HALLIDAY, 1978]

GILBERT et al. (1988) ont mené une étude sur 2650 brebis de 6 races ovines allaitantes (Polypay, Rambouillet, Targhee, Columbia, Finnish Landrace et Finn crosses) afin d'évaluer l'influence de facteurs environnementaux et génétiques sur la concentration en IgG1 du colostrum de brebis à la mise bas (avant la tétée) et du sérum du nouveau-né 36 heures après la naissance. Les concentrations moyennes d'IgG1 colostrales calculées sont de 80, 64, 67, 72 et 69 mg/mL respectivement pour les brebis de race Polypay, Rambouillet, Targhee, Columbia, Finnish Landrace et Finn crosses. La race est un facteur significatif de variation de la concentration en IgG1 du colostrum de l'ordre de 16 mg/mL entre les deux extrêmes (Polypay 80 mg/mL et Columbia 64 mg/mL). Les brebis de race Polypay présentent des concentrations moyennes en IgG1 significativement plus importantes (moyenne = 80 mg/mL, SE = 2,4, n = 172). La race Polypay est un croisement entre Dorset x Targhee et Finish Landrace x Rambouillet : les concentrations en IgG1 colostrales significativement plus élevées peuvent être dues à l'hétérosis engendré par le croisement ou à une combinaison unique de gènes dans la race Polypay.

4.2. Age

Les brebis jeunes (1 an) et âgées (> 6 ans) produisent significativement moins d'IgG1 colostrales ($P < 0,001$) que les brebis âgées de 2 à 5 ans [Tableau 5].

âge des brebis (ans)	masse IgG1 colostrales		concentration en IgG1	
	n	(g)	n	(mg/mL)
1	17	6,2 +/- 5,08	152	98,0 +/- 5,23
2	32	13,8 +/- 3,55	542	91,9 +/- 4,77
3	50	11,1 +/- 3,10	447	88,9 +/- 4,78
4	64	14,0 +/- 2,76	212	89,8 +/- 5,06
5	37	15,5 +/- 3,37	157	92,8 +/- 5,19
6	44*	8,6 +/- 3,54	105	98,1 +/- 5,40
7			36	101,4 +/- 6,72
8 ou 9			36	100,0 +/- 6,72

P < 0,05

P < 0,001

Tableau 5 : Effet de l'âge de la brebis sur la production d'IgG1 colostrales. [HALLIDAY, 1978]

* 4 brebis de ≥ 6 ans incluses

Chez les bovins, il est couramment admis que les primipares produisent environ 30 % de moins de colostrum que les multipares et que celui-ci est moins riche en IgG. Cependant des études tendent à montrer que la concentration en IgG du colostrum n'est que peu influencée par la parité de la mère [MULLER et ELLINGER, 1981 ; PRITCHETT et al., 1991].

GILBERT et al. (1988), en ajustant les données sur la race et la taille de la portée de plus de 1600 colostrums de brebis de 1 à 7 ans, constatent que chez les primipares les concentrations d'IgG1 (100 ± 14 g/L) sont significativement supérieures à celle des multipares (66 ± 11 g/L) ($P > 0,05$). Cependant, aucune différence significative entre les masses de colostrum produites selon la parité n'a été mise en évidence dans cette étude. La différence de concentration résulterait d'un **effet concentration** chez les primipares du fait du plus faible volume produit. Dans cette même étude, les brebis de plus de 7 ans produisent un colostrum ayant des concentrations plus faibles et plus variables (53 ± 30 g/L).

4.3. Taille de la portée

Chez la brebis, **la concentration en IgG1 est proportionnelle au nombre de fœtus** pour des portées simples à triples [GILBERT et al., 1988]. Ainsi, les brebis bipares produisent plus de colostrum que les monopares [MELLOR et MURRAY, 1986 ; SHUBBER et al., 1979]. Cependant, **aucune différence significative du volume de colostrum** n'est observée entre les portées doubles et triples [SHUBBER et al., 1979].

Les agneaux issus de portées multiples reçoivent donc moins de colostrum que les agneaux simples mais les volumes semblent suffisants.

4.4. Durée du tarissement

La période sèche permet aux cellules de la glande mammaire de se renouveler et d'assurer une production maximale de lait à la lactation suivante.

Si le tarissement est trop court, le développement mammaire est réduit ainsi que la quantité de lait lors de la lactation qui suit chez la rate [PAAPE et TUCKER, 1969] comme chez la vache [REID et al., 1964].

Des études ont montré que les vaches avec 1 ou 10 jours de tarissement produisent un colostrum moins concentré en IgG que les vaches avec un tarissement de 8 semaines [REMOND et al., 1997]. La concentration en IgG colostrales est respectivement de $33 (\pm 15)$ g/L chez les vaches non taries, de $63 (\pm 19)$ g/L chez les vaches taries dix jours (5 à 16), et de $72 (\pm 14)$ g/L chez les vaches taries deux mois ($n = 5$) [LEVIEUX, résultats non publiés]. Un tarissement court aurait donc un effet négatif sur la concentration en IgG du colostrum. Mais, il semble qu'il ne s'agisse que d'un effet dilution, car, d'après RASTANI et al. (2005), le colostrum des vaches dont le tarissement a été écourté ou n'a pas eu lieu, contient suffisamment d'immunoglobulines pour le veau. Celui-ci doit simplement en boire un peu plus (2 L contre 1,3 L).

4.5. Alimentation et NEC en fin de gestation

La sous alimentation est corrélée à une diminution du poids de la mamelle et donc de ses performances [MELLOR et al., 1987]. La suralimentation a des effets néfastes sur le développement mammaire sur des génisses suralimentées avant la puberté, mais n'a aucun impact si la suralimentation a lieu après la puberté [TUCKER, 1981].

D'après BANCHERO et al. (2006), des brebis sous alimentées (70 % des besoins) pendant les deux derniers mois de gestation, accumulent 2,7 fois moins de d'IgG1 (168 ± 48 g) que des brebis correctement alimentées (100 % des besoins) (451 ± 103 g). Mais cette différence n'est plus significative après la mise bas. En effet, MELLOR et al. (1987) confirment que 10 heures *post-partum*, aucune différence de quantité de colostrum n'est observée quel que soit le régime alimentaire des brebis. De plus, la réalimentation correcte des brebis durant les 5 derniers jours de gestation restaure les fonctions mammaires au même niveau que pour les brebis bien nourries tout au long de la gestation.

D'après l'étude de SWANSON et al., (2008), le poids et le volume de colostrum sont diminués ($P < 0,01$) ($P \leq 0,05$ pour MEYER et al. (2011)) chez les brebis alimentées à 60 % et 140 % de leurs besoins par rapport aux brebis alimentées à 100 % de leurs besoins. Les concentrations en IgG sont supérieures chez les brebis nourries à 60 % de leurs besoins par rapport aux brebis alimentées à 100 % et 140 % de leurs besoins. Cependant, la production totale d'IgG est plus faible ($P \leq 0,06$) chez les brebis sous et suralimentées.

Une forte complémentation en sélénium (77,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (besoins : 11,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) des brebis augmente la quantité de sélénium dans le lait ($P < 0,01$) ainsi que la quantité de lactose et de protéines [MEYER et al., 2011]. SWANSON et al. (2008) n'ont pas rapporté d'effet d'une complémentation en sélénium ($P \geq 0,15$) sur la quantité de colostrum et la concentration en IgG. De plus, le sélénium serait transféré au veau plus efficacement *via* le placenta que *via* le lait [ENJALBERT et al., 1999].

Le niveau de nutrition joue sur les concentrations plasmatiques des hormones et métabolites de la lactogénèse. Chez les brebis sous alimentées, la progestérone chute avant la mise bas mais pas suffisamment pour initier la colostrogénèse [BANCHERO et al., 2006]. En effet, il faut des concentrations de progestérone inférieures à 10 ng/mL pour stimuler le développement de la mamelle. Or, chez les brebis sous alimentées, il faut environ 15 jours pour que la progestéronémie atteigne des concentrations inférieures à ce seuil [MELLOR et al., 1987].

Pour une synthèse optimale de colostrum, la progestéronémie doit être inférieure à 1 ng/mL [HARTMANN et al., 1973]. Dans l'étude de BANCHERO et al. (2006), aucune brebis, quelle que soit son alimentation, n'a présenté de concentration de progestérone inférieure à ce seuil. Même après l'agnelage, 40 % des brebis sous alimentées ont un taux de progestérone trop élevé pour permettre une initiation optimale de la lactogénèse et 60 % n'ont pas assez de colostrum pour subvenir aux besoins immédiats de leur nouveau-né.

Le rôle de l'alimentation sur la prolactine est controversé. Selon BANCHERO et al. (2006), pendant les 30 derniers jours de gestation, les brebis bien alimentées ont des concentrations en prolactine plus élevées que les brebis sous alimentées. Mais, MELLOR et al. (1987) n'ont pas constaté de différences.

Les concentrations plasmatiques de cortisol sont peu modifiées par l'alimentation des brebis [MELLOR et al., 1987 ; BANCHERO et al., 2006].

La GH, qui intervient dans le développement mammaire, est plus élevée chez les brebis sous alimentées [BANCHERO et al., 2006].

Des brebis sous alimentées ont un profil métabolique différents des brebis correctement alimentées : les concentrations plasmatiques en glucose sont plus faibles alors que celles de β -hydroxybutyrate sont plus élevées. Le glucose étant un précurseur de la synthèse du lactose, sa faible concentration induit de plus faibles volumes de colostrum. Les concentrations plus élevées en β -hydroxybutyrate s'expliquent par une lipomobilisation chez les brebis sous-alimentées [BANCHERO et al., 2006].

4.6. Etat sanitaire et environnement

Une héli-mamelle atteinte de mammite clinique au tarissement produit significativement moins de colostrum [CHRISTLEY et al., 2003].

Un parasitisme sévère peut conduire, par spoliation, à un état de sous-nutrition délétère.

Ces facteurs de variation sont liés à la conduite d'élevage (tarissement, alimentation, gestion du parasitisme) dont la gestion est indispensable à l'amélioration de la quantité et de la qualité du colostrum. Mais, leur maîtrise n'est pas envisageable dans un plan global de sélection contrairement aux facteurs génétiques.

5. SELECTION GENETIQUE ET QUALITE DU COLOSTRUM

HALLIDAY (1978), NORMAN et al. (1981) et GILBERT et al. (1988) ont montré que la concentration en IgG1 du colostrum et du sérum du nouveau-né est, **en partie, dépendante de facteurs génétiques**. Le déterminisme génétique de la concentration en IgG1 colostrales permettrait alors de sélectionner les brebis sur la qualité de leur colostrum.

HALLIDAY (1978) a estimé l'**héritabilité de la masse totale des IgG1** du colostrum produite par la brebis à $0,45 \pm 0,152$ ($P < 0,01$). Quant à GILBERT et al. (1988), ils ont calculé une **héritabilité de la concentration en IgG1** colostrales plus faible de $0,19 \pm 0,12$. Néanmoins, ces valeurs indiquent une **possible sélection** des brebis sur la qualité de leur colostrum.

Le FcRn est le composant essentiel de la colostrogénèse et du transfert de l'immunité passive du nouveau-né. Hétérodimère composé d'un homologue de la chaîne alpha du complexe majeur d'histocompatibilité de type I (FCGRT) et de la beta-2-microglobuline ($\beta 2m$), il est codé par **deux gènes** différents. Les gènes qui codent pour le FCGRT et la $\beta 2m$ ont été séquencés chez les ovins. Le gène FCGRT est localisé sur le chromosome 14, séquence 54992985 à 54998658 [ARCHIBALD et al., 2010].

A notre connaissance, **aucune étude de séquençage à grande échelle des deux gènes qui codent pour le FcRn n'a été menée chez la brebis**. Chez les bovins, ces deux gènes FCGRT et $\beta 2m$ présentent un **polymorphisme allélique** : différents haplotypes ont été identifiés chez la vache et corrélés à une variabilité du transfert de l'immunité colostrale chez le nouveau-né.

Cinq SNPs (single nucleotide polymorphisms) ont été identifiés en séquençant 1305 paires de bases de l'ADN codant pour le FCGRT chez 96 bovins et 27 issus d'une population de référence. Ces SNPs définissent 5 haplotypes de FCGRT associés en 7 génotypes [Tableau 6].

Phénotype	groupe	n	Haplotype					Génotype						
			1	2	3	4	5	1,1	2,2	1,2	1,3	1,4	1,5	2,3
TIP faible	cas	27	0,741	0,093	0,167	-	-	0,481	-	0,185	0,333	-	-	-
	contrôle	51	0,800	0,130	0,060	-	0,010	0,600	-	0,260	0,120	-	0,020	-
TIP élevé	cas	27	0,815	0,111	0,056	-	0,019	0,667	-	0,185	0,074	-	0,037	0,037
	contrôle	50	0,800	0,100	0,100	-	-	0,620	-	0,180	0,180	-	-	0,020

Tableau 6 : Fréquence des haplotypes et génotypes du gène FCGRT chez la vache selon la qualité du transfert de l'immunité passive chez le veau (TIP). [LAEGREID et al., 2002]

Dans cette étude, les vaches porteuses de l'haplotype 3 du FCGRT avaient un risque significativement plus élevé d'échec de transfert de l'immunité passive chez leur veau (OR = 3,80 ; CI_{95%} = [1,10 – 13,18] ; P = 0,035) par rapport aux vaches d'haplotype 1, 2, 4 ou 5. Ces résultats suggèrent une forte influence du génotype de la mère sur la qualité du transfert de l'immunité passive chez le nouveau-né par rapport aux autres facteurs de variations (race, âge, durée du tarissement, alimentation). L'hypothèse du mécanisme à l'origine de cette relation entre le génotype de la mère et la concentration en IgG sériques chez le veau serait une corrélation entre haplotypes du FCGRT et concentrations ou masses d'IgG du colostrum de la mère [LAEGREID et al., 2002].

Afin d'étayer cette hypothèse, ZHANG et al., (2009) ont évalué la relation entre les haplotypes du gène FCGRT chez la vache et la concentration en IgG du colostrum. Quatre SNPs, permettant de définir 5 haplotypes et 9 génotypes (4 homozygotes, 5 hétérozygotes) ont été identifiés chez 49 Prim'Holsteins. L'haplotype 3 est le plus fréquent (fréquence = 0,54). Les haplotypes 5 et 2 sont significativement associés à des concentrations élevées en IgG colostrales (respectivement, OR = 9,90 ; CI_{95%} = 1,11 – 88,34 ; P = 0,016 et OR = 2,89 ; CI_{95%} = 1,17 – 7,11 ; P = 0,019) [Tableau 7].

Haplotype	fréquence de l'haplotype selon la concentration en IgG colostrales		OR (CI _{95%})	P
	[IgG] élevée	[IgG] faible		
3 *	0,41	0,68	1,00	
1	0,04	0,04	1,65 [0,22 - 12,65]	0,627
2	0,43	0,24	2,89 [1,17 – 7,11]	0,019
4	-	0,02	-	-
5	0,12	0,02	9,90 [1,11 - 88,34]	0,016

Tableau 7 : Corrélation entre les haplotypes de FCGRT et la qualité du colostrum chez les bovins. [ZHANG et al., 2009]

* l'haplotype 3 est le plus fréquent : il est utilisé comme référence

La régulation du transfert des IgG du sérum de la mère vers le colostrum repose sur le recyclage du FcRn à la surface des cellules épithéliales mammaires. C'est pourquoi, la concentration en IgG colostrales est inversement corrélée à

l'affinité du récepteur pour son ligand alors que l'affinité du FcRn pour les IgG est positivement corrélée à la concentration en IgG sériques chez le nouveau-né [CIANGA et al., 1999]. L'étude de LAEGRIED et al. (2002) a montré que l'haplotype 3 (CGCAC) pourrait diminuer l'affinité du FcRn pour les IgG, ce qui induirait une plus faible absorption intestinale des IgG par le nouveau-né et, inversement, enrichirait le colostrum maternel en IgG. Cette hypothèse est en accord avec les résultats de ZHANG et al. (2009). La mutation de l'haplotype 3 en haplotype 5 (substitution d'une adénine (A) de l'exon IV par une guanine (G)) contribuerait à augmenter la concentration en IgG du colostrum.

Il a donc été clairement établi une **relation entre haplotypes du FCGRT et concentration en IgG colostrales**. Cependant, le gène $\beta 2m$ présente également un polymorphisme allélique chez la vache.

CLAWSON et al., (2004) ont identifié différents haplotypes du gène $\beta 2m$ chez la vache et les ont mis en relation avec la qualité du transfert de l'immunité passive chez le veau. Douze SNPs qui définissent 8 haplotypes de $\beta 2m$ ont été identifiés par séquençage des exons II et IV du gène $\beta 2m$ de 96 veaux nouveau-nés. Les veaux homozygotes pour l'haplotype 2 ($\beta 2m_2$, 2) présentent un risque accru d'échec de transfert de l'immunité passive (OR = 10,60 ; CI_{95%} = [2,07 - 54,24] ; P = 0,005).

ZHAO et al. (2011) ont évalué la fréquence des allèles du gène $\beta 2m$ chez 189 vaches Chinese Holstein et a relié les différents haplotypes à la concentration et à la masse d'IgG1 dans le lait. Deux SNPs (SNP1 et SNP2) et une délétion de 2 paires de bases (Indel(2)) définissent 4 haplotypes et 8 génotypes. Ils ont été corrélés à la concentration et à la masse d'IgG1 dans le lait (P < 0,05). Les vaches homozygotes pour le gène $\beta 2m$ délété présentent des plus faibles concentrations d'IgG1.

A notre connaissance, ces mêmes études n'ont pas été menées chez les brebis. De fait, par ces présents travaux, l'objectif est d'**identifier les différents haplotypes des gènes FCGRT et $\beta 2m$ qui codent pour le FcRn** chez les brebis et de les **corrélés à une éventuelle différence de qualité du colostrum**.

En comparaison avec les données génétiques de l'espèce bovine, la sélection génomique des brebis sur la qualité de leur colostrum semble prometteuse et nécessite le séquençage des deux gènes FCGRT et $\beta 2m$ afin d'en identifier les SNP. La définition d'index génomiques sur les valeurs maternelles qui prendrait en compte le caractère « quantité et qualité du colostrum » suppose l'établissement d'équations prédictives complexes établies grâce à une population de référence pour laquelle les génotypes SNP et les phénotypes sont disponibles. Or, **pour évaluer le phénotype « qualité du colostrum »**, il faut disposer d'**outils de mesure** fiables, répétables et utilisables en bergerie lors du pointage (évaluation phénotypique) des brebis. C'est pourquoi, cette dernière partie bibliographique présente les outils d'évaluation de la qualité du colostrum. Les données reportées sont essentiellement obtenues dans l'espèce bovine.

6. EVALUATION DE LA QUALITE DU COLOSTRUM

Chez les ovins, le seuil permettant de définir un « bon » colostrum d'un « mauvais » colostrum sur la base de sa concentration en IgG n'est pas défini. Par simplicité, le seuil de 50 g/L d'IgG défini chez les bovins est utilisé et semble cohérent. En effet, un calcul simple peut être fait pour un agneau de 4 Kg, dont le volume sanguin représente 10 % de son poids, et pour un objectif de concentration sérique en IgG de 10 g/L (soit 4 g d'IgG). Environ 25 % des IgG ingérées sont absorbées et se retrouvent dans la circulation sanguine du nouveau-né (taux d'absorption de 17 à 25 %, [DOMINGUEZ et al., 2001]). L'agneau doit donc ingérer au minimum 16 g d'IgG (= 10 g/L x 10 % x 4 Kg / 25 %). Ses capacités d'ingestion sont de 200 mL/Kg/24 h, soit 800 mL/24 h. Il a donc besoin d'un colostrum de concentration supérieure à **50 g/L d'IgG**.

Afin d'évaluer la qualité du colostrum, différentes méthodes de mesure directes ou indirectes ont été développées pour une utilisation au pied de l'animal.

6.1. Méthode directe : immunodiffusion radiale

La **méthode de référence** pour le dosage des immunoglobulines du colostrum des ovins est l'**immunodiffusion radiale** (IDR). L'IDR repose sur la précipitation par liaison antigènes/anticorps en milieu gélosé (gélose d'agar). Elle permet de **distinguer les différents isotypes d'immunoglobulines**.

Des **anticorps spécifiques d'un isotype d'immunoglobuline** sont incorporés dans une gélose coulée dans une boîte de pétri et creusée de puits, dans lesquels sont déposés les échantillons de colostrum à évaluer. Les immunoglobulines colostrales diffusent dans la gélose et précipitent avec les anticorps anti-immunoglobulines spécifiques, formant ainsi un **anneau de précipitation**, centré sur les puits, dont le **diamètre est proportionnel à la concentration en immunoglobulines** du colostrum testé.

Cette technique est **très précise**, mais **longue** (18 à 24 heures), ce qui rend son utilisation difficile au pied de l'animal.

6.2. Méthodes indirectes

Deux méthodes d'évaluation indirecte de la qualité du colostrum sont utilisées : la **réfractométrie** et le **pèse colostrum**. Peu d'études ont été menées sur le colostrum de brebis. Les performances intrinsèques de la réfractométrie et du pèse colostrum **n'ont pas été évaluées chez les ovins**.

6.2.1. Réfractométrie

Le réfractomètre détermine à l'aide d'un prisme de verre l'**indice de déviation d'un faisceau lumineux** qui traverse l'échantillon de colostrum. Le **réfractomètre digital Brix** mesure cet **indice de réfraction** en valeurs exprimées en % sur l'**échelle de Brix** (ou score de Brix).

L'estimation indirecte de la concentration en immunoglobulines colostrales en mesurant l'indice de réfractométrie a été décrite chez différentes espèces : bovins [MOLLA, 1980 ; IMBERT, 2005 ; CHIGERWE et al., 2008 ; BIELMANN et al., 2010 ; MORRILL et al., 2012 ; QUIGLEY et al., 2012], ovins [HARKER, 1978], et équins [CHAVATTE et al., 1998 ; CASH, 1999 ; WAELCHLI et al., 1990 ; VENNER et al., 2008] [Tableau 8].

La **corrélation entre l'indice de réfractométrie et la concentration en IgG mesurée par immunodiffusion radiale** (méthode de référence) a été estimée à 0,89 ($P < 0,001$) par MOLLA (1980). IMBERT (2005) évalue cette corrélation à 0,58 ($n = 88$; $P = 0,0001$). BIELMANN et al. (2010) montrent que la corrélation entre deux types de réfractomètres, optique et digital, et la méthode de référence d'immunodiffusion radiale est correcte (respectivement $r = 0,71$, $n = 272$ et $r = 0,73$, $n = 273$, $P < 0,001$). MORRILL et al. (2012) et QUIGLEY et al. (2012) ont estimé cette corrélation, respectivement à 0,53 ($n = 805$, $P < 0,0001$) et 0,75 ($n = 183$, $P < 0,01$).

La corrélation entre les indices de réfractométrie mesurés au réfractomètre optique et au réfractomètre digital Brix est très satisfaisante que ce soit pour les échantillons frais ou congelés (respectivement $r = 0,98$ et $r = 0,97$; $n = 288$, $P < 0,001$) [BIELMANN et al., 2010]. De plus, pour les deux méthodes de mesure, la corrélation entre l'estimation des concentrations en IgG du colostrum de primipares et la méthode de référence est plus élevée que pour les multipares ($r = 0,77$ à $0,83$; $n = 273$, $P < 0,001$). Les corrélations sont élevées pour les vaches à plus de trois lactations ($r = 0,71$ à $0,73$; $n = 273$, $P < 0,001$) et moins importantes pour les vaches en seconde lactation ($r = 0,68$ à $0,71$; $n = 273$, $P < 0,001$).

MORRILL et al. (2012) ont montré que l'ajout d'acide caprylique (75 μ L d'acide caprylique/mL de colostrum) au prélèvement de colostrum de bovin permet une meilleure estimation de la concentration en IgG colostrales par réfractométrie. En effet, la corrélation entre l'indice de réfraction du colostrum et la concentration en IgG par immunodiffusion radiale est faible ($r = 0,53$, $n = 805$, $P < 0,0001$) alors qu'elle est plus élevée pour le mélange de colostrum et d'acide caprylique ($r = 0,73$ $n = 823$, $P < 0,0001$).

Dans le colostrum équin, les mesures par réfractométrie sont très bien corrélées aux concentrations en immunoglobulines obtenues par immunodiffusion radiale ($r = 0,85$ à $0,94$ selon les auteurs) [CHAVATTE et al., 1998 ; CASH, 1999 ; VENNER et al., 2008].

La variabilité de la corrélation entre méthodes directe et indirecte entre espèces peut être expliquée par les différences de composition et de volume des colostrums. Par exemple, le volume du colostrum de la jument est deux fois moins important que celui de la vache (volumes moyens respectifs de 5,1 L [3,2 - 7,0] et 11,2 L [2,8 - 21,5]). La concentration en IgG colostrales est de 440 g/L pour la jument et 93 à 259 g/L pour la vache. Le taux de matière grasse est 1,8 fois plus élevé chez la jument que chez les bovins (respectivement 27 % et 15 %).

Le tableau 8 et la figure 13 présentent les **coefficients de corrélation entre l'indice de réfractométrie et la concentration en IgG mesurée par la méthode de référence (IDR)** calculés chez les bovins, ovins et équins dans différentes publications.

espèce	auteurs	coefficient de corrélation de Pearson (r) avec [IgG] mesurée par IDR	effectif (n)	probabilité critique (P)
bovins	[MOLLA, 1980]	0,89	-	< 0,001
	[IMBERT, 2005]	0,58	88	0,0001
	[CHIGERWE et al., 2008]	0,41	171	-
	[BIELMANN et al., 2010]	0,73	273	< 0,001
	[MORRILL et al., 2012]	0,53	805	< 0,0001
	[QUIGLEY et al., 2012]	0,75	183	< 0,01
ovins	[HARKER, 1978] ¹	0,79	-	< 0,05
équins	[CHAVATTE et al., 1998]	0,85	20	-
	[CASH, 1999]	0,94	66	-
	[VENNER et al., 2008] ²	0,93	360	< 0,0001

Tableau 8 : Comparaison interspécifique des coefficients de corrélation entre l'indice de réfractométrie et la concentration en IgG mesurée par la méthode de référence. [Sources multiples]

¹ [IgG] mesurée par la méthode de turbidité au sulfate de zinc

² [IgG] mesurée par la méthode ELISA

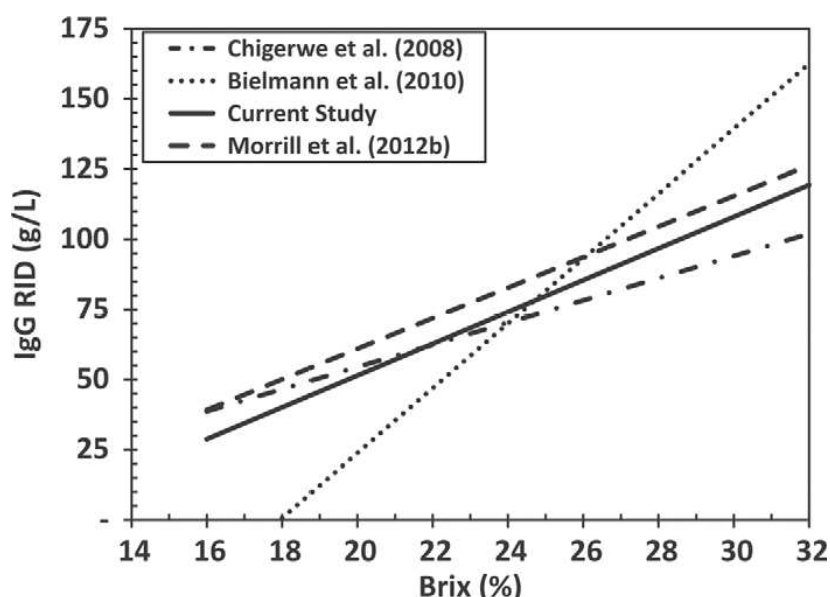


Figure 13 : Comparaison des régressions linéaires entre la concentration en IgG mesurée par IDR et l'indice de réfractométrie du colostrum bovin (RID = radial immunodiffusion). [QUIGLEY et al., 2012]

Contrairement au pèse colostrum, la **température du colostrum n'influence pas les mesures par réfractométrie**. Les mesures de l'indice de réfractométrie pour des échantillons de colostrums à 3 températures différentes (5, 20 et 38°C) ne présentent pas de différences significatives.

Dans l'étude de BIELMANN et al. (2010), les **performances intrinsèques** des réfractomètres optique et digital (sensibilité et spécificité des méthodes) pour la détection d'un colostrum de concentration en IgG inférieure à 50 g/L ont été évaluées (par rapport à la méthode de référence, l'IDR). Quatre seuils de décision (18, 20, 22 et 24 % sur l'échelle de Brix) ont été choisis pour les calculer. Les performances optimales ont été obtenues pour le **seuil de décision de 22 %**. La sensibilité et la spécificité du réfractomètre optique sont respectivement de 90,5 % et 85,0 %. De même, la **sensibilité et la spécificité du réfractomètre digital** sont respectivement de **92,5 % et 80,0 %** pour un **seuil de décision de 22 %** sur l'échelle Brix [Tableau 9].

	Primipares					Multipares			
	seuil de décision (% Brix)	sensibilité (%)	spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)	sensibilité (%)	spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
réfractomètre optique	18	100,0	0,0	89,9	0,0	99,4	33,3	95,7	80,0
	20	97,2	50,0	94,5	66,7	96,1	58,3	97,2	50,0
	22	88,7	75,0	96,9	42,9	91,1	91,7	99,4	40,7
	24	71,8	75,0	96,2	23,1	76,0	100,0	100,0	21,8
réfractomètre digital	18	100,0	0,0	89,9	0,0	99,4	33,3	95,7	80,0
	20	94,4	25,0	91,8	33,3	96,7	75,0	96,1	45,5
	22	90,1	37,5	92,8	30,0	92,2	83,3	98,8	41,7
	24	69,0	75,0	96,1	21,4	79,3	91,7	99,3	22,9

Tableau 9 : Sensibilité et spécificité des réfractomètres optique et digital. [BIELMAN et al., 2010]

Pour ce même seuil de décision, des performances intrinsèques inférieures ont été obtenues dans une autre étude de CHIGERWE et al. (2008) : sensibilité de **75 %** (IC_{95%}=63-86 %) et spécificité de **78 %** (IC_{95%}=70-85 %) [Tableau 10].

seuil de décision (% Brix)	sensibilité (%) (IC _{95%})	spécificité (%) (IC _{95%})
< 14	7 (4 – 11)	100
< 15	13 (4 – 21)	99 (97 – 100)
< 16	16 (7 – 26)	97 (93 – 100)
< 17	22 (11 – 33)	97 (93 – 100)
< 18	31 (19 – 43)	97 (92 – 99)
< 19	40 (27 – 53)	93 (88 – 98)
< 20	52 (40 – 66)	92 (87 – 97)
< 21	64 [51 – 76]	90 (84 – 95)
< 22	75 (63 – 86)	78 (70 – 85)
< 23	80 (69 – 91)	65 (56 – 73)
< 24	84 (74 – 93)	58 (49 – 67)
< 25	87 (78 – 96)	47 (38 – 57)
< 26	91 (83 – 99)	42 (33 – 51)
< 27	93 (86 – 100)	33 (24 – 41)
< 28	93 (86 – 100)	27 (19 – 35)
< 28	96 (91 – 100)	20 (13 – 27)
< 30	96 (91 – 100)	16 (10 – 23)
< 31	98 (95 – 100)	10 (5 – 16)
< 32	100	7 (2 – 13)

Tableau 10 : Sensibilité et spécificité du réfractomètre pour la détection d'un colostrum de concentration < 50 g/L d'immunoglobulines (n = 171). [CHIGERWE et al., 2008]

Pour un seuil de décision de 21 % sur l'échelle de Brix et une concentration de 50 g/L d'IgG, QUIGLEY et al. (2012) ont calculé une sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative, respectivement, de 92,9 %, 65,5 %, 93,5 %, 63,3 % [Tableau 11].

seuil de décision (% Brix)	sensibilité (%) (IC _{95%})	spécificité (%) (IC _{95%})	VPP (%) (IC _{95%})	VPN (%) (IC _{95%})
18	99,4 (98,1-100,6)	24,1 (8,6-39,7)	87,4 (82,4-92,3)	87,5 (64,6-110,4)
19	98,7 (96,9-100,5)	24,1 (8,6-39,7)	87,4 (82,4-92,3)	77,8 (50,6-104,9)
20	98,7 (96,9-100,5)	27,6 (11,3-43,9)	87,9 (83,0-92,7)	80,0 (55,2-104,8)
21	92,9 (88,8-96,9)	65,5 (48,2-82,8)	93,5 (89,5-97,4)	63,3 (46,1-80,6)
22	85,7 (80,2-91,2)	79,3 (64,6-94,1)	95,7 (92,2-99,1)	51,1 (36,5-65,7)
23	72,1 (65,0-79,2)	96,6 (89,9-103,2)	99,1 (97,4-100,8)	39,4 (28,1-50,8)

Tableau 11 : Sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive (VPP) et valeur prédictive négative (VPN) du réfractomètre pour la détection d'un colostrum de concentration < 50 g/L d'immunoglobulines (n = 183). [QUIGLEY et al., 2012]

Le réfractomètre est donc un **outil correct pour estimer la concentration en IgG**. Selon les auteurs, un colostrum est considéré comme « **mauvais** » si l'indice

de réfractométrie est < 21 ou 22 % sur l'échelle de Brix, correspondant à une concentration en **IgG < 50 g/L**. Le réfractomètre est relativement simple d'utilisation, utilisable au pied de l'animal, mais nécessite un **étalonnage** systématique entre chaque mesure.

6.2.2. Pèse colostrum

Le **pèse colostrum** est un **hydromètre** qui mesure la **densité** du colostrum, qui est elle-même **reliée de façon linéaire à la concentration en immunoglobulines colostrales**. Sur la base de cette relation linéaire, le pèse colostrum permet une évaluation indirecte, simple et à moindre coût de la concentration en immunoglobulines du colostrum.

FLEENOR et STOTT (1980) ont montré que la densité du colostrum est corrélée à la concentration en protéines totales du colostrum ($r = 0,900$; $n = 29$, $P < 0,0001$) et à la concentration en immunoglobulines colostrales ($r = 0,699$; $n = 29$, $P < 0,0001$).

L'estimation indirecte de la concentration en immunoglobulines colostrales en mesurant la densité du colostrum a été décrite chez différentes espèces : bovins [FLEENOR et STOTT, 1980 ; MECHOR et al., 1992 ; PRITCHETT et al., 1994 ; QUIGLEY et al., 1994 ; MORIN et al., 2001 ; IMBERT, 2005], équins [LEBLANC et al., 1986 ; WAELCHLI et al., 1990 ; VENNER et al., 2008] et caprins [RUDOVSKY et al., 2008].

La densité du colostrum mesurée au pèse colostrum est mieux corrélée à la concentration en protéines totales du colostrum ($r = 0,76$ à $0,900$) qu'à la concentration en immunoglobulines ($r = 0,53$ à $0,699$) [FLEENOR et STOTT, 1980 ; MORIN et al., 2001]. MECHOR et al. (1992) ont calculé une corrélation similaire entre la densité et d'une part, la concentration en protéines totales et d'autre part, la concentration en immunoglobulines ($r = 0,87$; $n = 39$, $P < 0,05$).

FLEENOR et STOTT (1980) ont établi une première **équation pour estimer la concentration en immunoglobulines colostrales à partir de la mesure de la densité du colostrum** ($[Ig] = 211,4 \times \text{densité} - 218,2$) et a ainsi développé un colostromètre dont l'échelle repose sur cette équation : intervalle de 5 mg/mL de 0 à 180 mg/mL d'IgG avec 3 couleurs différentes (rouge pour $[IgG] < 22$ mg/mL ; jaune pour $[IgG] = [22 ; 50$ mg/mL] ; vert pour $[IgG] > 50$ mg/mL).

La corrélation entre l'estimation indirecte de la concentration en IgG au pèse colostrum et la mesure directe par la méthode de référence (IDR) évaluée chez les bovins, équins et caprins est donnée dans (Tableau 12). Notons que ces corrélations sont très variables selon les études (de $r = 0,31$ à $r = 0,97$).

espèce	auteurs	coefficient de corrélation de Pearson (r) avec [IgG] mesurée par IDR	effectif (n)	probabilité critique (P)
bovins	[FLEENOR et STOTT, 1980]	0,699	29	< 0,0001
	[MECHOR et al., 1992]	0,76	39	< 0,0001
	[PRITCHETT et al., 1994]	0,469	915	< 0,0001
	[QUIGLEY et al., 1994]	0,38	88	< 0,0001
	[MORIN et al., 2001]	0,53	40	0,0005
	[IMBERT, 2005]	0,31	186	0,0001

équins	[LEBLANC et al., 1986]	0,9	100	< 0,05
	[WAELCHLI et al., 1990]	0,973	27	< 0,01
	[VENNER et al., 2008] *	0,88	360	< 0,0001
caprins	[RUDOVSKY et al., 2008]	0,44	30	< 0,001

Tableau 12 : Comparaison interspécifique des coefficients de corrélation entre la densité mesurée au colostromètre et la concentration en IgG mesurée par la méthode de référence. [Sources multiples]

* [IgG] mesurée par la méthode ELISA

La **densité du colostrum dépend de la température** [MECHOR et al., 1991 ; MECHOR et al., 1992 ; RUDOVSKY et al., 2008]. Dans les conditions optimales d'utilisation du pèse colostrum définies par MECHOR et al. (1992), à 20 °C,

$$[\text{IgG}] \text{ (mg/mL)} = 958 \times \text{densité} - 969$$

Toutefois, une autre équation permet de corriger la concentration en IgG à partir de la densité du colostrum en tenant compte de la température du prélèvement (n = 39 ; pour des températures de colostrum de 0 à 40°C, intervalle de 5°C) :

$$[\text{IgG}] \text{ (mg/mL)} = 853 \times \text{densité} + 0,4 \times \text{température (°C)} - 866$$

Selon FLEENOR et STOTT (1980) et MORIN et al. (2001), la densité du colostrum n'est pas corrélée à la concentration en matière grasse. Cependant, MECHOR et al. (1992) ont montré une corrélation négative entre la matière grasse et la densité du colostrum (r = - 0,57 ; n = 39 ; P < 0,05).

