



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 : 12191

To cite this version :

Olivier, Cynthia. *Impact d'une supplémentation précoce en immunoglobulines chez le chiot sur la croissance, la morbidité et la mortalité néonatale et pédiatrique*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2014, 99 p.

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

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

THESE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

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

par

OLIVIER Cynthia

Née le 28 juillet 1988 à Rodez (12)

Directeur de thèse : Mme Sylvie CHASTANT-MAILLARD

JURY

PRESIDENT :

Mme Charlotte CASPER

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Sylvie CHASTANT-MAILLARD
M.

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

Mme Hanna MILA

Docteur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

DIRECTEUR : M. Alain MILON

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

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

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. BERTHELOT Xavier, *Pathologie de la Reproduction*
- M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. DUCOS Alain, *Zootecnie*
- M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie des ruminants*
- M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme BENARD Geneviève, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
- M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, *Pathologie de la Reproduction*
- M. CUSTOD 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. PICAUVET 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. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*
Mlle BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
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*
Mlle DEVIERS Alexandra, *Anatomie-Imagerie*
M. DOSSIN Olivier, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
Mlle FERRAN Aude, *Physiologie*
M. GUERIN Jean-Luc, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle LACROUX Caroline, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
Mlle LAVOUE Rachel, *Médecine Interne*
M. LIENARD Emmanuel, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. MAILLARD Renaud, *Pathologie des Ruminants*
Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, *Pathologie Chirurgicale*
M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. NOUVEL Laurent, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
Mlle PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mlle PAUL Mathilde, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
Mme PRADIER Sophie, *Médecine interne des équidés*
M. RABOISSON Didier, *Productions animales (ruminants)*
Mme TROGELER-MEYNADIER Annabelle, *Alimentation*
M. VOLMER Romain, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*
M. VERWAERDE Patrick, *Anesthésie, Réanimation*
Mme WARET-SZKUTA Agnès, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. BOURRET Vincent, *Microbiologie et infectiologie*
M. DAHAN Julien, *Médecine Interne*
Mme FERNANDEZ Laura, *Pathologie de la reproduction*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- M. DOUET Jean-Yves, *Ophthalmologie*

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury de thèse

A Madame le Professeur Charlotte CASPER
Professeur des Universités
Praticien hospitalier,
Pédiatrie, Néonatalogie,
Qui nous a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse,

En témoignage de mon profond respect.

A Madame le Docteur Sylvie CHASTANT
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Pathologie de la reproduction,

Pour sa gentillesse,
Pour sa disponibilité et sa rapidité.
Remerciements très chaleureux.

A
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Qui nous a fait l'honneur d'accepter la direction de notre thèse,

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

A Madame le Docteur Hanna Mila
Docteur vétérinaire à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Pour sa bonne humeur
Ses compétences statistiques, Tangry.
Sincères remerciements.

DEDICACES

A mes parents,

Parce que sans vous jamais je n'aurai été ce que je suis, jamais je n'aurai survécu à la prépa et jamais je n'aurai été vétérinaire. Pour tous ces bons moments que l'on a déjà vécus et tous ceux que l'on vivra encore ensemble.

A Mamounette,

Parce que même si tu as des goûts musicaux particuliers...tu es vraiment une super maman, je t'aime.

A Papou

L'aventurier et le gestionnaire de voitures de la famille, quand est ce qu'on le fait ce fameux repas chez Bras ? Maintenant c'est noté, tu ne pourras plus y échapper ! Merci pour tout et surtout pour ce nez et ce caractère « olivier » que tu m'as transmis, je t'aime.

A mon petit frère,

Parce que même si on sera toujours un peu « différents » tu resteras toujours mon Kiko avec qui je jouais au lion sur le toboggan, faisais un sauna dans la tente et que je persuadais que le lapin était le meilleur animal de compagnie au monde. Même si pour l'instant, tu ne sais pas encore ce que tu souhaites devenir, je sais que tu feras le bon choix, et quoi qu'il arrive je serai toujours là pour toi Dylou. Je t'aime.

A toi mon petit homme,

Parce que même si l'on ne sera toujours pas dans la même ville l'an prochain je sais que c'est pour bientôt. A nos pigeons actuels et à tous nos futurs champions, parce sans eux...imagine comme on s'ennuierait le weekend, à notre futur super pigeonnier, à notre cheptel, Finou, Violette et ceux de passage Dumbo, Montbé et Junior, parce que grâce à eux, on a déjà fondé une petite famille. Merci de me soutenir et de me pousser pour toujours faire mieux. A tous ces chouettes moments que l'on a déjà partagés et aux plus beaux qui restent à venir...

A mes grands-parents Papi Julien, Mamie Ginou, Papi André et Mamie Suzanne

A Mamie Ginou et à Paulette,

Parce que je pense que l'on a toutes hérité du même gène de protection des animaux, j'espère que de là-haut, vous êtes fières de moi, je reprends le flambeau,

A mes protégés, Djidji, le chien de ma vie, Minet, mon petit chat SDF, Mamie Taigotte, Mimi mon petit chat cardiaque, Poupinou le plus vieux lapin du coin et tous ceux qui l'ont été Vako, Windy, Willy, Tom, Sam, Willy, Fanny, Havane et Chipie, vous m'avez donné la motivation de continuer durant toutes ces années,

A Jean-Paul et à tous ceux que j'ai croisés au St-Hubert,

A tous ces bons moments passés et à toutes nos saisons, promis je vais m'atteler à la médecine zoologique

A toute ma famille,

Même si l'on ne s'est pas beaucoup vu durant ces dernières années, cela va changer...

A toute la famille ESPINASSE,

Et tout particulièrement à Danièle pour nous accueillir n'importe quand et pour votre gentillesse...à Gilbert pour nos débats politiques instructifs, à Isabelle, Vincent et les petites puces, plein de

bonheur à vous 4, à Bérengère et ses 3 hommes, à Samuel, Céline et Kiwi, pour toutes ces belles années à venir,

Au docteur vétérinaire Guy MIRANDE-BROUCAS,
Pour m'avoir donné l'envie d'exercer ce métier, hommage respectueux,

A ma Sophinette,
Parce qu'il s'en est bien passé des choses depuis nos années prépa, depuis Guigui, Wiwi et ...zut j'ai perdu son nom...tu es ma plus chère amie et je sais que l'on aura encore plein de jolis souvenirs à créer, à très bientôt à Bordeaux !

A ma bichette Emma,
Ma plus belle rencontre de l'école, parce que tu es une amie en or (on ne fait pas les poubelles avec n'importe qui), pour toutes nos balades avec les loulous et nos cafés en bas du bâtiment C, je ne te souhaite que du bonheur, tu le mérites sincèrement, je t'aime mon bichon,

A Barbara, ma future ophtalmologiste référente,
Je sais que maintenant tout ira bien pour toi ma belle, RDV sur Bordeaux,

A ma Mémé et Famounette,
Que dire...je vous adore simplement et je sais que la distance ne nous séparera pas (et non tu ne te débarasseras pas de moi comme ça ! héhé !)

A Marine,
Ma co-thésarde préférée, quel dommage que l'on se soit rencontré si tard..A nos supers soirées made in Tangry, à nos conversions nocturnes sur le bien fondé de l'utilisation des cortico sur un abcès, tu vas vraiment me manquer cette année, garde ton téléphone sur toi !

A tous mes supers amis de prépa : mon pâtonnet, Laure, Laure, JC, à tous ces supers weekend que l'on a déjà passés, promis j'organise le prochain à l'océan !

A Zézé,
La fille la plus stressée que je connaisse...mais également une des plus brillantes (« non mais c'est normal, je travaille beaucoup... ») et ...euh une des plus délicates (rappelle toi ce doux vendredi soir au bloc..). Merci de m'avoir mise au travail, merci pour ta bonne humeur durant cette 4eme année, je t'adore ! (et j'attends ton invitation pour ton mariage à la Réunion ;)

A Nanais, mon architecte parisienne préférée, spéciale dédicace à Mulan

A Mimi, ma plus vieille amie, j'espère que l'on arrivera à se voir très vite,

A tous mes amis de l'école vétérinaire, Sandra mon poulet, Anne-Sophie, Diane, Marie, Julia, Carole, Alex l'ami des chats, Edwina, Popo, Laurence, Emilie, et tous ceux que j'oublie (pardon pardon) pour tous ces bons moments,

A Frank, Alain et Benjamin des Moutiers
Pour m'avoir offert mon tout premier poste « d'interne », ne changez rien,

A la clinique vétérinaire de Massiac,
Merci pour votre gentillesse et pour tout ce que vous m'avez appris,

A la clinique vétérinaire du Vernet, et plus particulièrement à Aurélie ZAHRA et Rémi GAUTIER,
Un très grand merci pour votre gentillesse, votre pédagogie et pour m'avoir permis de faire mes premiers pas chez vous,

A Bruno, Anne et tous leurs pensionnaires,
Pour nous avoir permis de réaliser cette étude,

Au Docteur PETIT du zoo de la Palmyre ainsi qu'à Isaline et Arnault,
Pour cette immersion zoologique,

A la clinique vétérinaire d'Aquivet,
Pour ce premier travail en tant que Docteur, merci pour cette belle opportunité,

*«Ne renonce jamais à un rêve seulement parce qu'il
te faudra beaucoup de temps pour l'accomplir.
Le temps finit toujours par passer de toute façon»*

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES.....	12
LISTE DES TABLEAUX	15
LISTE DES ABREVIATIONS	16
INTRODUCTION	17
PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	17
I- L'importance des causes infectieuses dans la mortalité précoce	20
A- Infections bactériennes.....	20
B- Infections virales	21
1) L'herpès virus	21
2) Le virus minute.....	23
3) Le parvovirus CPV-2.....	24
4) Les coronavirus et rotavirus	25
II- Formation, sécrétion et absorption du colostrum.....	26
A- Particularité placentaire et formation du colostrum.....	26
B- Composition du colostrum.....	28
C- Rôle du colostrum – Notion de transfert passif d'immunité	28
D- Notion de barrière intestinale chez le chiot	31
E- Effets des immunoglobulines sur la morbidité, la mortalité et la croissance néonatale et pédiatrique.	33
III- Différents types de substitut colostraux.....	36
A- Colostrum frais, congelé et lyophilisé.....	36
B- Suppléments colostraux et colostro-remplaceurs.....	37
C- Sérum maternel et sérum hyperimmunisé.....	38
D- Hétérospécificité : peut-on utiliser des Ig d'autres espèces ?.....	42
E- L'utilisation des IgY.....	45

PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE.....	49
I- Matériels et méthodes.....	51
A- Population étudiée.....	51
B- La supplémentation	52
C- Suivi clinique	53
1) Le poids	55
2) Examen clinique	55
3) Glycémie.....	57
4) Lactatémie.....	57
5) Corps cétoniques.....	57
D - Outils statistiques	58
II - Résultats	58
A- Période néonatale.....	59
1) Métabolisme	59
* Glycémie	59
a- Descriptif de la population	59
b- Effet de la supplémentation.....	59
* Lactates.....	61
a- Descriptif de la population	61
b- Effet de la supplémentation.....	61
* Corps cétoniques	64
a- Descriptif de la population	64
b- Effet de la supplémentation.....	64
2) Croissance	65
a- Description de la population	65
b- Effet de la supplémentation.....	66
3) Morbidité.....	68
a- Description de la population	68
b- Effet de la supplémentation.....	68
4) Mortalité	69
a- Descriptif de la population	69

b- Effet de la supplémentation.....	69
5) Effet de la supplémentation sur le Sanitary Risk Index (SRI).....	71
a- Descriptif de la population	71
b- Effet de la supplémentation.....	71
B- Période pédiatrique (J21-J56)	73
1) Croissance	73
a- Descriptif de la population	73
b- Effet de la supplémentation.....	74
2) Morbidité.....	74
a- Descriptif de la population	74
b- Effet de la supplémentation.....	75
3) Mortalité	76
a- Descriptif de la population	76
b- Effet de la supplémentation.....	76
4) Sanitary Risk Index (SRI)	77
a- Descriptif de la population	77
b- Effet de la supplémentation.....	77
III- Discussion.....	77
A- Limites de l'étude.....	78
1) La population étudiée	78
2) La mortalité pédiatrique et néonatale	79
3) Naissance et mise-bas	80
4) Période de suivi	80
5) La supplémentation.....	81
B - Effet de la supplémentation.....	81
CONCLUSION	85

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Fréquence des symptômes rencontrés lors de septicémie néonatale d'après Munnich et Lubke-Becker (2003).....	20
Figure 2 : Prévalence du parvovirus canin de type 2 en fonction de l'âge dans un élevage infecté d'après Grellet (2012).....	25
Figure 3 : Pathogénie de la parvovirose d'après Greene (2006).....	26
Figure 4 : Différents types de placentation chez l'Homme et les principaux animaux domestiques d'après Day et Schultz (2011).....	27
Figure 5 : Cinétique des dosages hormonaux, développement mammaire et dosage des Ig sériques chez la vache, d'après Delouis (1978) (<i>P=mise-bas</i>)	28
Figure 6 : Mécanisme du transfert sélectif des IgG à travers l'épithélium sécrétoire lors de la formation du colostrum d'après Lascelles (1979).....	30
Figure 7 : Evolution au cours du post partum des concentrations en différentes immunoglobulines dans la sécrétion mammaire de chiennes de races diverses (croisés) d'après Heddle et Rowley (1975)(<i>n=14</i>).....	31
Figure 8 : Efficacité de l'absorption des immunoglobulines G selon le temps écoulé depuis la naissance d'après Chastant et al (2013).....	32
Figure 9 : Relation entre les concentrations sériques en IgG à J2 et la morbidité et mortalité de J0 à J40 chez l'agneau d'après Almaric (2011)	34
Figure 10 : Relation entre la concentration circulante d'Ig à J2 chez le chiot et la mortalité d'après Mila et al (2014) (<i>n=123</i>).....	35
Figure 11 : Effet de la quantité de colostrum absorbé à la naissance sur la croissance de J0 à J42 sur 556 porcelets d'après Ferrari et al (2006).....	35
Figure 12 : Evolution du taux sérique d'IgG chez le chat en fonction de la voie d'administration du complément d'après Lévy et al (2001).....	40
Figure 13 : Evolution du taux sérique d'IgG chez le chiot en fonction de la voie d'administration (sous-cutanée ou <i>per os</i>) du sérum d'après Poffenbarger et al (1991)	41
Figure 14 : Evolution du taux sérique d'IgG chez le chiot en fonction de la voie d'administration (sous-cutanée ou <i>per os</i>) et de la quantité en IgG du sérum d'après Bouchard et al (1992)	42
Figure 15 : Evolution des concentrations sériques en IgG des chatons durant leurs 48 premières de vie avec ou sans un apport en IgG par voie sous-cutané d'après Crawford et al (2003).....	42
Figure 16 : Evolution des concentrations sériques en IgG des chatons dans leurs 48 premières heures de vie avec ou sans apport en IgG par voie orale d'après Crawford et al (2003)	44
Figure 17 : Effet d'une supplémentation en IgY (0,4 g <i>per os</i>) et d'un traitement antibiotique suite à une infection à <i>E. coli</i> K88 chez 20 porcelets de 4 semaines d'après Li et al (2008).....	44

Figure 18 : Taux de survie des porcelets après mise en contact avec le virus de la diarrhée porcine en fonction d'un traitement ou non aux IgY d'après Kweon et al (2000).	46
Figure 19 : Concentrations sériques obtenues en IgY anti- <i>E. coli</i> K88 après une unique administration orale chez des porcelets d'âges différents d'après Yokohama et al (2003). A J0, le dosage est en réalité évalué 2 heures après administration des IgY, n=36.....	49
Figure 20 : Administration œsophagienne de lait maternisé à un chiot via la sonde oro-gastrique....	50
Figure 21 : Pesée d'un chiot	55
Figure 22 : Prise de température sur un chiot de 7 jours.....	55
Figure 23 : Mesure de la glycémie sur un chiot âgé de 2 jours à l'aide d'un glucomètre.....	57
Figure 24 : Protocole du suivi des chiots de J0 à J56.....	58
Figure 25 : Effet du format racial sur la glycémie moyenne à J0 et J1.	59
Figure 26 : Effet du format racial sur l'évolution de la glycémie entre J0 et J1	60
Figure 27 : Effet de la supplémentation sur la glycémie à J1 en fonction du format racial	60
Figure 28 : Effet de la supplémentation sur la moyenne de l'évolution de la glycémie entre J0 et J1 en fonction du format racial.....	61
Figure 29 : Effet du format racial sur la lactatémie moyenne à J0 et J1	62
Figure 30 : Effet du format racial sur l'évolution de la lactatémie entre J0 et J1	62
Figure 31 : Effet de la supplémentation sur la lactatémie moyenne en fonction du format racial à J1.	63
Figure 32 : Effet de la supplémentation sur l'évolution de la lactatémie entre J0 et J1 en fonction du format racial	63
Figure 33 : Effet du format racial sur la concentration moyenne en corps cétonique à J0 et J1.....	64
Figure 34 : Effet du format racial sur le gain de poids sur différentes périodes de la période néonatale	65
Figure 35 : Effet de la supplémentation sur le gain de poids total entre J0 et J21 en fonction du format racial	66
Figure 36 : Effet de la supplémentation sur le gain de poids hebdomadaire entre J0-J7, J7-J14 et J14-J21.....	67
Figure 37 : Effet de la supplémentation sur le gain de poids hebdomadaire sur différentes périodes en fonction du format racial.....	67
Figure 38 : Effet du format racial et de l'âge des chiots sur le taux de morbidité	68
Figure 39 : Effet de la supplémentation et de l'âge des chiots sur le taux de morbidité	69
Figure 40 : Schéma descriptif des différentes périodes de mortalité	70
Figure 41 : Nombre de chiots décédés selon la période (J0-J7, J7-J14 et J14-J21).	70
Figure 42 : Distribution des jours de mort des chiots en période néonatale (n=64)	71

Figure 43 : Effet de l'âge et du format racial des chiots sur le SRI	72
Figure 44 : Effet de la supplémentation et du format racial sur le SRI.	72
Figure 45 : Effet du format racial sur le gain de poids total entre J21 et J56.....	73
Figure 46 : Effet du format racial et de la période étudiée sur le gain de poids hebdomadaire	74
Figure 47 : Effet de la supplémentation et du format racial sur le gain de poids total moyen entre J21 et J56	75
Figure 48 : Effet du format racial sur le taux de morbidité	75
Figure 49 : Effet de la supplémentation sur le score de morbidité pour un format racial fixé.....	76
Figure 50 : Nombre de chiots décédés selon la période	77
Figure 51: Fréquence des différents types de bactéries retrouvées dans la rate à l'autopsie de chiots décédés entre J0 et J21	80

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Prévalence de la mortalité en fonction de l'âge des chiots	19
Tableau 2 : Séroprévalence du CHV-1 dans le monde	22
Tableau 3 : Séroprévalence du virus minute dans le monde	23
Tableau 4 : Symptômes et effet sur les taux de mortalité du parvovirus minute CPV-1 après inoculation par voie oro-nasale du virus minute d'après Carmichael et al (1994)	23
Tableau 5 : Comparaison des compositions du lait et du colostrum chez la chienne, d'après Adkins et al (2001). <i>Le lait est prélevé et analysé de J7 à J42 post-partum et le colostrum est prélevé et analysé à J1 et J3 post-partum.</i>	29
Tableau 6 : Concentration en IgG, IgM et IgA dans le colostrum et dans le sérum maternel chez la chienne	30
Tableau 7 : Taux de morbidité et de mortalité en fonction du transfert passif d'immunité colostrale, objectivé par les concentrations en IgG à 24h de vie chez le veau d'après Wittum et Perino (1995) (n=263)	34
Tableau 8 : Synthèse des résultats obtenus à partir de 26 publications étudiant 90 produits différents (colostro-remplaceurs et suppléments colostraux) sur des veaux nouveau-nés d'après Jones et Heinrich (2001)	39
Tableau 9 : Effets sur la morbidité et la mortalité de souriceaux âgés de moins de 1 semaine d'un apport par voie orale ou intra-péritonéale d'IgY anti-EV71 d'après Liou et al (2010)(n=268)	48
Tableau 10 : Classification des chiots en fonction de leur race et de leur poids de naissance.....	51
Tableau 11 : Effectif de populations durant les périodes néonatale et pédiatrique	52
Tableau 12 : Fiche de suivi des chiots (<i>J= jour, E= supplémenté, O=placebo, F=femelle, M=mâle, G=glycémie, L=lactatémie, A=Dosage des corps cétoniques, du=densité urinaire, FC=fréquence cardiaque, FR=fréquence respiratoire</i>)	54
Tableau 13 : Effectif en période néonatale et pédiatrique	55
Tableau 14 : Score traduisant l'état de santé des chiots. <i>Les différentes données correspondent pour les premières aux critères dans les 48 premières de vie, les seconds au-delà de 48 heures de vie.</i>	56
Tableau 15 : Définition du score de morbidité.....	56
Tableau 16 : Comparaison des glycémies, lactatémies et concentrations sanguines en corps cétoniques chez le chiot nouveau-né entre notre étude et les données de la littérature	78
Tableau 17 : Comparaison des taux de mortalité néonatale et pédiatrique avec les données de la littérature	79

LISTE DES ABREVIATIONS

Ig : immunoglobuline

E. coli : *Escherichia coli*

IgA : immunoglobuline de classe A

IgG : immunoglobuline de classe G

IgM : immunoglobuline de classe M

IgE : immunoglobuline de classe E

IgY : immunoglobuline de classe Y

FcRn : Récepteur pour le Fragment Constant Neonatal

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Plgr : Récepteur à immunoglobulines polymérisées

AOM : anticorps d'origine maternelle

PAL : Phosphatase Alcaline Lipase

γ GT : Gamma-Glutamyl Transférases

EAA : Efficacité apparente d'absorption

PO : *per os*

GMQ : Gain de poids moyen quotidien

S : small, chien de petit format (poids adulte < 25kg)

L : large, chien de grand format (poids adulte >25kg)

Jx : xième jour après la naissance

INTRODUCTION

Chez les espèces à placentation épithéliochoriale ou endothéliochoriale telles que les canidés, les bovins, les équidés ou les porcins par exemple, le transfert des immunoglobulines de la mère à ses petits est réalisé essentiellement, non pas comme chez l'Homme via le placenta, mais par la consommation de colostrum par les nouveau-nés. Ce phénomène est régi par une fenêtre de perméabilité intestinale temporelle de quelques heures après la mise-bas durant laquelle les jeunes sont capables d'absorber les immunoglobulines contenues dans le colostrum grâce à des transporteurs spécifiques présents au niveau de leur endothélium digestif.