Pour des colostrums de concentration en IgG de 70 g/L, PRICHETT et al. (1994) ont estimé la sensibilité optimale du pèse colostrum à 63 %, la spécificité à 85 % et la valeur prédictive négative à 95 % (n = 915 ; P < 0,001). Cependant, pour un **seuil de décision de 50 g/L** (seuil pour la détection d'un colostrum pauvre en immunoglobulines), la **sensibilité** du pèse colostrum n'est que de **32 %** : ce qui suppose que **2/3 des « mauvais » colostrums sont considérés comme acceptables** par estimation de la concentration en immunoglobuline par le pèse colostrum.

seuil de décision (g/L)	sensibilité (%)	spécificité (%)	valeur prédictive négative (%)
50	32	97	78
60	47	92	81
70	63	85	95
85	86	63	92

Tableau 13 : Sensibilité, spécificité et VPN du colostromètre (n = 915). [PRICHETT et al., 1994]

CHIGERWE et al. (2008) ont déterminé la sensibilité et la spécificité de deux colostromètres pour différents seuils de décision. Les performances intrinsèques des colostromètres évaluées chez les bovins pour détecter les colostrums de concentration en IgG inférieure à 50 g/L sont faibles : pour les deux appareils, la sensibilité a été estimée à 47 % (IC_{95%}= 34 – 60 %) et 35 % (IC_{95%}= 22 – 47 %), pour une spécificité de 93 % (IC_{95%}= 88 – 98 %) et de 94 % (IC_{95%}= 90 – 98 %). La sensibilité optimale pour les deux appareils a été estimée respectivement à 75 % (IC_{95%}= 63 – 86 %) au seuil de décision de 70 g/L lors de la lecture du pèse colostrum et à 76 % (IC_{95%}= 65 – 88 %) au seuil de décision de 87,5 g/L mais au détriment de la spécificité (78 - 66 %) [Tableau 14].

seuil de décision (g/L)	sensibilité (%) (IC _{95%})	spécificité (%) (IC _{95%})
< 10	5 (0 – 11)	99 (81 – 100)
< 20	11 (3 – 19)	98 (95 – 100)
< 30	21 (11 – 33)	97 (94 – 100)
< 40	29 (17 – 41)	95 (92 – 99)
< 50	47 (34 – 60)	93 (88 – 98)
< 60	61 (49 – 75)	83 (76 – 90)
< 70	75 (63 – 86)	78 (71 – 86)
< 80	80 (69 – 91)	66 (58 – 75)
< 90	93 (86 – 99)	52 (43 – 62)
< 100	96 (91 – 100)	40 (32 – 49)
< 110	100	29 (21 – 38)
< 120	100	25 (18 – 34)
< 130	100	9 (4 – 14)
< 140	100	0

Tableau 14 : Sensibilité et spécificité du colostromètre 1 pour la détection d'un colostrum de concentration < 50 g/L d'immunoglobulines (n = 171). [CHIGERWE et al., 2008]

seuil de décision (g/L)	sensibilité (%) (IC _{95%})	spécificité (%) (IC _{95%})
< 25	11 (3 – 19)	99 (97 – 100)
< 37,5	15 (5 – 24)	97 (93 – 100)
< 50	35 (22 – 47)	94 (90 – 98)
< 62,5	36 (24 – 49)	88 (85 – 91)
< 75	67 (54 – 80)	74 (66 – 82)
< 87,5	76 (65 – 88)	66 (58 – 75)
< 100	89 (81 – 97)	53 (44 – 63)
< 112,5	91 (86 – 100)	40 (31 – 49)
< 125	100	0

Tableau 15 : Sensibilité et spécificité du colostromètre 2 pour la détection d'un colostrum de concentration < 50 g/L d'immunoglobulines (n = 171). [CHIGERWE et al., 2008]

Le pèse colostrum surestime donc la concentration en immunoglobulines des « mauvais » colostrums ([IgG < 50 g/L]) dans 30 à 50 % des cas.

Comparaison des coefficients de corrélation avec la concentration en IgG mesurée par la méthode de référence des deux techniques d'évaluation de la qualité du colostrum de la vache :

méthodes indirectes	espèce	auteurs	coefficient de corrélation de Pearson (r) avec [IgG] mesurée par IDR	effectif (n)	probabilité critique (P)
réfractomètre digital	bovins	[MOLLA, 1980]	0,89	-	< 0,001
		[IMBERT, 2005]	0,58	88	0,0001
		[CHIGERWE et al., 2008]	0,41	171	-
		[BIELMANN et al., 2010]	0,73	273	< 0,001
		[MORRILL et al., 2012]	0,53	805	< 0,0001
		[QUIGLEY et al., 2012]	0,75	183	< 0,01
	ovins	[HARKER, 1978] ¹	0,79	-	< 0,05
	équins	[CHAVATTE, 1998]	0,85	20	-
		[CASH, 1999]	0,94	66	-
[VENNER et al., 2008] ²		0,93	360	< 0,0001	
colostromètre	bovins	[FLEENOR et STOTT, 1980]	0,699	29	< 0,0001
		[MECHOR et al., 1992]	0,76	39	< 0,0001
		[PRITCHETT et al., 1994]	0,469	915	< 0,0001
		[QUIGLEY et al., 1994]	0,38	88	< 0,0001
		[MORIN et al., 2001]	0,53	40	0,0005
		[IMBERT, 2005]	0,31	186	0,0001
	équins	[LEBLANC et al., 1986]	0,9	100	< 0,05
		[WAECHLI et al., 1990]	0,973	27	< 0,01
		[VENNER et al., 2008] ²	0,88	360	< 0,0001
caprins	[RUDOVSKY et al., 2008]	0,44	30	< 0,001	

Tableau 16 : Comparaison des coefficients de corrélation avec la concentration en IgG mesurée par IDR du réfractomètre digital et du colostromètre. [Sources multiples]

¹ [IgG] mesurée par la méthode de turbidité au sulfate de zinc

² [IgG] mesurée par la méthode ELISA

Comparaison des performances intrinsèques des deux techniques d'évaluation de la qualité du colostrum de la vache pour des seuils de référence fixés à 50 g/L d'IgG colostrales :

méthodes indirectes	seuil de décision	auteurs	sensibilité	spécificité
réfractomètre digital	22 % Brix	[CHIGERWE et al., 2008]	75 %	78 %
		[BIELMANN et al., 2010]	92,5 %	80,0 %
		[QUIGLEY et al., 2012]	85,7 %	79,3 %
colostromètre	70 g/L	[PRICHETT et al. 1994]	63 %	85 %
		[CHIGERWE et al., 2008]	75 %	78 %

Tableau 17 : comparaison de la sensibilité et de la spécificité du réfractomètre digital et du colostromètre. [Sources multiples]

Pour un **seuil de décision de 50 g/L d'IgG** (soit **22 % sur l'échelle de Brix**), le **réfractomètre est à privilégier** plutôt que le pèse colostrum.

D'autres méthodes indirectes pour estimer la concentration en IgG du colostrum ont été proposées : la néphélométrie (mesure de la turbidité, c'est-à-dire des particules en suspension) [EISENHAUER et al., 1984] et la couleur du colostrum [ARGUELLO et al., 2005]. La corrélation entre la concentration en IgG estimée par

néphélométrie et mesurée par IDR a été évaluée à 0,975 (n = 225) chez la jument par EISENHAUER et al. (1984). Le coefficient de régression linéaire entre la concentration en IgG et la couleur du colostrum de la chèvre a été calculé à 0,70 (n = 1084) et la sensibilité, la spécificité et la valeur prédictive négative ont été évaluées, respectivement, à 93,03 %, 71,43 % et 78,12 % [ARGUELLO et al., 2005].

CHIGERWE et al. (2005) ont proposé une méthode immunologique (immunoassay) pour estimer la concentration en IgG. La sensibilité de cette technique pour détecter des « mauvais » colostrum (< 50 g/L) a été calculée à 0,93. Mais, il s'agit d'une méthode qualitative et non quantitative comme le sont la réfractométrie et le pèse colostrum.

Le réfractomètre et le pèse colostrum sont deux outils d'évaluation indirecte de la qualité du colostrum, utilisables au pied de l'animal. **Les performances intrinsèques de ces deux outils n'ont pas été, jusqu'alors, évaluées chez la brebis.** Pour un seuil de décision de 50 g/L d'IgG pour qualifier un colostrum de « bon », **le réfractomètre est plus sensible et plus spécifique que le pèse colostrum chez les bovins** et, contrairement au pèse colostrum, **l'indice de réfractométrie ne dépend pas de la température** de l'échantillon. Le pèse colostrum surestime la qualité du colostrum dans 30 à 50 % des cas. Notre étude expérimentale a pour objectif de **déterminer les performances intrinsèques** de ces deux méthodes **chez la brebis** afin de pouvoir disposer d'outils de mesure de la qualité du colostrum fiables, répétables et pratiques d'utilisation.

DEUXIEME PARTIE :

ETUDE EXPERIMENTALE

1. EVALUATION DES PERFORMANCES INTRINSEQUES DE LA REFRACTOMETRIE ET DU PESE COLOSTRUM POUR L'EVALUATION INDIRECTE DE LA CONCENTRATION EN IMMUNOGLOBULINES G1 DU COLOSTRUM DE BREBIS

1.1. Matériel et méthode

1.1.1 Programme DEGERAM

Nos études expérimentales ont été réalisées à la station UPRA ovin allaitant du Massif Central (races Blanche du Massif central, Limousine, Noire du Velay, Bizet, Rava et Grivette) de l'organisme de sélection de FEDATEST, situé à Paysat-Bas, Mazeyrat d'Allier (Haute-Loire).

Ces travaux de thèse s'intègrent dans le cadre d'un programme de recherche et développement professionnel « génomique » des races rustiques DEGERAM (développement génomique des races locales des massifs). Il est mis en œuvre par le CORAM (collectif des races des massifs) en collaboration avec l'UMT Santé des Troupeaux de Petits Ruminants et FEDATEST. Ce programme, agréé en 2011 et validé par le pôle de compétence AGRIMIP, s'étend sur les filières ovin allaitant, ovin laitier et bovin allaitant de races rustiques des principaux massifs français (Alpes, Pyrénées, Massif central et Corse). Ce projet de deux ans est animé pour la filière ovin allaitant par FEDATEST sous couvert de la commission scientifique du CORAM et en partenariat avec l'UMT Santé des Troupeaux de Petits Ruminants (représentée par Fabien Corbière et Jean-Marc Gautier). Notre étude participe au volet plus prospectif du programme de recherche et a pour but d'évaluer la faisabilité d'un schéma de sélection des brebis sur la quantité et la qualité du colostrum.

1.1.2 Périodes

L'évaluation des performances intrinsèques de la réfractométrie et du pèse colostrum pour l'évaluation indirecte de la concentration en IgG du colostrum a été mise en œuvre en deux temps : pendant la saison d'agnelages d'avril 2012 (du 20 au 29 avril 2012) et celle de janvier 2013 (du 05 au 15 janvier 2013).

1.1.3. Choix des brebis

Nous disposons d'un effectif total de 334 prélèvements de colostrum :

- 100 échantillons issus de brebis de race Blanche du Massif Central et Noire du Velay, sans critère d'inclusion particulier, dont le colostrum a été prélevé à l'agnelage ;
- 50 échantillons issus de brebis sélectionnées à partir des résultats de 2012, prélevées une seconde fois en janvier 2013, à la mise bas ;
- 100 échantillons de colostrum prélevés à T0, T6, T12 et T18 *post-partum* sur 40 brebis issues du second protocole d'avril 2012 ;
- et 84 échantillons de colostrum prélevés à T0, T6 et T12 *post-partum* sur 30 brebis de race Lacaune issues du second protocole de janvier 2013.

Les brebis ont été inséminées après traitements hormonaux de synchronisation des chaleurs.

1.1.4. Modes opératoire et natures des prélèvements

Les brebis ont été placées en case d'agnelage individuelle à la mise bas. Trente mL de colostrum ont été prélevés dans un flacon non stérile (dans les 30 minutes *post-partum*).

La viscosité du prélèvement a été appréciée qualitativement et notée sur une échelle de 1 (peu visqueux = lait) à 3 (très visqueux = crème). Les échantillons ont été identifiés par le numéro d'identification national de la brebis et conservés au frais puis congelés dans la journée.

Trois aliquotes et l'échantillon de 30 mL ont été congelés. Une aliquote a été conservée à l'ENVT, les 2 autres ainsi que le flacon de 30 mL ont été transférés au Centre Interprofessionnel d'Analyse Laitière du Sud-Ouest (CIALSO) à Auch.

1.1.5. Analyses

- Dosage des IgG

Les IgG ont été dosées au Centre Interprofessionnel d'Analyse Laitière du Sud-Ouest (CIALSO) à Auch. La concentration en IgG a été mesurée par immunodiffusion radiale (IDR). Une solution d'agarose diluée à 1 % a été mélangée à une solution tampon de barbital de sodium à 0,1 % d'azide de sodium. Des anticorps anti-IgG ovines ont été ajoutés à ce mélange et 11 mL sont placés dans la boîte de Pétri. Une fois la gélose solidifiée, des puits de 3 mm de diamètre ont été creusés. Les échantillons de colostrum ont été dilués à 1/120 dans la solution tampon de barbital de sodium et 5 µL de chaque préparation ont été placés dans les puits. Le diamètre de la zone de précipitation a été mesuré après 72 heures d'incubation à 23°C. La concentration en IgG a été déterminée à partir de courbes de référence obtenues par dilutions en série d'IgG ovines.

- Dosage de la matière grasse

La concentration en matière grasse a été mesurée par la méthode de référence Gerber au Centre Interprofessionnel d'Analyse Laitière du Sud-Ouest (CIALSO) à Auch.

- Mesures au réfractomètre et pèse colostrum

Les analyses par réfractométrie et au pèse colostrum ont été réalisées par nos soins à la station de FEDATEST du 24 au 29 avril 2012, puis du 6 au 15 janvier 2013.

Les échantillons congelés ont été décongelés la veille de l'analyse ou mis en bain-marie quelques heures avant pour atteindre une température moyenne de 21,5°C (de 18,7°C à 27,6°C). Les prélèvements ont été homogénéisés par retournements. La température a été mesurée pour tous les échantillons avant les analyses par un thermomètre digital. Trois aliquotes de 2 mL par échantillon ont été réalisées pour tous les prélèvements, identifiées par le numéro de travail de la brebis.

La concentration en IgG a été estimée au réfractomètre digital Brix. Entre chaque mesure, le réfractomètre était rincé à deux reprises à l'eau distillée, étalonné

puis séché avec précaution. Une goutte de colostrum était placée dans la cupule du réfractomètre à l'aide d'une pipette à usage unique. Au minimum 2 lectures ont été réalisées, et 2 autres supplémentaires si les valeurs différaient de 1% sur l'échelle de Brix.

La concentration en IgG a ensuite été mesurée au pèse colostrum. Le colostrum était aspiré lentement et la lecture réalisée une fois le flotteur stabilisé. Entre chaque mesure, le pèse colostrum était rincé trois fois à l'eau très chaude puis une fois à l'eau froide.

1.1.6. Analyses statistiques

Les données ont été analysées par le logiciel SAS ® (version 9.1).

La description des variables quantitatives (indice de réfractométrie, mesure au pèse colostrum, concentration en IgG, concentration en MG et température) est issue de la procédure « proc means » sous SAS®. Tous les résultats sont présentés avec la moyenne et l'écart-type.

La procédure « proc gchart » sous SAS® est utilisée pour tracer les histogrammes horizontaux afin d'évaluer la normalité de nos résultats.

Les corrélations entre les différentes méthodes (réfractométrie, pèse colostrum, IDR) sont calculées par la procédure « proc reg » sous SAS®.

La sensibilité (Se) et la spécificité (Sp) du réfractomètre et du pèse colostrum sont calculées par la procédure « proc freq » réitérée dans une macro « %macro ». Les résultats sont donnés par représentation des courbes ROC (sensibilité = f (1-spécificité)) obtenues par la procédure « proc gplot » sous SAS®. Le choix du seuil de décision associé aux meilleures performances intrinsèques s'est fait sur la base de la minimisation de l'indice de Youden ($Y=1-(Se+Sp)$) et en maximisant le pourcentage d'échantillons bien classés (efficacité).

L'influence de la concentration en IgG mesurée par IDR, de la matière grasse et de la température (variables continues) sur l'indice de réfractométrie et sur la mesure au pèse colostrum est évaluée par le calcul des coefficients de corrélation de Pearson « proc corr » et par régression linéaire « proc reg » sous SAS ®.

L'influence de la viscosité (variable catégorielle) est évaluée par comparaison de moyennes entre plusieurs groupes (ANOVA) « proc npar1way anova », puis par comparaison de moyennes deux à deux (test de Student) « proc ttest » lorsqu'une différence significative est observée par méthode ANOVA.

L'influence de la période de l'étude (variable catégorielle) est évaluée par comparaison de moyennes entre deux groupes (année 2012 *versus* 2013) (test de Student) « proc ttest » après vérification de la distribution normale des variables et de l'égalité des variances.

Le jour du prélèvement et l'opérateur sont des variables catégorielles dont il convient de définir des variables indicatrices. L'influence de ces deux paramètres est analysée par deux procédures « proc reg » et « proc mixed » sous SAS®.

Une association a été considérée comme statistiquement significative au seuil de risque alpha 5 %.

1.2. Résultats

1.2.1. Répétabilité de la méthode de référence

La répétabilité de l'immunodiffusion radiale a été évaluée par régression linéaire à partir des résultats de deux dosages de mêmes échantillons (n=31). Le coefficient de corrélation de Pearson entre les deux mesures de la concentration en IgG par IDR est de 0,98 (P<0,0001). Le pourcentage (en valeur absolue) de différence entre les deux mesures était en moyenne de 7,4 +/- 0,7 % (minimum 0,4 % ; maximum 14,5 %). Malgré cette évaluation approximative, l'immunodiffusion radiale semble donc une méthode répétable. Le calcul de la répétabilité et de la reproductibilité aurait nécessité un plus grand nombre de mesures (au moins 10) par échantillon.

1.2.2. Corrélations entre réfractométrie, mesure au pèse colostrum et méthode de référence

- Statistiques descriptives

La description des résultats est donnée dans le tableau 18. La concentration moyenne en IgG mesurées par IDR est de 54,2 g/L. L'écart-type est très élevé (40,7 g/L), ce qui souligne une variabilité interindividuelle élevée.

mesures	n	moyenne	écart-type	minimum	maximum
indice de réfractométrie (% Brix)	493	25,32	7,01	8,75	43,50
pèse colostrum (g/L)	464	77,32	32,59	0	133,00
[IgG] par IDR (g/L)	334	54,23	40,72	0,30	260,78
[MG] (g/L)	330	92,85	35,59	8,75	198,40
température (°C)	494	22,14	1,87	18,60	27,60

Tableau 18 : statistiques descriptives des différentes mesures réalisées sur le colostrum.

Les distributions des concentrations en IgG1 mesurées par immunodiffusion radiale (g/L) et estimées au réfractomètre (% Brix) et au pèse colostrum sont présentées dans les figures 14, 15 et 16. Deux tiers (222/334) des échantillons avaient une concentration en IgG1 mesurées par IDR comprise entre 25 et 75 g/L et 15 % (51/334) des échantillons avaient une concentration en IgG1 inférieure à 25 g/L.

Concentration en IgG mesurée par IDR (g/L)

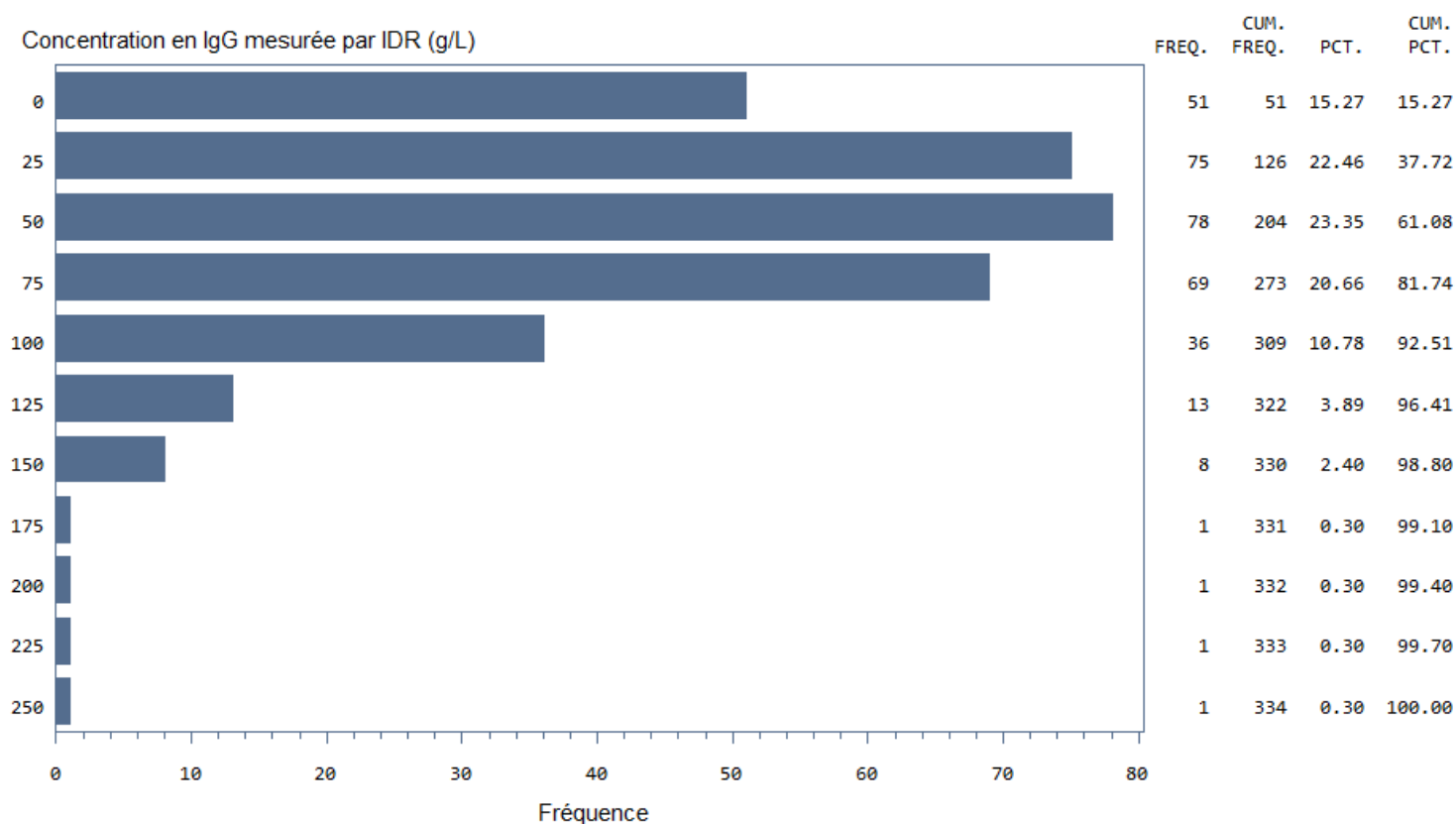


Figure 14 : Distribution des concentrations en IgG mesurées par IDR (g/L) (n=334).

Fréquence

Figure 14 : Distribution des concentrations en IgG mesurées par IDR (g/L) (n=334).

Indice de réfractométrie (% Brix)

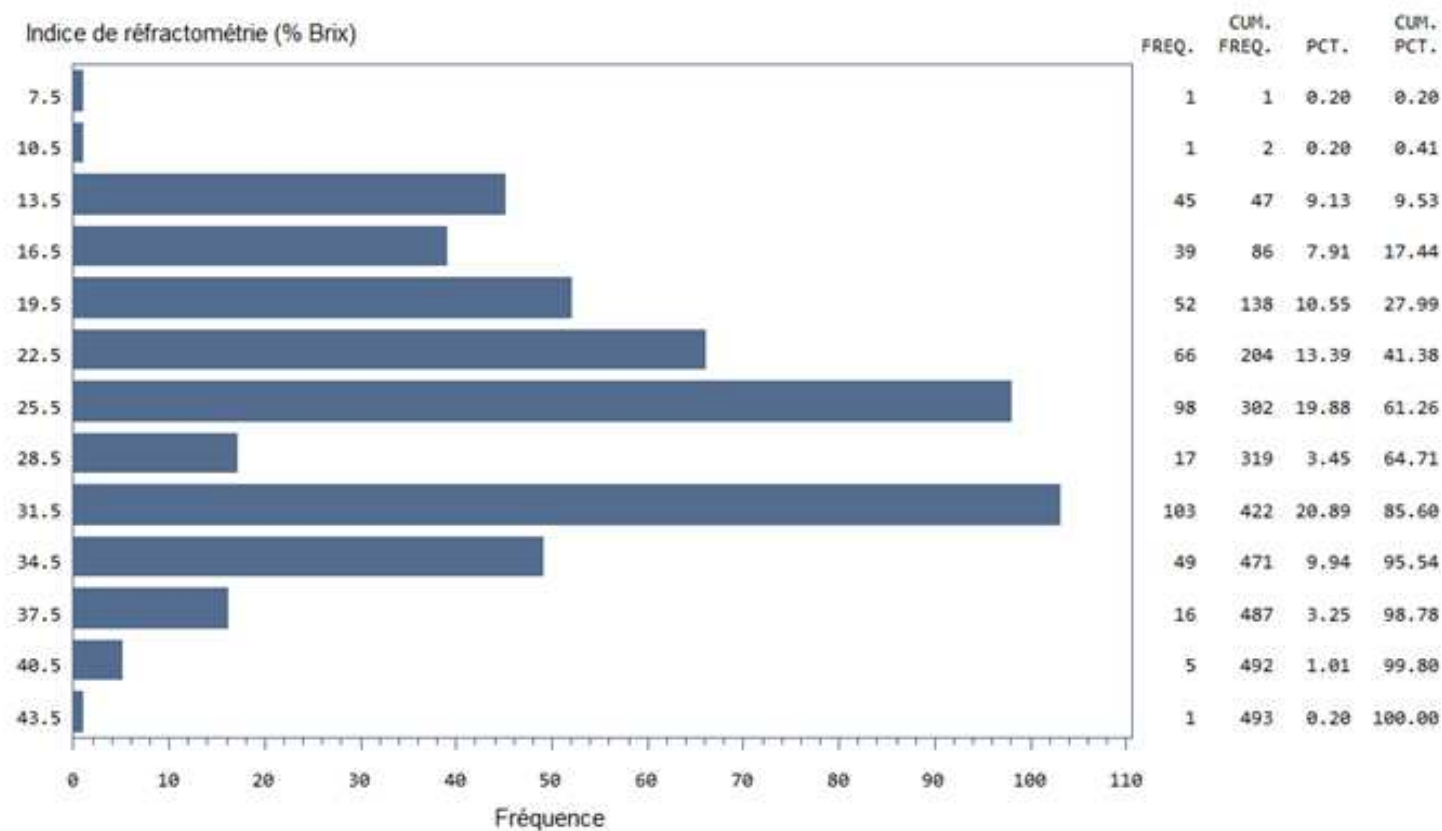


Figure 15 : Distribution des indices de réfractométrie (% Brix) (n=493).

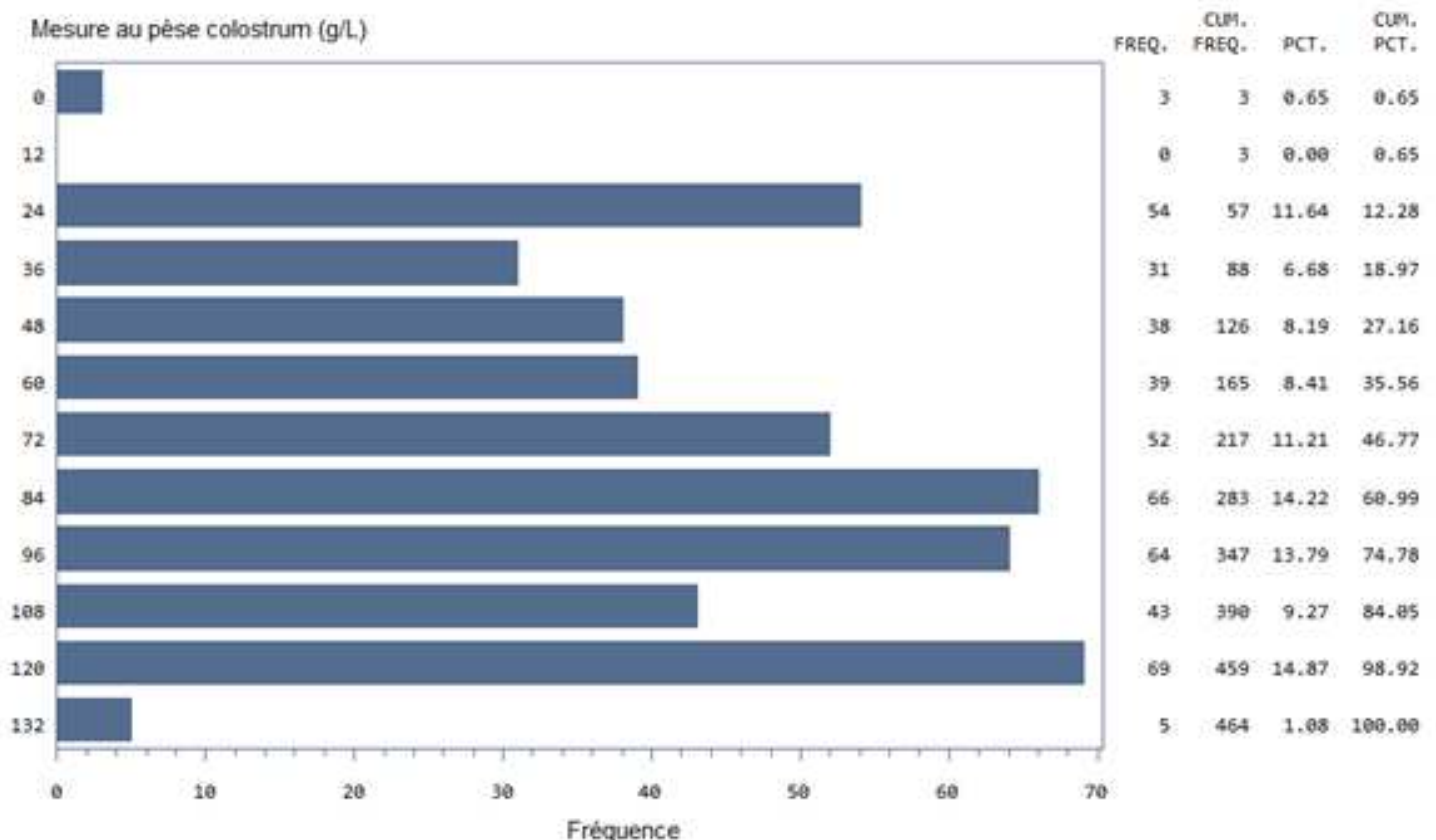


Figure 16 : Distribution des mesures au pèse colostrum (g/L) (n=464).

- Corrélation entre indice de réfractométrie et IDR

La relation entre l'indice de réfractométrie et la concentration en IgG1 mesurée par la méthode de référence (IDR) est présentée dans la figure 17.

La concentration en IgG1 (g/L) est significativement corrélée à l'indice de réfractométrie (% Brix) (n = 333 ; $R^2 = 0,61$; $P < 0,0001$) : une augmentation de 10 g/L de la concentration en IgG1 mesurée par IDR se traduit en moyenne par une augmentation de $1,4 \pm 0,0006$ % Brix.

Trente prélèvements avaient des valeurs très proches en réfractométrie (31 % Brix) pour des mesures en IDR très variables (entre 28 et 100 g/L d'IgG1) [Figure 17]. Ces échantillons ont été contrôlés en réfractométrie et en IDR avec des résultats très proches des valeurs initiales. L'origine de ces résultats étonnants n'est pour le moment pas expliquée.

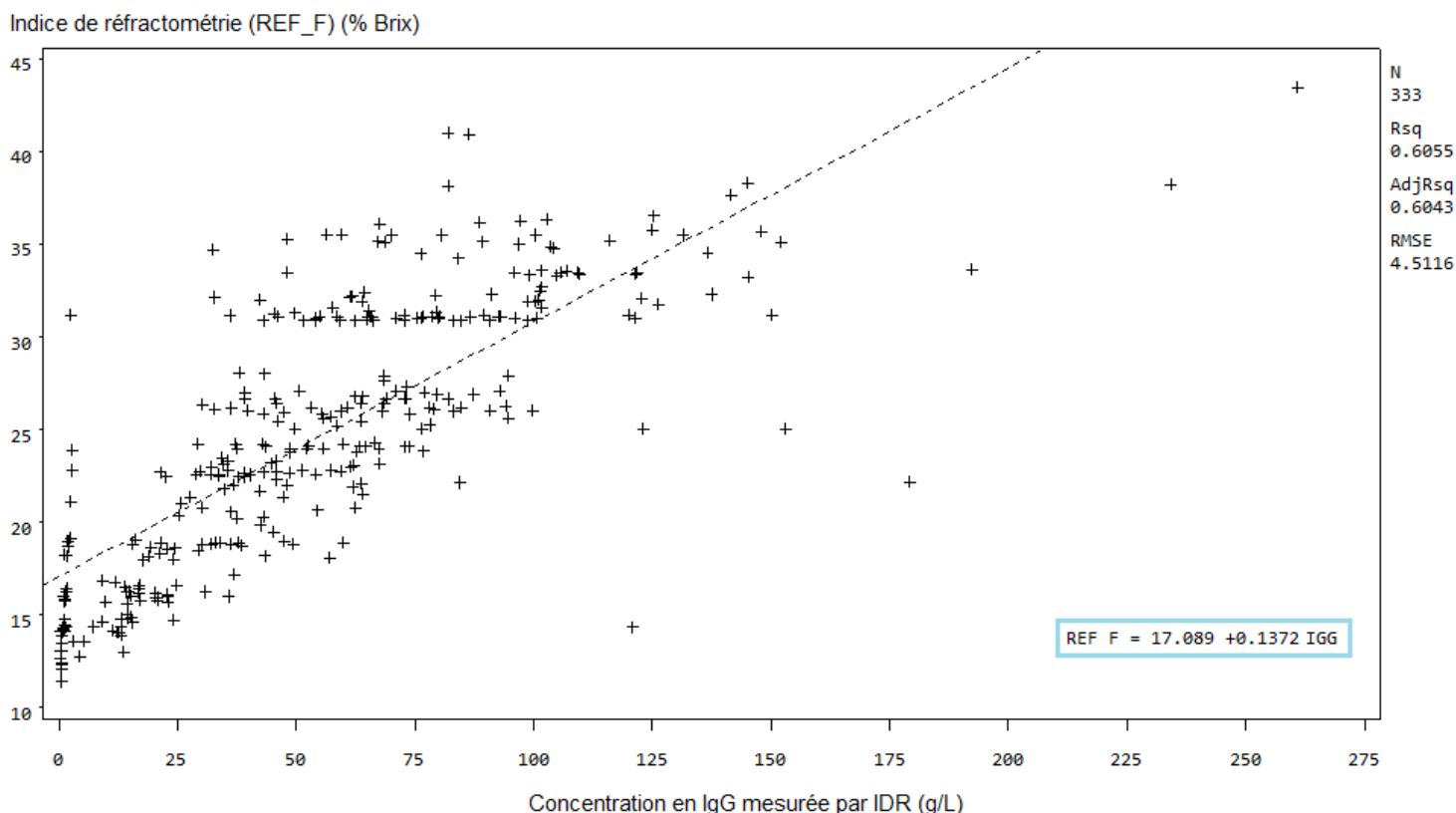


Figure 17 : Relation entre l'indice de réfraction et la concentration en IgG mesurée par IDR (n=333).

- Corrélation entre mesure au pèse colostrum et IDR

La relation entre la mesure au pèse colostrum et la concentration en IgG1 mesurée par la méthode de référence (IDR) est présentée dans la figure 18. Pour certains prélèvements de colostrum, la mesure au pèse colostrum était supérieure à l'échelle maximale disponible (125 g/L). Pour ces échantillons, la valeur de 125 g/L leur a été arbitrairement attribuée.

La concentration en IgG1 (g/L) influence significativement la mesure au pèse colostrum (g/L) (n = 310 ; $R^2 = 0,58$; $P < 0,0001$) : une augmentation de 10 g/L de la concentration en IgG1 mesurée par IDR se traduit par une augmentation de $6,5 \text{ g/L} \pm 0,03 \text{ g/L}$ de la mesure au pèse colostrum.

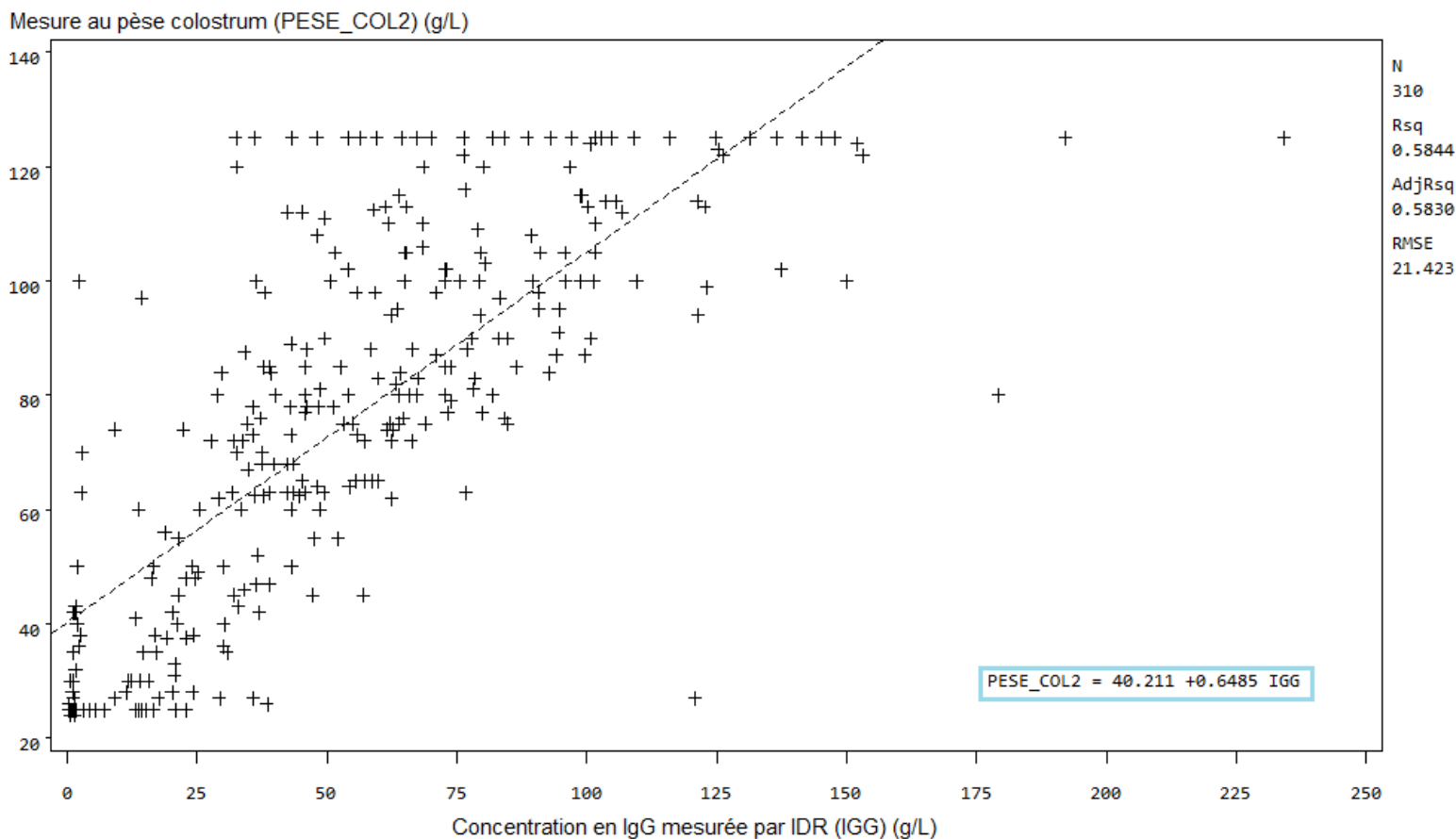


Figure 18 : Relation entre la mesure au pèse colostrum et la concentration en IgG mesurée par IDR (n=310).

- Corrélation entre mesure au réfractomètre et pèse colostrum

La relation entre l'indice de réfractométrie et l'estimation de la concentration en IgG1 au pèse colostrum est présentée dans la figure 19.

L'indice de réfractométrie (% Brix) et la mesure au colostromètre (g/L) sont apparus fortement corrélés (n = 460 ; $R^2 = 0,84$; $P < 0,0001$).

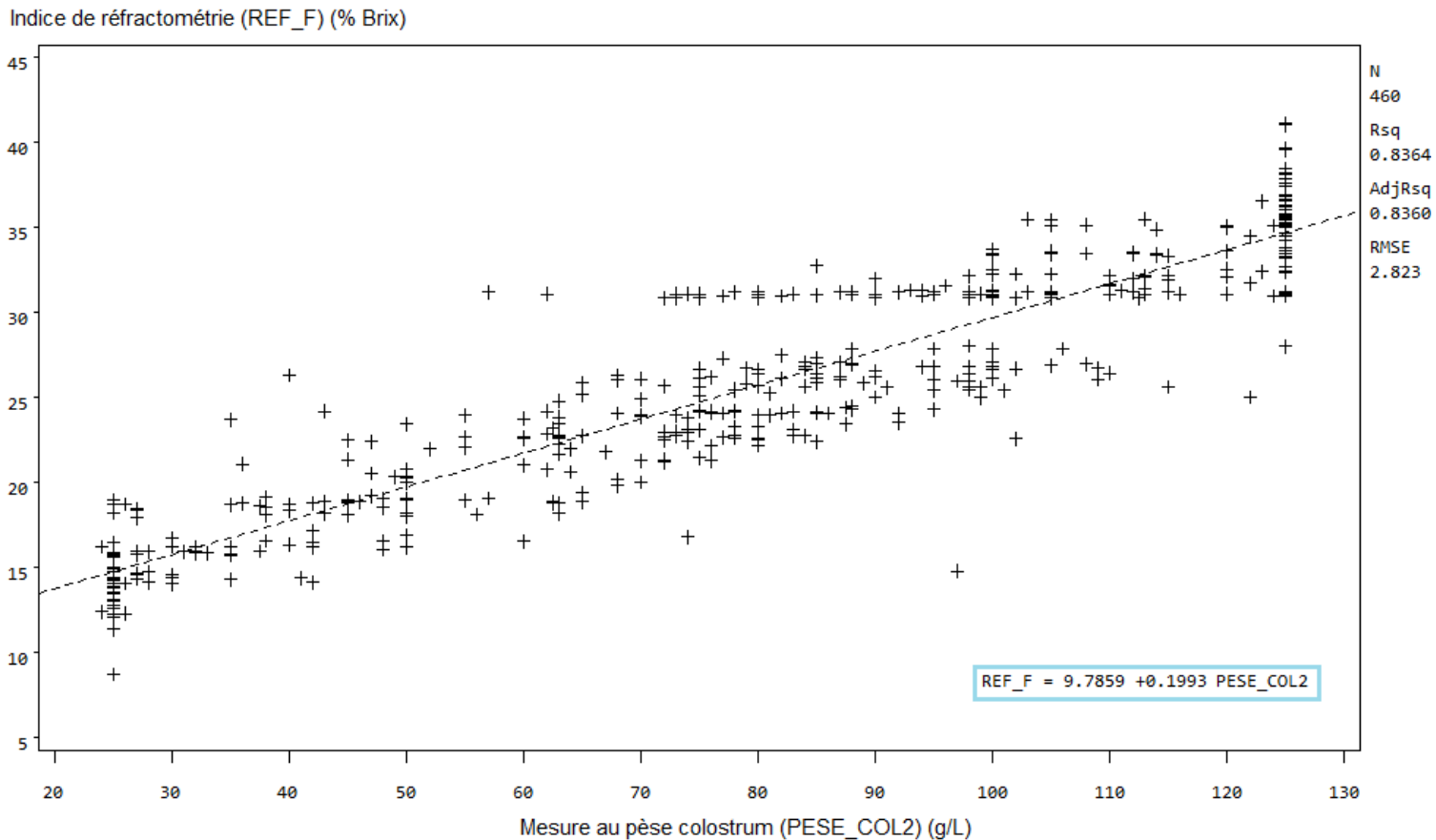


Figure 19 : Relation entre l'indice de réfractométrie (% Brix) et la mesure au pèse colostrum (g/L) (n=460).

1.2.3. Performances intrinsèques du réfractomètre et du pèse colostrum

- Sensibilité et spécificité du réfractomètre

Les performances intrinsèques (sensibilité, spécificité et leurs intervalles de confiance binomiaux exacts à 95% (IC_{95%})) du réfractomètre digital et du pèse colostrum pour la détection d'un colostrum de concentration en IgG1 mesurée par IDR inférieure à 50 g/L sont présentées dans les tableaux 19 et 20 et en annexes 1 et 2.

Les performances intrinsèques de la réfractométrie sont optimales (indice de Youden maximal) pour un seuil de décision de 24 % Brix. Au seuil de décision de 24 % Brix, la sensibilité est de 81,7 % (IC_{95%} = 75,0 – 87,2) et la spécificité de 88,4 % (IC_{95%} = 82,5 – 92,9) [Tableau 19 ; Figure 20]. Pour ce seuil de décision, 85,0% des échantillons étaient bien classés.

Seuil	Se (%)	Se inf.	Se sup	Sp (%)	Sp inf.	Sp sup	Youden	Efficacité
20	59,17	51,36	66,66	98,17	94,75	99,62	57,34	78,38
21	62,13	54,36	69,47	96,95	93,03	99,00	59,08	79,28
22	65,68	58,00	72,80	95,73	91,40	98,27	61,41	80,48
23	76,92	69,83	83,05	91,46	86,09	95,25	68,39	84,08
24	81,66	74,99	87,18	88,41	82,50	92,88	70,07	84,98
25	85,21	78,94	90,19	82,32	75,60	87,83	67,52	83,78
26	87,57	81,63	92,14	75,61	68,30	81,97	63,18	81,68
27	91,72	86,49	95,40	62,80	54,92	70,21	54,52	77,48
28	92,31	87,21	95,84	57,93	49,98	65,58	50,23	75,38
29	93,49	88,65	96,71	57,93	49,98	65,58	51,42	75,98
30	93,49	88,65	96,71	57,93	49,98	65,58	51,42	75,98

Tableau 19 : Extrait du calcul des sensibilités et spécificités du réfractomètre (n=333) pour la détection des colostrums avec des concentrations en IgG1 inférieures à 50g/L. IC 95 % = intervalle de confiance binomial exact à 95%.

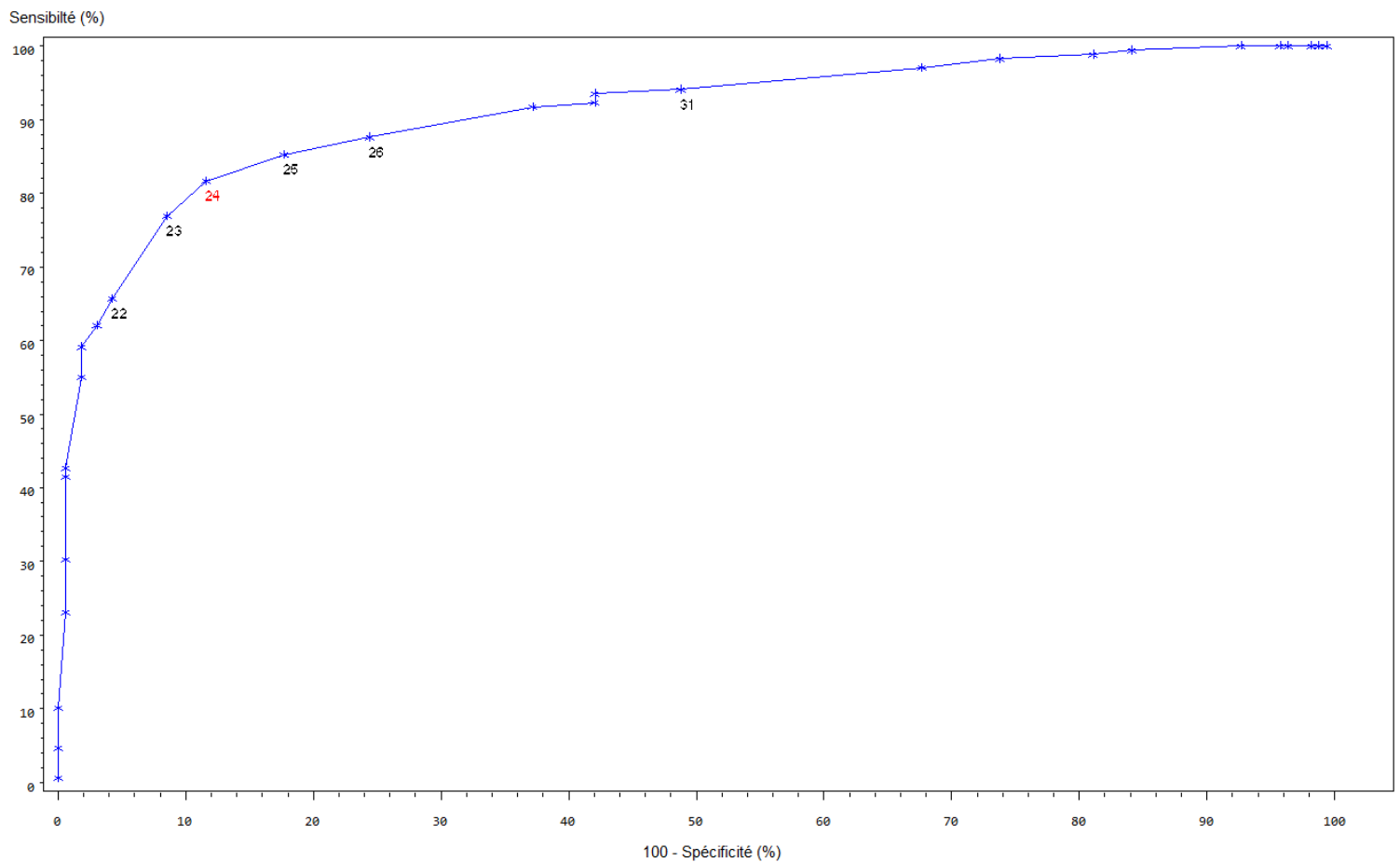


Figure 20 : Courbe ROC ($Se=f(1-Sp)$) pour le réfractomètre.

- Sensibilité et spécificité du pèse colostrum

Les performances intrinsèques du pèse colostrum sont optimales (indice de Youden maximal) pour un seuil de décision de 74 g/L. Compte tenu de la graduation du pèse colostrum, nous avons retenu le seuil de décision de 75 g/L pour juger un prélèvement de « bon » colostrum. Au seuil de décision de 75 g/L, la sensibilité est de 79,8 % (IC_{95%} = 72,8 – 85,6) et la spécificité de 89,1 % (IC_{95%} = 82,9 – 93,6) [Tableau 20 ; Figure 21]. Pour ce seuil de décision, 84,2% des échantillons étaient bien classés.

Seuil	Se (%)	Se inf.	Se sup	Sp (%)	Sp inf.	Sp sup	Youden	Efficacité
70	73,62	66,16	80,20	93,20	87,85	96,69	66,82	82,90
72	75,46	68,12	81,85	93,20	87,85	96,69	68,66	83,87
73	77,30	70,10	83,49	91,16	85,35	95,21	68,46	83,87
74	78,53	71,42	84,56	90,48	84,54	94,69	69,00	84,19
75	79,75	72,76	85,64	89,12	82,93	93,65	68,87	84,19
76	80,37	73,43	86,17	85,03	78,22	90,38	65,40	82,58
77	80,98	74,10	86,70	83,67	76,69	89,25	64,66	82,26
78	81,60	74,78	87,22	82,31	75,17	88,11	63,91	81,94
79	84,05	77,51	89,31	81,63	74,41	87,53	65,68	82,90
80	84,05	77,51	89,31	80,95	73,66	86,95	65,00	82,58

Tableau 20 : Extrait du calcul des sensibilités et spécificités du pèse colostrum (n=310) pour la détection des colostrums avec des concentrations en IgG1 inférieures à 50g/L. IC 95 % = intervalle de confiance binomial exact à 95%.

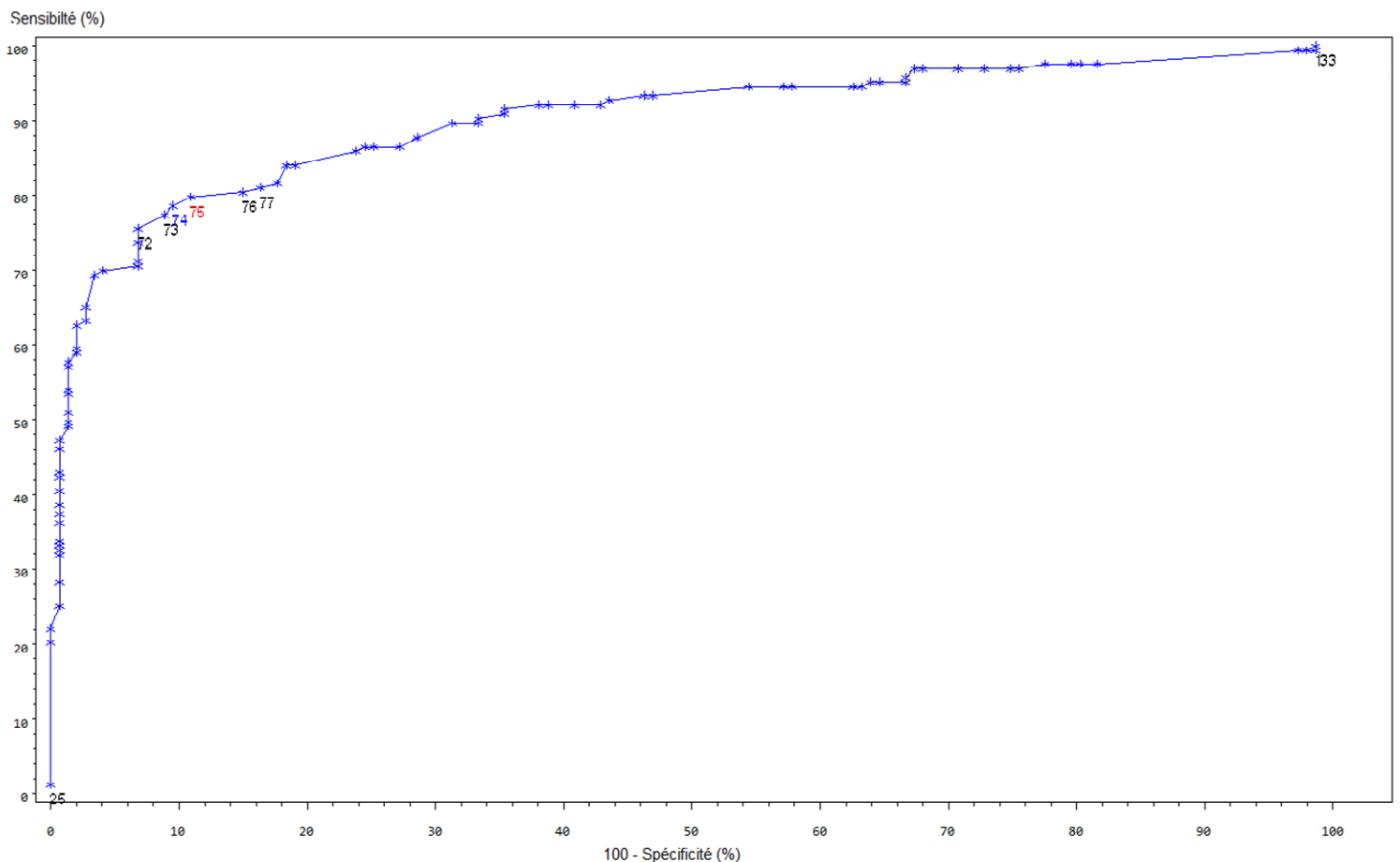


Figure 21 : Courbe ROC ($Se=f(1-Sp)$) pour le pèse colostrum.

1.2.4. Effets des facteurs intrinsèques et extrinsèques

L'influence des facteurs intrinsèques (température, concentration en matière grasse) et extrinsèques (opérateur, année, jour de la mesure) a été évaluée en les incluant comme variables explicatives dans des modèles de régressions linéaires, en plus de la variable de concentration en IgG1.

Aucune influence de l'opérateur, de l'année, de la date de mesure, ou de la température (dans les limites des conditions de mesure) ($P > 0,15$) n'a pu être mise en évidence sur les valeurs obtenues par réfractométrie et au pèse colostrum.

La concentration en matière grasse n'influence pas la mesure au pèse colostrum (n = 310, P = 0,3043) alors qu'elle influence significativement l'indice de réfractométrie (n = 329 ; P < 0,0001). Une augmentation de 10 g/L de la concentration en matière grasse se traduit par une augmentation de $0,5 \pm 0,006\%$ Brix de l'indice de réfractométrie.

1.2.5. Relation entre viscosité du colostrum et concentration en IgG1

La viscosité est apparue significativement corrélée à la concentration en IgG1 mesurée par IDR, la concentration en matière grasse, l'indice de réfractométrie et la mesure au pèse colostrum (P < 0,0001) [Tableau 21].

Viscosité	Concentration en IgG par IDR			Concentration en MG		
	n	moyenne	P	n	moyenne	P
1	65	53,27		64	72,19	
2	48	72,50	<0,0001	47	95,12	<0,0001
3	20	104,13		20	120,88	

Viscosité	Indice de réfractométrie			Mesure au pèse colostrum		
	n	moyenne	P	n	moyenne	P
1	102	23,48		98	72,19	
2	89	28,83	<0,0001	86	95,12	<0,0001
3	42	33,43		42	120,88	

Tableau 21 : Influence de la viscosité (ANOVA).

2. ESTIMATION DU VOLUME DE COLOSTRUM ET DE LA MASSE D'IGG1 PRODUITS PAR LES BREBIS SUR 12 HEURES – ENDOCRINOLOGIE

2.1. Matériel et méthodes

2.1.1. Périodes

L'évaluation du volume de colostrum et des masses d'IgG1 et de matière grasse produits a été réalisée en deux temps :

- La manipulation d'avril 2012 a permis de valider le protocole expérimental et d'évaluer la variabilité de la qualité et de la quantité du colostrum.
- La manipulation de janvier 2013 a eu pour objectif de compléter les données de 2012 et d'étudier la cinétique hormonale (progestérone, cortisol et prolactine) en péripartum.

2.1.2. Suivi de la masse d'IgG, du volume et de la masse de MG

- Choix des brebis

En avril 2012, les prélèvements ont été réalisés sur 40 brebis de race Blanche du Massif Central (BMC) et Noire du Velay (NV), sans critère d'inclusion particulier.

Les brebis ont été inséminées sur retours en chaleurs (les agnelages se sont étalés sur une semaine). Les mises bas de triplets ont été exclues de l'expérimentation afin de ne pas pénaliser les nouveau-nés de la restriction colostrale.

En janvier 2013, les brebis de race Lacaune (un seul type génétique) ont été sélectionnées dès la mise à la lutte d'août. La gestation a été confirmée par échographie fin octobre 2012.

Le nombre et le choix des brebis à prendre en compte ont été définis par l'UMT Santé des Troupeaux de Petits Ruminants : environ 100 brebis ont été inséminées, pour n'en retenir qu'environ 30 sur les différents critères d'inclusion (âge, taille de portée, NEC, index « valeurs maternelles »). L'objectif était d'avoir un lot de brebis homogène sur les critères de la race, de l'âge (2^{ème} mise-bas), de la taille de portée (dénombrement par échographie) et de la NEC. A l'inverse, les brebis ont été sélectionnées en maximisant les écarts sur les index valeurs maternelles et valeurs laitières.

La manipulation de janvier 2013 était initialement prévue en race BMC en choisissant des brebis issues de 5 pères différents ayant des index de valeurs maternelles extrêmes (6 brebis par père). Malheureusement, le taux de réussite à l'insémination artificielle a été catastrophique sur le lot prévu à cet effet (12%), en raison d'une mauvaise conservation de la semence. En conséquence, un lot de Lacaune a été utilisé, mais compte tenu des critères d'inclusion cités ci-dessus, la répartition par père n'a pas pu être respectée. De ce fait, l'exploration de l'effet « père » n'a pu être réalisée sur la base de cette expérience.

- Modes opératoire et natures des prélèvements

Les brebis ont été placées en case d'agnelage individuelle à la mise bas. Les agneaux ont été séparés de leur mère une fois séchés dans un petit parc construit à

l'intérieur de la case individuelle. Ce dispositif a permis un contact étroit entre la brebis et ses agneaux mais a interdit la tétée. Une fiche de suivi numérotée par ordre d'entrée des brebis a été placée devant chaque case individuelle (Annexe 5).

La note d'état corporelle (NEC) de la brebis à la mise bas a été évaluée par un même opérateur.

Cinq minutes avant chaque traite, une injection d'ocytocine (10 UI soit 2 mL) a été réalisée par voie intramusculaire dans l'encolure.

L'hémi-mamelle droite a été vidangée totalement toutes les 6 heures après la mise bas jusqu'à 18 heures en avril 2012 et jusqu'à 12 heures en janvier 2013.

▪ *Prélèvements de colostrum*

Toutes les 6 heures (T0, T6, T12 +/- T18), 30 mL de colostrum ont été prélevés dans un flacon non stérile. Le flacon était identifié par le numéro d'ordre d'entrée en case individuelle de la brebis et par le numéro d'ordre du prélèvement T0, T6, T12 et T18. La date et l'heure précise du prélèvement étaient enregistrées sur la fiche de suivi ainsi que l'heure précise des prélèvements suivants à réaliser. Les flacons ont été réfrigérés puis congelés dans la journée.

▪ *Mesure du volume de colostrum*

Toutes les 6 heures, l'hémi-mamelle droite était traite totalement dans un verre mesureur gradué. Le volume était enregistré sur la fiche de suivi. Le colostrum était conservé en bouteille au bain-marie pour la tétée des agneaux.

D'autres informations ont été notées sur les fiches de suivi :

- L'aspect macroscopique de la mamelle et des sécrétions (lésion, déséquilibre, agalactie, mammite clinique). Les brebis présentant de telles anomalies ont été exclues de l'expérimentation (1 en 2012 et 2 en 2013).
- La date et l'heure précise de la mise bas.
- La note d'état corporel de la brebis à la mise bas et taille de la portée.

Pendant la traite complète de l'hémi-mamelle droite, les agneaux étaient autorisés à téter l'hémi-mamelle controlatérale pendant 10 minutes. Puis, ils étaient à nouveau séparés de leur mère jusqu'à la traite suivante. Les nouveau-nés recevaient un complément de colostrum au biberon, fourni par la traite complète de l'hémi-mamelle d'intérêt (réchauffé au bain-marie si nécessaire). Les brebis étaient traitées uniquement pendant les prélèvements toutes les 6 heures pour ne pas stimuler la sécrétion entre les traites.

▪ *Prélèvement pour bactériologie*

A T0, un prélèvement pour analyse bactériologique a été réalisé avant toute tétée des agneaux et avant tout autre prélèvement. Les premiers jets étaient éliminés, le trayon et les mains de l'opérateur désinfectés deux fois à l'alcool à 70° et un jet prélevé de façon aseptique en flacon stérile. L'échantillon, identifié par le numéro de travail de la brebis était réfrigéré puis congelé dans la journée.

- *Prélèvements pour dosages hormonaux*

En janvier 2013, des prélèvements sanguins ont été réalisés sur les 30 brebis sélectionnées, sur tubes Héparinate de lithium (tubes verts 9 ml), à heure fixe (8 heures, avant la distribution de la ration), les 26, 27, 28, 29 et 31 décembre 2012 ainsi que les 2, 3, 4, 5 janvier 2013, puis tous les jours sur les brebis restant à agnelier. Deux derniers prélèvements étaient effectués, au moment de la mise bas (T0) et 12 heures après l'agnelage (T12). Le sang a été prélevé à la veine jugulaire. Les tubes ont été mis au réfrigérateur immédiatement après la réalisation des prélèvements puis centrifugés dans un délai maximum de 8 heures après prélèvement, à 4000 tours pendant 10 min. Trois à 4 aliquotes de plasma ont été faites pour chaque tube. Les échantillons ont été identifiés par un numéro attribué à chaque brebis (de 1 à 30), et classés dans des sacs identifiés par jour de prélèvement, T0 et T12. Ils ont été ensuite congelés à -20°C.

Sur ces échantillons de plasma hépariné ont été dosés le cortisol, la progestérone et la prolactine.

- Analyses

- *Dosage des IgG et de la matière grasse.*

Ces mesures ont été réalisées au CIALSO de Auch, selon les méthodes décrites précédemment.

- *Bactériologie*

Les analyses bactériologiques ont été réalisées au laboratoire vétérinaire départemental du Tarn-et-Garonne (LVD82), suivant la technique d'analyse éditée par le CNEVA sous la référence Bactériologie animale/Pr 116/00/BA 140/00. Elles reposent sur l'isolement des colonies après ensemencement d'un milieu non sélectif solide (gélose au sang coulée dans une boîte de Pétri) avec ou sans enrichissement, puis identification des germes et recherche de levures et moisissures.

- *Cortisol*

Les concentrations plasmatiques en cortisol ont été mesurées par immunodosage enzymatique compétitif ST AIA-PACK CORT® à l'INRA, unité PEGASE, Rennes. Le cortisol présent dans l'échantillon testé entre en compétition avec le cortisol marqué sur un nombre limité de sites de liaison d'un anticorps propre au cortisol immobilisé sur des billes magnétiques. Les billes magnétiques sont lavées afin d'enlever le cortisol marqué non lié, puis incubées avec un substrat fluorogénique, le 4-méthylumbelliféryl phosphate (4MUP). La quantité de cortisol marqué qui se lie aux billes est inversement proportionnelle à la concentration de cortisol dans l'échantillon. Une courbe de calibration est réalisée à l'aide de calibrateurs de concentration connue, et est ensuite utilisée pour calculer les concentrations de cortisol des échantillons.

Les moyennes des valeurs pour les échantillons de contrôle de concentrations faible, moyenne et élevée étaient respectivement de 14,6 ng/mL, 23,2 ng/mL et 44,0 ng/mL. Les coefficients de variation intra et inter-essais étaient respectivement de 3,6 % et 4,0 %. La concentration minimale détectable de cortisol est de 0,2 ng/mL.

▪ *Progestérone*

Les concentrations plasmatiques en progestérone ont été déterminées par immunodosage enzymatique compétitif ST AIA-PACK PROG®, à l'INRA, unité PEGASE, Rennes. La progestérone présente dans l'échantillon testé entre en compétition avec la progestérone marquée sur un nombre limité de sites de liaison d'un anticorps propre à la progestérone immobilisée sur des billes magnétiques. Les billes magnétiques sont lavées afin d'enlever la progestérone marquée non liée, puis incubées avec un substrat fluorogénique, le 4-méthylumbelliféryl phosphate (4MUP). La quantité de progestérone marquée qui se lie aux billes est inversement proportionnelle à la concentration de progestérone dans l'échantillon. Une courbe de calibration est réalisée à l'aide de calibrateurs de concentration connue, et est ensuite utilisée pour calculer les concentrations de progestérone des échantillons.

Les moyennes des valeurs pour les échantillons de contrôle de concentrations faible, moyenne et élevée étaient respectivement de 4,44 ng/mL, 7,10 ng/mL et 13,02 ng/mL sur sérum. Les coefficients de variation intra et inter-essais étaient respectivement de 9,9 % et 11,3 %. Le coefficient de corrélation entre le sérum et le plasma hépariné étaient de 0,997 (n = 73). L'héparine (jusqu'à 100 U/mL) n'interfère pas avec le dosage. La concentration minimale détectable de progestérone était de 0,1 ng/mL.

▪ *Prolactine*

Les concentrations plasmatiques en prolactine ont été mesurées par dosage radioimmunologique avec de la prolactine marquée à l'iode 125 à l'INRA, unité PRC, Nouzilly. Les moyennes des valeurs pour les échantillons de contrôle de concentrations faible, moyenne et élevée étaient respectivement de 7,54 ng/mL, 9,87 ng/mL et 60,59 ng/mL avec des coefficients de variation intra-essais de respectivement 2,12 %, de 7,29 % et 5,46%. La concentration minimale détectable de prolactine était de 2,5 ng/ml.

• Analyses statistiques

Les données ont été analysées par le logiciel SAS ® (version 9.1).

La description des variables quantitatives (concentration en IgG, concentration en matière grasse, volume, masse d'IgG, masse de matière grasse) a résulté de la procédure « proc means » sous SAS®.

Les cinétiques des concentrations en IgG, des volumes, des concentrations en matière grasse, des masses en IgG et en matière grasse ainsi que les cinétiques des dosages hormonaux (pour chaque brebis et moyennes) ont reposé sur la procédure « proc gplot » sous SAS®.

La comparaison des volumes, concentrations et masses entre les différentes traites a été faite à l'aide de tests de Student pour les données appariées et de tests de rangs de Wilcoxon pour les données appariées quand les effectifs étaient faibles.

Les relations entre les différentes variables quantitatives (masse, volume) ont été calculées par régression linéaire (« proc reg »).

L'influence des variables catégorielles (prolificité, NEC) a été évaluée par comparaison de moyenne entre plusieurs groupes (ANOVA) «proc npar1way anova», puis par comparaison de moyennes (masse d'IgG, volume et masse de MG) deux à deux (test de Student) «proc ttest» lorsqu'une différence significative a été observée par méthode ANOVA ou par test des rangs de Mann-Whitney-Wilcoxon «proc npar1way wilcoxon» lors d'effectifs faibles.

L'influence de l'état sanitaire de la mamelle (saine *versus* mammite subclinique) et de l'année (avril 2012 *versus* janvier 2013) est analysée par comparaison de moyennes (masse d'IgG, volume et masse de MG) (test de Student) « proc ttest » ou par le test des rangs de Mann-Whitney-Wilcoxon lorsque les effectifs étaient faibles et hétérogènes « proc npar1way wilcoxon ».

L'influence des variables catégorielles (opérateur et date de prélèvement) dont il convient de définir des variables indicatrices a été évaluée par deux procédures « proc reg » et « proc mixed » sous SAS®.

Une association a été considérée comme statistiquement significative au seuil de risque alpha 5 %.

2.2. Résultats

2.2.1. Validation du protocole et premiers résultats

Cette partie présente les résultats obtenus lors de la manipulation d'avril 2012 sur 40 brebis.

- Validation du matériel et méthode

Le dispositif de séparation des agneaux dès la naissance s'est avéré efficace et non pénalisant pour les nouveau-nés. Le lien brebis/agneau n'a pas été altéré puisqu'une fois sortie du protocole, aucune brebis n'a abandonné son/ses agneau(x). Le taux de mortalité des agneaux à 1 mois et la croissance des jeunes n'ont pas été impactés suite au protocole.

- Concentrations et masse d'IgG1 à 18h *post-partum*

La concentration moyenne en IgG1 était quasi-nulle 18 heures après l'agnelage : $1,1 \pm 0,1$ g/L (minimum 0,3 g/L ; maximum 2,8 g/L).

- Part de chaque traite dans la masse totale d'IgG1

Par mesure d'économie, les dosages d'IgG1 et de matière grasse ont été réalisés à tous les points de prélèvements sur uniquement 20 brebis.

Les deux premières traites (T0 et T6) contribuent en moyenne pour $88,7 \% \pm 1,8 \%$ à la masse totale d'IgG1 produite sur 18 heures [Tableau 22].

La production d'IgG1 à T18 correspond à 0,7 % (1,2 g/L) en moyenne (entre 0,09 % et 2,38 %) de la quantité totale produite sur 18 heures (minimum 0,3 % ; maximum 2,8 %) [Tableau 22].

Le maintien du prélèvement à T12 semblait important car il représente en moyenne 10 % de la production totale d'IgG sur 18 heures, mais avec une grande variabilité (entre 1 et 30 %). Le classement des brebis selon la masse d'IgG produite diffère si ce prélèvement n'est plus pris en compte.

traite	moyenne (%)	écart-type (%)	minimum (%)	maximum (%)
T0	59,3	17,3	21,8	83,7
T6	29,3	11,9	14,3	50,9
T12	10,6	7,8	1,3	32,9
T18	0,7	0,6	0,1	2,4

Tableau 22 : Part (%) de chaque traite dans la masse totale d'IgG (n=20).

Cette première étude d'avril 2012 a permis de valider le protocole expérimental. Du fait de la très faible contribution du prélèvement de colostrum à T18 (0,7 % de la masse totale d'IgG [0,1 ; 2,4 %]), ce prélèvement n'a pas été maintenu pour l'étude de janvier 2013.

Les résultats suivants regroupent les analyses sur 12 heures des deux protocoles d'avril 2012 et de janvier 2013.

2.2.2. Volume de colostrum produit sur 12h post-partum

- Distribution du volume total produit sur 12 heures

Le volume total de colostrum produit sur 12 heures *post-partum* présente une très grande variabilité interindividuelle : moyenne 603,4 ± 28,4 mL ; écart-type 234,0 mL ; minimum 62,0 mL ; maximum 1430,0 mL (n=68) [Figure 22].

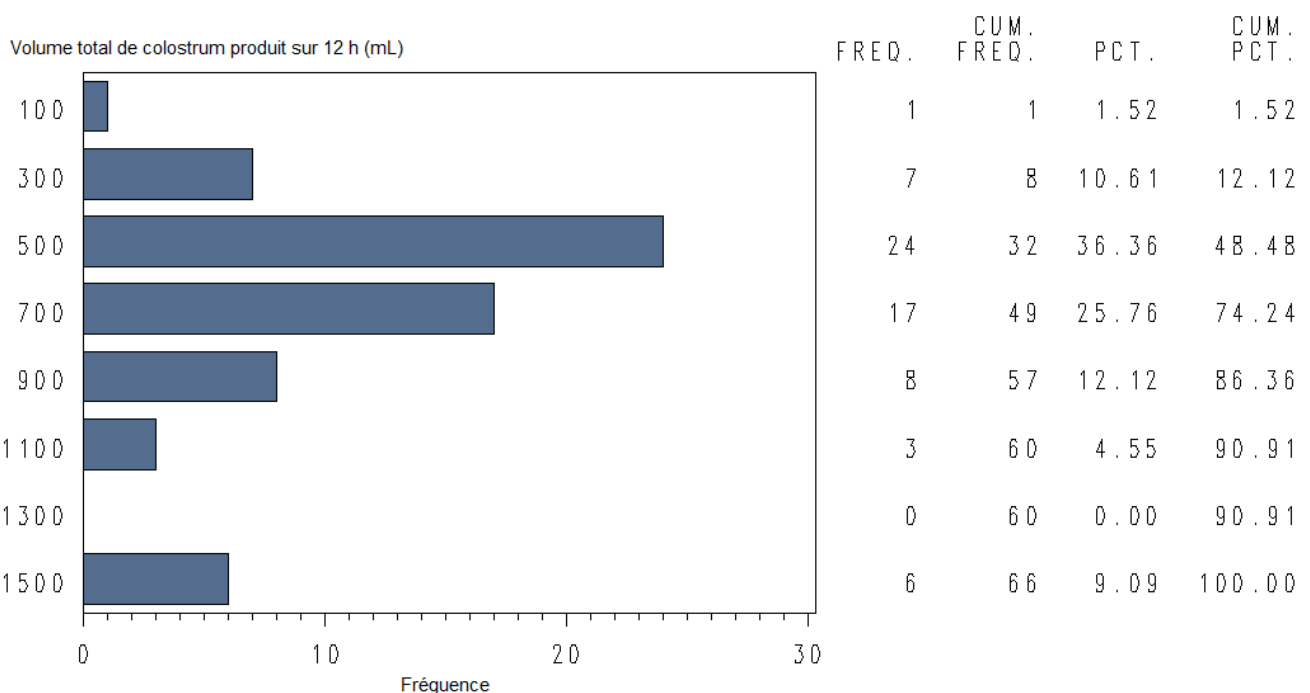


Figure 22 : Fréquence de distribution des volumes totaux de colostrum produits sur 12h (n=66).

- Evolution du volume moyen de colostrum

La comparaison des moyennes des volumes produits à T0, T6 et T12 indique une production significativement plus faible à T12 (170,8 ± 8,46 mL) qu'à T0 (217,3 ± 15,9 mL ; test de rangs signés de Wilxcon ; P = 0,011) et T6 (215,4 ± 11,9 ; P < 0.0001) [Tableau 23].

traite	moyenne (mL)	écart-type (mL)	minimum (mL)	maximum (mL)
T0	217,28	126,11	5,00	640,00
T6	215,37	98,07	20,00	530,00
T12	170,76	69,77	15,00	330,00

Tableau 23 : Moyennes des volumes produits à T0, T6 et T12 (n=66).