Une prise insuffisante de colostrum engendre dans un premier temps une mortalité liée à des états d'hypoglycémie et d'hypothermie (Le Dividich et al, 2005), puis dans un second temps des taux de morbidité et de mortalité néonatale et pédiatrique élevés. En effet, plus la concentration en immunoglobulines (Ig) chez le nouveau-né est faible, plus celui-ci risque de développer des pathologies infectieuses avant le sevrage (Mc Guire et al, 1976 ; Donovan et al, 1998). Les infections représentent 46 à 60% des causes de mortalité chez le chiot avant le sevrage (Mila et al, 2012), la maîtrise de celles-ci est donc primordiale pour les éleveurs canins d'un point de vue économique. La qualité du transfert passif d'immunoglobulines dépend de la quantité et de la qualité en immunoglobulines du colostrum et du délai entre la naissance et la première tétée du nouveau-né (Chastant et al, 2013).

Chez les animaux de rente, l'optimisation de ce transfert d'immunité a été étudié ce qui a permis de développer des produits de remplacement ou des suppléments colostraux. Ceux-ci sont conçus à partir de sang (plasma ou sérum), de colostrum ou encore d'immunoglobulines contenues dans le jaune d'œuf (IgY). Ils ont pour objectif d'augmenter les concentrations sériques en immunoglobulines chez le jeune pour diminuer sa sensibilité aux agents infectieux et augmenter sa probabilité de survie en bonne santé jusqu'au sevrage et jusqu'à sa vente (Dewell et al, 2006). En élevage canin, très peu de succédanés colostraux sont disponibles sur le marché et les quelques produits existants sont commercialisés aux Etats-Unis. Tous sont issus de colostrum de bovin et ne visent que l'apport énergétique et non un transfert immunitaire chez le chiot.

L'intérêt de notre étude présentée dans ce manuscrit consiste à évaluer les effets de l'administration orale d'IgY dirigées contre deux virus et bactéries pathogènes majeurs des périodes néonatale et pédiatrique chez les chiots : le parvovirus CPV-2 et la bactérie *Escherichia coli* (*E.coli*) à l'origine de septicémie. Le but de l'expérimentation est d'améliorer l'acquisition d'une immunité systémique spécifique au chiot avant la fermeture intestinale. Nous avons suivi 347 chiots de différentes races et portées, de leur naissance jusqu'à leur sevrage, en étudiant plusieurs paramètres : leur métabolisme, leur croissance et leur sensibilité aux infections (suivi de la morbidité et de la mortalité).

Dans une première partie, à travers une synthèse bibliographique, nous discuterons des principales causes de mortalité néonatale et pédiatrique chez le chiot. Les conditions du transfert passif de l'immunité de la mère à ses nouveau-nés seront ensuite abordées. Nous verrons ensuite que ce transfert est primordial pour la survie des jeunes dans leurs premières semaines de vie et enfin, les différentes options disponibles chez plusieurs espèces pour pallier un défaut d'apport en immunoglobulines. La seconde partie de ce manuscrit sera consacrée à la présentation de nos résultats expérimentaux.

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

En médecine humaine, on nomme mortalité néonatale, toute mort survenue à partir de la perte de la poche des eaux jusqu'au 28^{ème} jour d'âge (Obladen, 1998). En élevage canin, la définition englobe une période plus large variant selon les auteurs et traduisant la phase transitionnelle de passage d'un stade fœtal à un individu semblable au futur adulte. On peut parler de mortalité néonatale jusqu'à 3 semaines de vie et diviser ces trois semaines en deux parties avec une mortalité néonatale dite précoce dans la première semaine de vie puis une mortalité tardive du 7^{ème} au 21^{ème} jour du chiot (Tonnessen et al, 2012). La mortalité pédiatrique concerne les chiots de 21 jours à environ 60 jours (à la fin de leur sevrage).

Le taux de mortalité entre la naissance et le sevrage chez le chiot est de l'ordre de 20 à 40% des chiots nés, les deux tiers des cas intervenant dans les trois premières semaines de vie (Lawler, 1989 ; Tonnessen et al, 2012). Le tableau 1 résume les principales données de la littérature sur l'incidence des mortalités néonatales et pédiatriques dans l'espèce canine.

	Nombre de chiots nés (nombre de morts entre J0 et J60)	Nombre de chiots mort-nés (en % de la mortalité totale)	néonatale		pédiatrique		Mortalité totale entre J0-J60 (en % par rapport aux chiots nés)
			Mortalité entre J1-J7 (en % de la mortalité totale)	Mortalité entre J8-J21 d'âge (en % de la mortalité totale)	Mortalité entre J21-J60 d'âge (en % de la mortalité totale)		
Potkay et Bacher (1977)	2 872 (676)	36,1%	48,9%		15%		23,5%
Nielen et al (1998)	2 629 (571)	43,6%	34,8%	12,3%		9,3%	21,7%
Van der Breek et al (1999)	2 622 (571)	25,4%	74,6%	?		?	21,7%
Gill (2001)	2 574 (519)	43,5%	55,9%		9,1%		20,2%
Indrebo et al (2007)	744 (132)	61,4%	28,7%	6,1%		3,8%	17,7%
Tonnessen et al (2012)	58 439 (5260)	48,0%	51%		11%		9%
Mila et al (2012)	982 (228)	35,1%		46,5%		18,4%	23,2%
Belin (2013)	2 288 (521)	43,7%	38,9%		17,4%		22,8%

Tableau 1 : Prévalence de la mortalité en fonction de l'âge des chiots

La majeure partie des chiots mourant avant le sevrage meurt durant la phase néonatale dite précoce, et notamment lors de la mise-bas : 25 à 45% de la mortalité est représentée par les chiots morts-nés. En moyenne, 4,3 à 8,0% des chiots naissants sont morts-nés, ces pourcentages varient en fonction de la race de la mère, de la taille de la portée, des conditions de mise-bas (Tonnessen et al, 2012).

La mortalité des chiots a ensuite lieu est plus élevée durant la première semaine : la mortalité J0-J7 représente 28,7% à 74,6% de la mortalité totale entre la naissance et la fin du sevrage (tableau 1).

Quatre virgule cinq pour cents des chiots sont euthanasiés à la naissance en raison de malformations congénitales (fente palatine par exemple) ou pour des raisons de conformité au standard de la race (couleur non conforme : couleur blanche pour les Bouledogues et Boxers ou noire pour les Rhodesian Ridgebacks) (Gill, 2001).

Les principales causes de mortalité néonatale sont liées à la mise-bas (dystocie, part long.), à la mère (production lactée, désintérêt, écrasement), au chiot lui-même (malformation, anorexie, faible poids) et enfin à l'environnement et ses agents infectieux.

I- L'importance des causes infectieuses dans la mortalité précoce

Si l'on exclut les morts-nés et les chiots atteints d'anomalies congénitales, 64 à 83% des chiots nés vivants meurent de causes infectieuses identifiées. Au total, 46 à 60% de la mortalité totale est due à des causes infectieuses (Mila et Chastant-Maillard, 2014).

Les agents rencontrés peuvent être des virus (herpès virus, CPV1), des bactéries et des parasites (ascaris). Les sites de ces infections sont variés : diarrhée, pneumonie, péritonite, arthrite, septicémie (Vela et al, 2006). Les symptômes rattachés aux septicémies sont également peu spécifiques : perte de poids, faiblesse, absence de réflexe de succion, vocalisation, difficulté respiratoire pouvant s'accompagner de cyanose voire hématurie et diarrhée (Davidson, 2003). La figure 2 exprime la fréquence des symptômes observés lors de septicémies néonatales.

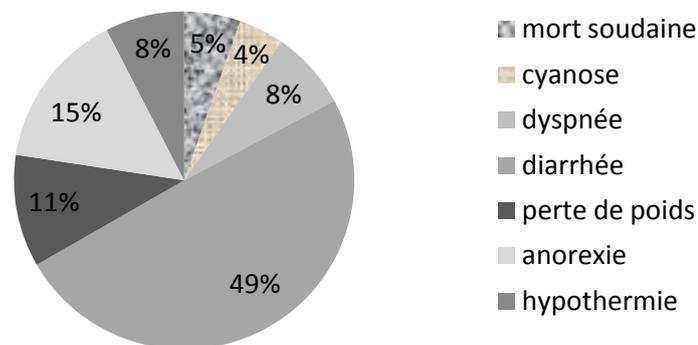


Figure 1 : Fréquence des symptômes rencontrés lors de septicémie néonatale d'après Munnich et Lubke-Becker (2003)

A- Infections bactériennes

Staphylococcus aureus et *Escherichia coli* sont les bactéries les plus fréquemment rencontrées dans les infections néonatales. *Klebsiella sp*, *Pseudomonas sp*, *Enterobacter sp*, *Proteus sp*, *Bordetella bronchiseptica* et d'autres bactéries anaérobies sont également rencontrées (Munnich, 2008).