- Part de chaque traite dans le volume total de colostrum produit

Du fait d'une production moindre à T12, la contribution de cette traite au volume total est significativement moindre qu'à T0 ($P = 0,0294$) et T6 ($P = 0,0011$), même si les écarts ne sont pas très importants. Notons cependant qu'il existe de grandes variations entre les brebis [Tableau 24].

traite	moyenne (%)	écart-type (%)	minimum (%)	maximum (%)
T0	32,93	15,72	1,01	73,12
T6	33,80	13,13	2,70	72,53
T12	27,63	11,06	3,45	59,68

Tableau 24 : Part (%) de chaque traite dans le volume total de colostrum produit sur 12 h (n=66).

- Relation entre le volume de colostrum à T0, à T6 et le volume total

La mise en relation entre le volume de colostrum produit à T0 et T0+T6 et le volume total produit sur 12 heures a pour objectif de voir si un seul prélèvement (T0) voire 2 (T0+T6) permettrait de caractériser la production totale, dans un but de simplification du phénotypage des brebis.

Le volume de colostrum produit sur 12 heures est fortement corrélé au volume produit à T0 ($n = 66$; $R^2 = 0,69$; $P < 0,0001$) [Figure 23]. Notons cependant que cette relation est « tirée » par les valeurs extrêmes : la relation, bien que significative, étant beaucoup moins forte pour les brebis produisant entre 100 et 400 mL à T0 ($n = 53$; $R^2 = 0,34$; $P < 0,0001$).

La relation entre le volume de colostrum produit à T0+T6 (mL) et le volume total produit sur 12 heures est encore plus marquée ($n = 66$; $R^2 = 0,92$; $P < 0,0001$) [Figure 24]. La relation est cependant là aussi moins forte pour les brebis produisant entre 200 et 700 mL entre T0 et T6 ($n = 32$; $R^2 = 0,51$; $P < 0,0001$).

Volume de colostrum produit sur 12 heures (TOT12_VOL) (mL)

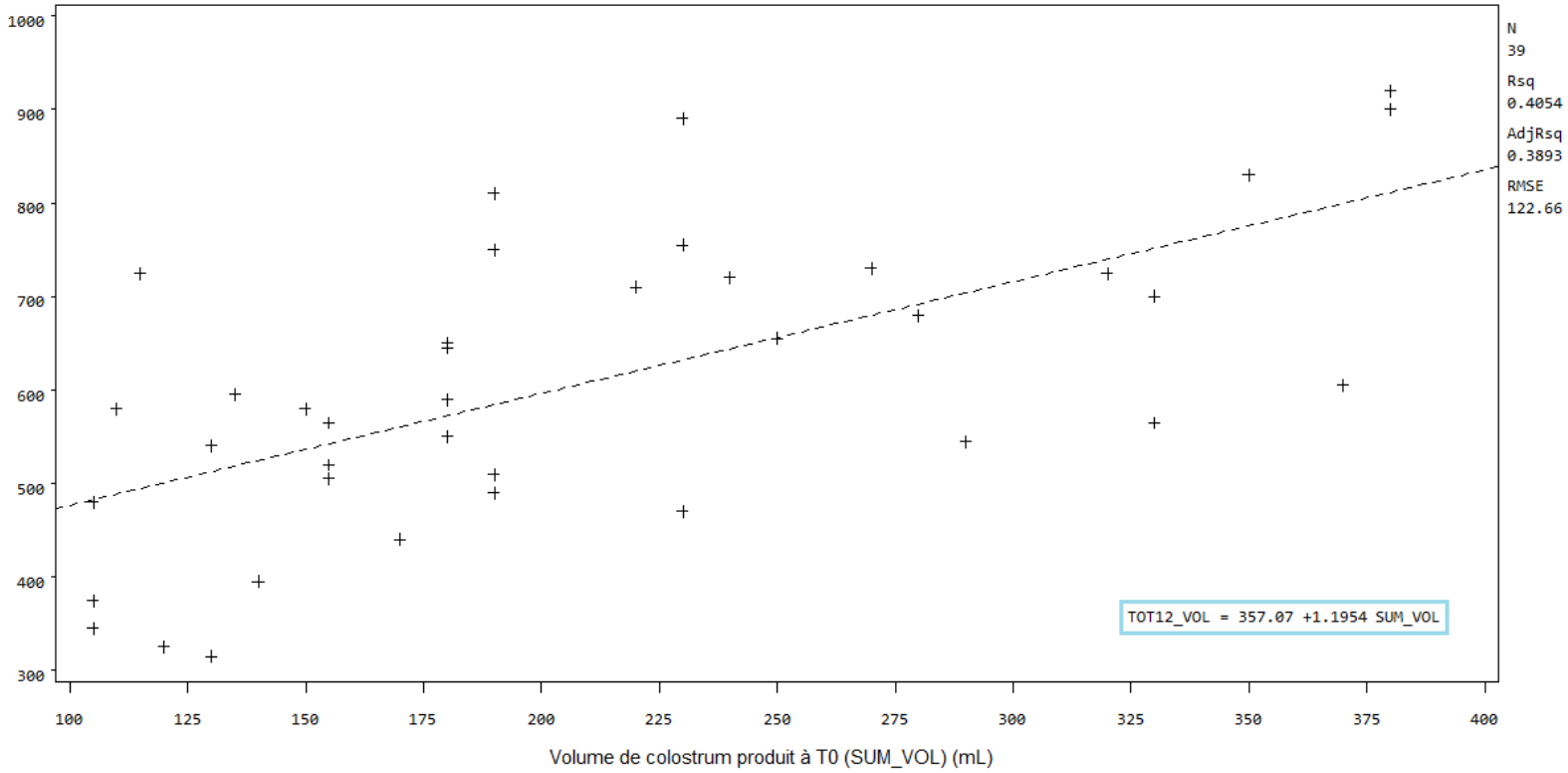


Figure 23 : Relation entre le volume total de colostrum produit sur 12h et le volume produit à T0 (n=39).

Volume total de colostrum produit sur 12 heures (TOT12_VOL) (mL)

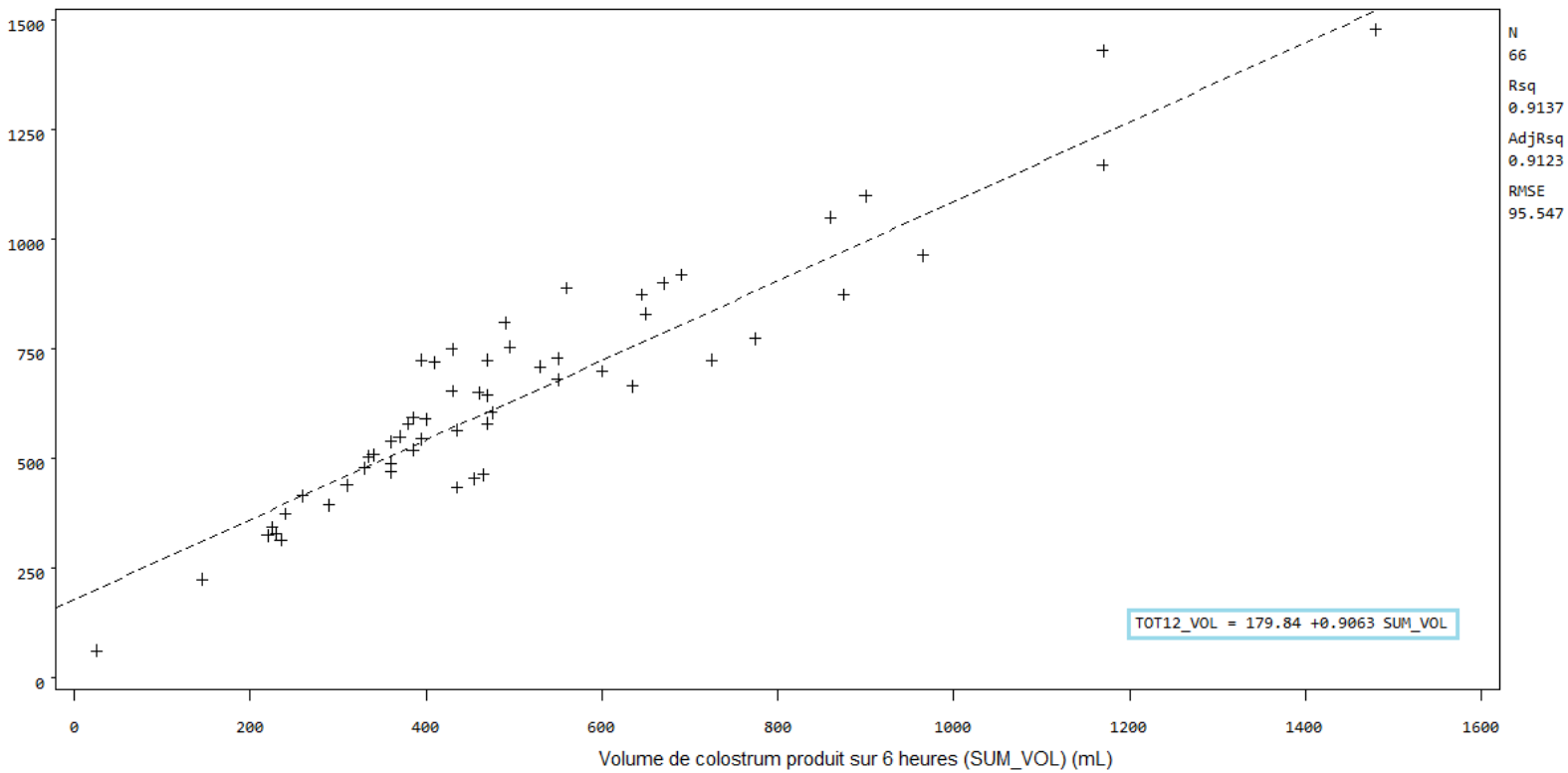


Figure 24 : Relation entre le volume total de colostrum produit sur 12h et le volume produit sur 6h (n=66).

2.2.3. Evolution des concentrations en IgG1 et matière grasse sur 12 heures

La concentration moyenne en IgG1 des colostrums prélevés sur 48 brebis chute rapidement entre T0 et T12 [Figure 25]. En effet, la concentration moyenne à T12 ($23,1 \pm 2,33$) est quasiment divisée par 4 par rapport à celle mesurée à T0 ($84,1 \pm 5,8$) (test des rangs signés de Wilcoxon ; $P < 0,0001$). Notons cependant des grandes variations entre brebis.

En revanche, la concentration en matière grasse ne varie pas de manière significative entre T0 et T12 (test des rangs signés de Wilcoxon ; $P > 0,05$ pour toutes les comparaisons).

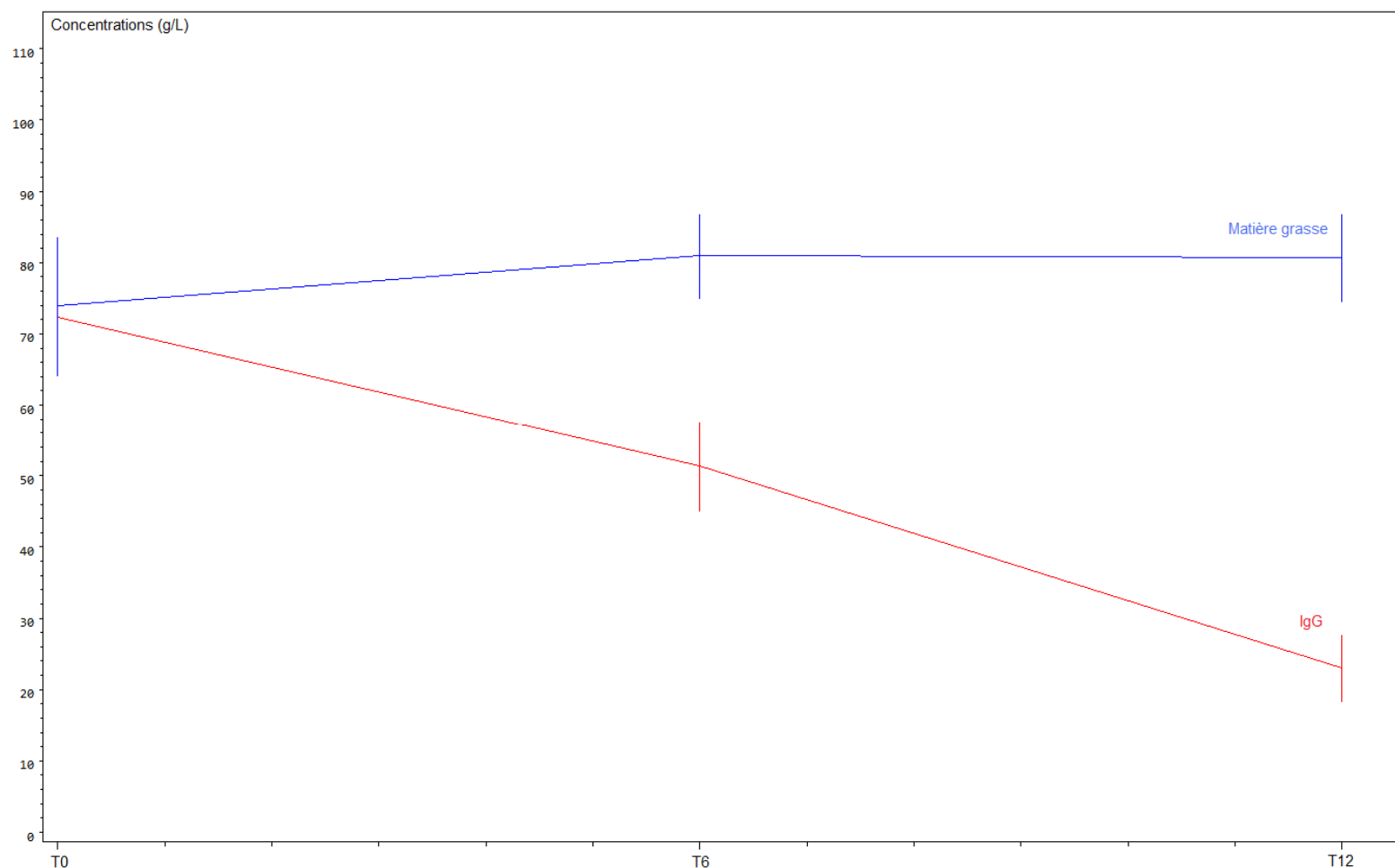


Figure 25 : Cinétique des concentrations moyennes en IgG et matière grasse sur 12 heures post-partum (n=66).

2.2.4. Masse d'IgG produite sur 12h post-partum

- Distribution de la masse d'IgG produite sur 12 heures

La masse totale d'IgG produite sur 12 heures *post-partum* présente une grande variabilité entre les 48 brebis : moyenne $33,5 \pm 2,3$ g ; écart-type 16,0 g ; minimum 6,3 g ; maximum 71,1 g (n = 48) [Figure 26].

Si nous considérons que pour assurer une concentration en IgG1 de 10 à 15 g/L de plasma un agneau de 4 kg doit recevoir entre 16 et 24 g d'IgG1, alors, sur la base de la production d'une héli-mamelle, 6 (12,5%, seuil de 16 g) à 12 brebis (25,0% seuil de 24 g/L) sur 48 ont une production insuffisante d'IgG1 pour subvenir aux besoins d'agneaux doubles.

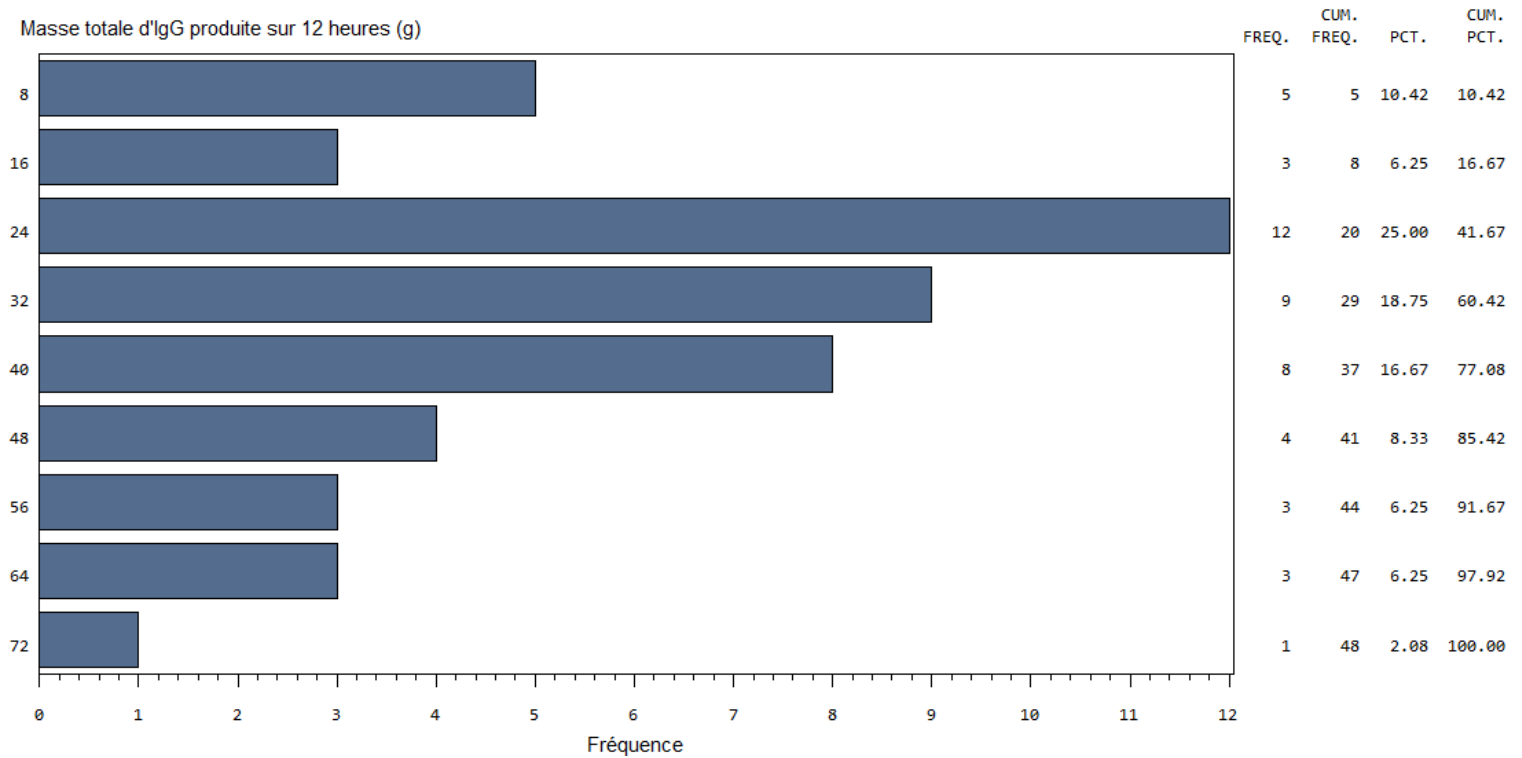


Figure 26 : Fréquence de distribution des masses totales d'IgG produite sur 12h post-partum (n=48 : 20 en 2012 et 28 en 2013).

- Evolution de la masse d'IgG sur 12 heures

Du fait d'une concentration en IgG1 décroissante, la masse d'IgG décroît rapidement entre l'agnelage et 12 heures *post-partum* [Tableau 25 ; Figure 27].

traite	moyenne (g)	écart-type (g)	minimum (g)	maximum (g)
T0	17,45	10,79	1,25	49,95
T6	11,94	7,03	1,59	25,74
T12	4,07	3,17	0,27	14,22

Tableau 25 : Masse d'IgG1 (volume x concentration) produite à chaque traite entre T0 et T1 heures, en grammes (n=48).

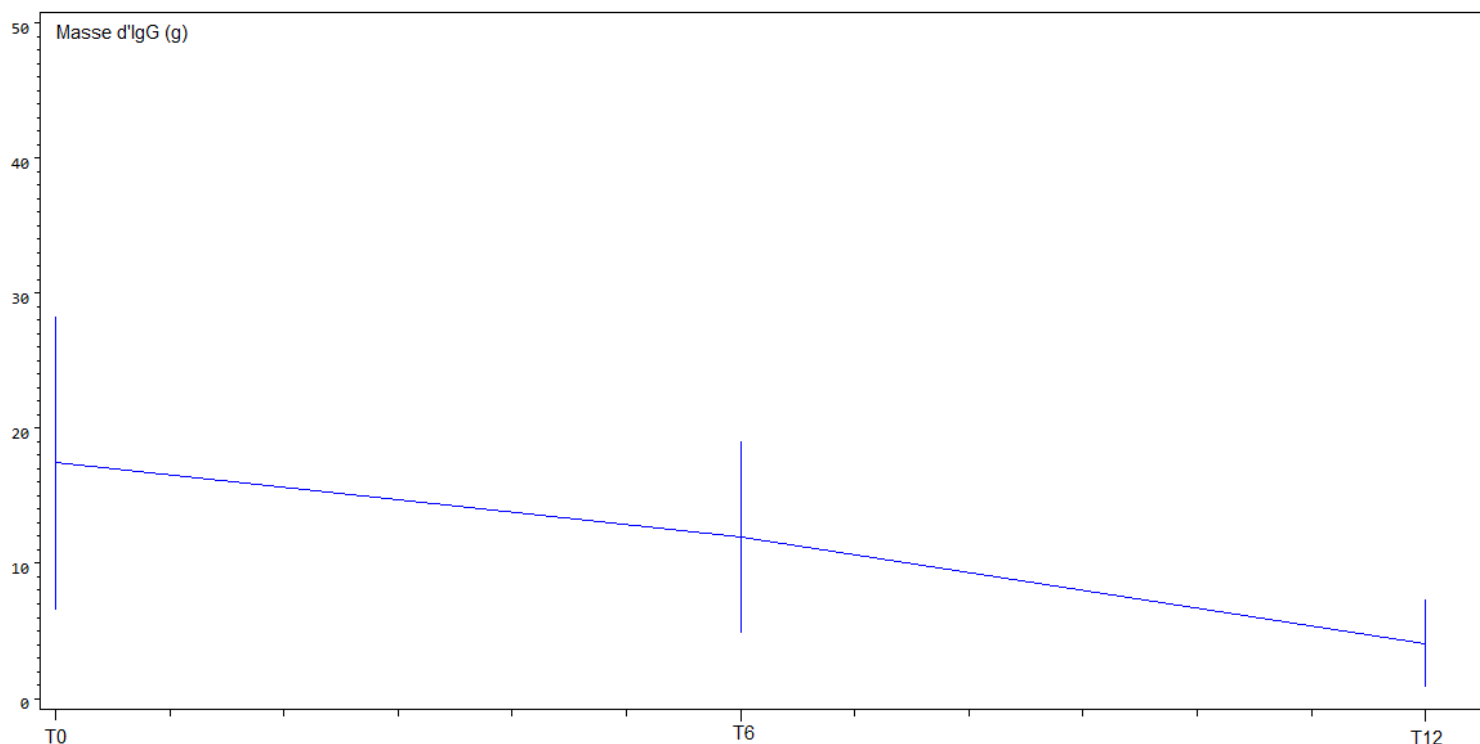


Figure 27 : Evolution de la masse d'IgG produite sur 12 heures.

- Part de chaque traite dans la masse totale d'IgG produite sur 12 heures

Logiquement, la contribution de la traite à T12 à la masse totale d'IgG1 produite sur 12 heures est significativement plus faible que les deux traites précédentes ($n = 48$; $P < 0.0001$) [Tableau 26]. De même, la contribution de la traite à T6 est significativement plus faible que celle de T0 ($P < 0.0001$). Là aussi notons une grande variabilité entre brebis.

traite	moyenne (%)	écart-type (%)	minimum (%)	maximum (%)
T0	51,98	17,82	17,05	84,02
T6	35,07	12,69	13,53	63,78
T12	12,96	8,64	1,33	44,96

Tableau 26 : Part (%) de chaque traite dans la masse totale de colostrum produit sur 12 h ($n=48$).

- Relation entre la masse d'IgG à T0, à T6 et la masse totale d'IgG

La mise en relation entre la masse d'IgG1 produite à T0 et T0+T6 et la masse totale produite sur 12 heures a pour objectif de voir si un seul prélèvement (T0) voire 2 (T0+T6) permettrait de caractériser la production totale, dans un but de simplification du phénotypage des brebis.

La masse d'IgG1 produite sur 12 heures est fortement corrélée à celle produite à T0 ($n = 48$; $R^2 = 0,68$; $P < 0,0001$) [Figure 28]. Notons cependant que cette relation est « tirée » par les valeurs extrêmes : la relation étant plus faible si seules les brebis produisant entre 10 et 30 g d'IgG1 à T0 sont prises en compte ($n = 29$; $R^2 = 0,16$; $P = 0,0165$).

La masse d'IgG1 produite sur 12 heures est fortement corrélée à celle produite à T0+T6 ($n = 48$; $R^2 = 0,96$; $P < 0,0001$). Cette relation demeure fortement

significative si seules les brebis à production « moyenne » à T0 (entre 15 et 40 g) sont prises en compte (n = 22 ; R² = 0,83 ; P < 0.0001) [Figure 29].

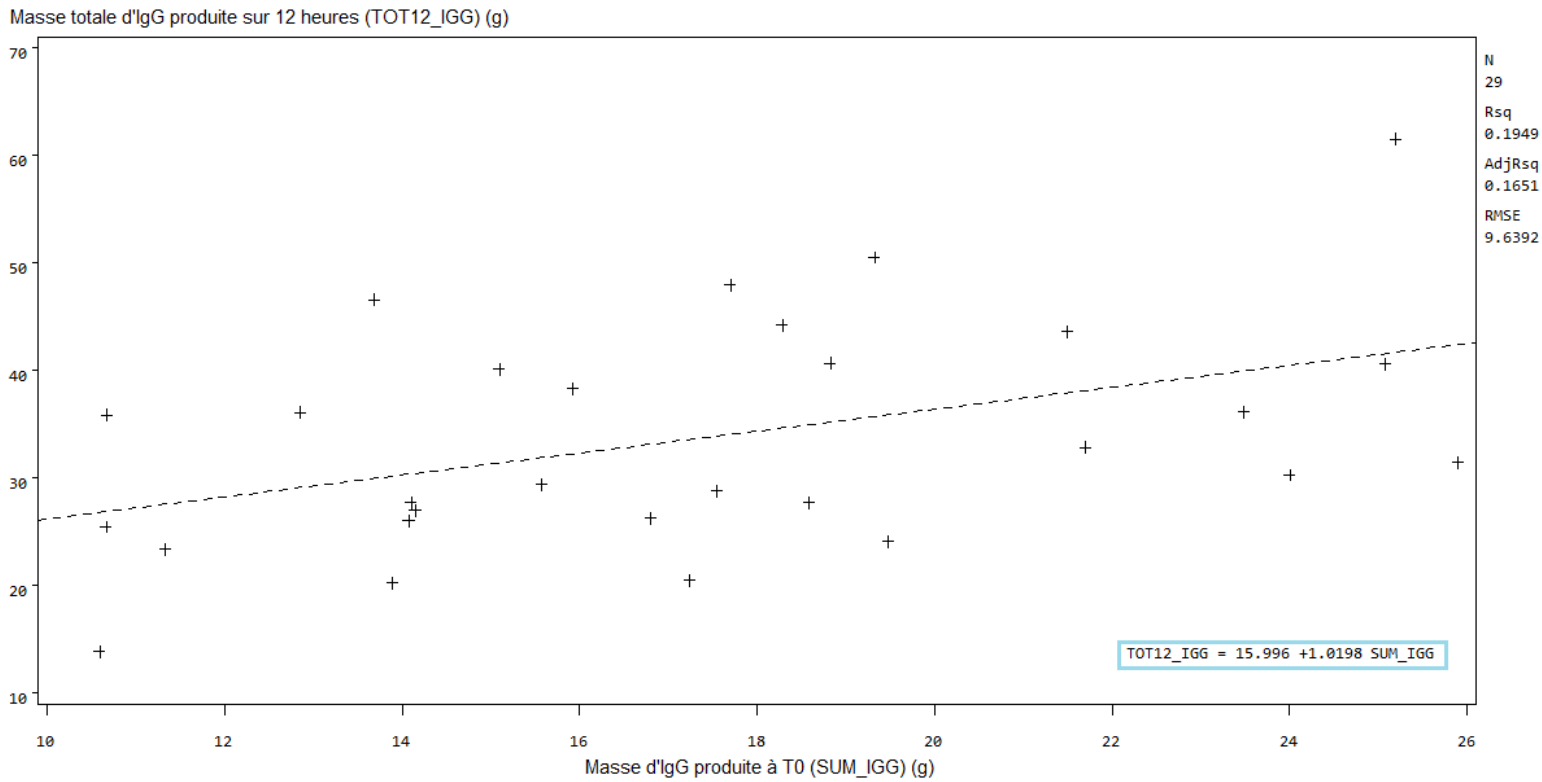


Figure 28 : Relation entre la masse d'IgG totale produite sur 12h et la masse d'IgG produite à T0 (n=29).

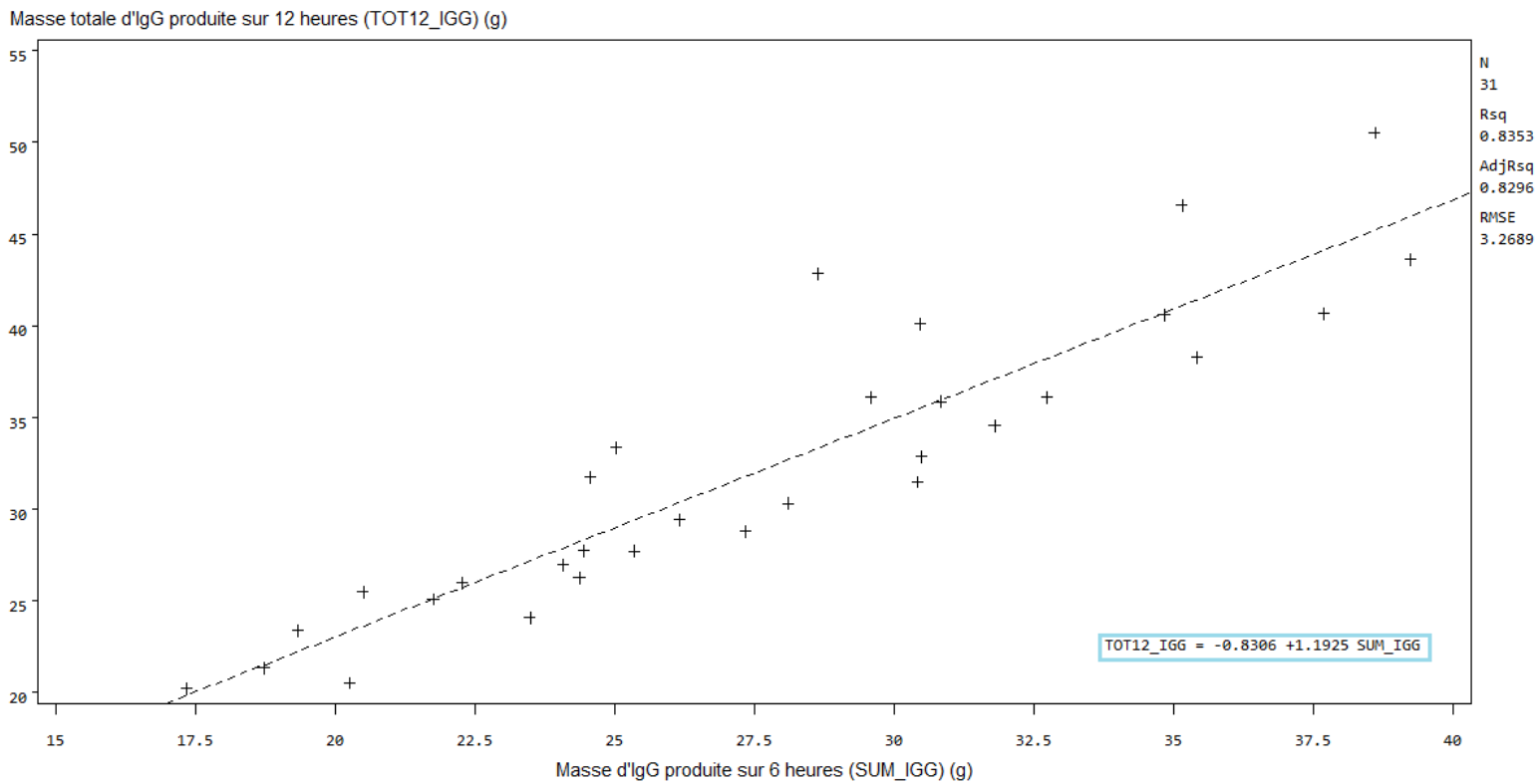


Figure 29 : Relation entre la masse d'IgG totale produite sur 12h et la masse d'IgG produite à T6 (n=31).

- Relation de la masse totale d'IgG et du volume total de colostrum sur 12 h

La masse totale d'IgG produite sur 12 heures est corrélée de manière significative au volume produit sur 12 heures ($n = 48$; $R^2 = 0,50$; $P < 0,0001$) [Figure 30]. Les brebis qui sécrètent un volume plus important (à « fort potentiel laitier ») exportent significativement plus d'IgG. Cependant, cette relation, bien que toujours significative, est beaucoup moins forte si seules sont prises en compte les brebis produisant entre 400 et 1000 mL de colostrum entre T0 et 12 heures ($n = 37$; $R^2 = 0,17$; $P = 0.0059$).

L'ensemble de ces résultats suggèrent que la caractérisation de la masse d'IgG1 exportée dans le colostrum nécessite, pour être de qualité, la prise en compte des mesures à T0 et T6. Cela implique à la fois la mesure des volumes produits et des concentrations en IgG1. En effet, la seule prise en compte des concentrations ou des volumes ne permet pas de caractériser de manière précise ce caractère.

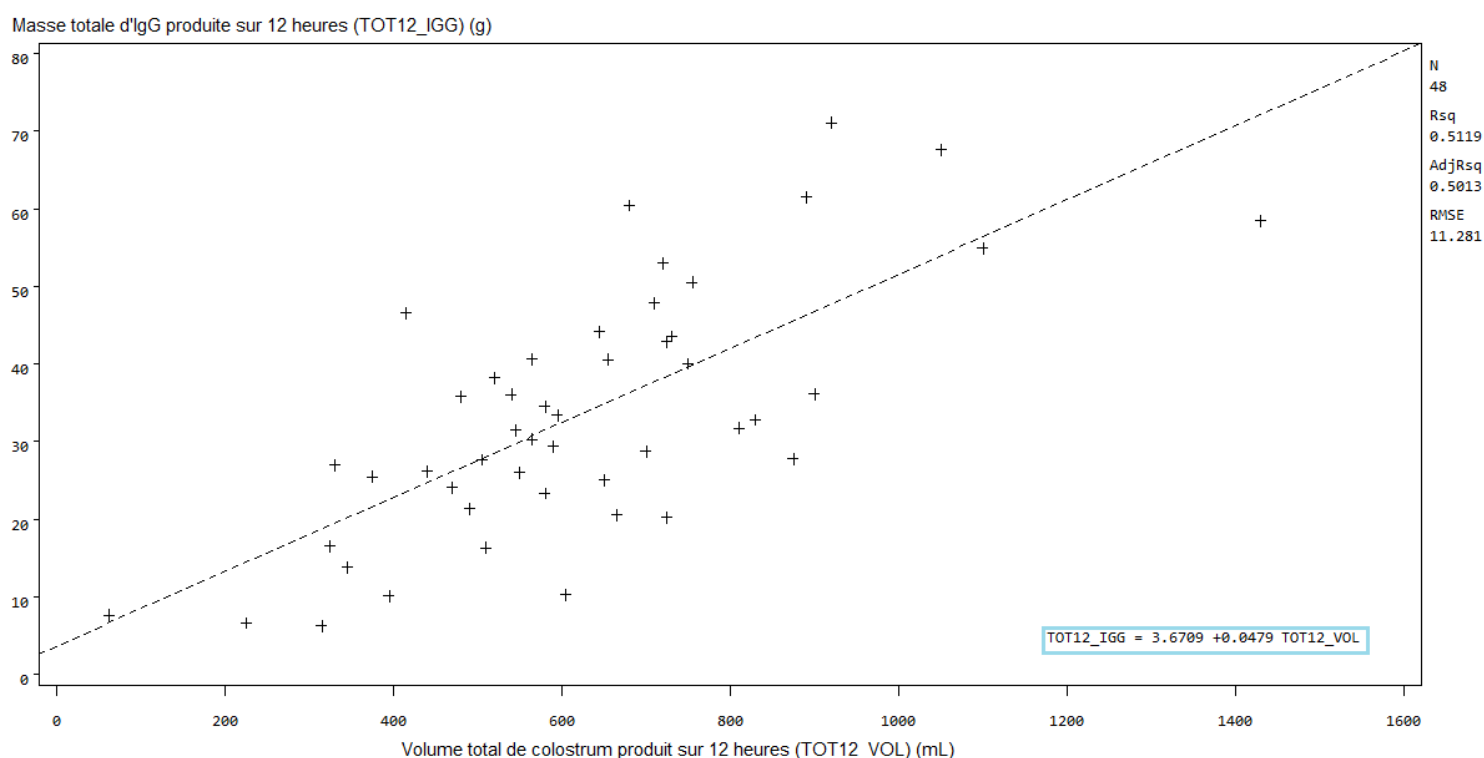


Figure 30 : Relation entre la masse totale d'IgG et le volume total de colostrum produit sur 12 heures post-partum ($n=48$)

2.2.5. Masse de matière grasse produite sur 12h post-partum

- Distribution de la masse totale de matière grasse produite sur 12 h

La masse totale de matière grasse produite sur 12 heures *post-partum* présente une grande variabilité entre les brebis : moyenne 60,3 g \pm 4.4 g ; écart-type 30,3 g ; minimum 4,7 g ; maximum 137,5 g ($n = 48$) [Figure 31].