Selon Lelli et al (1992) réalisant une étude sur 18 chiots pour étudier les effets de l'hypoxie, au moment du part, suivie d'une réoxygénation sur le tube digestif des nouveau-nés, une hypoxie sévère suivie d'une bonne réoxygénation des tissus n'induit pas la production de radicaux libres (métabolisme anaérobie) irritant la muqueuse digestive, mais favorise une translocation bactérienne vers les nœuds lymphatiques mésentériques. Les bactéries retrouvées lors de l'autopsie étaient *E. coli* et *Staphylococcus aureus* au niveau des nœuds lymphatiques mésentériques et *S. epidermitis* au niveau du foie et de la rate. Un part long et difficile peut donc amener à des septicémies néonatales, la contamination étant alors propre au chiot trouvant son origine *in utero*.

Les principales autres sources de contaminations proviennent de la mère : endométrite, mammite clinique ou sub-clinique, contamination oro-fécale, locchies, traitement antibiotique réalisé sur la mère... Munnich (2003) a réalisé une étude sur 5 élevages canins en recherchant un lien entre les bactéries prélevées sur les chiennes (vagin, lait, fécès) et les bactéries retrouvées sur des chiots

morts brutalement dans leurs premières semaines de vie (cœur, rate, foie, rein, cerveau et intestins). Plus de 60% des souches *E. coli* isolées sur les prélèvements des chiots sont identiques à celle isolée chez leur mère ou d'autres chiennes provenant du même chenil. *E. coli* est la bactérie la plus souvent isolée dans cette étude à partir des échantillons prélevés en région vaginale et utérine sur des chiennes n'ayant pour la plupart aucun signe d'infection systémique. Tout comme en médecine humaine, *E. coli* semble donc être associée à des affections uro-génitales maternelles aboutissant à des septicémies sur les nouveau-nés (Pong et Braley, 1999). Les auteurs rapportent que comme tous les autres mammifères, les chiots sont colonisés de façon normale par *E. coli* dans leurs premiers jours de vie à partir de leur environnement proche. A la faveur d'un stress, il peut y avoir une multiplication importante de la bactérie qui va alors surpasser les capacités immunitaires du nouveau-né et entraîner un sepsis le plus souvent fatal.

D'après Munnich (2003), le lait ne semblait pas être un réservoir bactérien important. Cependant, Schaefer Somi et al (2003) réfutent cette supposition en mettant en évidence sur 33 chiots morts de septicémie une corrélation entre les bactéries découvertes à l'autopsie et celles prélevées au niveau du lait de leur mère souffrant de mammite aigüe ou subclinique. Les bactéries retrouvées étaient identiques. Les principales bactéries retrouvées étaient *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Streptococcus* et *Staphylococcus intermedius*. Le lait peut donc être lui aussi une source de contamination.

On comprend alors tout l'intérêt de réaliser des échantillons sur les mères avant et après la mise bas (écouvillon vaginal, bactériologie du lait) afin de surveiller la charge infectieuse et d'intervenir de façon curative en cas de prolifération bactérienne trop importante.

B- Infections virales

Des affections virales peuvent également toucher les plus jeunes. On en distingue principalement deux : l'herpès virus canin CHV-1 et le virus minute CPV-1.

1) L'herpès virus (CHV-1)

Le virus herpes concerne de nombreuses espèces : l'Homme, les canidés, les bovins, les oiseaux, les porcins ainsi que les équidés. Seize souches d'herpèsvirus canin ont été isolées dans le monde. Les modalités de transmission sont variables selon la zone d'expression du virus : le plus souvent par les muqueuses (oronasale, génitale, oropharynx) ou par l'intermédiaire de cellules infectées, de virions ou d'aérosols (éternuements). La transmission se fait toujours d'individu à individu (le milieu extérieur n'intervient pas). Elle peut être horizontale ou verticale (par le placenta ou pendant la mise-bas). Ainsi, un chiot nouveau-né peut se contaminer dès sa naissance lors du passage dans la filière pelvienne si sa mère vient d'être infectée (primo-infection) ou si le virus, qui se trouvait à l'état latent dans son organisme, s'est réactivé et qu'il a été excrété dans la cavité vaginale au moment de la naissance. Chez le jeune animal, l'infection se propage alors très rapidement. Tous les chiots d'une même portée sont infectés et beaucoup en meurent. Cependant, passé l'âge de 2 ou 3 semaines, la réponse immunitaire des nouveau-nés est meilleure et la sensibilité des chiots au CHV-1 devient moindre. Cependant, les conséquences de l'infection par le CHV-1 sont très variables selon l'âge et l'état physiologique du chiot atteint. En réalité, la gravité des symptômes est inversement proportionnelle au taux d'anticorps transmis par la mère dans le colostrum (Poulet et al, 2001).

Après contamination, la période d'incubation dure entre 4 et 6 jours. Les nouveau-nés deviennent anorexiques et perdent le réflexe de succion. Des troubles digestifs sont souvent visibles (selles peu abondantes, nausées, douleurs abdominales, vomissements). Les chiots se mettent à gémir sans raison apparente. S'en suit une incoordination des mouvements traduisant une encéphalomyélite. En fin d'évolution, les chiots deviennent hypothermes (34 °C), et sont rejetés par leur mère. L'évolution vers la mort dépasse rarement 4 à 5 jours et toute la portée est en général décimée. Les rares chiots qui en réchappent présentent souvent des séquelles graves (ataxie, amaurose, déficits de l'appareil cérébello-vestibulaire) et restent porteurs du virus à vie. Chez les chiots de plus de 2 ou 3 semaines

au moment de la contamination, l'infection par le CHV-1 est en général asymptomatique, bien que des signes nerveux centraux, notamment des surdités ou des cécités, aient été décrits (Decaro, 2008). Le diagnostic est très souvent établi à l'examen nécrosique : présence fréquente d'une décoloration des principaux organes (foie, rate, poumons, reins) et surtout présence de plusieurs foyers de nécrose avec de nombreuses hémorragies multifocales en tête d'épingle, bien visibles (sur rate, foie, poumons, intestins, thymus, cerveau, estomac, myocarde, pancréas, surrénales et reins). On peut également retrouver une hémorragie dans les cavités pulmonaires et abdominales, ainsi que dans les organes lymphatiques. Un diagnostic de certitude devra être établi sur les parents avant une gestation future. Il peut être réalisé par sérologie ou PCR sur le mâle et la femelle : la PCR reste la technique de choix, la sérologie pouvant être négative sur un animal porteur latent. Les animaux positifs doivent être exclus de la reproduction afin de ne pas contaminer les chiots *in utero*. L'insémination artificielle est envisagée lorsque la mère est positive afin d'éviter une contamination du mâle, cette technique ne garantit toutefois pas le statut indemne des chiots pour les raisons évoquées précédemment.

Une étude de Larsen (2013) a recherché le CHV-1 sur des chiots décédés avant le sevrage issus de 37 portées de 26 races différentes : 14 des 58 chiots décédés ont été positifs au CHV-1 après analyse par PCR, ce qui représente une prévalence de 24,5%. Le tableau 2 résume les prévalences du CHV-1 obtenues dans diverses études menées dans plusieurs pays.

Auteur (année)	Pays	Population (effectif)	Prévalence (%)
Lundgren et Clapper (1969)	USA	Elevage et particulier (?)	12,8
Fulton et al (1974)	USA	Mélange (particuliers + élevage)(120)	6
Bibrack et Schaudinn (1976)	Allemagne	Mélange (?)	12
		Elevage avec avortements (?)	39,1
Osterhauss et al (1977)	Pays-Bas	Particuliers (400)	2,8
		Elevage à problèmes (300)	12
Delisle (1982)	France	Particuliers (?)	0,5
		Elevage (?)	28,4
Engels et al (1980)	Suisse	Mélange (?)	6,3
Schwiers et al (1980)	Belgique	Mélange (452)	1
Takumi et al (1990)	Japon	Mélange (557)	26,2
Poulet et Dubourget (1989-1991)	France	Elevage (6)	15,9
Reading et Field (1998)	Royaume-Uni	Particuliers (325)	88
Rijsewik et al (1999)	Pays-Bas	Mélange (145)	39,3
Van Gucht (2001)	Belgique	Elevage (97)	49,5
Guigal et al (2002)	France	Elevage (84)	30,6
Ronsse et al (2002)	Belgique	Particuliers (102)	46,1
		Elevage (545)	45,7

Tableau 2 : Prévalence du CHV-1 dans le monde (*l'ensemble des études s'appuie sur des analyses sérologiques sauf Guigal et al (2002) qui réalisent des PCR*).

En cas d'infection de la portée, un traitement médical peut être envisagé sur les chiots asymptomatiques en utilisant une sérothérapie par voie intra-péritonéale à base de sérum de mères fortement positives ou vaccinées récemment (Fontbonne, 1997). Des traitements anti-viraux ont été essayés mais sans succès.

La prophylaxie est vaccinale (2 injections : au moment des chaleurs et 10 jours avant la mise bas) et sanitaire.

2) Le virus minute

Le virus minute est un virus de type parvovirus (parvovirus I ou CPV-1) génétiquement lié au parvovirus de type II plus connu, responsable de gastro-entérites hémorragiques sur les jeunes chiots (voir plus loin). Ce virus semble être largement disséminé dans la population canine mondiale. Le mécanisme pathogène du virus n'est pas encore totalement connu.

Des études sérologiques ont montré une répartition mondiale du virus avec des prévalences pouvant atteindre 75% (tableau 3). Peu de données existent sur la prévalence et la mortalité liées à ce type d'infection en Europe et en France.

Auteur (année)	Pays	Nombre de chiens dans l'échantillon	Séroprévalence
Carmichael et al (1994)	USA	1008	47%
Torun et al (2005)	Turquie	100	18%
Mochizuki et al (2012)	Japon	266	5%

Tableau 3 : Séroprévalence du virus minute dans le monde

Différentes études ont été menées afin de caractériser les effets de ce parvovirus. L'infection expérimentale par CPV 1 par voie oro-nasale chez des chiennes gravides entraîne des résorptions embryonnaires (si l'infection a lieu avant le 35^{ème} jour) ou la naissance de chiots anasarques (si l'infection a lieu dans le derniers tiers de la gestation) (Carmichael, 1999). L'inoculation du virus à des chiots de moins de 1 semaine est responsable de troubles divers (dyspnée notamment) caractérisés par une morbidité élevée mais une mortalité plutôt faible (tableau 4) (Carmichael et al, 1991).