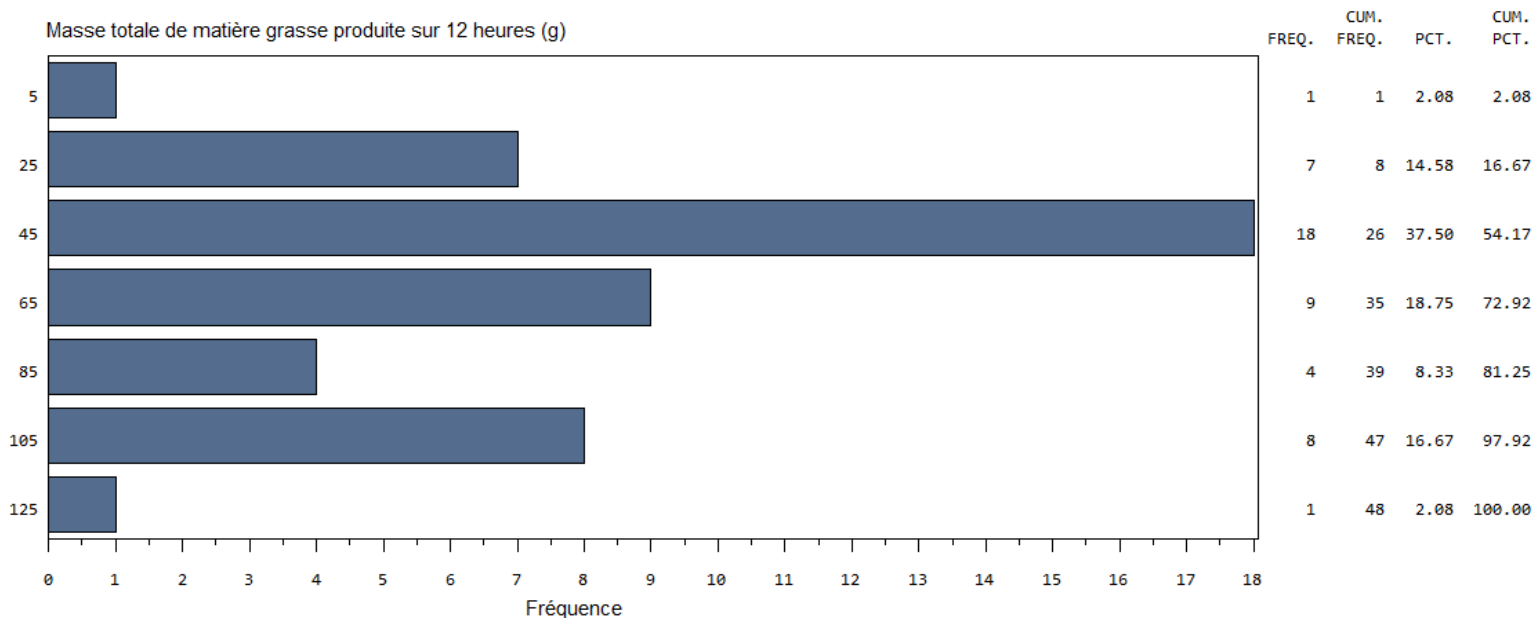


Figure 31 : Fréquence de distribution des masses totales de matière grasse produite sur 12h post-partum (n=48).

- Evolution de la masse de matière grasse moyenne sur 12 heures

La production de matière grasse varie assez peu sur les 12 premières heures *post-partum*, de l'ordre de 6 g [Tableau 27 ; Figure 32]. Cependant, la masse de MG produite à T12 est apparue significativement plus faible qu'à T0 (test des rangs signés de Wilcoxon ; $P = 0,0268$) et T6 ($P < 0,0001$).

traite	moyenne (g)	écart-type (g)	minimum (g)	maximum (g)
T0	20,95	11,88	2,31	61,48
T6	22,94	13,33	2,24	53,13
T12	16,87	9,61	2,52	47,52

Tableau 27 : Masse de matière grasse (volume x concentration) produite à chaque traite entre T0 et T1 heures, en grammes (n=48).

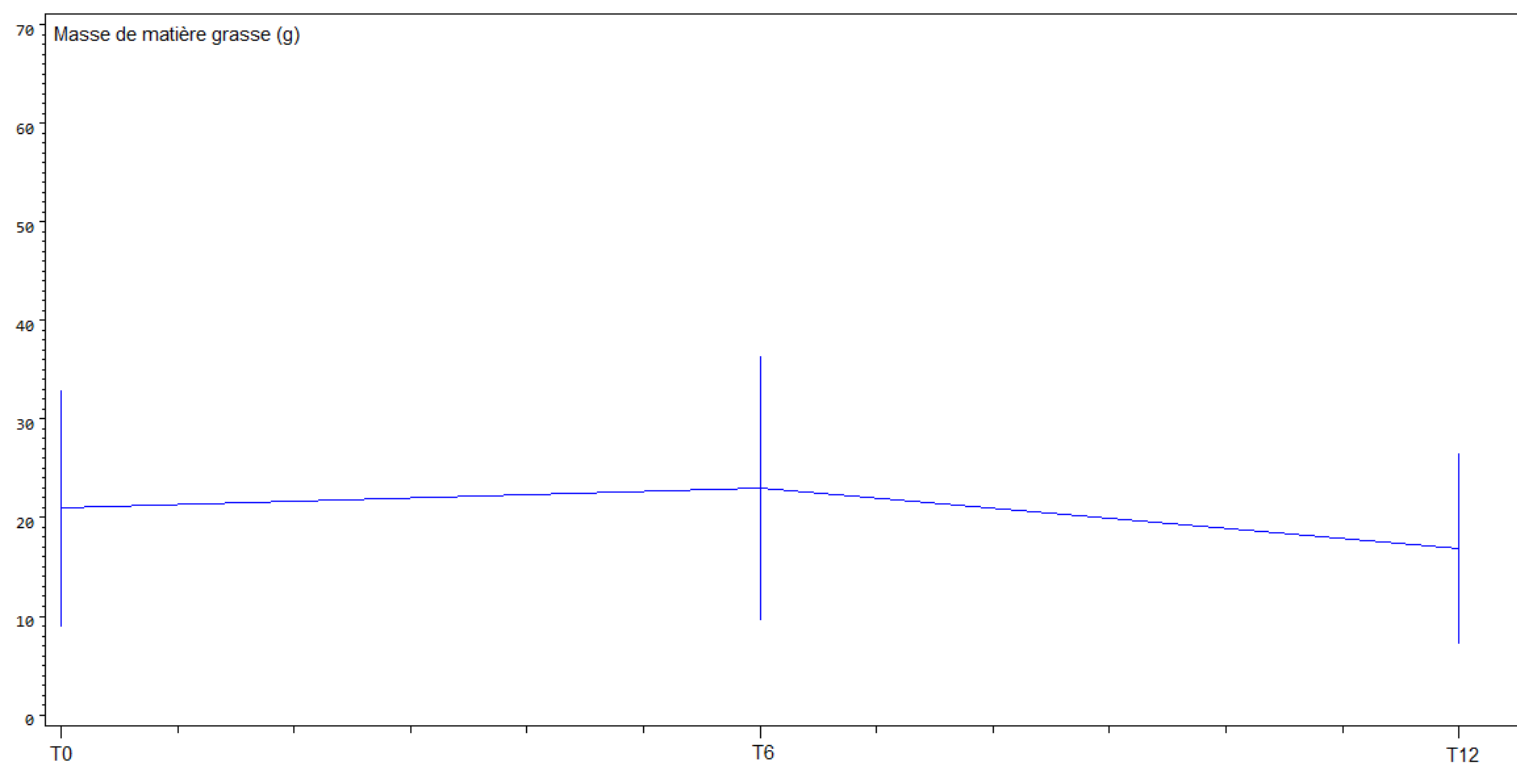


Figure 32 : Evolution de la masse de matière grasse sur 12 heures (g).

- Relation entre la masse de matière grasse et le volume total de colostrum produit

La masse totale de matière grasse exportée dans le colostrum sur 12 heures est fortement corrélée au volume de colostrum produit ($n = 48$; $R^2 = 0,62$; $P < 0.0001$) [Figure 33]. Cependant, de la même façon que pour la masse d'IgG1, la relation est « tirée » par les valeurs extrêmes et est moins forte quand elle est calculée sur les seules brebis produisant entre 400 et 1000 mL de colostrum ($n = 37$; $R^2 = 0,62$; $P < 0.0001$).

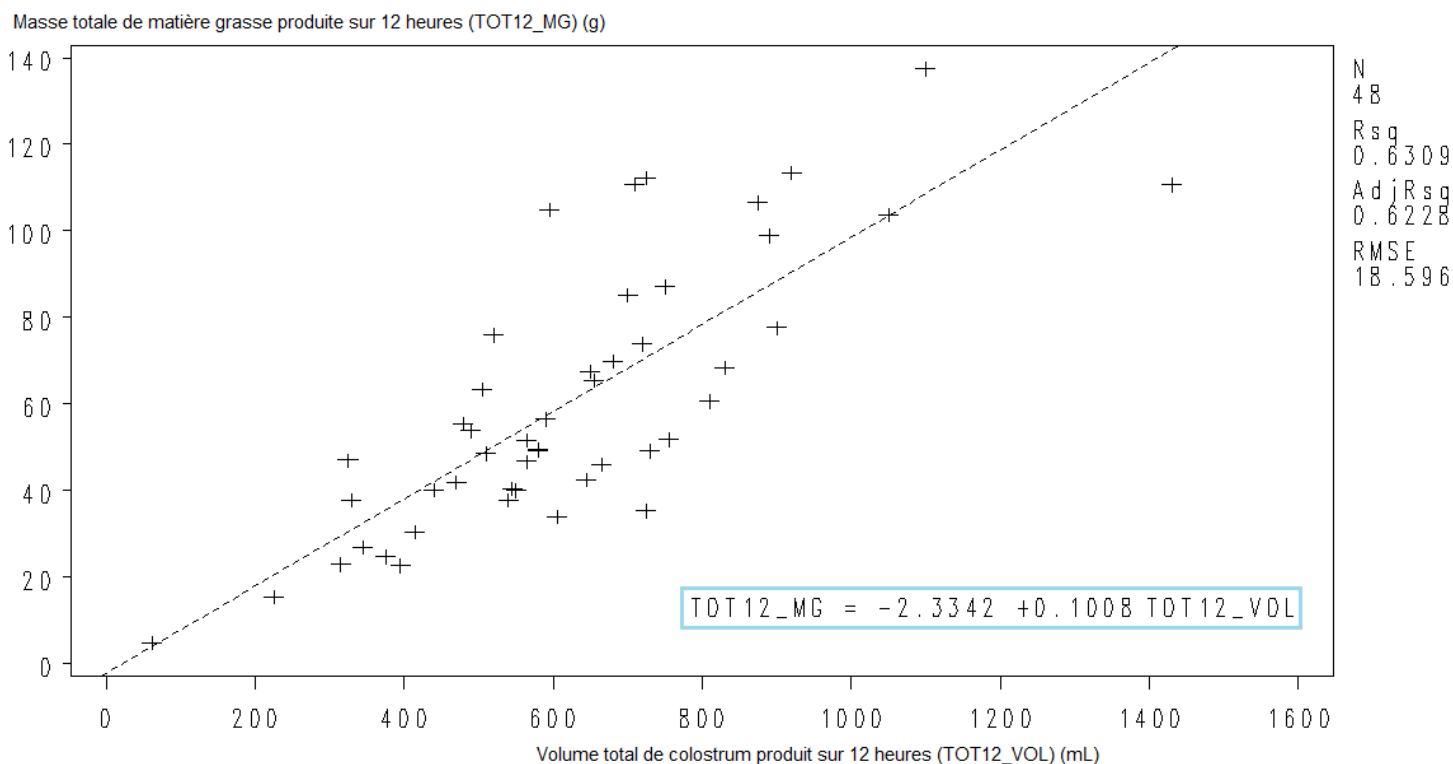


Figure 33 : Relation entre le volume total de colostrum et la masse totale de matière grasse produite sur 12 heures (n=48).

- Relation entre la masse de matière grasse et la masse totale d'IgG

Du fait de la relation entre le volume et les masse d'IgG1 et de matière grasse, la masse totale d'IgG1 et de matière grasse produites sur 12 heures (g) sont corrélées (n = 48 ; $R^2 = 0,48$; $P < 0.0001$) [Figure 34]. Cependant, comme l'indique la figure 39, certaine brebis produisent beaucoup d'IgG1 et peu de matière grasse, et inversement. Autrement dit, la connaissance d'une des deux productions ne permet pas de prédire l'autre de manière précise.

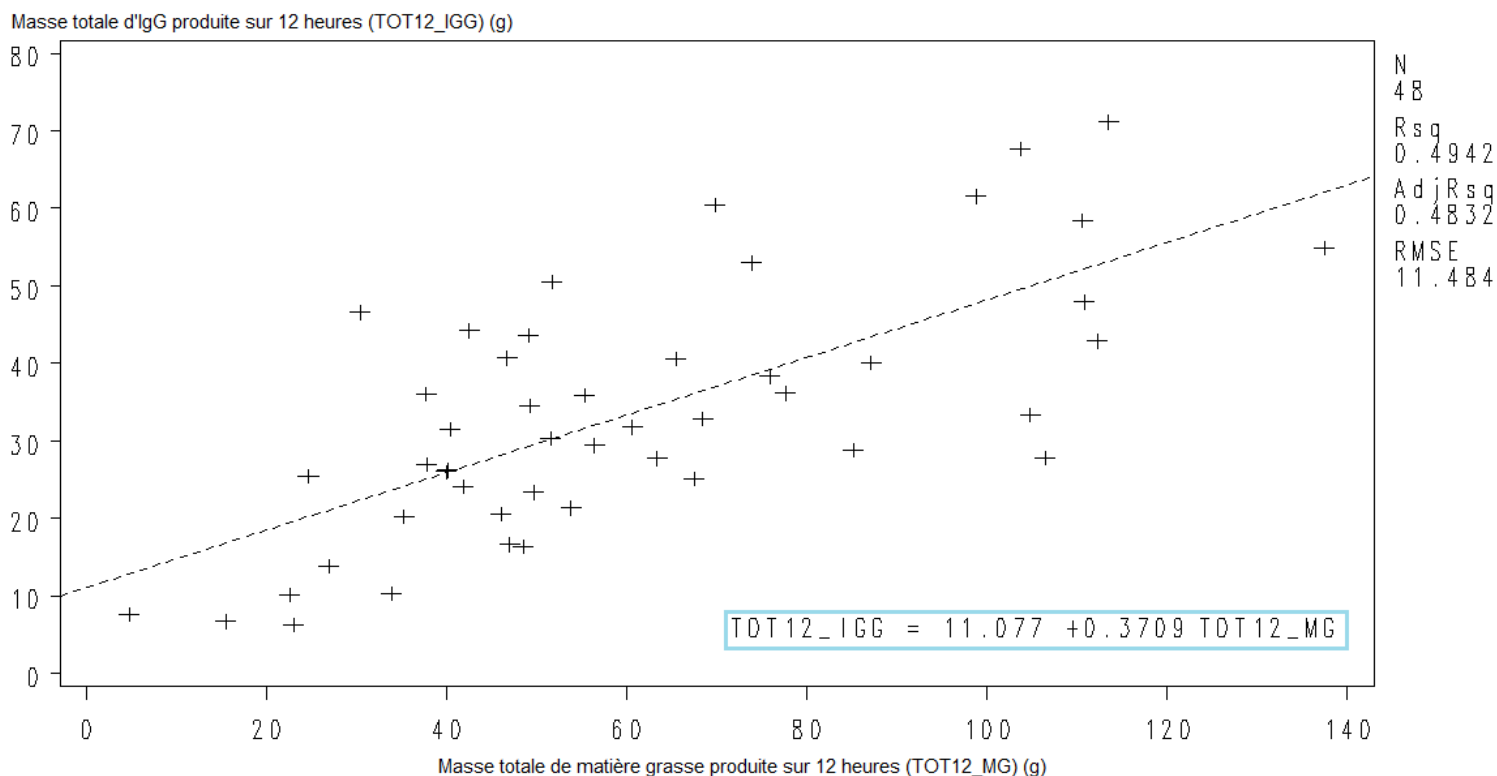


Figure 34 : Relation entre la masse totale d'IgG et la masse totale de matière grasse produite sur 12 heures (n=48).

2.2.6. Facteurs de variation de la masse totale d'IgG, du volume total de colostrum et de la masse totale de MG

- Facteurs extrinsèques
 - Année de prélèvements

La comparaison des volumes de colostrum et des masses d'IgG1 et de matière grasse n'a mis en évidence aucune différence entre les résultats des manipulations d'avril 2012 et de janvier 2013 [Tableau 28].

Période	Volume (ml)			Masse d'IgG (g)			Masse de MG (g)	
	n	moyenne	P	n	moyenne	P	moyenne	P
2012	40	605,50	0,73	20	30,41	0,221	59,72	0,76
2013	28	600,43		28	35,62		60,75	

Tableau 28 : Influence de la période d'étude (avril 2012 versus janvier 2013) sur la masse totale d'IgG, le volume de colostrum et la masse de matière grasse produits sur 12 heures (Test des rangs de Wilcoxon).

- Opérateur

Nos résultats ne mettent pas en évidence d'influence significative de l'opérateur sur le volume total de colostrum (P = 0,2048).

- Facteur intrinsèques

Du fait d'une répartition très déséquilibrée entre races (Lacaune n = 35; Noires du Velay n = 6 ; BMC n = 5 et croisées n = 2) des brebis pour lesquelles les

dosages en IgG1 et matière grasse ont été réalisés, les influences de la race et de la NEC n'ont été évaluées que sur le volume de colostrum produit sur 12 heures pour les brebis des races Lacaune (n = 36) et Noire du Velay (n = 17).

De même, l'effet de la taille de la portée n'a pas pu être exploré, compte tenu d'une très forte proportion de portées doubles (39/53, contre 5 portées simples et 9 portées supérieures ou égales à 3).

▪ Race

La production moyenne des brebis de race Lacaune est apparue plus importante ($630,7 \pm 40,3$ mL) que celle des brebis de race Noire du Velay ($494,1 \pm 61,1$ mL), la différence étant proche du seuil de significativité (test des rangs de Wilcoxon ; $P = 0,0661$).

▪ NEC

L'effet de la NEC, ajusté sur celui de la race, indique que les brebis ayant des NEC plus élevées ont des productions plus importantes en termes de volume ($P = 0,0007$) de masse totale d'IgG1 ($p = 0,012$) et de matière grasse ($p = 0,009$). Ainsi par rapport aux brebis de NEC comprises entre 2,5 et 3 (n = 35), les brebis de NEC faible (NEC $\leq 2,4$; n = 10) ont eu des productions plus faibles de l'ordre de 260 mL, et des masses d'IgG et de matière grasse en moyenne inférieures de 17.6 g et 34.8 g respectivement. Aucune différence n'a pu être mise en évidence entre les brebis ayant des NEC supérieures à 3 (n = 8) et celles ayant des NEC comprises entre 2,5 et 3 ($P = 0,23$).

▪ Santé de la mamelle

Aucune des 28 brebis de la manipulation de janvier 2013 n'a présenté de mammite clinique jusqu'à 12 heures suivant la mise-bas.

La présence de plus de deux types de colonies conduit à déclarer le prélèvement contaminé. En l'absence de telles situations, nous pouvons considérer que l'asepsie lors des prélèvements a été correctement respectée.

Les résultats de bactériologie peuvent être scindés en deux types d'isolements :

- pathogènes fréquemment isolés dans les mammites subcliniques [PUGH, 2002] :
 - Staphylocoques à coagulase négative
 - *Streptococcus uberis*
 - *Streptococcus bovis*
 - *Bacillus cereus*
- pathogènes rarement isolés dans les mammites subcliniques (*Candida parapsilosis*).

85,7 % (24/28) des prélèvements de bactériologie ont permis d'isoler un ou plusieurs germes. Des staphylocoques à coagulase négative sont isolés dans 53,6 % (15/28) des prélèvements de colostrum [Tableau 29], dont 9 (32,1 %) en culture pure et abondante. Ces résultats traduisent une prévalence élevée des mammites subcliniques dans le lot des 28 brebis du protocole de janvier 2013.

Bactérie(s) isolée(s)	Isolement		Isolement en culture pure et abondante	
	Effectif	%	Effectif	%
Staphylocoques à coagulase négative	15	53,57 %	9	32,14
<i>Streptococcus uberis</i>	1	3,57 %	1	3,57
<i>Streptococcus bovis</i>	2	7,14 %	2	7,14
<i>Bacillus cereus</i>	2	7,14 %	0	0,00
<i>Candida parapsilosis</i>	4	14,29 %	-	-

Tableau 29 : Résultats des bactériologies (n=28).

Afin d'étudier l'impact des mammites subcliniques sur la production de colostrum, d'IgG1 et de matière grasse, nous avons considéré que la brebis présentait une mammite subclinique de l'hémi-mamelle droite si l'analyse bactériologique du colostrum a permis d'isoler un staphylocoque à coagulase négative ou *Streptococcus uberis* ou *Streptococcus bovis* ou *Bacillus cereus* (n = 19). L'hémi-mamelle droite est saine si aucun pathogène (bactéries et levures) n'a été isolé (n = 7). Les 2 brebis pour lesquelles seule *Candida parapsilosis* a été mise en évidence ont été exclues de l'analyse.

La comparaison de la masse totale moyenne d'IgG1 produite sur 12 heures entre les brebis infectées ($31,7 \pm 3,5$ g ; n=19) et les brebis saines ($46,7$ g \pm 6,3 g ; n = 7) indique une différence proche du seuil de significativité (P = 0,0762) [Tableau 30]. Aucune différence entre les deux groupes de brebis n'a pu être mise en évidence pour ce qui est du volume total et de la masse de matière grasse produits sur 12 heures.

Hémi-mamelle droite	n	Volume (mL)		Masse d'IgG1 (g)		Masse de MG (g)	
		moyenne	P	moyenne	P	moyenne	P
saine	7	665,71	0,3079	46,74	<0,0762	69,26	0,4260
mammite subclinique	19	570,63		31,66		57,50	

Tableau 30 : Influence des mammites subcliniques sur la masse totale d'IgG, le volume de colostrum et la masse de matière grasse produits sur 12 heures (Test des rangs de Wilcoxon).

2.2.7. Endocrinologie

L'objectif de notre étude est d'évaluer si les différences de quantité et de qualité du colostrum s'expliquent par des différences de cinétiques des concentrations en cortisol, progestérone et prolactine chez la brebis.

- Cinétiques hormonales entre J-16 et T12

Le cortisol sérique est en faibles concentrations de J-16 (moyenne $8,9 \pm 2,3$ ng/mL) à J-3 (moyenne $8,5 \pm 1,2$ ng/mL). Sa concentration sérique augmente à J-2 (moyenne $13,2 \pm 1,2$ ng/mL), présente un pic le jour de la mise bas (moyenne $49,5 \pm 5,0$ ng/mL ; maximum 116,0 ng/mL) et chute pour retrouver ses valeurs initiales 12 heures *post-partum* (moyenne $11,9 \pm 1,9$ ng/mL).

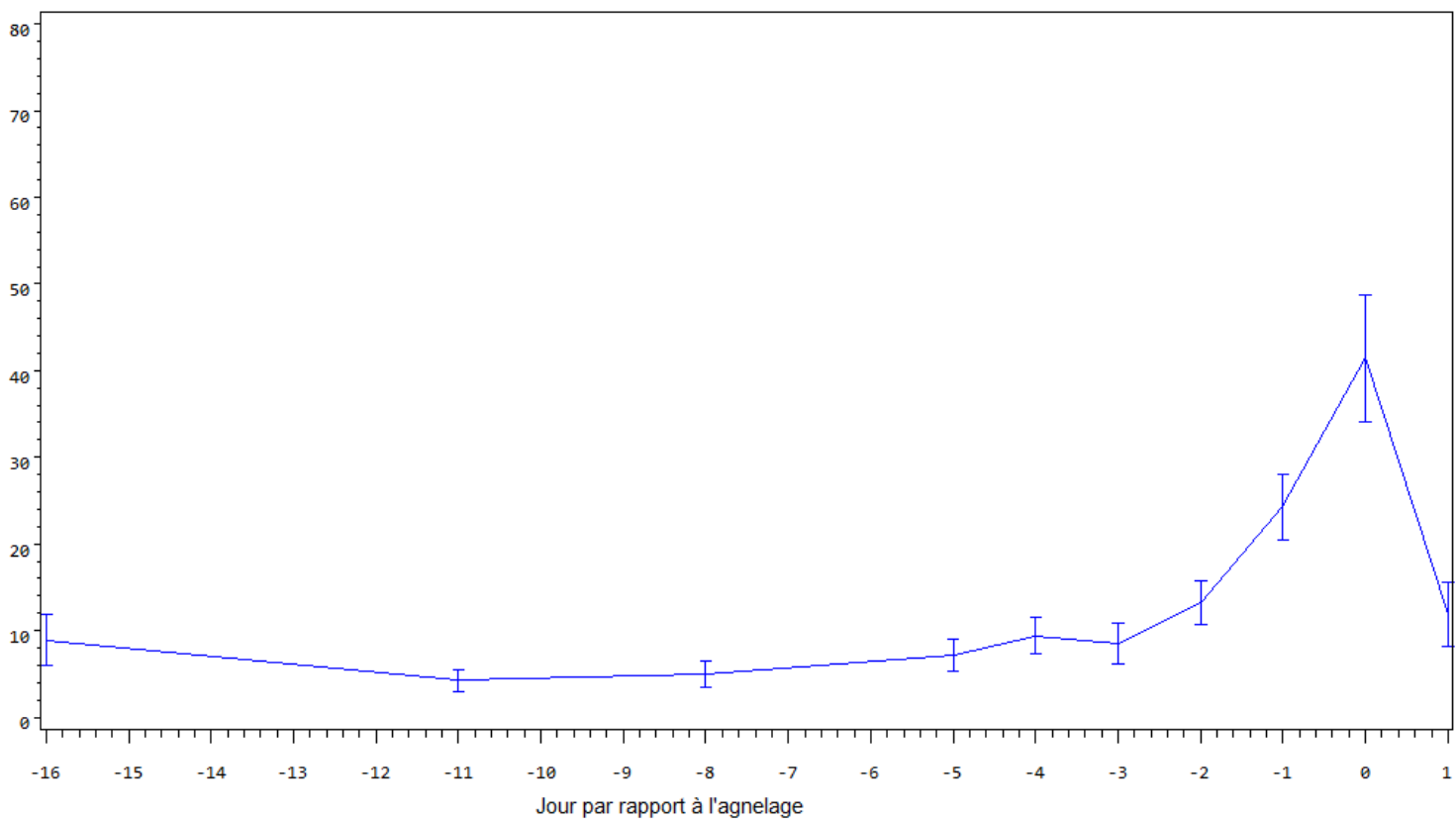
Les concentrations sériques en progestérone demeurent proches de 25 ng/mL de J-16 à J-5 (moyenne $26,0 \pm 1,9$ ng/mL) puis diminuent de J-5 à l'agnelage (moyenne $5,4 \pm 0,8$ ng/mL) pour atteindre des valeurs très faibles 12 heures *post-partum* (moyenne $0,55 \pm 0,03$ ng/mL).

Les concentrations sériques en prolactine sont faibles de J-16 (moyenne $7,1 \pm 0,5$ ng/mL) à jusqu'à J-4 prépartum (moyenne $13,0 \pm 2,1$ ng/mL). Elles augmentent

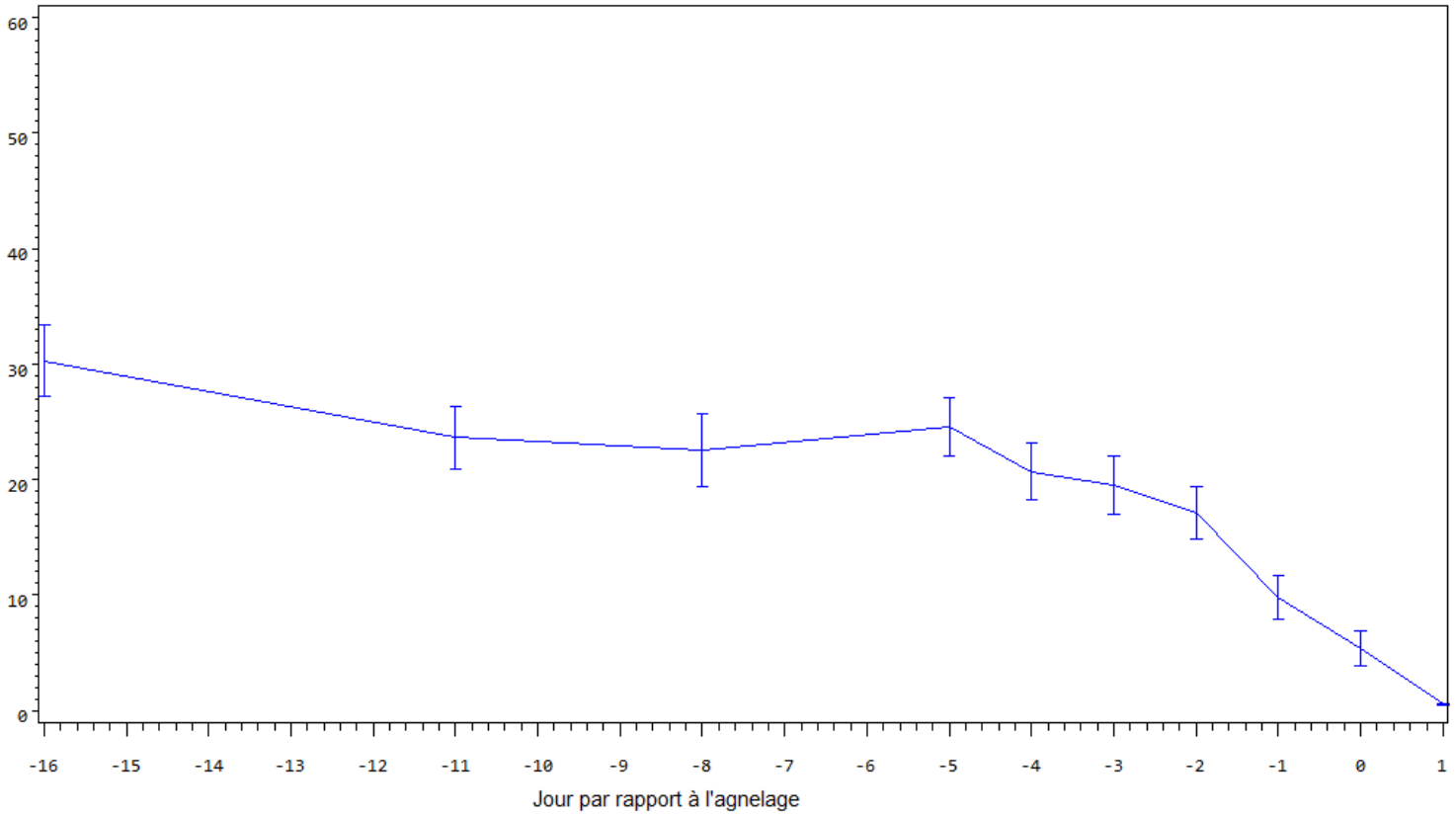
brutalement à partir de J-3 jusqu'à atteindre un maximum à l'agnelage (moyenne $550,9 \pm 149,7$ ng/mL ; maximum 4451,6 ng/mL) puis chutent immédiatement après la mise bas (à T12 : moyenne $207,6 \pm 26,2$ ng/mL).

Même si les concentrations sériques de ces 3 hormones sont très variables d'une brebis à l'autre, les profils hormonaux de J-16 à T12 sont similaires pour toutes les brebis.

Concentration moyenne en cortisol (et écart-type) (ng/mL)



Concentration moyenne en progestérone (et écart-type) (ng/mL)



Concentration moyenne en prolactine (et écart-type) (ng/mL)

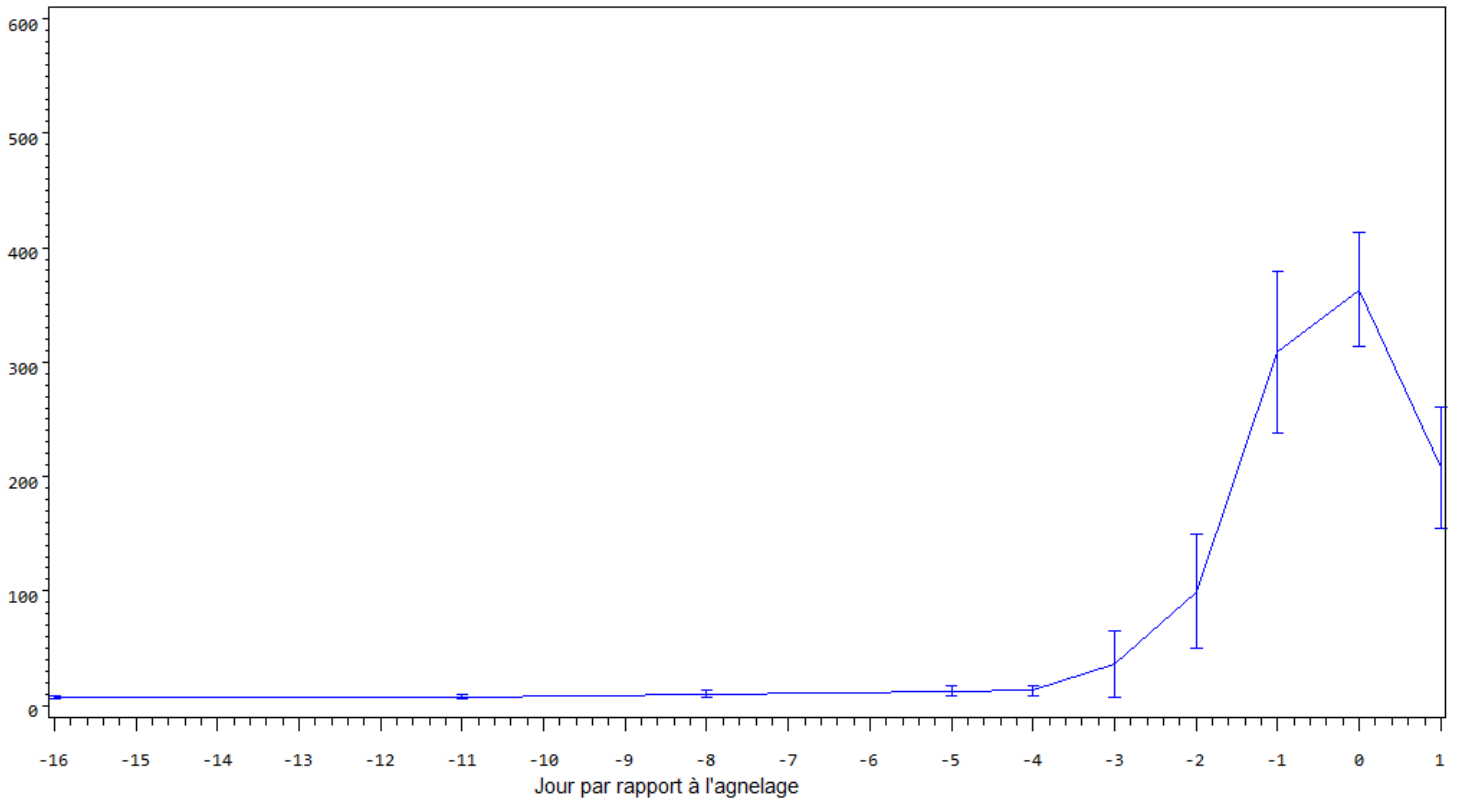


Figure 35 : Cinétique des concentrations plasmatiques en cortisol, progestérone et prolactine de J-16 à T12 par rapport à la mise bas (J0).