Age à l'inoculation	Nombre de chiots	Morbidité	Mortalité	Signes cliniques
4 jours	3	+/-	0	Détresse respiratoire : 1/3
4 jours	6	+/-	0	Détresse respiratoire : 1/6
4 jours	5	+/-	0	Détresse respiratoire : 1/5
5 jours	5	+	2/5	Détresse respiratoire et mortalité : 2/5

Tableau 4 : Symptômes et effet sur les taux de mortalité du parvovirus minute CPV-1 après inoculation par voie oro-nasale du virus minute d'après Carmichael et al (1994)

En Europe, Pratelli et al (1999) ont décrit une épidémie de parvovirose de type I dans une portée de 5 chiots de race Berger allemand âgés de 35 jours en Italie. Sur les 5 chiots, 2 succombèrent à la détresse respiratoire et cardiaque, les 3 autres récupérèrent seuls après 7 jours de maladie. Des

analyses sérologiques et histologiques (sur les chiots décédés) ont révélé une infection au CPV-1 caractérisée par des lésions pulmonaires et des myocardites. Decaro et al (2012) montrent sur une portée de 5 Jack Russel d'environ 1 mois un lien entre la résistance des chiots au CPV-1 et le taux d'anticorps anti-CPV-1 de ces chiots. Sur les 5 chiots, 3 succombèrent à des affections respiratoire, cardiaque et hépatique provoquées par le CPV-1 (analyses histologiques et électrophorèse confirmant le diagnostic). Les écouvillons rectaux et oro-pharyngés réalisés sur les 2 chiots ayant survécu ne montrent pas la présence de CPV-1. Des dosages sérologiques montrent que ces deux chiots ont des titres plus élevés en anticorps anti-CPV-1 ce qui leur auraient permis de résister à l'infection virale.

Généralement, les symptômes rencontrés sont une mortalité soudaine ou des signes de dépérissement (léthargie, diarrhée, dyspnée, myocardite). Les signes sont variés y compris au sein d'une même portée (Decaro et al, 2012).

Le diagnostic repose sur la sérologie (peu spécifique), les PCR et l'histologie (mise en évidence de corps d'inclusions intranucléaires basophiles au niveau des villosités intestinales du duodénum et du jéjunum, associés ou non à une pneumonie interstitielle).

Aucune vaccination n'est encore disponible à l'heure actuelle. Des études sont toujours en cours.

Plus tardivement en âge, au-delà de 3 semaines, les trois causes majeures de mortalité des chiots sont les suivantes : les infections gastro-intestinales (parvovirus de type 2 ou CPV-2), les infections respiratoires (virales de type coronavirus et rotavirus) et enfin les troubles nutritionnels tels que la malnutrition liés au sevrage. Dans la cohorte suivie par Potkay et Bacher (1977), elles représentaient respectivement 28%, 29% et 43% des cas de mortalité.

3) Le parvovirus CPV-2

Les infections gastro-intestinales sont liées le plus souvent au parvovirus canin de type 2 (CPV-2) infectant uniquement les chiens. Il s'agit d'un virus à ARN présentant différents variants a, b et c répartis non uniformément à la surface du globe et même au cœur de l'Europe. En France, on note que les variants CPV-2b et c sont les plus fréquents (Decaro et Buonavoglia, 2012).

Une étude réalisée sur 316 chiots met en évidence une prévalence du CPV-2 de l'ordre de 61% dans un élevage sur des chiots en péri-sevrage après analyse des fèces par PCR (Grellet, 2012 ; figure 2).

La contamination peut être directe par voie oro-fécale ou indirecte via le pelage, les objets, les cages... Le virus peut résister dans l'environnement pendant plusieurs mois. La transmission verticale n'a pas été décrite. Les matières virulentes proviennent des chiens et des chats infectés (cliniquement ou non) qui excrètent le virus dans les fèces et leur pelage via le léchage. L'urine et la salive des animaux présentant des signes cliniques sont aussi infectantes (Lecocq, 2007).

La période d'incubation est de 3 à 7 jours. Il existe une forme entérique qui atteint surtout les chiots entre 2 et 6 mois et qui se manifeste par léthargie, prostration, anorexie, hyperthermie puis vomissements, déshydratation, amaigrissement, douleur abdominale. Dans les 24 heures suivantes, la diarrhée devient hémorragique. La mortalité peut aller jusqu'à 70% chez les chiots (Casseleux, 2009).

La gravité de l'atteinte dépend du titre en anticorps d'origine maternelle au moment de l'infection. En effet, une chienne transfère ses anticorps à ses chiots essentiellement via le colostrum et le placenta : 5% à 10% des Ig retrouvées dans le sérum des chiots âgés de 2 jours proviennent d'une transmission trans-placentaire, le chiot naît avec, alors que 90% à 95% des Ig ont pour origine les tétées colostrales. D'après Moraillon (2012), après la première tétée, le chiot a une sérologie en anticorps anti-CPV2 de l'ordre de 60% du titre en anticorps de la mère.

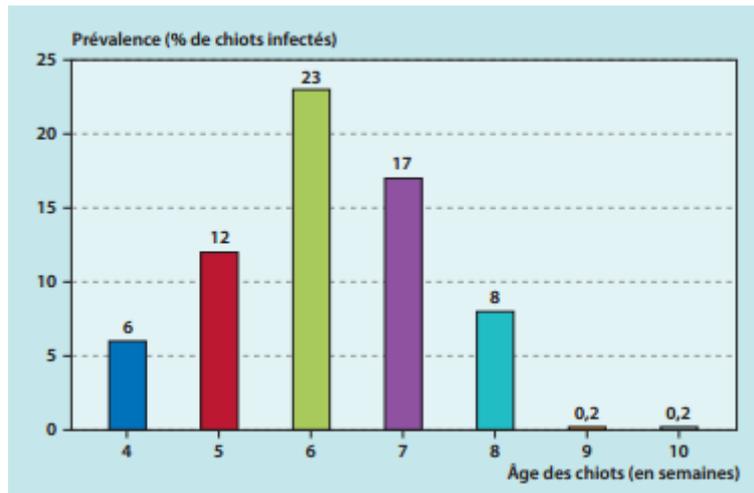


Figure 2 : Prévalence du parvovirus canin de type 2 en fonction de l'âge dans un élevage infecté d'après Grellet (2012)

Certains facteurs prédisposent à l'apparition d'une parvovirose : l'âge (lors du sevrage, il y a mise en place d'une nouvelle flore digestive, ce qui augmente l'index mitotique des cellules ; or, les cellules cibles du CPV2 sont celles qui sont en division), le statut immunitaire, la présence de maladies concomitantes, la race (les Doberman, Rottweiler, American Staffordshire terrier, Berger allemand semblent plus sensibles), le stress (Casseleux, 2009).

Le mécanisme physiopathologique est décrit sur la figure 3.

Afin de lutter contre cette maladie épidémique, différents protocoles de vaccination ont été mis en place, réalisables dès 3 semaines d'âge sous forme intra-nasale.

4) Les coronavirus et rotavirus

Les affections respiratoires avec des virus de type coronavirus peuvent coexister avec le parvovirus de type 2. L'infection au coronavirus de type respiratoire seul n'entraîne que des symptômes respiratoires subcliniques légers. Cependant, la réplication du virus pourrait être à l'origine de lésions de l'épithélium pulmonaire et de l'escalator ciliaire. Cela permettrait les surinfections bactériennes et on pourrait voir apparaître une trachéo-bronchite avec des signes respiratoires marqués (Buonavoglia et Martella, 2007).

Il existe également un coronavirus à visée entéropathogène : le Canine enteric coronavirus. L'infection classique est restreinte au tractus digestif. Il semblerait que la prévalence de ce virus soit largement sous-estimée étant donné que la plupart des animaux guérissent spontanément dans les 8 à 10 jours (Greene, 2006). Les signes observés sont ceux d'une gastro-entérite : anorexie, vomissements, diarrhée très liquide orange et malodorante, déshydratation. Les animaux meurent rarement suite à une coronavirose. Si c'est le cas, il y a souvent une infection concomitante (Tennant et al, 1991).

Des vaccins vivants atténués et inactivés sont disponibles aux Etats-Unis (Greene, 2006). Cependant, comme les coronaviroses sont souvent des affections bénignes qui se résolvent seules, l'utilisation de ce vaccin est inutile, même en élevage (Bergues et Bertagnoli, 2003).

Toutefois, lorsqu'il « cohabite » avec d'autres virus du type parvovirus, il semblerait que le coronavirus entraîne des mortalités élevées (liées à l'infection par CPV-2 et amplifiées par l'affection concomitante avec le coronavirus), le recours au vaccin contre les coronaviroses pourrait donc dans ce cas-là s'avérer utile en limitant les effets du CPV-2. Les maladies infectieuses sont donc une cause majeure de mortalité précoce chez le chiot. On comprend alors tout l'intérêt de contrôler ces agents

infectieux afin de réduire au maximum la charge environnementale pour le jeune. Ceci passe par une bonne hygiène de l'élevage et des locaux, une surveillance de la mère à l'approche de la mise-bas, un environnement adapté au nouveau-né notamment en température et au besoin, une stimulation des défenses immunitaires maternelles via des protocoles de vaccination.

Une autre façon de prévenir le chiot contre ces infections serait de lui apporter une réserve immunitaire riche afin qu'il ait la meilleure réponse immunitaire possible face aux infections. Compte tenu de l'importance des anticorps colostraux, il s'agit donc de favoriser l'ingestion précoce de colostrum de bonne qualité immunologique en quantité suffisante.