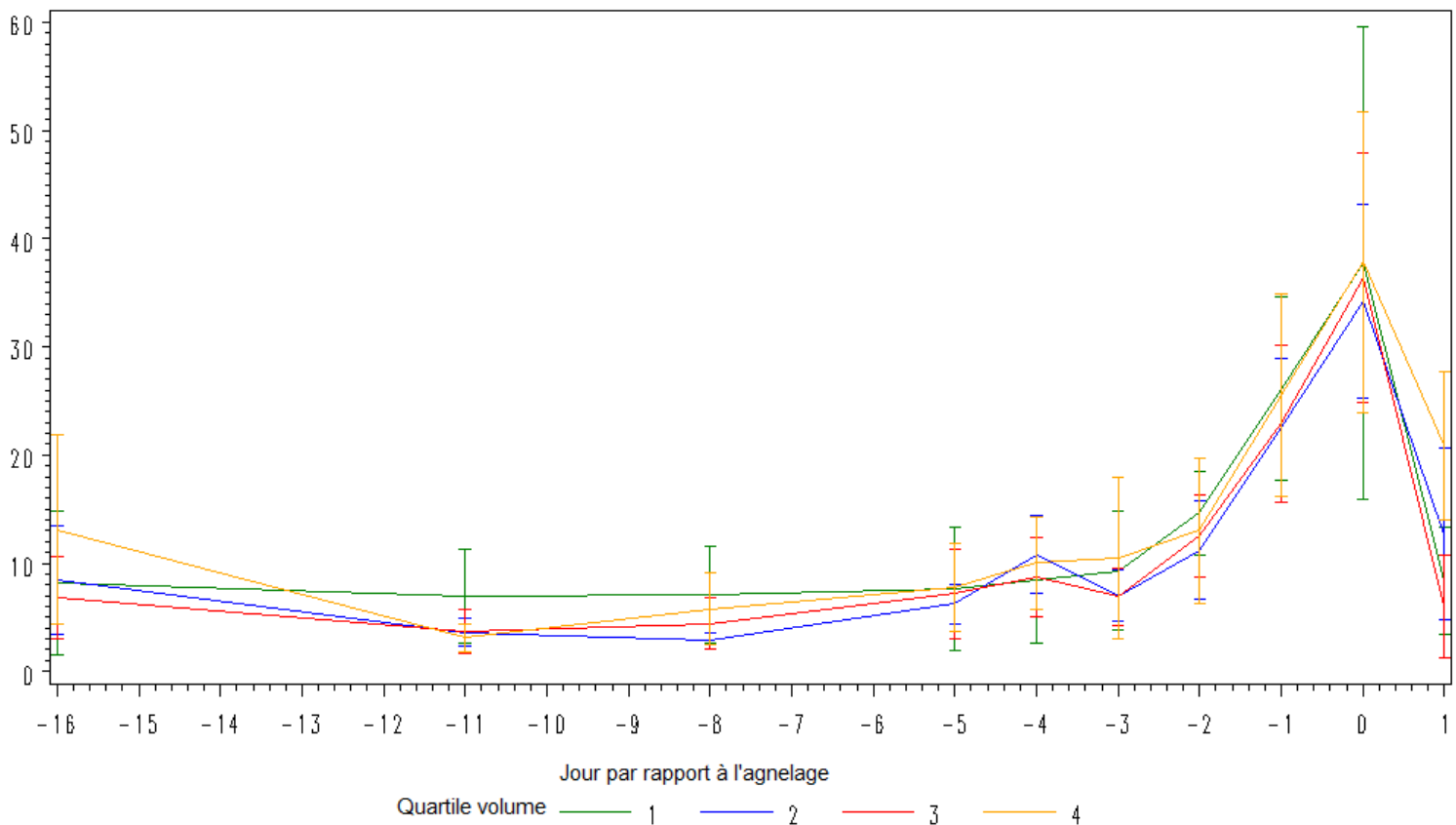
- Relation entre le volume total de colostrum et les profils hormonaux

Les cinétiques des 3 hormones dosées ont été comparées entre 4 groupes de brebis, définis par les quartiles de volume (mL) de colostrum produit sur 12 heures. Ces quartiles sont définis par les bornes suivantes :

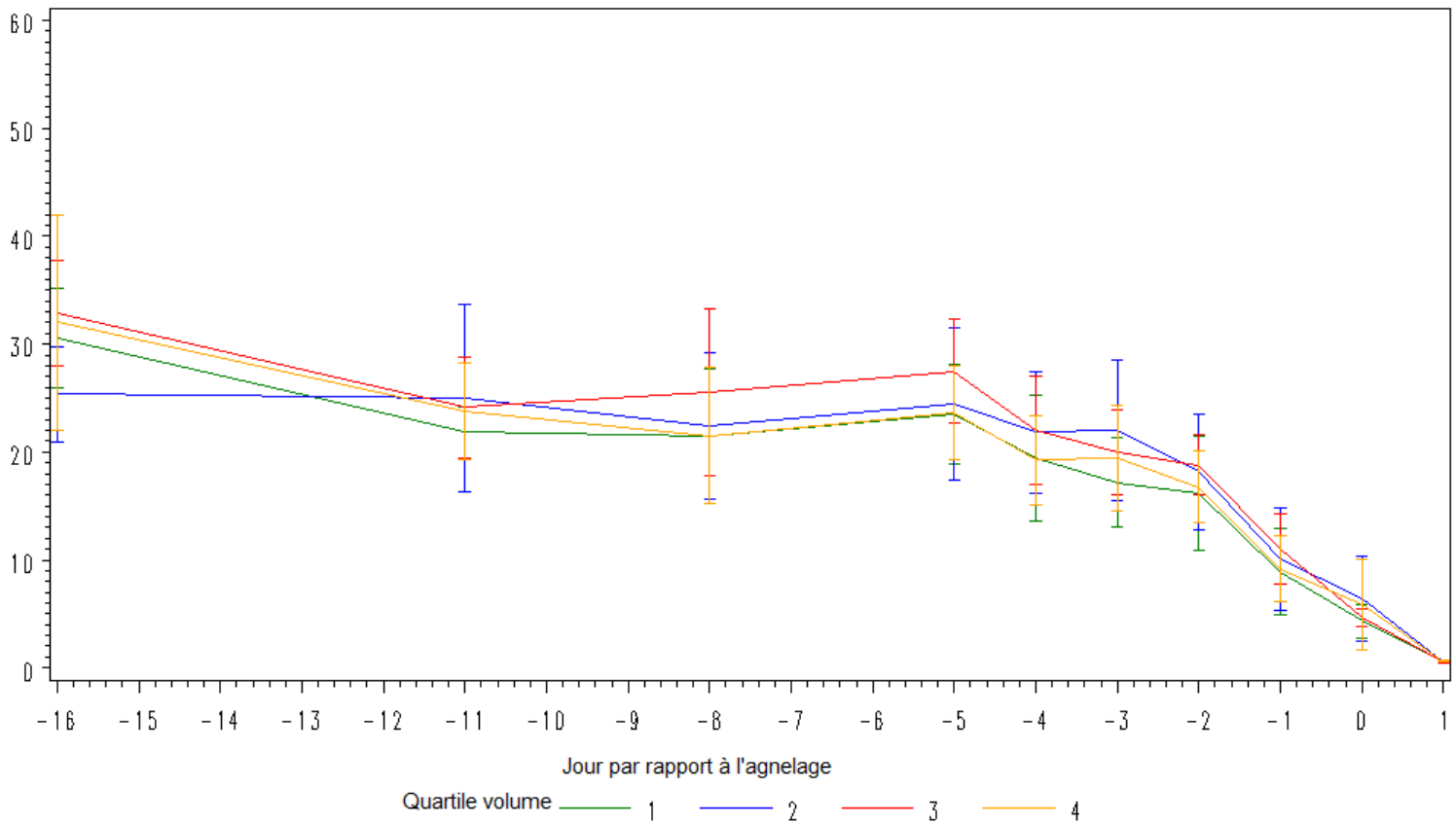
- 1^{er} quartile : volume de colostrum sur 12h \leq 480 mL ;
- 2^e quartile : volume de colostrum]480 ; 580 mL] ;
- 3^e quartile : volume de colostrum]580 ; 720 mL] ;
- 4^e quartile : volume de colostrum >720 mL.

Les cinétiques des concentrations sériques en cortisol, progestérone et prolactine ne présentent pas de différence significative entre les 4 groupes de brebis de volume total de colostrum croissant [Figure 36].

Concentration moyenne en cortisol (et écart-type) (ng/mL)



Concentration moyenne en progestérone (et écart-type) (ng/mL)



Concentration moyenne en prolactine (et écart-type) (ng/mL)

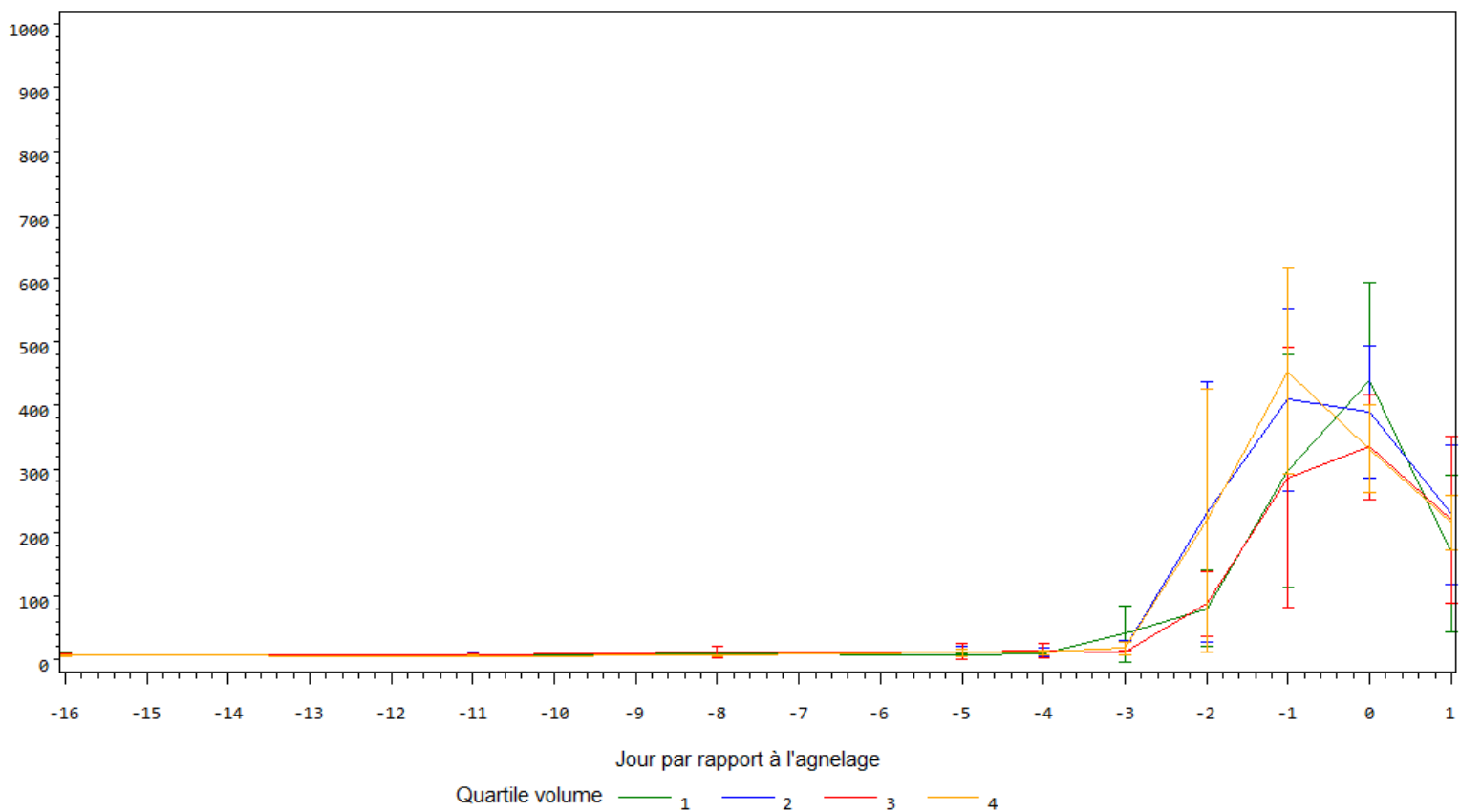


Figure 36 : Cinétiques des dosages hormonaux de cortisol, progestérone et prolactine de J-18 à T12 post-partum pour 4 groupes de brebis définis par les quartiles de volume de colostrum produit sur 12 heures post-partum.

Les concentrations sériques moyennes en progestérone et prolactine à J-2, T0 et T12 ne diffèrent pas significativement entre les brebis qui produisent plus ou moins de colostrum (test de Kruskal-Wallis et test des rangs de Mann-Whitney-Wilcoxon). Les brebis fortes productrices (4^e quartile) avaient des concentrations en cortisol significativement plus élevées à T12 que les brebis moins productrices (1^{er} et 3^{ème} quartile ; P < 0,05). Ces résultats suggèrent que les différents profils endocriniens des 3 hormones dosées n'expliquent pas les différences de volume de colostrum produit sur 12 heures [Tableau 31].

volume de colostrum sur 12h (mL)	concentrations moyennes en CORTISOL (ng/mL)			concentrations moyennes en PROGESTERONE (ng/mL)			concentrations moyennes en PROLACTINE (ng/mL)		
	J-2	T0	T12	J-2	T0	T12	J-2	T0	T12
quartile 1	14,64	56,07	8,40	16,21	4,35	0,50	80,05	552,55	166,74
quartile 2	11,18	40,57	12,67	18,18	6,47	0,54	232,00	388,74	227,96
quartile 3	12,52	47,51	6,03	18,81	4,64	0,54	87,86	334,56	220,79
quartile 4	13,01	54,79	20,86	16,77	5,85	0,61	218,98	920,06	214,90
P	0,55	0,57	0,03	0,73	0,85	0,59	0,89	0,33	0,58

Tableau 31 : Comparaison des concentrations moyennes en cortisol, progestérone et prolactine à J-2, T0 et T12 entre 4 groupes de brebis classées selon le volume total de colostrum produit sur 12h (Test de Kruskal-Wallis).

Les résultats sont globalement similaires si les 28 brebis sont réparties selon 3 groupes (pour augmenter la puissance statistique des comparaisons entre groupes), selon les tertiles du volume de colostrum produit sur 12 heures. Seule la concentration en prolactine apparaît significativement plus faible à T12 chez les brebis peu productrices (1^{er} tertile) que chez les brebis du 2^{ème} tertile (test des rangs de Mann-Whitney-Wilcoxon ; P = 0,0318). La différence entre les brebis du 1^{er} et du 3^{ème} tertile était proche du seuil de significativité (P = 0,0862).

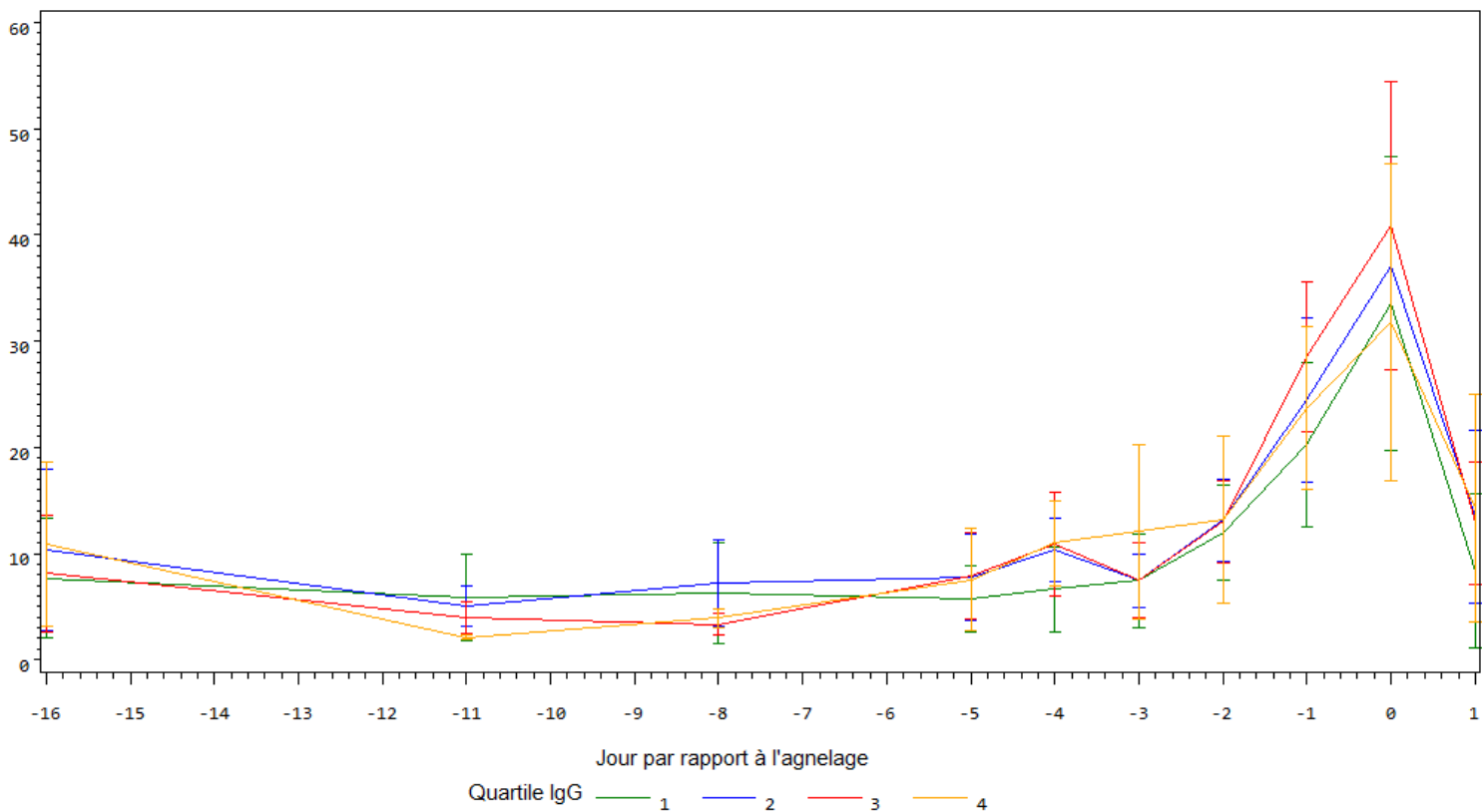
- Relation entre la masse totale d'IgG1 et les profils hormonaux

Les cinétiques des 3 hormones dosées ont été comparées entre 4 groupes de brebis, définis par les quartiles de masse d'IgG1 (g) produite sur 12 heures. Ces quartiles sont définis par les bornes suivantes :

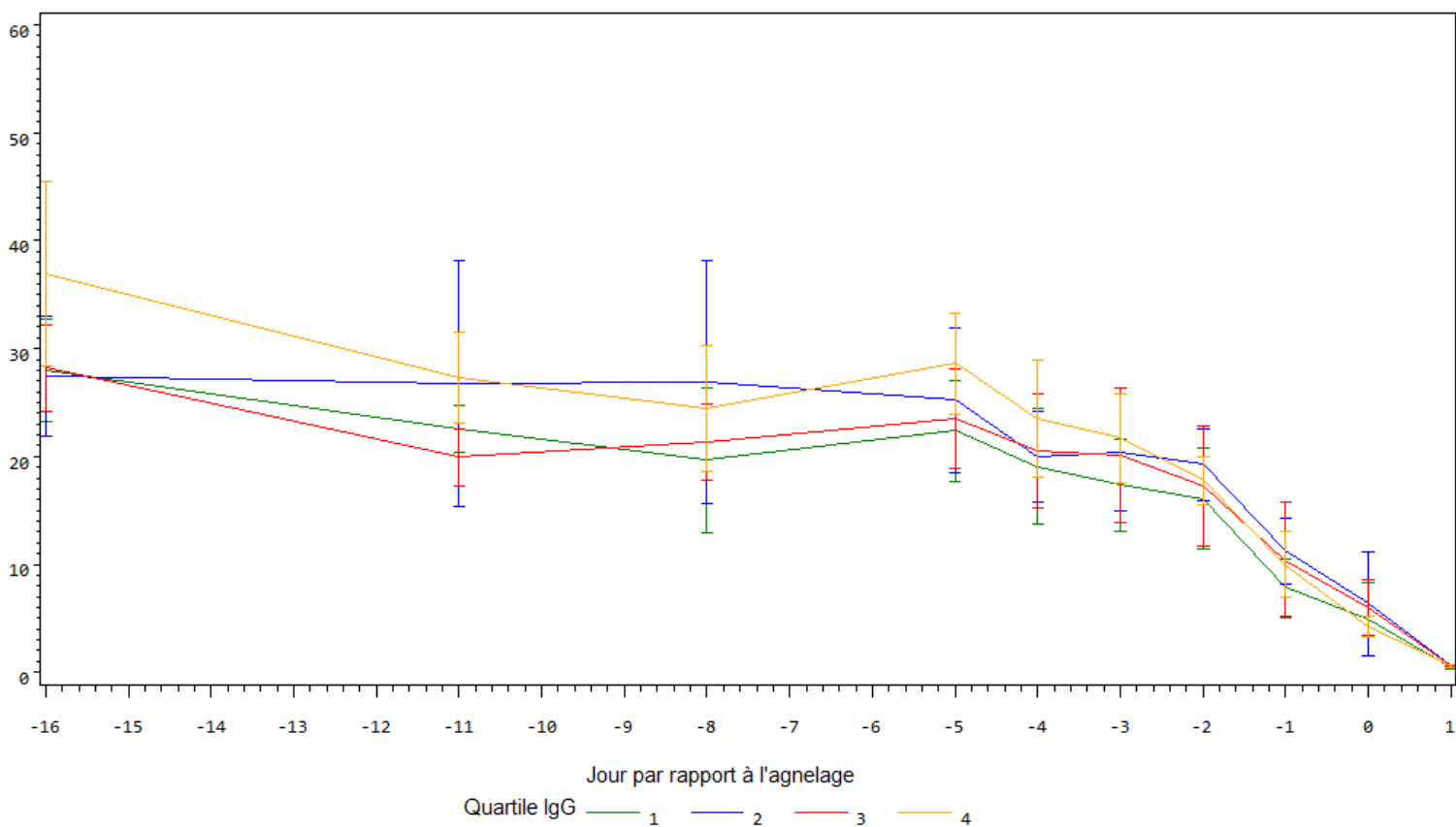
- 1^{er} quartile : masse d'IgG1 sur 12h ≤ 26,24 g ;
- 2^e quartile : masse d'IgG1]26,24 ; 34,57 g] ;
- 3^e quartile : masse d'IgG1]34,57 ; 46,58 g] ;
- 4^e quartile : masse d'IgG1 > 46,58 g.

Les cinétiques des concentrations sériques en cortisol, progestérone et prolactine ne présentent pas de différence significative entre les 4 groupes de brebis de masse totale d'IgG produite croissante [Figure 37].

Concentration moyenne en cortisol (et écart-type) (ng/mL)



Concentration moyenne en progestérone (et écart-type) (ng/mL)



Concentration moyenne en prolactine (et écart-type) (ng/mL)

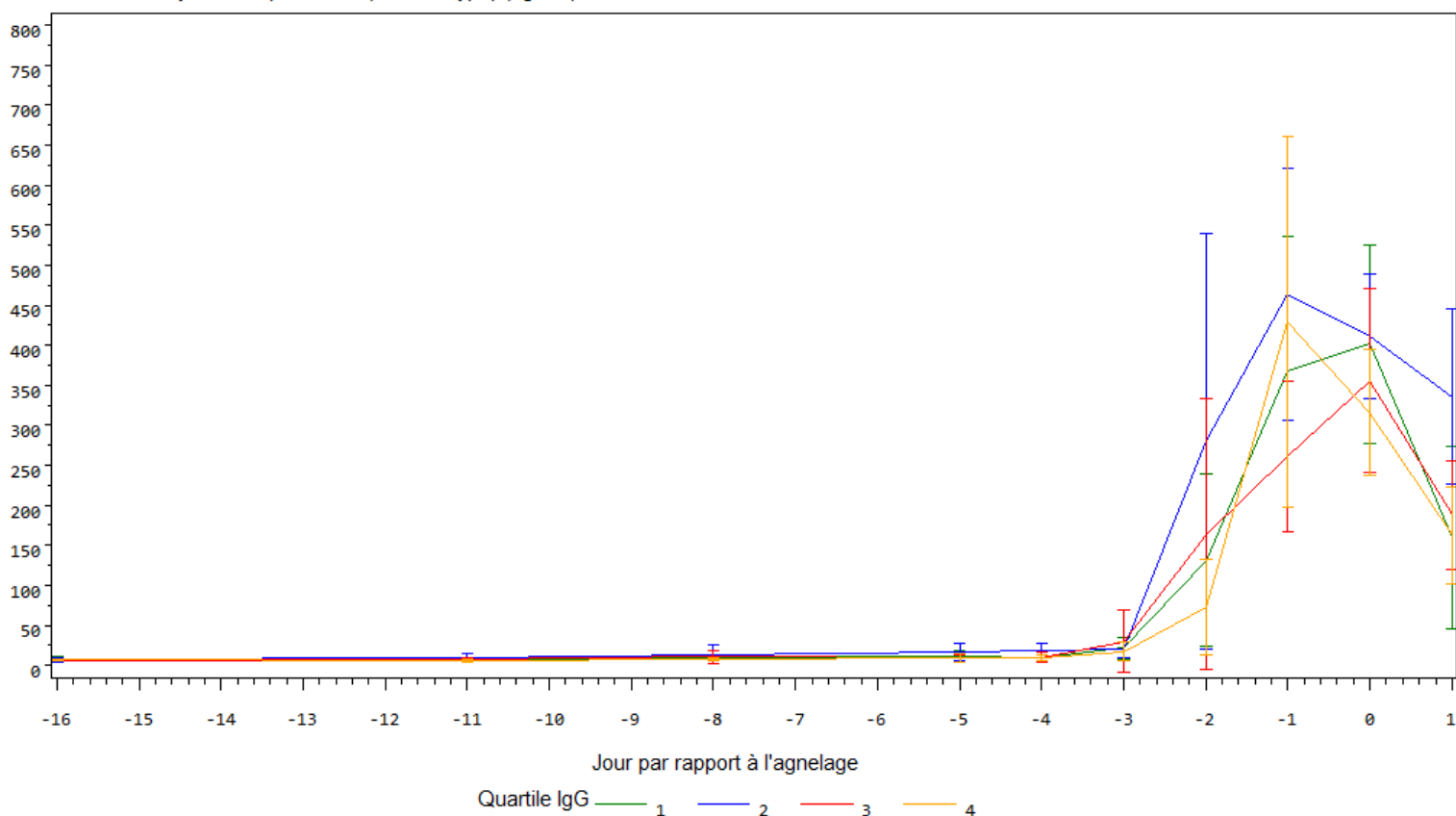


Figure 37 : Cinétiques des dosages hormonaux de cortisol, progestérone et prolactine de J-16 à T12 post-partum pour 4 groupes de brebis répartis par quartiles de masse d'IgG1 produite sur 12 heures post-partum.

Les concentrations moyennes en cortisol, progestérone et prolactine à J-2, T0 et T12 ne présentent pas de différences statistiquement significatives entre les brebis qui produisent plus ou moins d'IgG1 colostrales (test de Kruskal-Wallis et test des rangs de Mann-Whitney-Wilcoxon). Les différents profils des 3 hormones dosées ne semblent donc pas expliquer les différences de masse d'IgG1 colostrales produite [Tableau 32].

masse totale d'IgG sur 12h (g)	concentrations moyennes en CORTISOL (ng/mL)			concentrations moyennes en PROGESTERONE (ng/mL)			concentrations moyennes en PROLACTINE (ng/mL)		
	J-2	T0	T12	J-2	T0	T12	J-2	T0	T12
quartile 1	12,00	40,32	8,34	16,09	4,93	0,49	131,15	401,26	159,34
quartile 2	13,16	53,03	13,47	19,23	6,37	0,63	280,30	411,15	335,86
quartile 3	13,01	55,81	12,86	17,28	6,02	0,50	164,02	464,68	187,76
quartile 4	13,18	49,72	14,24	17,76	4,19	0,57	72,18	1005,20	162,63
P	0,87	0,68	0,60	0,56	0,36	0,12	0,56	0,94	0,07

Tableau 32 : Comparaison des concentrations moyennes en cortisol, progestérone et prolactine à J-2, T0 et T12 entre 4 groupes de brebis classées selon la masse totale d'IgG produite sur 12h (test de Kruskal-Wallis).

A la mise bas, aucune brebis n'atteint le seuil de concentration sérique en progestérone < 1 ng/mL. Douze heures après l'agnelage, 100 % (27/27) des brebis ont une concentration sérique en progestérone inférieur à 1 ng/mL.

Les résultats sont similaires si les 28 brebis sont réparties selon 3 groupes (pour augmenter la puissance statistique des comparaisons entre groupes), selon les tertiles de la masse d'IG1 produite sur 12 heures.

- Relation entre la masse totale de matière grasse et les profils hormonaux

De même que précédemment, les cinétiques des 3 hormones dosées ont été comparées entre 4 groupes de brebis, définis par les quartiles de masse de matière grasse (g) produite sur 12 heures. Ces quartiles sont définis par les bornes suivantes :

- 1^{er} quartile : masse de MG sur 12h \leq 40,01 g ;
- 2^e quartile : masse de MG]40,00 ; 52,76 g] ;
- 3^e quartile : masse de MG]52,76 ; 86,17 g] ;
- 4^e quartile : masse de MG > 86,17 g.

Les cinétiques des concentrations sériques en cortisol, progestérone et prolactine ne présentent pas de différence significative entre les 4 groupes de brebis de masses totales de matière grasse croissantes.

Les concentrations sériques moyennes en cortisol, progestérone et prolactine à J-2, T0 et T12 ne diffèrent pas de manière significative entre les brebis qui produisent un colostrum plus ou moins riche en matière grasse (test de Kruskal-Wallis et test des rangs de Mann-Whitney-Wilcoxon). Les différents profils endocriniens des 3 hormones dosées ne semblent donc pas expliquer les différences de masse totale de matière grasse colostrale produite sur 12 heures [Tableau 33].

masse de MG sur 12h (g)	concentrations moyennes en CORTISOL (ng/mL)			concentrations moyennes en PROGESTERONE (ng/mL)			concentrations moyennes en PROLACTINE (ng/mL)		
	J-2	T0	T12	J-2	T0	T12	J-2	T0	T12
quartile 1	12,70	40,58	10,06	17,53	5,70	0,51	64,43	385,46	170,85
quartile 2	15,02	52,97	14,50	17,41	5,37	0,55	234,70	349,91	248,50
quartile 3	12,69	48,00	10,25	17,16	6,33	0,55	251,04	488,44	212,64
quartile 4	10,83	59,84	14,40	17,84	3,76	0,61	90,72	1055,82	209,24
P	0,74	0,61	0,76	1,00	0,73	0,69	0,23	0,37	0,79

Tableau 33 : Comparaison des concentrations moyennes en cortisol, progestérone et prolactine à J-2, T0 et T12 entre 4 groupes de brebis classées selon la masse totale de MG produite sur 12h (test de Kruskal-Wallis).

Les résultats sont globalement similaires si les 28 brebis sont réparties selon 3 groupes (pour augmenter la puissance statistique des comparaisons entre groupes), selon les tertiles de la masse de matière grasse produite sur 12 heures.

- Relation entre la NEC et les profils hormonaux

La NEC moyenne et médiane du lot de brebis de janvier 2013 était de $2,65 \pm 0,04$ (minimum 2 ; maximum 3,2).

Nous avons comparé les profils hormonaux entre les deux groupes de brebis séparés selon la NEC médiane (2,6).

Les concentrations sériques moyennes en cortisol, progestérone et prolactine à J-2 et T0 ne présentent pas de différences statistiquement significatives entre les brebis à NEC plus ou moins élevée (test de Student). Seules la concentration en cortisol et la concentration en progestérone apparaissent significativement plus faibles à T12 chez les brebis maigres (NEC \leq 2,6) que chez les brebis plus grasses (NEC $>$ 2,6) (test de Student ; P = 0,03 et 0,02). La différence de concentration en prolactine à T12 entre les brebis maigres et grasses est proche du seuil de significativité (P = 0,07) [Tableau 34].

NEC	concentrations moyennes en CORTISOL (ng/mL)			concentrations moyennes en PROGESTERONE (ng/mL)			concentrations moyennes en PROLACTINE (ng/mL)		
	J-2	T0	T12	J-2	T0	T12	J-2	T0	T12
$\leq 2,6$	11,55	40,72	8,11	17,66	4,42	0,49	107,45	679,05	164,83
$> 2,6$	14,04	58,25	16,00	17,27	6,36	0,61	212,29	422,77	253,65
P	0,45	0,11	0,03	0,70	0,51	0,02	0,20	0,51	0,07

Tableau 34 : Comparaison des concentrations moyennes en cortisol, progestérone et prolactine à J-2, T0 et T12 entre 2 groupes de brebis classées selon la NEC (n=14) (Test de Student).

3. DISCUSSION

3.1. Evaluation des performances intrinsèques de la réfractométrie et du pèse colostrum pour l'évaluation indirecte de la concentration en IgG1 du colostrum de brebis

A notre connaissance, les performances intrinsèques du réfractomètre et du pèse colostrum n'ont pas été évaluées chez les ovins. Nos résultats, établis à partir d'un nombre conséquent d'échantillons (334), sont donc confrontés aux données de la littérature obtenues chez les bovins.

L'inclusion d'échantillons de colostrum prélevés à T6, T12 et T18 dans le cadre des manipulations d'avril 2012 et de janvier 2013 repose sur la volonté de pouvoir évaluer la relation entre la concentration en IgG1 et la mesure au réfractomètre et au pèse colostrum sur la gamme de concentrations en IgG1 la plus large possible.

La concentration moyenne en IgG1 du colostrum prélevé à la mise bas (T0) mesurée par immunodiffusion radiale (IDR) ($72,36 \pm 2,68$ g/L sur 198 prélèvements) est plus faible dans l'espèce ovine que les données rapportées dans l'espèce bovine par BIELMANN et al. (2010) (94,4 g/L). Nos résultats sont similaires aux concentrations en IgG1 mesurées à la mise bas chez la vache par QUIGLEY et al. (2013) (73,4 g/L). Dans notre étude les concentrations en IgG1 de ces mêmes colostrums de première traite sont apparues très variables selon les brebis : écart-type 37,76 g/L ; minimum 2,30 g/L ; maximum 260,78 g/L. Cette variabilité a été soulignée par BIELMANN et al. (2010) et QUIGLEY et al. (2012) pour le colostrum de vache.

Les concentrations en matière grasse observées dans notre étude (moyenne 92,85 g/L ; écart-type 35,59 g/L ; minimum 8,75 g/L ; maximum 198,40 g/L) correspondent aux valeurs mesurées chez les ovins : de 70 à 160 g/L [sources multiples].

Dans notre étude, près de la moitié (96/198) des colostrums prélevés à T0 avaient des concentrations comprises entre 50 et 100 g/L. Les quartiles inférieurs et supérieurs étaient de 45,9 g/L et 94,1 g/L. Ces valeurs sont globalement en accord avec ce qui est établi pour les bovins laitiers 32 % (55/171) des échantillons analysés par CHIGERWE et al. (2008) avaient des concentrations inférieures à 50 g/L.

Nos résultats indiquent une bonne corrélation entre l'indice de réfractométrie (% Brix) et la concentration en IgG1 mesurée par IDR ($r = 0,78$, $n = 333$, $P < 0,0001$). Cette valeur est en accord avec celle fournie par la seule autre étude réalisée chez les ovins ($r = 0,79$) [HARKER, 1978]. En comparaison, les études menées chez les bovins et les équins indiquent un coefficient de corrélation variant entre 0,41 et 0,94. Le coefficient de corrélation obtenu dans notre étude est similaire à celui calculé par BIELMANN et al. (2010) (0,73), QUIGLEY et al. (2013) (0,75) chez les bovins, et est inférieur aux résultats de CHAVATTE et al. (1998) (0,85), CASH (1999) (0,94) et VENNERS et al. (2008) (0,93) chez les équins.

Trente prélèvements de colostrum issus des deux protocoles présentent des valeurs similaires de réfractométrie (médiane 30,95 % Brix) malgré des valeurs très différentes de concentration en IgG1 mesurée par immunodiffusion radiale. Quatre à

6 mesures au réfractomètre digital ont été réalisées pour chaque échantillon et nous avons obtenu ces mêmes valeurs d'indice de réfractométrie. La concentration en IgG1 par IDR a été mesurée une seconde fois avec des valeurs très proches des valeurs initiales. L'origine de ces résultats discordants n'est pour le moment pas expliquée.

La corrélation entre la mesure au pèse colostrum (g/L) et la concentration en IgG1 mesurée par IDR (g/L) est de 0,76 (n = 310 ; P < 0,0001). A notre connaissance, cette relation n'a pas été estimée chez les ovins. MECHOR (1992) a trouvé un résultat similaire (r = 0,76 ; n = 39 ; P < 0,0001) pour le colostrum de vache. La mesure au colostromètre est mieux corrélée à la concentration en IgG du colostrum chez la jument d'après LEBLANC et al. (1986), WAELCHLI et al. (1990) et VENNER et al. (2008).

D'après nos résultats, les performances intrinsèques du réfractomètre (pour la détection de colostrum de concentration inférieure à 50 g/L d'IgG1) sont optimales (Se = 81,76 % ; Sp = 82,5 %) au seuil de décision de 24 % Brix. CHIGERWE et al. (2008), BIELMANN et al. (2010) et QUIGLEY et al. (2013) obtiennent des performances optimales au seuil de 22 % Brix pour le colostrum de bovin [Tableau 48]. En appliquant ce seuil de 22 % Brix à nos données, nous obtenons une sensibilité de seulement 65,88 % et une spécificité de 95,73 % : cette dégradation importante de la sensibilité signifie qu'environ 1/3 des colostrums pauvres en IgG1 est considéré comme « bon ». C'est pourquoi, nous recommandons le seuil de 24 % Brix pour le colostrum de brebis.

Au seuil de décision de 70 g/L, la sensibilité et la spécificité du pèse colostrum sont similaires aux valeurs intrinsèques obtenues chez les bovins [PRICHETT et al., 1994 ; CHIGERWE et al., 2008]. Cependant, sur nos données, les performances sont optimales au seuil de seuil 74 g/L. Mais, compte-tenu de la graduation du pèse colostrum, nous recommandons le seuil de 75 g/L pour le colostrum de brebis (les performances intrinsèques à ces 2 seuils étant très proches (indices de Youden = 60,51 et 60,47 respectivement)).

méthodes indirectes	seuil de décision	auteurs	sensibilité	spécificité
réfractomètre digital	22 % Brix	[CHIGERWE et al., 2008]	75 %	78 %
		[BIELMANN et al., 2010]	92,5 %	80,0 %
		[QUIGLEY ET AL., 2013]	85,7 %	79,3 %
		notre étude	65,88 %	95,73 %
colostromètre	70 g/L	[PRICHETT et al., 1994]	63 %	85 %
		[CHIGERWE et al., 2008]	75 %	78 %
		notre étude	74,71 %	83,54 %

Tableau 48 : Comparaison de la sensibilité et de la spécificité du réfractomètre et du colostromètre.

L'indice de réfractométrie et la mesure au pèse colostrum sont bien corrélés ($R^2 = 0,84$; n = 460 ; P < 0,0001).

La concentration en matière grasse influence significativement l'indice de réfractométrie (r = 0,34 ; n = 329 ; P < 0,0001) : une augmentation de 10 g/L de la concentration en matière grasse induit une augmentation de $0,5 \pm 0,006$ % Brix. Ce

résultat peut expliquer en partie les différences interspécifiques des coefficients de corrélation calculés dans les différentes publications.

Nous n'avons pas mis en évidence d'influence significative de la température ni sur l'indice de réfractométrie ni sur l'estimation au pèse colostrum dans la limite des valeurs mesurées. Or, la plage de variation de la température est limitée (18,60 à 27,60°C). D'autres études [MECHOR et al., 1991 ; MECHOR et al., 1992 ; RUDOVSKY et al., 2008] ont montré que l'estimation de la concentration en IgG au pèse colostrum dépend de la température de l'échantillon.

Nous n'avons pas mis en évidence de différences significatives des mesures entre les opérateurs malgré l'imprécision de la mesure au pèse colostrum. En effet, l'échelle est graduée de 25 g/L à 125 g/L avec un intervalle de 25 g/L et la stabilisation du flotteur est lente.

Chez les ovins, le réfractomètre et le pèse colostrum donnent une meilleure estimation de la qualité du colostrum que chez les bovins. Ces méthodes sont pratiques, rapides et peu onéreuses. D'après nos résultats, **pour juger de la bonne qualité d'un colostrum** (soit une concentration en IgG1 par IDR > 50 g/L) avec des performances intrinsèques optimales, nous recommandons des **seuils de décision de 24 % Brix pour la réfractométrie et de 75 g/L pour le pèse colostrum**.