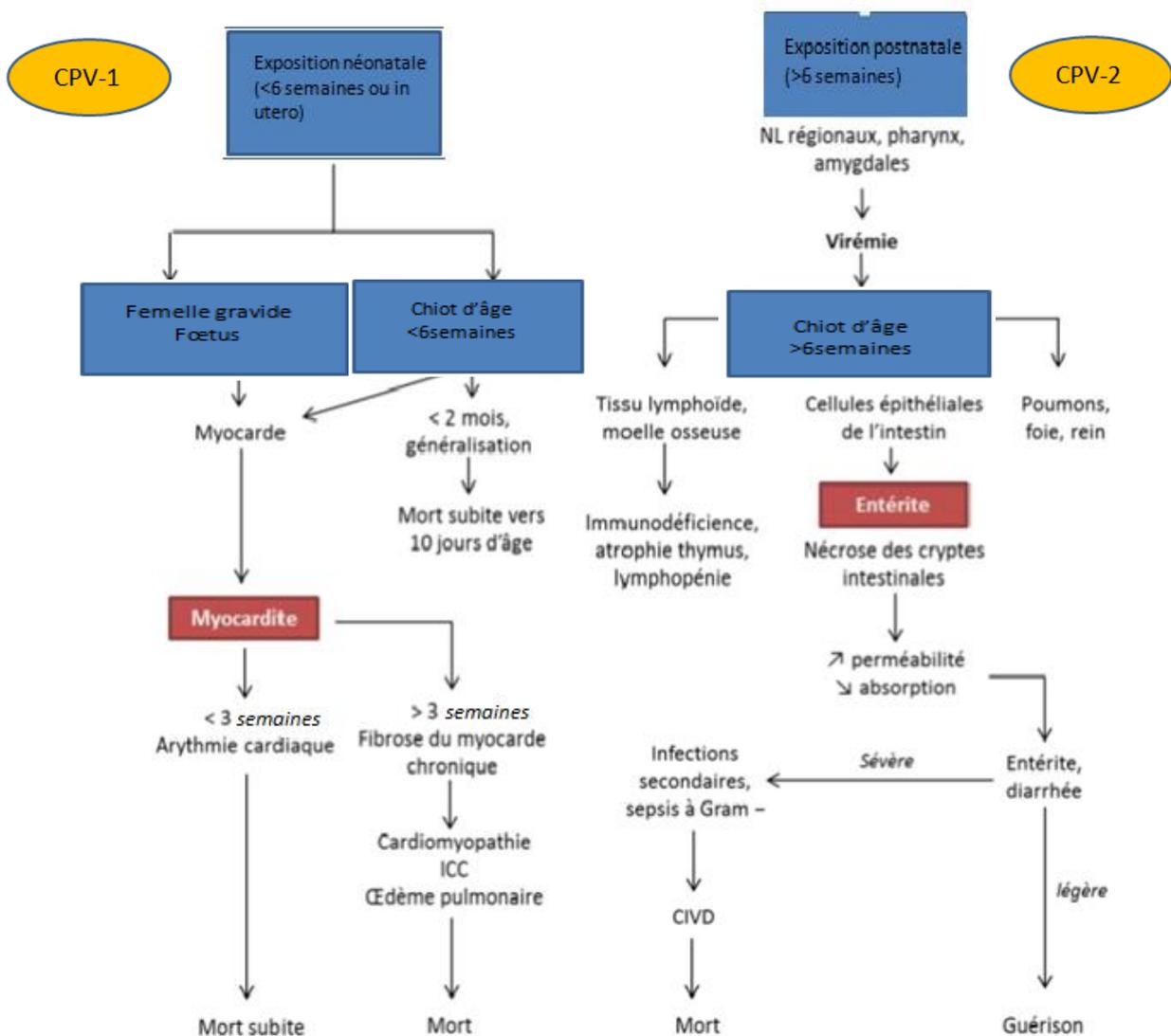


Figure 3 : Pathogénie de la parvovirose d'après Greene (2006)

II- Formation, sécrétion et absorption du colostrum

A- Particularité placentaire et formation du colostrum

Le chiot naît avec un système immunitaire prêt à fonctionner, mis en place lors du développement foetal mais il est tout comme le porcelet, le veau, le poussin, l'agneau presque agammaglobulinémique. Il est donc au moment de la naissance très vulnérable face aux agents

infectieux. La transmission des immunoglobulines se réalise non pas comme chez l'homme par un passage transplacentaire au cours du développement fœtal mais via la prise de colostrum après la naissance. Chez les chiens et chats, seulement 5 à 15% (Boullier, 2003 ; Tizard, 2013) des immunoglobulines de classe G (IgG) sont transférés directement via le placenta. La large majorité des IgG est donc obtenue via le colostrum (Boullier, 2003). Le taux de passage transplacentaire des anticorps maternels vers le fœtus dépend de la structure du placenta (figure 4).

Chez les humains et autres primates, le placenta est hémochorial. Le sang maternel est directement en contact avec le trophoblaste ce qui permet au jeune de naître avec des taux d'immunoglobulines sériques comparables à ceux de sa mère. Chez les chiens et les chats, la placentation est de type endothéliochorial (Tizard, 2013). L'épithélium chorionique fœtal est en contact avec l'endothélium des capillaires maternels. Les circulations maternelle et fœtale sont séparées par 4 couches tissulaires : l'endothélium capillaire maternel, l'épithélium chorionique, le tissu conjonctif et l'endothélium capillaire fœtal (Boullier, 2003). Les ruminants ont quant à eux un placenta de type syndesmochorial : l'épithélium chorionique fœtal est en contact avec le tissu utérin. Chez les porcins et les équins, la placentation est de type épithéliochorial : l'épithélium chorionique fœtal est en contact avec l'épithélium utérin. Dans ces types de placentation, le passage transplacentaire d'Ig est impossible ou extrêmement limité. Ces différentes couches de tissus entraînent une quasi-imperméabilité du placenta expliquant le faible transfert d'anticorps au cours de la gestation. Les nouveau-nés dépendent donc ici entièrement des anticorps reçus via le colostrum (Tizard, 2013).

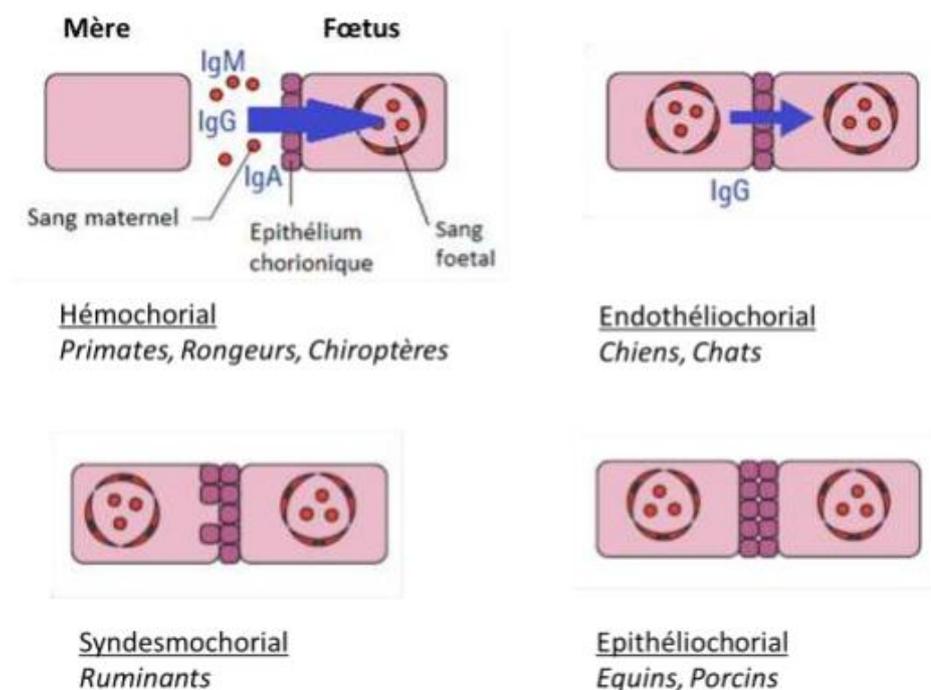


Figure 4 : Différents types de placentation chez l'Homme et les principaux animaux domestiques d'après Day et Schultz (2011)

Chez les chiennes, le colostrum se forme dès le dernier tiers de la gestation. Il est élaboré et stocké dans la mamelle. Il est sécrété lors des 24 à 72 heures qui suivent la mise-bas. Au moment du part, le colostrum est sécrété au niveau des glandes mammaires. En parallèle se produisent des changements hormonaux majeurs chez la chienne : diminution rapide de la progestéronémie, augmentation des œstrogènes et augmentation significative de la prolactinémie et de cortisolémie. Les œstrogènes jouent un rôle clé dans la sécrétion du colostrum : ils sont à l'origine de la mise en place de nouvelles cellules épithéliales mammaires possédant des récepteurs à forte affinité pour les immunoglobulines (Ig) (Delouis, 1978 ; figure 5). Une diminution du ratio progestérone/prolactine

serait à l'origine de l'activité sécrétoire intra-alvéolaire des acini mammaires et donc de la sécrétion du colostrum.

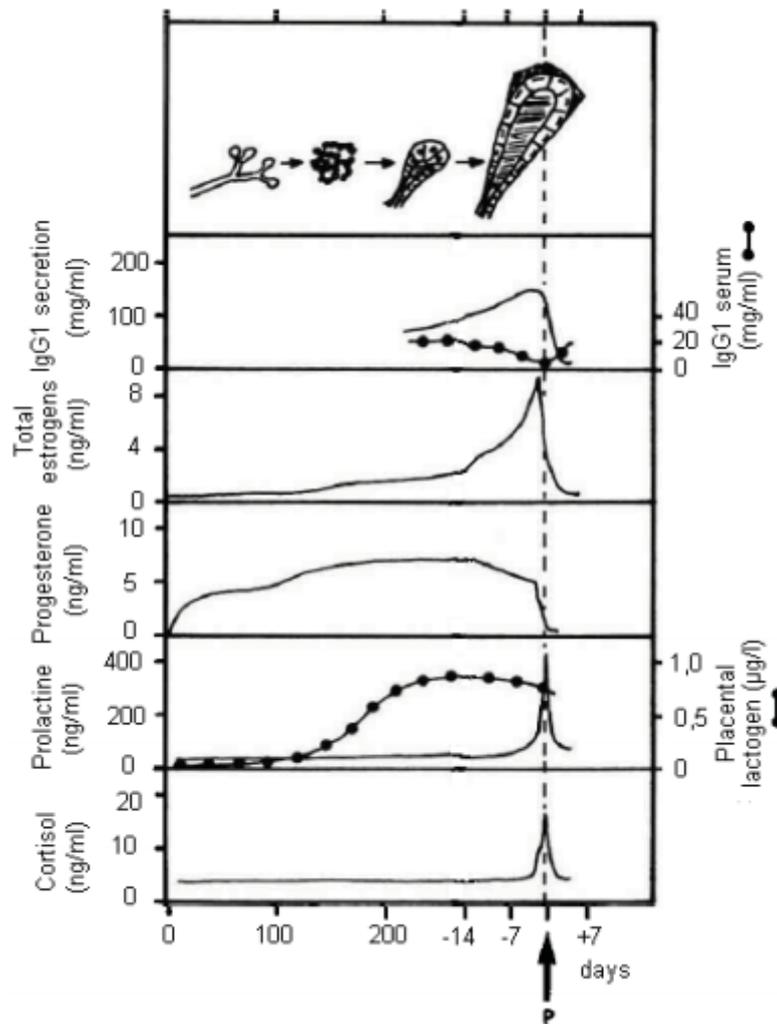


Figure 5 : Cinétique des dosages hormonaux, développement mammaire et dosage des Ig sériques chez la vache, d'après Delouis (1978) (*P=mise-bas*)

B- Composition du colostrum

La composition détaillée du colostrum dans l'espèce canine est mal connue, avec de fortes variations selon les auteurs. En plus des composés ordinaires du lait, tels que protéines, acides aminés, glucides, lipides, nutriments (minéraux, vitamines) et eau, le colostrum contient des immunoglobulines (Ig) en quantité importante, des hormones et des cytokines. Il contient également des antitrypsines qui protègent les IgG de la dégradation protéolytique dans le tube digestif et qui contribuent à une plus grande absorption de l'hormone de croissance (GH). Le lait remplace progressivement le colostrum après la mise-bas et la transition est complète dès le troisième jour post-partum (Adkins et al, 2001 ; tableau 5).

C- Rôle du colostrum – Notion de transfert passif d'immunité

Le colostrum a un rôle multiple. Tout d'abord, il apporte l'hormone de croissance à l'origine de la maturation du tube digestif des chiots en favorisant l'acquisition et le développement de leur

équipement enzymatique digestif. Il permet par ailleurs, l'élimination du méconium par son activité laxative. De plus, il apporte des protéines, des acides aminés importants pour le métabolisme énergétique du chiot dans ses premières heures de vie, évitant une hypoglycémie et une hypothermie qui peuvent être fatales. Enfin, chose à laquelle on s'intéressera ici, il assure le passage des immunoglobulines de la mère à ses chiots et permet un transfert d'immunité systémique et locale digestive.

	Colostrum	Lait
Protéines (g/L)	80 à 143	75
Lactose (g/L)	10 à 44	30 à 58
Lipides (g/L)	24 à 130	25 à 130
Humidité (%)	88	77,3 à 85
Energie brute (kcal/L)	640 à 1800	1460
Calcium (mg/L)	360 à 980	1880 à 2400
Phosphore (mg/L)	935	1400 à 1800
Fer (mg/L)	3,7 à 1,3	0,7 à 10,5
Cuivre (mg/L)	1,3 à 1,8	0,11 à 1
Zinc (mg/L)	5 à 10	4,1 à 16
Magnésium (mg/L)	59 à 128,5	85,8 à 128
Manganèse (mg/L)	0,15	0,30

Tableau 5 : Comparaison des compositions du lait et du colostrum chez la chienne, d'après Adkins et al (2001). *Le lait est prélevé et analysé de J7 à J42 post-partum et le colostrum est prélevé et analysé à J1 et J3 post-partum.*

Différents types d'immunoglobulines sont retrouvées dans le colostrum. La spécificité des immunoglobulines colostrales dépend de l'exposition antérieure de la mère aux micro-organismes, ainsi que des vaccinations administrées en fin de gestation, et donc de la propre immunité spécifique de la mère.

Chaque Ig présente anatomiquement parlant une région fixant l'antigène (nommée fragment variable) et une région impliquée dans les fonctions effectrices (fragment constant). Dans le colostrum animal, quatre classes d'Ig ont été mises en évidence : les immunoglobulines de classe G (IgG), de classe M (IgM), de classe A (IgA) et de classe E (IgE) (Pastoret 1990 ; tableau 6). Les IgE sont quasiment absentes du colostrum canin.

Les IgG sont les immunoglobulines présentes en majorité dans le colostrum chez la plupart des mammifères. Avec un poids moléculaire de 180 kDa, elles sont les plus petites Ig et peuvent donc plus facilement s'échapper des vaisseaux sanguins. La fonction immunologique des IgG est l'activation de la voie classique du complément et l'agglutination des bactéries.

Les IgM sont présentes en moindre quantité dans le colostrum. Elles ont un poids moléculaire de 870kDa. Leur fonction immunologique est l'opsonisation, la neutralisation des virus, l'activation du complément et l'agglutination.

Les IgA ont pour rôle d'agglutiner les antigènes et de neutraliser les virus. Elles empêchent la formation de liaison entre des pathogènes et les muqueuses.

Une étude de Chastant et al (2013) compare les concentrations en immunoglobulines entre le sérum de la chienne et le colostrum. Elle montre que le colostrum de chienne contient 1,8 fois plus d'IgG que le sérum et 13,6 fois plus d'IgA. Il y a réellement une concentration des Ig dans le colostrum en lien avec sa fonction de transfert d'immunité.

	IgG (g/L)	IgM (g/L)	IgA (g/L)
Colostrum	14 ^[3]	2.17 ^[3]	3.31 ^[3]
Sérum maternel	9.8 ^[1] 9.4 ^[2] 14.4 ^[2]	1.7 ^[1] 1.56 ^[2] 1.45 ^[2]	0.5 ^[1] 0.83 ^[2] 0.79 ^[2]

[1] Heddle et Rowley (1975)
 [2] Herbert et al (1970)
 [3] Norcross (1982)

Tableau 6 : Concentration en IgG, IgM et IgA dans le colostrum et dans le sérum maternel chez la chienne

Le passage des immunoglobulines du sérum de la mère au colostrum ne résulte pas d'un simple mécanisme de diffusion. En effet, il existe au niveau des cellules épithéliales mammaires un transport spécifique dont l'apparition est hormono-dépendante : le récepteur FcRn pour les IgG et PlgR pour les IgA et IgM (Delves et al, 2008). Le récepteur FcRn (récepteur néonatal) se lie au niveau du 2nd et 3^{eme} domaine constant des deux chaînes lourdes de l'IgG, la fixation est sous influence du pH. Il s'agit d'un transfert actif depuis le sang maternel vers les alvéoles mammaires via ce récepteur spécifique. Les IgG se fixent au récepteur FcRn puis sont internalisées par pinocytose dans des vacuoles de transport dans les lactocytes et sont ensuite excrétées par un mécanisme inverse au niveau de la membrane apicale jusque dans le colostrum (figure 6). La quasi-totalité des IgG, 50 à 70 % des IgM et 50% des IgA sont ainsi directement filtrées à partir du sérum (Newby et Bourne, 1977). Le récepteur FcRn est également retrouvé sur les entérocytes du jeune, permettant le transfert des IgG jusqu'à son sang (Kacskovics, 2004).

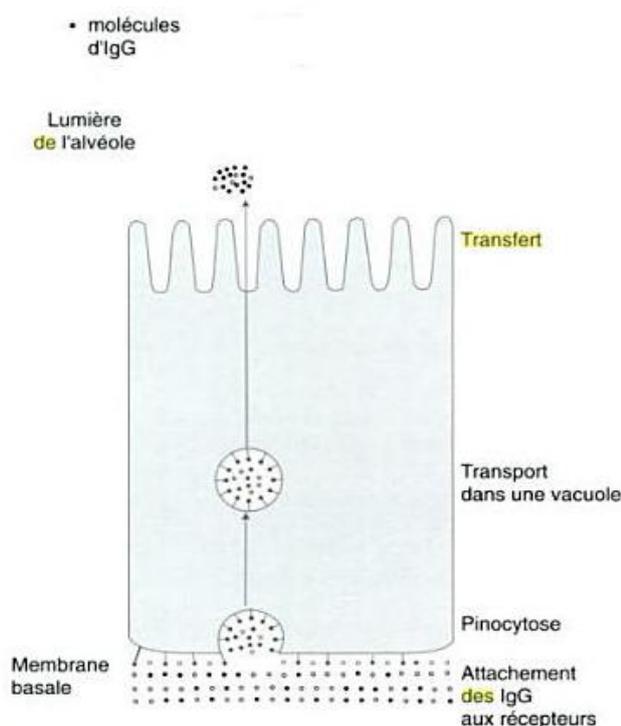


Figure 6 : Mécanisme du transfert sélectif des IgG à travers l'épithélium sécrétoire lors de la formation du colostrum d'après Lascelles (1979)

Les IgA et IgM peuvent également être directement produites par les plasmocytes infiltrés dans la glande mammaire. Chez le porc, 85% des IgM et 40% des IgA sont d'origine sérique, chez les bovins ce sont 50 à 70% des IgM et 50% des IgA (Pastoret 1990). Les IgA et IgM sont transportées via le récepteur à Ig polymérisées (PlgR) avec un mécanisme similaire à celui des IgG.

Le colostrum étant progressivement remplacé par du lait, les concentrations moyennes en Ig varient au cours du développement de la production laitière (figure 7). Les IgG sont peu à peu remplacées par des IgA, on a donc dans un premier temps un transfert au chiot d'immunité systémique avec les IgG qui passe des entérocytes au système sanguin du chiot, puis un transfert d'immunité pour une protection du tube digestif locale avec les IgA.

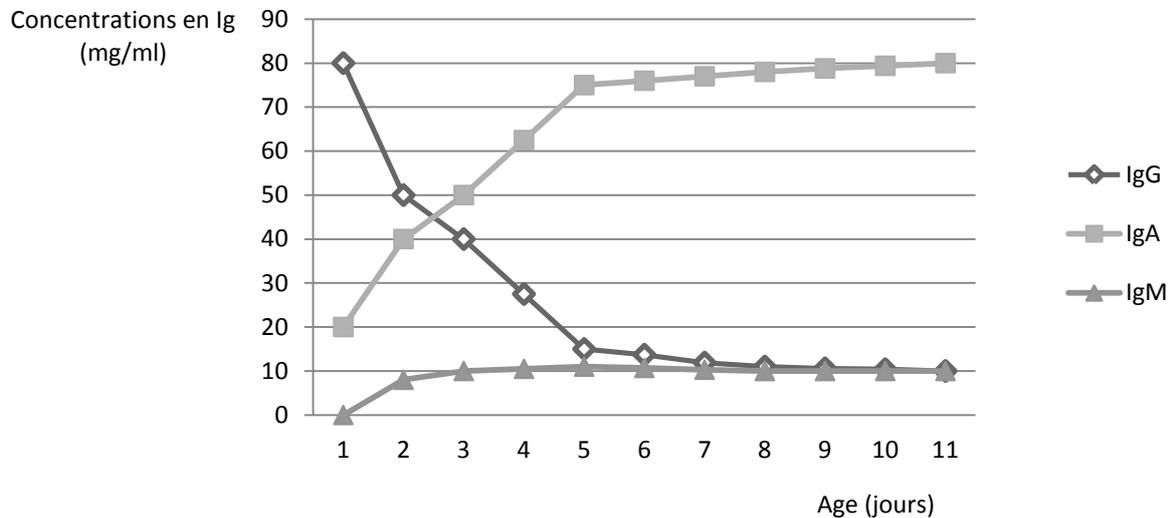


Figure 7 : Evolution au cours du post partum des concentrations en différentes immunoglobulines dans la sécrétion mammaire de chiennes de races diverses (croisés) d'après Heddle et Rowley (1975)(n=14)

La transition entre le colostrum et le lait est liée à la disparition des récepteurs à Ig sur les cellules acinaires chez la mère, ce qui aboutit à la fin du transfert immunitaire de celle-ci à ses chiots. Chez la brebis, des coupes histologiques réalisées à partir de biopsies mammaires entre 24 jours avant la mise-bas et 75 jours après, montrent une diminution du nombre de récepteur FcRn dès J1 post-partum jusqu'à J14, puis une présence bien moindre de J14 à J75 post-partum. Le nombre de récepteurs est le plus important dans les 15 derniers jours de la gestation (Mayer et al, 2002). Chez la chienne, cette disparition des FcRn se réalise entre 2 et 7 jours après la mise-bas et est sous influence hormonale (N'Guyen et al, 2001). Barrington et al (2001) mettent en évidence chez les bovins une corrélation entre l'augmentation de la prolactinémie en post-partum et la diminution de l'expression des gènes codant pour FcRn. N'Guyen et al (2001) prouvent qu'une ovariectomie chez des souris en post-partum entraîne une fermeture des jonctions mammaires dans un délai de $13,6 \pm 1,5$ h après la chirurgie ; la chute brutale de progestérone est à l'origine de cette fermeture. Toutefois, la nécessité d'autres interventions hormonales telles que celles de la prolactine ou du cortisol est nécessaire pour que la fermeture des acinis mammaires et la disparition des FcRn soient effectives (N'Guyen et al, 2001).