Cependant les deux outils testés ne permettent pas de prédire avec précision la concentration réelle d'IgG1, malgré des coefficients de corrélation élevés (0,76 et 0,78), du fait d'une variabilité importante autour de l'équation de régression (valeurs des écarts-types des paramètres de régression). Le pèse colostrum et le réfractomètre numérique peuvent être utilisés pour l'identification à grande échelle ou en conditions d'élevage des « bons » et « mauvais » colostrums (échelle binaire ou semi-quantitative) avec une marge d'erreur acceptable. En revanche leur utilisation dans le cadre d'un programme de phénotypage précis des brebis (échelle quantitative continue, en grammes/litre d'IgG1) ne saurait être recommandée du fait de l'imprécision de l'équation de prédiction. D'autres approches, basées sur la spectrographie dans le proche infrarouge, sont aujourd'hui explorées chez les bovins avec des résultats encourageants quant aux possibilités de prédiction des concentrations en IgG1 [RIVERO et al, 2012], mais nécessite l'intervention du laboratoire.

3.2. Production de colostrum chez la brebis

3.2.1. Matériel et méthode

L'étude préliminaire d'avril 2012 a permis de valider le protocole expérimental. L'ensemble des prélèvements a pu être réalisé. Aucun incident (tétée de l'hémi-mamelle droite ou stimulation de la mamelle hors prélèvement) n'a été relevé. Ni le dispositif de séparation des agneaux, ni les interventions fréquentes à l'agnelage pour éviter la tétée par le premier agneau né, n'ont affecté le lien maternel : toutes les brebis ont adopté leur(s) agneau(x) une fois la période de prélèvement passée. Les traites successives n'ont pas engendré de mammites cliniques. Nous avons noté quelques contusions et hématomes du trayon liés à la traite complète de l'hémi-mamelle.

La première limite du protocole à souligner est la traite complète d'une seule héli-mamelle. Ce choix de méthode a été adopté afin de pouvoir réaliser l'ensemble des prélèvements : en effet, la traite complète des deux héli-mamelles et le soin des agneaux, nécessitant au minimum 20 minutes, auraient pénalisé la réalisation d'autres prélèvements pour les agnelages très rapprochés. Ce choix repose sur les résultats des deux études de SHUBBER et DOXEY (1978) et de HALLIDAY (1978). Selon SHUBBER et DOXEY (1978), la composition en immunoglobulines du colostrum produit par héli-mamelle ne présente pas de différence significative ($n = 21$, $P > 0,2$). HALLIDAY (1978) a estimé la corrélation entre les quantités d'IgG1 produites par héli-mamelle de 0,891 ($P < 0,001$). Cependant, d'autres études contredisent ce postulat [HARTMANN et al., 1973 ; GUIDRY et al., 1980 ; LOPEZ, 1988].

Le deuxième écueil à souligner est la sélection des brebis du protocole de janvier 2013. L'échantillonnage des 30 brebis du protocole de janvier 2013 repose sur différents critères d'inclusion (race, âge, taille de portée, NEC, index « valeurs maternelles », fertilité à l'insémination artificielle). Afin d'évaluer si les différences de quantité et de qualité du colostrum s'expliquent par des différences de profils hormonaux, nous avons sélectionné un lot de brebis homogène afin de s'affranchir des facteurs de variations. Mais, cette sélection présente quelques limites à souligner.

Initialement, l'étude devait être menée sur des brebis de race Blanche du Massif Central. Or, de mauvais résultats à l'insémination artificielle du lot de brebis BMC a entraîné le recours à des brebis de race Lacaune.

D'autre part, l'« effet père », c'est-à-dire, l'influence du bélier sur la quantité et la qualité de colostrum, n'a pu être évalué. En effet, 9 béliers, sélectionnés sur leur index (améliorateurs *versus* pénalisants), ont été utilisés pour l'insémination mais la répartition des mâles est très hétérogène. Ainsi au maximum un bélier a été utilisé pour inséminer 6 brebis, alors que 2 autres n'ont été utilisés que sur 1 brebis chacun.

Enfin, l'état sanitaire des brebis du protocole de janvier 2013 était médiocre : un état corporel relativement faible à la mise-bas (NEC moyenne = 2,7), une prévalence de boiteries modérée, une prévalence de mammite subclinique sévère (67,86 % ; 19/28) et une agalactie (1/29) sont à souligner.

Afin de compléter notre étude, le dosage des métabolites sanguins (glucose, β -hydroxybutyrate, urée et leptines) aurait permis d'identifier la source principale d'énergie pour la synthèse du colostrum : l'alimentation ou les réserves lipidiques de la brebis.

Le dosage du lactose dans le colostrum aurait été intéressant pour interpréter la variabilité interindividuelle du volume de colostrum produit. En effet, le volume de colostrum dépend directement de la sécrétion de lactose par les cellules épithéliales mammaires : par effet osmotique, plus la quantité de lactose est importante, plus le volume de colostrum est élevé.

Par contrainte économique, nous nous sommes focalisés sur les cinétiques de 3 hormones : cortisol, progestérone et prolactine. Afin de parfaire notre étude, les dosages de l'insuline, de l'hormone de croissance (GH), de l'Insulin-like growth factor I (IGF-I) et de la leptine auraient permis de plus amples investigations sur le déterminisme endocrinien de la colostrogénèse.

Enfin, les prélèvements sanguins (sur EDTA) pour le séquençage des deux gènes qui codent pour le FcRn ont été réalisés sur les 30 brebis du protocole de

janvier 2013. Mais, pour des raisons financières, le séquençage n'a pas été effectué mais devrait l'être dans les prochains mois.

3.2.2. Quantité et qualité du colostrum

Nos résultats indiquent que la masse d'IgG1 à T18 ne représente en moyenne que 0,7 % de la masse totale d'IgG1 en accord avec les observations réalisées dans l'espèce bovine chez qui le transfert des IgG sériques cesse brutalement 2 jours *post-partum* [SASAKI, 1976]. Cette hypothèse est confortée par l'étude de HINE et al, (2010) qui ont montré (par RT-PCR) que l'expression du gène FCGRT qui code pour le FcRn diminue significativement dès l'agnelage.

La masse totale d'IgG transférée par la glande mammaire (concentration x volume) dépend :

- du volume, c'est-à-dire de l'afflux d'eau dans les alvéoles induit par la sécrétion de lactose par effet osmotique ;
- et de la quantité d'IgG1 transférées par le FcRn (isotype majoritaire du colostrum).

Nos résultats ont mis en évidence une forte variabilité interindividuelle de la masse d'IgG et du volume de colostrum produit sur 12 heures.

D'après la littérature, plusieurs facteurs de variation de la quantité et de la qualité du colostrum de brebis ont été étudiés : la race, l'âge, la taille de la portée, la durée de gestation, la NEC et l'état sanitaire de la brebis.

Parmi ces facteurs de variation, certains ont été maîtrisés par le schéma expérimental pour limiter leur influence sur les résultats. Ainsi l'âge et la taille de portée étaient homogènes.

Nos résultats n'ont pas mis en évidence d'effet significatif de la NEC sur le volume total de colostrum et la masse totale d'IgG et de matière grasse. Les brebis maigres ont des productions plus faibles. Ces résultats sont en accord avec ceux de MELLOR et MURRAY (1986) et BANCHERO et al. (2006) mais cet effet a été perceptible même pour une gamme de variation limitée de la NEC (entre 2 et 3). Dans les études citées, les auteurs comparaient des groupes avec des valeurs de NEC très différentes (NEC entre 1,5 à 2 *versus* 3,5 à 4). Nos résultats suggèrent qu'un état corporel même légèrement en dessous des recommandations à la mise bas (NEC entre 2,8 et 3,5) suffit à limiter le volume de colostrum et la masse d'IgG produits. Ceci milite en faveur de la sensibilisation des éleveurs aux respects des recommandations en terme d'alimentation en fin de gestation.

Les résultats de bactériologie du protocole de janvier 2013 témoignent d'une forte prévalence des mammites subcliniques (85,71 %, 24/28). Des staphylocoques à coagulase négative sont isolés dans 53,57 % (15/28) : ce sont les germes les plus fréquemment isolés dans le cas de mammites subcliniques chez la brebis. Nous avons exclu un défaut d'asepsie lors des prélèvements compte tenu de l'absence de prélèvement contaminé (isolement de plus de deux types de colonies). Nos résultats indiquent une influence statistiquement significative des mammites subcliniques sur la quantité et la qualité du colostrum. Les brebis atteintes de mammites subcliniques ont produit moins de colostrum et moins d'IgG1 et de matière grasse que les brebis saines. La littérature ne reporte pas de données sur le colostrum dans l'espèce ovine. Chez les bovins, PERINO et al. (1995) n'ont pas mis en évidence d'effet péjoratif des mammites subcliniques sur la concentration en IgG mais MAUNSELL et al. (1999) ont montré que ces dernières sont corrélées à une diminution du volume

de colostrum. Une brebis de notre étude avait une mammite clinique (agalactie, mamelle hypertrophiée et indurée). CHRISTLEY et al. (2003) ont montré qu'une mammite clinique au tarissement réduit fortement le volume de colostrum produit par l'hémi-mamelle atteinte. Nos résultats militent pour une évaluation systématique, au moins macroscopique, des mamelles au tarissement et à la mise bas et pour une réforme anticipée des brebis ayant des anomalies.

3.3. Endocrinologie

Notre étude a permis d'établir les cinétiques des concentrations sériques en cortisol, progestérone et prolactine en *peripartum* chez la brebis. Les profils obtenus sont similaires à ceux de la littérature [DELOUIS et TERQUI, 1974 ; BANCHERO et al., 2006].

Chez la brebis, la colostrogénèse est initiée par la chute de la progestéronémie et l'augmentation des concentrations sériques en cortisol et prolactine.

Nos résultats ne mettent en évidence aucune influence statistiquement significative des cinétiques des concentrations sériques en cortisol, progestérone et cortisol sur la production de colostrum.

Nous n'avons pas mis en évidence de différence significative entre les profils hormonaux et les NEC (les brebis recevant une même ration).

BANCHERO et al. (2006) ont montré que les concentrations en cortisol, progestérone et cortisol de brebis initialement maigres (NEC moyenne = 1,6) sont différentes selon le niveau de couverture des besoins alimentaires. En *prépartum*, la concentration en progestérone diminue chez toutes les brebis mais la chute est plus marquée chez les brebis correctement alimentées que chez les brebis sous alimentées. Les brebis sous alimentées ont des concentrations sériques en progestérone significativement plus élevées que les brebis correctement alimentées ($P < 0,05$) de l'agnelage à 12 heures *post-partum*. Cette différence de vitesse de décroissance de la progestéronémie peut être inféodée à une différence de clairance de la progestérone.

D'après BURD et al. (1978), l'initiation de la colostrogénèse nécessite une progestéronémie inférieure au seuil de 10 ng/mL. Nos résultats n'ont pas révélé de différences significatives de quantité et de qualité du colostrum entre les brebis dont la progestéronémie atteint ou non 10 ou 5 ng/mL de J-2 à T0. Selon HARTMANN et al. (1973), la progestérone doit être inférieure à un second seuil de 1 ng/mL au moment de l'agnelage pour une synthèse optimale de colostrum. Dans notre étude, 92,59 % (25/27) des brebis avaient une concentration en progestérone inférieure à 10 ng/mL à l'agnelage. A la mise bas, toutes les brebis avaient une progestéronémie supérieure à 1 ng/mL alors que 12 heures après, toutes avaient atteint ce seuil. Dans l'étude de BANCHERO et al. (2006), aucune brebis, quelle que soit leur alimentation, n'a présenté de concentration de progestérone inférieure à 1ng/mL à la mise bas. Dans cette même étude, après l'agnelage, 40 % des brebis sous alimentées avaient un taux de progestérone trop élevé pour permettre une initiation optimale de la lactogénèse et 60 % n'avaient pas assez de colostrum pour subvenir aux besoins immédiats de leur nouveau-né.

La progestérone inhibe l' α -lactalbumine, une des enzymes nécessaires à la synthèse du lactose. C'est pourquoi, une concentration en progestérone élevée

entraîne une plus faible concentration en lactose pouvant entraîner ainsi un plus faible volume de colostrum.

La prolactine augmente la synthèse des caséines et d' α -lactalbumine lorsque ses récepteurs sont présents dans le tissu mammaire. Elle agit par rétrocontrôle positif sur ses propres récepteurs. C'est pourquoi l'augmentation de la concentration en prolactine se traduit par une augmentation de la réponse du tissu mammaire. Cependant, la synthèse des récepteurs à la prolactine est inhibée par des concentrations élevées en progestérone et la prolactine ne peut se fixer sur son récepteur qu'après la chute de la concentration en progestérone en fin de gestation [BANCHERO et al., 2006]. De J-16 à T0, les concentrations sériques en prolactine de brebis bien alimentées restent supérieures aux concentrations sériques de brebis sous alimentées [BANCHERO et al., 2006]. D'après nos résultats, les différences de quantité et de qualité du colostrum ne s'expliquent pas par des différences de concentration en prolactine. Toutefois, l'interaction de cette hormone avec la progestérone pourrait masquer son effet.

Nos résultats ne mettent pas en évidence d'influence significative de la concentration en cortisol sur la production de colostrum. BANCHERO et al. (2006), ont montré que les concentrations sériques en cortisol des brebis correctement alimentées sont plus élevées que les brebis sous alimentées en *prépartum* mais la différence est significative uniquement à J-3 et J-1.

Le cortisol participe aussi à cette cascade endocrinienne : d'après DELOUIS et al. (1980), TUCKER (1981) et HOUDEBINE et al. (1985), le cortisol augmente le nombre de récepteurs à la prolactine à la surface des cellules épithéliales mammaires.

L'absence de différences significatives entre les profils hormonaux des brebis faibles et fortes productrices dans notre étude ne permet cependant pas de conclure définitivement à une absence totale d'effet de ces hormones sur la variabilité de la production de colostrum. En effet, de nombreux facteurs de confusion (race, NEC, père, taille de portée) n'ont pas pu être pris en compte lors des comparaisons, en raison des effectifs faibles par groupe. Une meilleure maîtrise de ces facteurs, dans un cadre expérimental encore plus strict, serait nécessaire pour apporter une réponse plus claire.

CONCLUSION

L'objectif de ces travaux était d'apporter des éléments de réponse sur la faisabilité d'un **phénotypage rapide et peu couteux des brebis sur la qualité et la quantité de colostrum produit après la mise bas** et d'investiguer certains facteurs potentiels de variation. Ce travail s'inscrit dans un objectif à long terme d'amélioration de la production de colostrum chez la brebis en termes de qualité et de quantité.

L'**évaluation des performances intrinsèques** du réfractomètre et du **pèse colostrum** a montré que ces deux outils sont **faciles à mettre en œuvre, répétables** et qu'ils offrent de **bonnes performances intrinsèques** pour l'évaluation de la concentration en immunoglobulines. Nos résultats ont par ailleurs permis de définir des **seuils de décision (24 % Brix** pour le réfractomètre, **75 g/L** pour le pèse colostrum) associés aux performances optimales pour la détection des colostrums faiblement concentrés en IgG. Ces seuils et ces performances sont apparus différents de ceux estimés dans d'autres espèces.

Le pèse colostrum et le réfractomètre numérique peuvent donc être utilisés pour l'identification **à grande échelle ou en conditions d'élevage** des « bons » et « mauvais » colostrums (échelle binaire ou semi-quantitative) avec une marge d'erreur acceptable. En revanche, leur utilisation dans le cadre d'un programme de phénotypage précis des brebis (échelle quantitative continue, en grammes/litre d'IgG1) ne saurait être recommandée du fait de l'imprécision de l'équation de prédiction.

L'étude de la production de colostrum après la mise bas nous a permis de mettre en évidence une **grande variabilité individuelle**, à la fois sur les volumes et les masses d'IgG et de matière grasse produits.. Nos résultats ont permis de mettre en évidence une **décroissance très rapide de la concentration en immunoglobulines du colostrum après la mise bas** et viennent renforcer le message communément diffusé auprès des éleveurs quant à l'importance d'une **prise colostrale précoce par l'agneau**. Ils suggèrent aussi que l'adoption d'un agneau par une brebis ayant agnelé depuis plus de 12 heures présente un risque de défaut de transfert de l'immunité passive.

Nos résultats indiquent qu'**une seule traite à la mise bas ne suffit pas à estimer la masse totale d'IgG produite**. Pour cela au moins **deux traites** semblent nécessaires (dans notre cas T0 et T0+6 heures) afin d'évaluer correctement la capacité de production des brebis. Ceci rend plus difficile la réalisation pratique d'un phénotypage à grande échelle, en raison des contraintes de travail et de logistique (séparation des agneaux, traite à heures fixes...) que cela impose.

Nos résultats ont aussi confirmé **l'importance de l'état corporel des brebis en fin de gestation** pour assurer une bonne production, tant en termes de volume que de masse d'IgG et de matière grasse. La couverture des besoins énergétiques et la gestion attentive des brebis en fin de gestation sont malheureusement souvent mal assurés en élevage ovin allaitant, pour des raisons liées à la conduite d'élevage (brebis au pâturage, lots de tailles importantes, absence de séparation selon la taille de portée ou la note d'état corporel). Par ailleurs, nos résultats indiquent que les brebis atteintes de mammite subclinique produisent significativement moins de colostrum, moins d'IgG et de matière grasse que les brebis saines. Ceci montre, s'il

en était besoin, **l'importance de la santé de la mamelle** dans la production de colostrum.

En revanche, les investigations que nous avons menées pour mettre en relation les profils hormonaux en cortisol, progestérone et prolactine et la production colostrale n'ont pas permis de mettre en évidence d'influence significative. D'autres hormones (IGF-1, leptine) ou métabolites (lactose), non évalués dans notre étude, pourraient jouer un rôle.

Par ailleurs, le séquençage des gènes FCGRT et $\beta 2m$ qui codent pour le récepteur FcRn n'a pu être réalisé dans le temps imparti pour notre travail. Les résultats attendus pour la fin de l'année 2014 permettront de comparer les différents haplotypes avec la quantité et la qualité de colostrum. Ce travail, novateur dans l'espèce ovine, pourrait apporter des pistes quant à la possibilité d'une sélection génétique, s'il s'avère que les haplotypes améliorateurs ne sont pas en interaction négative avec d'autres caractères d'intérêt.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AKERS R. M., BAUMAN D. E., CAPUCO A. V., GOODMAN G. T., TUCKER H. A. (1981a). Prolactin regulation of milk secretion and biochemical differentiation of mammary epithelial cells in periparturient cows. *Endocrinology*, **109**, 23-30.
2. AKERS R. M., BAUMAN D. E., GOODMAN G. T., CAPUCO A. V., TUCKER H. A. (1981b). Prolactin regulation of cytological differentiation of mammary epithelial cells in periparturient cows. *Endocrinology*, **109**, 31-40.
3. AKERS R. M. (2000). Selection for milk production from a lactation biology viewpoint. *J. Dairy Sci.*, **83**, 1151-1158.
4. ALLEMAND H. (2008). Evaluation par la technique d'immunodiffusion radiale de la qualité du colostrum et du transfert colostral chez les bovins. Thèse de doctorat vétérinaire, *Pathologie des ruminants*. Ecole nationale vétérinaire de Lyon, 137 p.
5. ANDERSON C. L., CHAUDHURY C., KIM J., BRONSON C.L., WANI M. A., MOHANTY S. (2006). Perspective - FcRn transports albumin: relevance to immunology and medicine. *Trends in Immunology*, **27 (7)**, 343-348.
6. APODACA G., KATZ L. A., MOSTOV K. E. (1994). Receptor-mediated transcytosis of IgA in MDCK Cells Is via apical recycling endosomes. *J. Cell Biol.*, **125(1)**, 67-86.
7. ARCHIBALD A. L., COCKETT N. E., DALRYMPLE B. P., FARAUT T., KIJAS J. W., MADDUX J. F., MCEWAN J. C., HUTTON ODDY V., RAADSMA H. W., WADE C., WANG J., WANG W., XUN X. (2010). The sheep genome reference sequence: a work in progress. *Anim. Genet.*, **41 (5)**, 449-453.
8. ARGUELLO A., CASTRO N., CAPOTE J. (2005). Short communication: Evaluation of a color method for testing immunoglobulin G concentration in goat colostrum. *J. Dairy Sci.*, **88**, 1752-1754.
9. BAILEY L. F., MCLEMAN M. W., HARTFORD P. R., MUNRO G. L. (1973). The use of dexamethasone trimethylacetate to advance parturition in dairy cows. *Aust. Vet. J.*, **49**, 567.
10. BALDWIN D. M., STABENFELDT G. H. (1975). Endocrine changes in the pig during late pregnancy, parturition and lactation. *Biol. Reprod.*, **12**, 508-515.
11. BANCHERO G. E., PEREZ CLARIGET R., BENCINI R., LINDSAY D. R., MILTON J. T.B., MARTIN G. B. (2006). Endocrine and metabolic factors involved in the effect of nutrition on the production of colostrums in female sheep. *Reprod. Nutr. Dev.* **46**, 447-460.
12. BARRINGTON G. M., BESSER T. E., GAY C. C., DAVIS W. C., REEVES J. J., MCFADDEN T. B. (1997). Effect of prolactin on *in vitro* expression of the bovine mammary immunoglobulin G1 receptor. *J. Dairy Sci.*, **80(1)**, 94-100.
13. BARRINGTON G. M., BESSER T. E., GAY C. C., DAVIS W. C., REEVES J. J., MCFADDEN T. B., AKERS R. M. (1999). Regulation of the immunoglobulin G1

receptor: effect of prolactin on in vivo expression of the bovine mammary immunoglobulin G1 receptor. *J. Endocrinol.*, **163**, 25-31.

14. BARRINGTON G. M., MCFADDEN T. B., HUYLER M. T., BESSER T. E. (2001). Regulation of colostrogenesis in cattle. *Livestock Production Science*, **70**, 95-104.
15. BARRINGTON G. M., BESSER T. E., DAVIS W. C., GAY C. C., REEVES J. J., MCFADDEN T. B. (1997). Expression of immunoglobulin G1 receptors by bovine mammary epithelial cells and mammary leukocytes. *J. Dairy Sci.*, **80**, 86-93.
16. BASSETT, J. M., THORBURN, G. D., WALLACE, A. L. C. (1970). The plasma growth hormone concentration of the foetal lamb. *J. Endocrinol.ta*, **48**, 251-263.
17. BESSER T. E., MCGUIRE T. C., GAY C. C., PRITCHETT L. C. (1988). Transfer of functional immunoglobulin G (IgG) antibody into the gastrointestinal tract accounts for IgG clearance in calves. *J Virol.* **62(7)**: 2234-2237.
18. BIELMANN V., GILLAN J., PERKINS N. R., SKIDMORE A. L., GODDEN S., LESLIE K. E. (2010). An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **93**, 3713-3721.
19. BLOM, A. K., HOVE, K., NEDKVITNE, J. J. (1976). Plasma insulin and growth hormone concentrations in pregnant sheep. Post-absorptive levels in mid- and late pregnancy. *Acta endocrinologica*, **82**, 553-560.
20. BRANDON M. R., LASCELLES A. K. (1975). The effect of prepartum milking on the transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows. *Aust. J. exp. Biol. Med. Sci.*, **53**, 197-204.
21. BURD L. I., TAKAHASHI K., WARD K., ASCHERMAN G., DOWERS S., SCOMMEGNA A. (1978). The relationship of changes in mammary blood flow and plasma progesterone at the time of parturition in the ewe. *Am. J. Obst. Gynecol.*, **132**, 385-391.
22. BUTLER J. E., HOWARD C. (2002). Summary of the comparative immunoglobulin workshop (CIgW) on immunoglobulins (Igs) and Fc receptors. *Vet Immunol and Immunopath*, **87**, 481-484.
23. CASH R. S. G. (1999). Colostral quality determined by refractometry. *Equine Vet. Educ.* **11**: 36-38.
24. CERVENAK J., KACSKOVICS I. (2009). The neonatal Fc receptor plays a crucial role in the metabolism of IgG in livestock animals. *Vet Immunol and Immunopath*, **128**, 171-177.
25. CHAVATTE, P., CLEMENT F., CASH R., GRONGNET J. F. (1998). Field determination of colostrum quality by using a novel, practical method. *AAEP Proceedin*, **44**, 206-209.

26. CHIGERWE M., TYLER J. W., MIDDLETON J. R., SPAIN J. N., DILL J. S., STEEVENS B. J. (2008). Comparison of four methods to assess colostral IgG concentration in dairy cows. *JAVMA*, **233 (5)**, 761-766.
27. CHRISTLEY R. M., MORGAN K. L., PARKIN P. D. (2003). Factors related to the risk of neonatal mortality, birth-weight and serum immunoglobulin concentration in lambs in the UK. *Prev. Vet. Med*, **57 (4)**, 209-226.
28. CIANGA P., MEDESAN C., RICHARDSON J. A., GHETIE V., WARD E.S. (1999). Identification and function of neonatal Fc receptor in mammary gland of lactating mice. *Eur J Immunol*; **29**: 2515–2523.
29. CLAWSON M. L., HEATON M. P., CHITKO-MCKOWN C. G. (2004). Beta-2-microglobulin haplotypes in U.S. beef cattle and association with failure of passive transfer in newborn calves. *Mamm. Genome*, **15 (3)**, 227-236.
30. COLLIER R. J., BAUMAN D. E., HAYS R. L. (1977). Lactogenesis in explants cultures of mammary tissue from pregnant cows. *Endocrinology*, **100**, 1192-1200
31. COLLIER R. J., ANNEN-DAWSON E. L., PEZSHKI A. (2012). Effects of continuous lactation and short dry periods on mammary function and animal health. *Animal*, **6 (3)**, 403-414.
32. COLLINS R. A., PARSONS K. R., BLAND A. P. (1986). Antibody-containing cells and specialised epithelial cells in bovine teat. *Res Vet Sci*, **41 (1)**, 50-55.
33. CONVEY E. M. (1974). Serum hormone concentrations in ruminants during mammary growth, lactogenesis, and lactation: a review. *J. Dairy Sci*, **57**, 905.
34. CORBIERE F., GAUTIER J. M. (2012). Journées nationales des GTV. 2012. Nantes. Proceedings des journées nationales des GTV. Le colostrum chez les ovins : transfert de l'immunité passive et autres aspects d'importance chez l'agneau. 385-394.
35. DELOUIS C. (1978). Physiology of colostrum production. *Ann. Rech. Vét*, **9 (2)**, 193-203.
36. DELOUIS C., DENAMUR R. (1967). Induction expérimentale de la sécrétion lactée pendant la gestation de la brebis. *C. R. Acad. Sci., Ser. D*, **264**, 2493-2496.
37. DELOUIS C., DJIANE J., HOUBEDINE L. M., TERQUI M. (1980). Relation between hormones and mammary gland function. *J. Dairy Sci.*, **63 (9)**.
38. DELOUIS C., TERQUI M. (1974). Augmentation de la production laitière par un apport exogène d'œstradiol-17 β en fin de gestation chez la brebis. *C.R. Acad. Sci., Ser. D*, **278**, 307-310.
39. DEVILLERS N., FARMER C., MOUNIER A.M., LE DIVIDICH J., PRUNIER A. (2004). Hormones, IgG and lactose changes around parturition in plasma, and colostrum or saliva of multiparous sows. *Reprod. Nutr. Dev.*, **44**, 381-386.
40. DEVILLERS N., LE DIVIDICH J., PRUNIER A. (2006). Physiologie de la production de colostrum chez la truie. *INRA Prod. Anim.*, **19 (1)**, 29-38.

41. DOLESCHALL M., ZHAO Y., MAYER B., HAMMARSTROM L., KACSKOVICS I. (2005). Isolation of the gene encoding the bovine neonatal Fc receptor. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **108**, 145-150.
42. DOMINGUEZ E., PEREZ M. D., PUYOL P., SANCHEZ L., CALVO M. (2001). Specific immunoglobulins in serum of newborn lambs fed with a single dose of colostrum containing anti-peroxidase IgG. *Res Vet Sci.* **70(3)**: 275-279.
43. EISENHAUER P., LAMBRECHT G., PETZOLD K., HENKEL E. (1984). Comparison of nephelometry and single radial immunodiffusion for the determination of IgG and IgM concentration in newborn foals and their dams. *J. Vet. Med. B.*, **31**, 481-486.
44. ENJALBERT F., LEBRETON P., SALAT O., SCHELCHER F. (1999). Effects of pre- or postpartum selenium supplementation on selenium status in beef cows and their calves. *J. Anim. Sci.*, **77**, 223-229.
45. ERB R. E., RANDEL R. D., MELLIN T. N., ESTERGREEN V. L (1969). Urinary estrogen excretion rates during pregnancy in the bovine. *J. Dairy Sci.*, **51(3)**.
46. FARMER C., ROBERT S., RUSHEN J. (1998). Bromocriptinine given orally to periparturient of lactating sows inhibits milk production, *J. Anim. Sci.*, **76**, 750-757.
47. FTHENAKS G. C., JONES J. E. T. (1990). The effect of experimentally induced subclinical mastitis on milk yield of ewes and on the growth of lambs. *British Veterinary Journal*, **146**, 43-49.
48. FIELD R. W., BRETZLAFF K. N., ELMORE R. G., RUPP G. P. (1989). Effect of induction of parturition on immunoglobulin content of colostrums and calf serum. *Theriogenology*, **32**, 501-506.
49. FLEENOR W. A., STOTT G. H. (1980). Hydrometer test for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. *J Dairy Sci.*, **63(6)**, 973-977.
50. FOISNET A., FARMER C., DAVID C., QUESNEL H. (2010). Relationships between colostrum production by primiparous sows and sow physiology around parturition. *J. Anim. Sci.*, **88**, 1672-1683.
51. FORSYTH I.A. (1986). Variation among species in the endocrine control of mammary growth and function : the roles of prolactin, growth hormone, and placental lactogen. *J. Dairy Sci.*, **69**, 886-903.
52. FTHENAKISA G. C., ARSENOS G., BROZOS C., FRAGKOU I. A., GIADINIS N. D., GIANNENAS I., MAVROGIANNI V. S., PAPADOPOULOS E., VALASIA I. (2012). Health management of ewes during pregnancy. *Animal Reproduction Sci.*, **130**, 198-212.
53. GILBERT RP., GASKINS CT., HILLERS JK. et al. (1988). Genetic and environmental factors affecting immunoglobulin G1 concentrations in ewe colostrum and lamb serum. *J. Anim. Sci.*, **66 (4)**, 855-863.

54. GODDEN S. (2008). Colostrum Management for Dairy Calves. *Vet Clin Food Anim.*, **24**, 19-39.
55. GOODMAN G. T., AKERS R. M., FRIDERICI K. H., TUCKER H. A. (1983). Hormonal regulation of alpha-lactalbumin secretion from bovine mammary tissue cultured *in vitro*. *Endocrinology*, **112**, 1324-1330.
56. GUETIE V., WARD ES. (2000). Multiple roles for the major histocompatibility complex class I- related receptor FcRn. *Annu. Rev. Immunol.*, **18**, 739-766.
57. GUIDRY A. J., BUTLER J. E., PEARSON R. E., WEINLAND B. T. (1980). IgA, IgG1, IgG2, IgM and BSA in serum and mammary secretion throughout lactation. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, Dec, **1(4)**, 329-41.
58. GUY M. A., MCFADDEN T. B., COCKRELL D. C., BESSER T. E. (1994). Regulation of colostrums formation in beef and dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **77**, 3002.
59. HADSELL D. L., BAUMRUCKER C. R., KENSINGER R. S. (1993). Effects of elevated blood insulin-like growth factor-I (IGF-I) concentration upon IGF-I in bovine mammary secretions during the colostrums phase. *J. Endocrinol.*, **137**, 223.
60. HALLIDAY R. (1978). Variation in immunoglobulin transfer from ewes to lambs. *Ann Rech. Vet.*, **9 (2)**, 367-374.
61. HAMMER D. K., KICKHOFFEN, MALCHOW H. (1969). Preferential adsorption of a single bovine IgG type by isolated epithelial cells of the mammary gland. Protides of the biological fluids. *Proc. of 16th Coll. Bruges 1968. Pergamon Press. New York.* 663-668.
62. HAMMER D. K., MOSSMANN H. (1978). The importance of membrane receptors in the transfer of immunoglobulins from plasma to the colostrum. *Ann. Rech. Vét.*, **9(2)**, 229-234.
63. HARKER D.B. (1978). A simple estimation of the immunoglobulin content of ewe colostrum. *Vet. Rec.*, **103**, 8-9.
64. HARTMANN P. E., TREVETHAN P., SHELTON J. N. (1973). Progesterone and oestrogen and the initiation of lactation in ewes. *J. Endocrinol.*, **59**, 249-259.
65. HE W., LADINSKY M. S., HUEY-TUBMAN K. E., JENSEN G. J., MCINTOSH R. J., BJÖRKMAN P. J. (2008). FcRn-mediated antibody transport across epithelial cells revealed by electron tomography. *Nature*, **455(7212)**: 542-546
66. HEAD H. H., DELOUIS C., FEVRE J., KANN G., TERQUI M., DJIANE J. (1982). Hormone levels in plasma of ewes induced into lactation. *Reprod. Nutr. Develop.*, **22 (4)**, 641-650.
67. HINE B. C., HUNT P. W., BEASLEY A. M., WINDON R. G, GLOVER S. A., COLDITZ I. G. (2010). Selective transport of IgE into ovine mammary secretions. *Research in Veterinary Science*, **89**, 184-190.

68. HOUDEBINE L. M. (1976). (Effects of prolactine and progesterone on expression of casein genes, Titration of casein mRNA by hybridization with complementary DNA. *Eur. J. Biochem.*, **68**, 219-225.
69. HOUDEBINE L. M., DJIANE J., DUSANTER-FOURT I., MARTEL P., KELLY P. A., DEVINOY E., SERVELY J. L. (1985). Hormonal action controlling mammary activity. *J. Dairy Sci.*, **68**, 489-500.
70. HUNTER D. L., ERB R. E., RANDEL R. D., GARVERICK H. A., CALLAHAN C. J., HARRINGTON R. B. (1970). Reproductive steroids in the bovine. I. Relationships during late gestation. *J. Animal Sci.*, **30**, 47.
71. IMBERT A. M. T. (2005). Les immunoglobulines colostrales bovines : étude comparée de trois méthodes de dosages à partir de données expérimentales et influence de différents facteurs sur la concentration. Thèse de doctorat vétérinaire, *Pathologie des ruminants*, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 95 p.
72. KACSKOVICS I. (2004). Fc receptors in livestock species. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **102**, 351-362.
73. KACSKOVICS I., WU Z., SIMISTER N. E., FRENYÓ L. V., HAMMARSTRÖM L. (2000). Cloning and Characterization of the Bovine MHC Class I-Like Fc Receptor. *J. Immunol.*, **164**, 1889-1897.
74. KIM J., BRONSON C. L., WANI M. A., OBERYSZYN T. M., MOHANTY S., CHAUDHURY C., HAYTON W. L., ROBINSON J. M., ANDERSON C. L. (2008). Beta 2-microglobulin deficient mice catabolize IgG more rapidly than FcRn- alpha-chain deficient mice. *Exp Biol Med (Maywood)*. **233(5)**: 603-609.
75. KUHN N. J. (1969). Progesterone withdrawal as the lactogenic trigger in the rat. *J. of Endocrinology*, **44**, 39.
76. KULSETH MA, KRAJCI P, MYKLEBOST O, ROGNE S. (1995). Cloning and characterization of two forms of bovine polymeric immunoglobulin receptor cDNA. *DNA Cell Biol.*, **14 (3)**, 251-256.
77. LACY-HULBERT S. J., WOOLFORD M. W., NICHOLAS G. D., PROSSER C. G. , STELWAGEN K.. (1999). Effect of milking frequency and pasture intake on milk yield and composition of late lactation cows. *J Dairy Sci.* **82(6)**: 1232-1239.
78. LAEGREID W. W., HEATON M. P., KEEN J. E., GROSSE W. M., CHITKOMCKOWN C. G., SMITH T. P., KEELE J. W., BENNETT G. L., BESSER T. E. (2002). Association of bovine neonatal Fc receptor a-chain gene (FCGRT) haplotypes with serum IgG concentration in newborn calves. *Mamm. Genome*, **13 (12)**, 704-710.
79. LARSON B. L., HEARY H. L., DEVERY J. E. (1980). Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. *J Dairy Sci.*, **63(4)**, 665-671.
80. LEBLANC M. M., MCLAURIN B. I., BOSWELL R. (1986). Relationships among serum immunoglobulin concentration in foals, colostrum specific gravity, and colostrum immunoglobulin concentration. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **189**, 57-60.

81. LECCE J. G., MORGAN D. O. (1962). Effect of dietary regimen on cessation of intestinal absorption of large molecules (closure) in the neonatal pig and lamb. *J Nutr.* **78**:263-268.
82. LOPEZ J. W., ALLEN S. D., MITCHELL J., QUINN M. (1988). Rotavirus and cryptosporidium shedding in dairy calf feces and its relationship to colostral immune transfer. *J. Dairy Sci.*, **71**, 1288.
83. LU W., ZHAO Z., ZHAO Y., YU S., ZHAO Y., FAN B., KACSKOVICS I., HAMMARSTRÖM L., LI N. (2007). Over-expression of the bovine FcRn in the mammary gland results in increased IgG levels in both milk and serum of transgenic mice. *Immunology.* **122(3)**: 401-408.
84. MANGIN S. (2002). Transfert d'immunité colostrale chez le veau : étude bibliographique. Thèse de doctorat vétérinaire, *Pathologie des ruminants*, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 88 p.
85. MARTIN C. E., HARTMANN P. E., GOONERATNE A. (1978). Progesterone and corticosteroids in the initiation of lactation in the sow. *Aust. J. Biol. Sci.*, **31**, 517-525.
86. MAUNSELL F. P., MORIN D. E., CONSTABLE P. D., HURLEY W. L., MCCOY G. C. (1992). Use of mammary gland and colostral characteristics for prediction of colostral IgG1 concentration and intramammary infection in Holstein cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **214 (12)**, 1817-1823.
87. MAYER B., DOLESCHALL M., BENDER B., et al. (2002). Expression of the neonatal Fc receptor (FcRn) in the bovine mammary gland. *J Dairy Res.*, **72**, 107-112.
88. MAYER B., ZOLNAI A., FRENYO L. V., JANCSIK V, SZENTIRMAY Z, HAMMARSTRÖM L, KACSKOVICS I. (2002). Localization of the sheep FcRn in the mammary gland. *Immunology*, **87**, 327-330.
89. MAYER B., ZOLNAI A., FRENYO LV., JANCSIK V., SZENTIRMAY Z., HAMMARSTRÖM L., KACSKOVICS I. (2002). Redistribution of the sheep neonatal Fc receptor in the mammary gland around the time of parturition in ewes and its localization in the small intestine of neonatal lambs. *Immunology*, **107 (3)**, 288-296.
90. MCFADDEN, T. B., AKERS R. M., KAZMER G. W. (1987). Alphalactalbumin in bovine serum: relationships with udder development and function. *J. Dairy Sci.*, **70**,259-264.
91. MCFADDEN T. B., VERKERK G. A., HOVEY R. C., MACMILLAN K. L. (1995). Effects of induced parturition on mammary function. *Proc. NZ Soc. Anim. Prod.*, **55**, 21.
92. MCFADDEN T. B., BESSER T. E., BARRINGTON G. M. (1997). Regulation of immunoglobulin transfer into mammary secretions of ruminants. In: WELCH R. A. S., BURAS D. J. W., DAVIS S. R., PROSSER C. G. (Eds.), *Milk composition, Production and Biotechnology*. CAB International, Wallingford, UK, p 133, chapter 9.

93. MECHOR G.D., GROHN Y.T., VAN SAUN R.J. (1991). Effect of temperature on colostrometer readings for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. *J. Dairy Sci.*, **74**, 3940-3943.
94. MECHOR G. D., GRÖHN Y. T., McDOWELL L. R., VAN SAUN R. J. (1992). Specific gravity of bovine colostrum immunoglobulins as affected by temperature and colostrum components. *J. Dairy Sci.*, **75(11)**, 3131-315.
95. MELLOR D. J., MURRAY L. (1986). Making the most of colostrum at lambing. *Vet Rec.* **118(13)**: 351-353.
96. MELLOR D. J., FLINT D. J., VERNON R. G., FORSYTH I. A. (1987). Relationships between plasma hormone concentrations, udder development and the production of early mammary secretions in twin-bearing ewes on different planes of nutrition. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, **72**, 345-356.
97. MEYER A. M., REED J. J., NEVILLE T. L., THORSON J. F., MADDOCK-CARLIN K. R., TAYLOR J. B., REYNOLDS L. P., REDMER D. A., LUTHER J. S., HAMMER C. J., VONNAHME K. A., CATON J. S. (2011). Nutritional plane and selenium supply during gestation affect yield and nutrient composition of colostrums and milk in primiparous ewes. *J. Anim. Sci.*, **89**, 1627-1639.
98. MOLLA A. (1980). Estimation of bovine colostrum immunoglobulins by refractometry. *Vet Rec.*, **107(2)**, 35-36.
99. MORIN D. E., CONSTABLE P. D., MAUNSELL F. P., McCOY G.C. (2001). Factors associated with colostrum specific gravity in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **84(4)**, 937-943.
100. MORRILL K. M., CONRAD E., POLO J., LAGO A., CAMPBELL J., QUIGLEY J., TYLER H. (2012). Estimate of colostrum immunoglobulin G concentration using refractometry without or with caprylic acid fractionation. *J. Dairy Sci.*, **95(7)**, 3987-3996.
101. MULLER L. D., ELLINGER D. K. (1981). Colostrum immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. *J Dairy Sci.* **64(8)**, 1727-1730.
102. NEWBY T. J., BOURNE J. (1977). The Nature of the Local Immune System of the Bovine Mammary Gland. *J. Immunol*, **118 (2)**, 461-465.
103. NGUYEN D. A., NEVILLE M. C. (1998). Tight junction regulation in the mammary gland. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **3**, 233-246.
104. NGUYEN D. A., PARLOW A. F., NEVILLE M. C. (2001). Hormonal regulation of tight junction closure in the mouse mammary epithelium during the transition from pregnancy to lactation. *J. Endocrinol.*, **170**, 347-356.
105. NIELSEN O.L., PEDERSEN A.R., SORENSEN M.T. (2001). Relationships between piglet growth rate and mammary gland size of the sow. *Livest. Prod. Sci.*, **67**, 273-279.

106. NORMAN L. M., HOHENBOKEN W. D., KELLEY K. W. (1981). Genetic differences in concentration of immunoglobulins G and M in serum and colostrum of calves and in serum of neonatal calves. *J. Animal Sci.*, **53**, 1465-1472.
107. PAAPE M. J., TUCKER H. A. (1969). Influence of length of the dry period on subsequent lactation in the rat. *J. Dairy Sci.*, **52**, 518.
108. PERINO L. J., WITTUM T. E., ROSS G. S. (1995). Effects of various risk factors on plasma proteins and serum immunoglobulin concentrations of calves at postpartum hours 10 and 24. *Am. J. Vet. Res.*, **56 (9)**, 1144-1148.
109. PERRIER C., SPRENGER N., CORTHÉSY B. (2006). Glycans on secretory component participate in innate protection against mucosal pathogens. *J Biol Chem.* **281(20)**,14280-14287.
110. PFEFFER A., SHAW R. J., GREEN R. S., PHEGAN M. D. (2005). The transfer of maternal IgE and other immunoglobulins specific for *Trichostrongylus colubriformis* larval excretory/secretory product to the neonatal lamb. *Veterinary Immunology and immunopathology*, **108**, 315-323.
111. PHALIPON A., CORTHÉSY B. (2003). Novel functions of the polymeric Ig receptor: well beyond transport of immunoglobulins. *Trends Immunol.* **24(2)**, 55-58.
112. PRAETOR A, HUNZIKER W. (2002). Beta(2)-Microglobulin is important for cell surface expression and pH-dependent IgG binding of human FcRn. *J Cell Sci.* **115(11)**, 2389-2397.
113. PRITCHETT L. C., GAY C. C., BESSER T. E., HANCOCK D. D. (1991). Management and production factors influencing immunoglobulin G1 concentration in colostrum from Holstein cows. *J Dairy Sci.* **74(7)**, 2336-2341.
114. PRITCHETT L. C., GAY C. C., HANCOCK D. D., BESSER T. E. (1994). Evaluation of the hydrometer for testing immunoglobulinG concentration in Holstein colostrum. *J. Dairy Sci.*, **77**, 1761-1767.
115. PUGH D. G. (2002). Disease of the mammary gland. In *Sheep and goat medicine. 1st edition*. Library of Congress Cataloging in Publication Data. United States of America: SCHREFER J. A. 468 p. ISBN: 978-0-7216-9052-0. p. 341-358.
116. QUIGLEY J.D., MARTIN K.R., DOWLEN H.H., WALLIS L.B., LAMAR K. (1994). Immunoglobulin concentration, specific gravity, and nitrogen fractions of colostrum from Jersey cattle. *J. Dairy Sci.*, **77**, 264-269.
117. QUIGLEY J. D., LAGO A., CHAPMAN C., ERICKSON P., POLO J. (2012). Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *J. Dairy Sci.*, **96**, 1148-1155.
118. RASTANI R. R., GRUMMER R. R., BERTICS S. J., GUMEN A., WILTBANK M. C., MASHEK D. G., SCHWAB M. C. (2005). Reducing Dry period length to simplify feeding transition cows: milk production, energy balance, and metabolic profiles. *J. Dairy Sci.*, **88**, 1004-1014.
119. RAVETCH J. V. (1997). Fc receptors. *Curr Opin Immunol.* **9(1)**, 121-125.

120. REBER A. J., LOCKWOOD A., HIPPEN A. R., HURLEY D. J.. (2006). Colostrum induced phenotypic and trafficking changes in maternal mononuclear cells in a peripheral blood leukocyte model for study of leukocyte transfer to the neonatal calf. *Vet Immunol Immunopathol.* **109(1-2)**, 139-150.
121. REECE, R. P. (1956). The physiology of milk production. *J. Dairy Sci.*, **39**, 726.
122. REID J. T., LOOSLI J. K., TRIMBERGER G. W., TURK K. L., ASDELL S. A. SMITH S. E. (1964). Causes and prevention of reproductive failures in dairy cattle. IV. Effect of plane of nutrition during early life on growth, reproduction, production, health, and longevity of Holstein cows. I. Birth to fifth calving. *Cornell Exp. Stn. Bull.* 987.
123. REITER B. (1978). Review of nonspecific antimicrobial factors in colostrum. *Ann. Rech. Vét.*, **9(2)**, 205-224.
124. REMOND B., KEROUANTON J., BROCARD V. (1997). Effets de la réduction de la durée de la période sèche ou de son omission sur les performances des vaches laitières. *INRA Prod. Anim.*, **10(4)**, 301-315.
125. RINCHEVAL-ARNOLD A., BELAIR L., DJIANE J. (2002). Developmental expression of plgR gene in sheep mammary gland and hormonal regulation. *The journal of Dairy Research*, **69**, 13-26.
126. RIVERO, M. J., VALDERRAMA, X., HAINES, D., ALOMAR, D (2012). Prediction of immunoglobulin G content in bovine colostrum by near-infrared spectroscopy. *J. Dairy Sci.*, **95 (3)**, 1410-1408.
127. ROBERTSON H. A., KING G. J. (1974). Plasma concentrations of progesterone, oestrone, oestradiol-17beta and of oestrone sulphate in the pig at implantation, during pregnancy and at parturition. *J. Reprod. Fertil.*, **40**, 133-141.
128. RODEWALD R. (1976). pH-dependent binding of immunoglobulins to intestinal cells of the neonatal rat. *J Cell Biol.* **71(2)**, 666-669.
129. RODEWALD R., KRAEHENBUHL J. P. (1984). Receptor-mediated transport of IgG. *J Cell Biol.* **99**, 159-164.
130. RUDOVSKY A., LOCHER L., ZEYNER A., SOBIRAJ A., WITTEK T. (2008). Measurement of immunoglobulin concentration in goat colostrums. *Small Ruminant Research*, **74**, 265-269.
131. SASAKI M., DAVIS C. L., LARSON B. L. (1976). Production and turnover of IgG1 and IgG2 immunoglobulins in the bovine around parturition. *J. Dairy Sci.*, **59**, 2046-2055.
132. SCHANBACHER F. L., EBNER K.E. (1971). Studies on complex formation between alpha-lactalbumin and the UDPgalactose-glucose galactosyltransferase of the bovine lactose synthesizing enzyme. *Biochim. Biophys. Acta.* Jan 19; **229(1)**, 226-32.

133. SCHANBACHER F. L., SMITH K. L. (1975). Formation and role of unusual whey proteins and enzymes : relation to mammary function. *J. Dairy Sci.*, **58**, 1048:1062.
134. SCICCHITANO R., HUSBAND A. J., CRIPPS A. W. (1984). Biliary transport of serum IgA in sheep. *Immunology*, **53**, 121-129.
135. SHUBBER A. H, DOXEY D. L. (1978). Immunoglobulin content of ewe colostrum: comparison between the right and left sides of the udder. *Vet. Science Communications*, 141-144.
136. SHUBBER A. H., DOXEY D. L., BLACK W. J., FITZSIMONS J. (1979). Colostrum production by ewes and the amounts ingested by lambs. *Res Vet Sci.* **27(3)**, 280-282.
137. SIMISTER N. E., REES A. R. (1985). Isolation and characterization of an Fc receptor from neonatal rat small intestine. *Eur J Immunol.* **15(7)**, 733-738.
138. SMITH K. L., MUIR L. A., FERGUSON L. C., CONRAD H. R. (1971). Selective transport of IgG1 into the mammary gland: Role of estrogen and progesterone. *J. Dairy Sci.*, **54**, 1886.
139. SMITH K. L., SCHANBACHER F. L. (1973). Hormone-induced lactation in the bovine. I. Lactational performance following injections of 17 β -estradiol and progesterone. *J. Dairy Sci.*, **56**, 738-743.
140. STABENFELDT G. H. (1974). The role of progesterone in parturition: premature, normal, prolonged gestation. *Avortements et parturition provoqués*, 97-122.
141. STELWAGEN K., DAVIS S.R., FARR V.C., EICHLER S.J., POLITIS I. (1994). Effect of once daily milking and concurrent somatotropin on mammary tight junction permeability and yield of cows. *J. Dairy Sci.*, **77**, 2994-3001.
142. STELWAGEN K., VAN ESPEN D.C., VERKERK G.A., MCFADDEN H.A., FARR V.C. (1998). Elevated plasma cortisol reduces permeability of mammary tight junctions in the lactating bovine mammary epithelium. *J. Endocrinol.*, **159**, 173-178.
143. STELWAGEN K., HOPSTER H., VAN DER WERF J.T., BLOKHUIS H.J. (2000). Short communication: effects of isolation stress on mammary tight junctions in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **83**, 48-51.
144. STELWAGEN K., CARPENTER E., HAIGH B., HODGKINSON A., WHEELER T.T. (2009). Immune components of bovine colostrum and milk. *J. Anim. Sci.*, **87(1)**, 3-9.
145. SWANSON T. J., HAMMER C. J., LUTHER J. S., CARLSON D. B., TAYLOR J. B., REDNER D. A., NEVILLE T. L., REED J. J., REYNOLDS L. P., CATON J. S., VONNAHME K. A. (2008). Effects of gestational plane of nutrition and selenium supplementation on mammary development and colostrums quality in pregnant ewe lambs. *J. Anim. Sci.*, **86**, 2415-2423.

146. TAVERNE M., BEVERS M. M., BRADSHAW J. M. C., DIELEMAN S. J., WILLEMSE A. H., PORTER D. G. (1982). Plasma concentrations of prolactine, progesterone, relaxin and oestradiol-17b in sows treated with progesterone, bromocryptine or indomethacin during late pregnancy. *J. Reprod. Fertil.*, **65**, 85-96.
147. TESAR D. B., BJORKMAN P. M. (2010). An intracellular traffic jam: Fc receptor-mediated transport of immunoglobulin G. *Current Opinion in Structural Biology*, **20**, 226-233.
148. TUCKER H. A. (1974). General endocrinological control of lactation. In : *Lactation*, LARSON L. L. And SMITH V. R. (Eds.), *Academic Press, New York & London*, Vol. 1, 277-326.
149. TUCKER H. A. (1981). Physiological control of mammary growth, lactogenesis, and lactation. *J. Dairy Sci.*, **64**, 1403-1421.
150. TUCKER, H.A. (1985). Endocrine and neuronal control of the mammary gland. *Lactation. The Iowa State University Press*, 39.
151. TURBAN H. (2011). Etude des variations de la qualité du colostrum de vache et du transfert de l'immunité passive aux veaux. Thèse de doctorat vétérinaire, *Pathologie des ruminants*, Ecole nationale vétérinaire de Nantes, 89 p.
152. VENNER M., MARKUS R. G., STRUTZBERG-MINDER K., NOGAI K., BEYERBACH M., KLUG E. (2008). Evaluation of immunoglobulin G concentration in colostrum of mares by ELISA, refractometry and colostrometry. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, **121(1-2)**, 66-72.
153. WAELCHLI R.O., HASSIG M., EGGENBERGER E., NUSSBAUMER M. (1990). Relationships of total protein, specific gravity, viscosity, refractive index and latex agglutination to immunoglobulin G concentration in mare colostrum. *Equine Vet. J.*, **22**, 39-42.
154. WEAVER D. M., TYLER J. W., VANMETER D. C., HOSTETLER D. E., BARRINGTON G. M., (2000). Passive transfer of colostrum immunoglobulins in calves. *J. Vet. Intern Med.*, **14(6)**, 569-577.
155. WHITACRE M. D., THRELFALL W. R. (1981). Effects of ergocryptine on plasma prolactin, luteinizing hormone, and progesterone in the periparturient sow. *Am. J. Vet. Res.*, **42**, 1538-1538.
156. WILLCOX D. L., ARTHUR P. G., HARTMANN P. E., WHITELY J. L. (1983). Perinatal changes in plasma oestradiol-17beta, cortisol and progesterone and the initiation of lactation in sows. *Aust. J. Biol. Sci.*, **36**, 173-181.
157. WILSON E., BUTCHER E. C. (2004). CCL28 controls immunoglobulin (Ig)A plasma cell accumulation in the lactating mammary gland and IgA antibody transfer to the neonate. *J Exp Med*. **200(6)**: 805-809.

158. WINGER K., GAY C. C., BESSER T. E. (1995). Immunoglobulin G1 transfer into induced mammary secretions : The effect of dexamethasone. *J. Dairy Sci.*, **78**, 1306.
159. YANG P. C., BERLIN M. C., YU L. C., CONRAD D. H., PERDUE M. H. (2000). Enhanced intestinal transepithelial antigen transport in allergic rats is mediated by IgE and CD23. *The Journal of Clinical Investigation*, **106**, 879-886.
160. ZHANG R., ZHAO Z., ZHAO Y., KACSKOVICS I., EIJK M. V., GROOT N. D., LI N., HAMMARSTROM L. (2009). Association of FcRn Heavy Chain Encoding Gene (FCGRT) Polymorphisms with IgG Content in Bovine Colostrum. *Anim. Biotechnol.*, **20(4)**, 242-246.
161. ZHAO S., LIU G., WANG J., ZHANG C., BU D., LIU K., ZHOU L. (2012). Association of polymorphisms of beta-2-microglobulin gene (β 2m) with milk IgG1 content in Chinese Holstein dairy cows. *Livestock Science*, **143**: 289-292.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Performances intrinsèques du réfractomètre

Seuil	Se (%)	Se inf.	Se sup	Sp (%)	Sp inf.	Sp sup	Youden	Efficacité
12	0,59	0,01	3,25	100	97,78	100	0,59	49,55
13	4,73	2,07	9,11	100	97,78	100	4,73	51,65
14	10,06	5,97	15,62	100	97,78	100	10,06	54,35
15	23,08	16,95	30,17	99,39	96,65	99,98	22,47	60,66
16	30,18	23,37	37,70	99,39	96,65	99,98	29,57	64,26
17	41,42	33,91	49,24	99,39	96,65	99,98	40,81	69,97
18	42,60	35,04	50,43	99,39	96,65	99,98	41,99	70,57
19	55,03	47,20	62,68	98,17	94,75	99,62	53,20	76,28
20	59,17	51,36	66,66	98,17	94,75	99,62	57,34	78,38
21	62,13	54,36	69,47	96,95	93,03	99,00	59,08	79,28
22	65,68	58,00	72,80	95,73	91,40	98,27	61,41	80,48
23	76,92	69,83	83,05	91,46	86,09	95,25	68,39	84,08
24	81,66	74,99	87,18	88,41	82,50	92,88	70,07	84,98
25	85,21	78,94	90,19	82,32	75,60	87,83	67,52	83,78
26	87,57	81,63	92,14	75,61	68,30	81,97	63,18	81,68
27	91,72	86,49	95,40	62,80	54,92	70,21	54,52	77,48
28	92,31	87,21	95,84	57,93	49,98	65,58	50,23	75,38
29	93,49	88,65	96,71	57,93	49,98	65,58	51,42	75,98
30	93,49	88,65	96,71	57,93	49,98	65,58	51,42	75,98
31	94,08	89,39	97,13	51,22	43,30	59,09	45,30	72,98
32	97,04	93,23	99,04	32,32	25,23	40,05	29,36	65,17
33	98,22	94,90	99,63	26,22	19,67	33,65	24,44	62,76
34	98,82	95,79	99,86	18,90	13,22	25,74	17,72	59,46
35	99,41	96,75	99,99	15,85	10,63	22,36	15,26	58,26
36	100	97,84	100	7,32	3,84	12,43	7,32	54,35
37	100	97,84	100	4,27	1,73	8,60	4,27	52,85
38	100	97,84	100	3,66	1,35	7,80	3,66	52,55
39	100	97,84	100	1,83	0,38	5,25	1,83	51,65
40	100	97,84	100	1,83	0,38	5,25	1,83	51,65
41	100	97,84	100	1,22	0,15	4,34	1,22	51,35
42	100	97,84	100	0,61	0,02	3,35	0,61	51,05
43	100	97,84	100	0,61	0,02	3,35	0,61	51,05

ANNEXE 2 : Performances intrinsèques du pèse colostrum (extrait)

Seuil	Se (%)	Se inf.	Se sup	Sp (%)	Sp inf.	Sp sup	Youden	Efficacité
40	40,49	32,88	48,45	99,32	96,27	99,98	39,81	68,39
41	42,33	34,64	50,30	99,32	96,27	99,98	41,65	69,35
42	42,94	35,23	50,92	99,32	96,27	99,98	42,26	69,68
43	46,01	38,19	53,98	99,32	96,27	99,98	45,33	71,29
45	47,24	39,38	55,20	99,32	96,27	99,98	46,56	71,94
46	49,08	41,18	57,02	98,64	95,17	99,83	47,72	72,58
47	49,69	41,78	57,62	98,64	95,17	99,83	48,33	72,90
48	50,92	42,98	58,82	98,64	95,17	99,83	49,56	73,55
49	53,37	45,41	61,21	98,64	95,17	99,83	52,01	74,84
50	53,99	46,02	61,81	98,64	95,17	99,83	52,63	75,16
52	57,06	49,08	64,77	98,64	95,17	99,83	55,69	76,77
55	57,67	49,70	65,36	98,64	95,17	99,83	56,31	77,10
56	58,90	50,93	66,53	97,96	94,15	99,58	56,85	77,42
60	59,51	51,55	67,12	97,96	94,15	99,58	57,47	77,74
62	62,58	54,67	70,02	97,96	94,15	99,58	60,54	79,35
62,5	63,19	55,29	70,60	97,28	93,18	99,25	60,47	79,35
63	65,03	57,18	72,32	97,28	93,18	99,25	62,31	80,32
64	69,33	61,63	76,30	96,60	92,24	98,89	65,92	82,26
65	69,94	62,27	76,86	95,92	91,33	98,49	65,86	82,26
67	70,55	62,92	77,42	93,20	87,85	96,69	63,75	81,29
68	71,17	63,56	77,98	93,20	87,85	96,69	64,36	81,61
70	73,62	66,16	80,20	93,20	87,85	96,69	66,82	82,90
72	75,46	68,12	81,85	93,20	87,85	96,69	68,66	83,87
73	77,30	70,10	83,49	91,16	85,35	95,21	68,46	83,87
74	78,53	71,42	84,56	90,48	84,54	94,69	69,00	84,19
75	79,75	72,76	85,64	89,12	82,93	93,65	68,87	84,19
76	80,37	73,43	86,17	85,03	78,22	90,38	65,40	82,58
77	80,98	74,10	86,70	83,67	76,69	89,25	64,66	82,26
78	81,60	74,78	87,22	82,31	75,17	88,11	63,91	81,94
79	84,05	77,51	89,31	81,63	74,41	87,53	65,68	82,90
80	84,05	77,51	89,31	80,95	73,66	86,95	65,00	82,58
81	85,89	79,58	90,84	76,19	68,47	82,82	62,08	81,29
82	86,50	80,28	91,34	75,51	67,74	82,22	62,01	81,29
83	86,50	80,28	91,34	74,83	67,01	81,62	61,33	80,97
84	86,50	80,28	91,34	72,79	64,84	79,79	59,29	80,00
85	87,73	81,69	92,34	71,43	63,40	78,57	59,16	80,00
87	89,57	83,83	93,81	68,71	60,55	76,09	58,28	79,68
87,5	89,57	83,83	93,81	66,67	58,43	74,22	56,24	78,71
88	90,18	84,55	94,28	66,67	58,43	74,22	56,85	79,03
89	90,80	85,28	94,76	64,63	56,32	72,33	55,42	78,39
90	91,41	86,01	95,22	64,63	56,32	72,33	56,04	78,71
91	92,02	86,75	95,69	61,90	53,54	69,78	53,93	77,74
94	92,02	86,75	95,69	61,22	52,85	69,14	53,25	77,42
95	92,02	86,75	95,69	59,18	50,78	67,21	51,21	76,45
97	92,02	86,75	95,69	57,14	48,73	65,26	49,17	75,48
98	92,64	87,49	96,14	56,46	48,05	64,61	49,10	75,48
99	93,25	88,25	96,58	53,74	45,34	61,99	46,99	74,52
100	93,25	88,25	96,58	53,06	44,66	61,33	46,31	74,19

ANNEXE 3 : Matériel et méthode du protocole « Quantité » : cases d'agnelage



Photo 1 : case d'agnelage – parc à agneaux

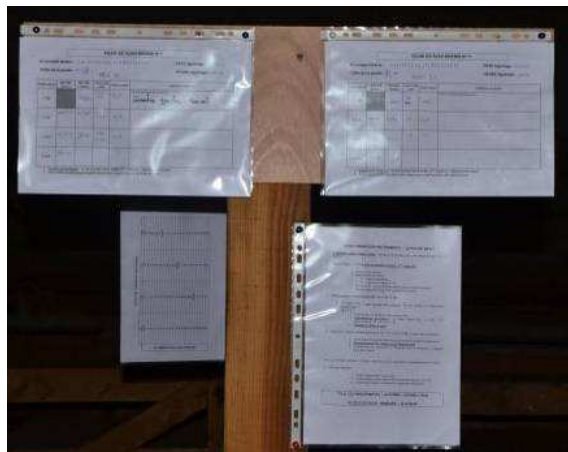


Photo 2 : fiches de suivi et protocole



Photo 3 : traite complète du quartier droit



Photo 4 : tétée des agneaux

ANNEXE 4 : Résultats de bactériologie.

identification de la brebis	date/heure du prélèvement	laboratoire	date de l'analyse	bactériologie	recherche de levure/ moisissure
16001900467	12.01.13 18h25	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i> coagulase (-) après enrichissement	négative
16001900963	11.01.13 08h10	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i> coagulase (-) après enrichissement	négative
16001900964	10.01.13 03h07	cg82	03.05.13	non significatif à l'isolement et après enrichissement	négative
16001900977	10.01.13 17h30	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i> coagulase (-) en culture pure et abondante à l'isolement direct	négative
16001901004	14.01.13 17h35	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i> coagulase (-) en culture pure et abondante à l'isolement direct	négative
16001901006	12.01.13 16h35	cg82	03.05.13	présence de <i>Bacillus cereus</i> après enrichissement	négative
16001901011	14.01.13 10h 150	cg82	03.05.13	non significatif à l'isolement et après enrichissement	négative
16001901033	11.01.13 07h05	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i> coagulase (-) en culture pure et abondante à l'isolement direct	négative
16001901037	12.01.13 17h20	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i> coagulase (-) en culture pure et abondante à l'isolement direct	négative
16001901061	13.01.13 14h15	cg82	03.05.13	non significatif à l'isolement et après enrichissement	négative
16001901091	08.01.13 22h55	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i> coagulase (-) en culture pure et abondante à l'isolement direct	négative
16001901092	08.01.13 12h07	cg82	03.05.13	non significatif à l'isolement et après enrichissement	présence de <i>Candida parapsilosis</i>
16001901095	10.01.13 19h25	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i> coagulase (-) en culture pauvre (10 colonies) à l'isolement direct	négative
16001901116	13.01.13 00h40	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i> coagulase (-) en culture pure et abondante à l'isolement direct	négative
16001901128	12.01.13 06h00	cg82	03.05.13	non significatif à l'isolement et après enrichissement	négative
16001901131	15.01.13	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i> coagulase (-) en culture pauvre (3 colonies) à l'isolement direct	négative
16001901139	11.01.13 05h55	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i> coagulase (-) en culture pure et abondante à l'isolement direct	négative
16001901146	14.01.13 01h08	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i> coagulase (-) et <i>streptococcus bovis</i> en cultures abondantes à l'isolement direct	négative
16001901154	11.01.13 19h40	cg82	03.05.13	présence de <i>streptococcus bovis</i> en culture pure et abondante à l'isolement direct	négative
16001901182	12.01.13 13h05	cg82	03.05.13	non significatif à l'isolement et après enrichissement	négative
16001901183	12.01.13	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i>	négative

	12h35			coagulase (-) en culture pauvre (3 colonies) à l'isolement direct	
16001901187	10.01.13 01h50	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i> coagulase (-) en culture pure et abondante à l'isolement direct	négative
16001901188	14.01.13 16h13	cg82	03.05.13	non significatif à l'isolement et après enrichissement	présence de <i>Candida parapsilosis</i>
16001901191	11.01.13 02h20	cg82	03.05.13	présence de <i>Bacillus cereus</i> après enrichissement	présence de <i>Candida parapsilosis</i>
16001901193	11.01.13 22h35	cg82	03.05.13	non significatif à l'isolement et après enrichissement	négative
16001901195	12.01.13 13h30	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i> coagulase (-) en culture pure et abondante à l'isolement direct	négative
16001901202	11.01.13 04h40	cg82	03.05.13	non significatif à l'isolement et après enrichissement	négative
16001901222	11.01.13 11h13	cg82	03.05.13	présence de <i>staphylococcus</i> coagulase (-) en culture pauvre (1 colonie) à l'isolement direct	présence de <i>Candida parapsilosis</i>

TOULOUSE, 2013

NOMS : Jacquet
Rousset

PRENOMS : Amélie
Anne Lise

TITRE : la production de colostrum chez la brebis : évaluation de la variabilité de la concentration et de la masse d'immunoglobulines G1(IgG1)

RESUME : Chez la brebis, la placentation syndesmochoriale impose une prise colostrale précoce et de qualité pour la survie de l'agneau. L'objectif de ces travaux était d'apporter des éléments de réponse sur la faisabilité d'un phénotypage rapide et peu coûteux des brebis sur la qualité et la quantité de colostrum produit après la mise bas et d'investiguer certains facteurs potentiels de variation de la production.

Chez les ovins, la détection au réfractomètre des colostrums de concentration inférieure à 50 g/L d'IgG1 est apparue optimale au seuil de 24 % Brix avec une sensibilité de 81,8 % et une spécificité de 82,5 %. Pour le pèse colostrum, les performances, estimées à partir de plus de 300 échantillons, étaient optimales au seuil de 75 g/L (sensibilité 78,5 % et spécificité 84,5 %). Cependant l'imprécision de la courbe de prédiction ne permet pas une estimation précise de la concentration en IgG à partir de ces outils.

La quantité et la qualité de colostrum produit jusqu'à 18 heures *post-partum* chez 66 brebis se sont révélées très variables et dépendantes de nombreux facteurs (note d'état corporel, santé de la mamelle).

Les cinétiques des concentrations sériques en cortisol, progestérone et prolactine avant et après la mise bas ne sont pas significativement apparues corrélées au volume de colostrum ni à la masse d'IgG et de matières grasses produit, laissant ouvert l'investigation des déterminants de la variabilité de la production de colostrum chez les ovins.

MOTS-CLES : ovins, colostrum, réfractomètre, pèse colostrum, immunoglobulines, colostrogénèse, cinétiques hormonales

TITLE: Ewe colostrogenesis: estimation of Immunoglobulin G1 (IgG1) concentrations and mass variability.

ABSTRACT: In ewe, because of the syndesmochorial placentation, maternal immunity is mediated exclusively by early and high quality colostrum intake. The purpose of our study was to evaluate the feasibility of a rapid and cheap characterization of colostrum yield and quality in ewes at lambing and to investigate some potential factors of variation.

Based on the analysis of 300 samples, our results show that refractometry can be used to discriminate between low (less than 50 g/L IgG1) and high concentrated colostrum with best performances obtained at the 24 % Brix cut-off (sensitivity 81.8 %; specificity 82.5 %). The colostrometer yielded similar performances (sensitivity 78.5 %; specificity 84.5 %) at the 75 g/L cut-off value. However both rapid tools cannot be advised to give a precise estimation of colostrum IgG1 concentration, because of the large prediction interval.

The IgG1 concentration and colostrum volume produced up to 18 hours post-partum in 66 ewes appeared to be highly variable between ewes and were influenced by several factors among which the body score condition at lambing and the udder health.

Finally the colostrum volume, IgG1 and butterfat amounts produced up to 12 hours after lambing were not statistically related to the kinetics of cortisol, progesterone and prolactin between 15 days before lambing and 12 hours after lambing. Others factors should therefore be investigated to better understand the variability of colostrum volume and concentration production in ewes.

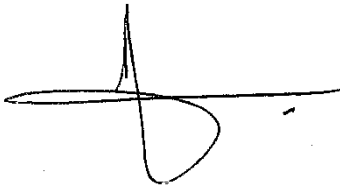
KEY-WORDS: sheep, colostrum, refractometry, colostrometer, immunoglobulin, colostrogenesis, hormonal kinetics

AGREMENT SCIENTIFIQUE


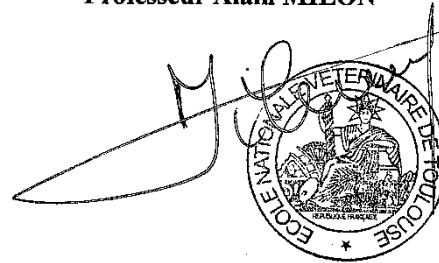
En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, **CORBIERE Fabien**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **JACQUET Amélie** intitulée « *La production de colostrum chez la brebis : évaluation de la variabilité de la concentration et de la masse d'immunoglobulines G1 (IgG1).* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

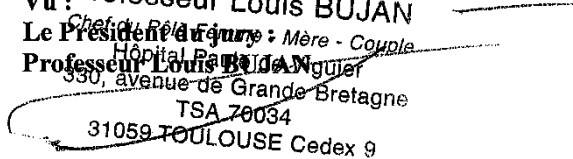
Fait à Toulouse, le 6 novembre 2013
Docteur Fabien CORBIERE
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



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

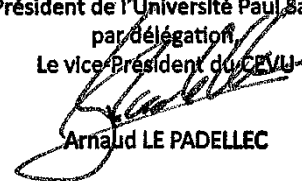


Vu : **Professeur Louis BUJAN**
Le Président du jury : *Mère - Couple*
Hôpital Paul Sabatier
Professeur Louis BUJAN
350, avenue de Grande Bretagne
TSA 70034
31059 TOULOUSE Cedex 9



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

Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
Le vice Président du CEVU



Arnaud LE PADELLEC

Melle JACQUET Amélie
a été admis(e) sur concours en : 2008
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 21/06/2012
a validé son année d'approfondissement le : 27/06/2013
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE


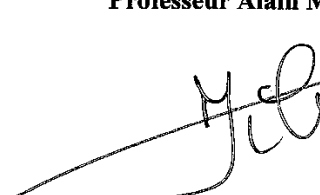
En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, **Fabien CORBIERE**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **ROUSSET Anne Lise** intitulée « *La production de colostrum chez la brebis : évaluation de la variabilité de la concentration et de la masse d'immunoglobulines G1 (IgG1).* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

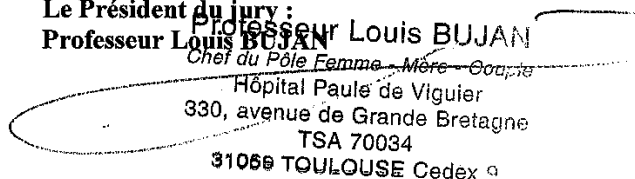
Fait à Toulouse, le 6 novembre 2013
Docteur **Fabien CORBIERE**
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



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

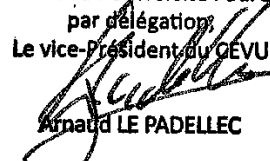


Vu :
Le Président du jury :
Professeur **Louis BUJAN**
Professeur Louis BUJAN
Chef du Pôle Femme - Mère - Outils
Hôpital Paule de Viguier
330, avenue de Grande Bretagne
TSA 70034
31069 TOULOUSE Cedex 9



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

Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
Le vice-Président du CEVU



Arnaud LE PADELLEC

Mlle ROUSSET Anne Lise
a été admis(e) sur concours en : 2008
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 21/06/2012
a validé son année d'approfondissement le : 27/06/2013
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

TOULOUSE, 2013

NOMS : Jacquet
Rousset

PRENOMS : Amélie
Anne Lise

TITRE : la production de colostrum chez la brebis : évaluation de la variabilité de la concentration et de la masse d'immunoglobulines G1(IgG1)

RESUME : Chez la brebis, la placentation syndesmochoriale impose une prise colostrale précoce et de qualité pour la survie de l'agneau. L'objectif de ces travaux était d'apporter des éléments de réponse sur la faisabilité d'un phénotypage rapide et peu coûteux des brebis sur la qualité et la quantité de colostrum produit après la mise bas et d'investiguer certains facteurs potentiels de variation de la production.

Chez les ovins, la détection au réfractomètre des colostrums de concentration inférieure à 50 g/L d'IgG1 est apparue optimale au seuil de 24 % Brix avec une sensibilité de 81,8 % et une spécificité de 82,5 %. Pour le pèse colostrum, les performances, estimées à partir de plus de 300 échantillons, étaient optimales au seuil de 75 g/L (sensibilité 78,5 % et spécificité 84,5 %). Cependant l'imprécision de la courbe de prédiction ne permet pas une estimation précise de la concentration en IgG à partir de ces outils.

La quantité et la qualité de colostrum produit jusqu'à 18 heures *post-partum* chez 66 brebis se sont révélées très variables et dépendantes de nombreux facteurs (note d'état corporel, santé de la mamelle).

Les cinétiques des concentrations sériques en cortisol, progesterone et prolactine avant et après la mise bas ne sont pas significativement apparues corrélées au volume de colostrum ni à la masse d'IgG et de matières grasses produit, laissant ouvert l'investigation des déterminants de la variabilité de la production de colostrum chez les ovins.

MOTS-CLES : ovins, colostrum, réfractomètre, pèse colostrum, immunoglobulines, colostrogénèse, cinétiques hormonales

TITLE: Ewe colostrogenesis: estimation of Immunoglobulin G1 (IgG1) concentrations and mass variability.

ABSTRACT: In ewe, because of the syndesmochorial placentation, maternal immunity is mediated exclusively by early and high quality colostrum intake. The purpose of our study was to evaluate the feasibility of a rapid and cheap characterization of colostrum yield and quality in ewes at lambing and to investigate some potential factors of variation.

Based on the analysis of 300 samples, our results show that refractometry can be used to discriminate between low (less than 50 g/L IgG1) and high concentrated colostrum with best performances obtained at the 24 % Brix cut-off (sensitivity 81.8 %; specificity 82.5 %). The colostrometer yielded similar performances (sensitivity 78.5 %; specificity 84.5 %) at the 75 g/L cut-off value. However both rapid tools cannot be advised to give a precise estimation of colostrum IgG1 concentration, because of the large prediction interval.

The IgG1 concentration and colostrum volume produced up to 18 hours post-partum in 66 ewes appeared to be highly variable between ewes and were influenced by several factors among which the body score condition at lambing and the udder health.

Finally the colostrum volume, IgG1 and butterfat amounts produced up to 12 hours after lambing were not statistically related to the kinetics of cortisol, progesterone and prolactin between 15 days before lambing and 12 hours after lambing. Others factors should therefore be investigated to better understand the variability of colostrum volume and concentration production in ewes.

KEY-WORDS: sheep, colostrum, refractometry, colostrometer, immunoglobulin, colostrogenesis, hormonal kinetics