D- Notion de barrière intestinale chez le chiot

Après leur ingestion via le colostrum, les Ig sont plus ou moins absorbées par le tube digestif du chiot. Le transfert des Ig colostrales vers le sang du nouveau-né est le résultat d'un transport de macromolécules transitoire et non sélectif à travers l'épithélium de l'intestin grêle. Les macromolécules sont absorbées par des vésicules de micropinocytose du côté apical et sécrétées dans les canaux lymphatiques du côté de la membrane basale. A la naissance, environ 40% des Ig ingérées sont absorbées par le chiot (figure 8 ; Chastant et al, 2013). Cependant ce transfert n'est possible que pendant une courte durée après la naissance.

En effet, il existe chez le chiot tout comme chez les autres mammifères une limite temporelle à l'absorption intestinale des Ig, on nomme ce phénomène « fermeture de la barrière intestinale ». Ce phénomène est défini comme « l'arrêt de l'absorption des macromolécules par la paroi intestinale chez le nouveau-né » (Leece et Morgan, 1962).

La fermeture de la barrière débute dans les heures suivant la naissance (figure 8). Dès 4h de vie, l'absorption intestinale des Ig est moindre par rapport à la naissance et elle devient nulle dès 24h de vie (Chastant et al, 2013). Elle semble intervenir plus tôt que chez d'autres espèces telles que le veau qui présente une réduction de 50% dans l'absorption 12h post-partum contre 4h chez le chiot (Stott, 1979 ; Chastant et al, 2013).

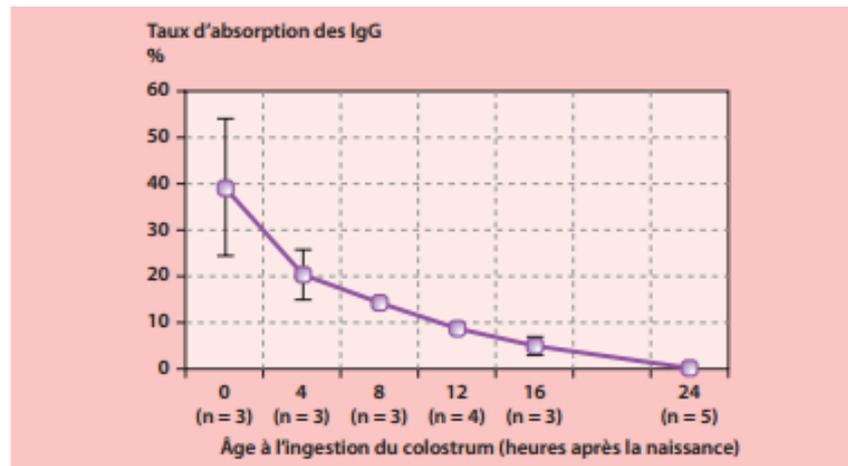


Figure 8 : Efficacité de l'absorption des immunoglobulines G selon le temps écoulé depuis la naissance d'après Chastant et al (2013)

Les facteurs responsables de cette fermeture intestinale ne sont pas encore clairement définis. Plusieurs facteurs semblent entrer en jeu : le développement des enzymes digestives et l'installation de la flore, la perte du récepteur FcRn par les entérocytes du nouveau-né remplacés par des cellules plus matures.

Après l'absorption du colostrum, les concentrations en Ig du nouveau-né sont similaires à celles de leur mère. Au cours du temps, les Ig maternelles sont progressivement dégradées. Les immunoglobulines atteignent ainsi 1-3% de leur valeur maximale en 30 jours à J2 chez le chien, 40 jours chez le mouton, 60 jours chez le porc, 100 jours pour le bovin et 115 jours pour le cheval (Chappuis, 1998).

La réponse immunitaire du nouveau-né se met en place au fil du temps grâce à la stimulation de son système immunitaire par le milieu extérieur. Cette stimulation est retardée par la présence d'hormones immunosuppressives transmises via le colostrum à la mise-bas et des Ig maternelles qui jouent le rôle immunitaire que devraient jouer les Ig acquises par le nouveau-né. Il est donc inefficace de vacciner le chiot tant que son sérum contient des quantités importantes en anticorps d'origine maternelle (AOM), ceux-ci bloquant la réaction immunitaire du chiot. Il existe ainsi une phase durant laquelle le taux d'immunoglobulines maternelles a fortement diminué mais où le système immunitaire du jeune n'a pas encore été suffisamment stimulé pour être autonome. Cette phase est dite critique pour le jeune. De façon générale, elle apparaît vers 6 semaines de vie, ce qui explique que l'on commence à vacciner les chiots dès cet âge-là.

Différentes méthodes sont disponibles afin d'évaluer le transfert passif de l'immunité : on peut doser les Ig avec des techniques directes par immunodiffusion radiale sur gel d'agar ou par test ELISA à partir du sérum des chiots. Cependant, ces tests ne fournissent que des réponses tardives. Il existe une méthode utilisable en clinique pour évaluer si un chiot a bu ou non du colostrum. En effet, il

existe une relation entre un taux sérique élevé en phosphatase alcaline lipase (PAL) et en γ glutamyl-transférase (GGT) et l'ingestion de colostrum. En effet, le colostrum étant très riche en PAL et GGT, ces enzymes sont absorbées en même temps que les Ig et pourraient donc être les témoins de la bonne prise colostrale (Hoskins, 2001). L'inconvénient de ces dosages est d'une part qu'ils ne permettent pas de corréliser les taux enzymatiques avec la quantité d'immunoglobulines absorbées et circulantes (Center et al, 1991) et que l'origine ostéoblastique des PAL ne peut être totalement exclue chez le jeune.

Une autre technique consiste à évaluer le déficit colostrale en mesurant à l'aide d'un réfractomètre les protéines contenues dans le sérum des chiots ou dans le colostrum si l'on souhaite en apprécier la qualité. En effet, il existe une relation linéaire entre les taux de protéines totales sériques et les taux d'immunoglobulines circulantes, ce qui permet d'évaluer quantitativement le transfert d'immunoglobulines de la mère à ses chiots. Des dilutions peuvent être nécessaires afin d'obtenir une mesure dans le cadre de lecture du réfractomètre. Des réfractomètres spécialement conçus pour évaluer les immunoglobulines colostrales sont commercialisés chez les chevaux (Colotest^R).

Chez le poulain, il existe plusieurs tests permettant d'évaluer le transfert colostrale sur le sérum : SNAP Foal IgG TestND (Idexx, Westbrook, ME, USA) et FoalCheckND (Centaur, Overland Park, Kansas, USA). Le test rapide de chez Idexx permet de connaître le statut immunitaire du poulain grâce à un code couleur permettant de différencier des taux d'IgG < 400 mg/dl et > 800 mg/dl. Aucun test similaire n'est encore commercialisé pour les chiots.

E- Effets des immunoglobulines sur la morbidité, la mortalité et la croissance néonatale et pédiatrique

Les immunoglobulines sont destinées à protéger un individu en neutralisant des pathogènes spécifiques. Leur lien avec la résistance des individus et donc leur morbidité et leur mortalité semble évident.

La mortalité chez les veaux qui bénéficient d'un transfert colostrale avant la fermeture de la barrière intestinale est de 3,9 %, alors qu'elle monte à 13,3 % si les veaux restent agammaglobulinémiques (Brignole et Stott, 1980)(n=983 veaux). La morbidité et la mortalité avant le sevrage sont plus importantes chez les veaux ayant une concentration sérique en Ig inférieure à 800 mg/dL à J1 comparés à ceux chez qui la concentration est supérieure à 1600 mg/dL (Wittum et Perino, 1995 ; tableau 7).

Amalric (2011) met en évidence des associations similaires entre le taux circulant d'IgG et la mortalité et la morbidité chez des agneaux durant leur période néonatale et pédiatrique (figure 9). L'analyse a été réalisée sur les seuls agneaux en allaitement maternel. Les agneaux malades ou morts avant 40 jours d'âge avaient, en moyenne, des concentrations plasmatiques en IgG significativement inférieures (test de Student, $p = 0,0037$) aux agneaux élevés sans symptômes avant 40 jours (figure 9). Cette différence est encore plus nette si l'on compare uniquement les agneaux décédés ($n = 15$, $m = 15,65 \pm 11,27$ g/L) avec les agneaux vivants à 40 jours ($n = 98$, $m = 25,05 \pm 9,6$ g/L) ($p = 0,0008$).

Des résultats similaires liant le transfert d'immunité aux taux de morbidité et de mortalité ont été mis en évidence par Mila et al (2014) chez le chiot (figure 10).

Le transfert immunitaire passif évalué par la concentration en IgG à 2 jours de vie (J2) a un lien avec la mortalité chez le chiot. Environ 60% des chiots ayant une concentration en IgG inférieure à 230mg/dl à J2 survivent jusqu'à leur 50^{ème} jour contre 94% des chiots ayant des taux en IgG supérieurs. Une concentration en IgG de 230mg/dl est considérée dans cette étude comme la valeur seuil pour définir si le transfert a été ou non suffisant. D'autres études sont nécessaires afin de confirmer cette valeur. Vingt pour cent des chiots seraient en déficit d'IgG à 2 jours de vie (Mila et al, 2012).

Concentrations sériques en IgG à J1			
	<800 mg/dl	800-1600mg/dl	>1600mg/dl
Nombre de veaux	60	20	183
Morbidité néonatale (%)	25	10	4,9
Morbidité pédiatrique (%)	33,3	35	13,7
Mortalité néonatale et pédiatrique (%)	8,3	1,6	0

Tableau 7 : Taux de morbidité et de mortalité en fonction du transfert passif d'immunité colostrale, objectivé par les concentrations en IgG à 24h de vie chez le veau d'après Wittum et Perino (1995) (n=263)

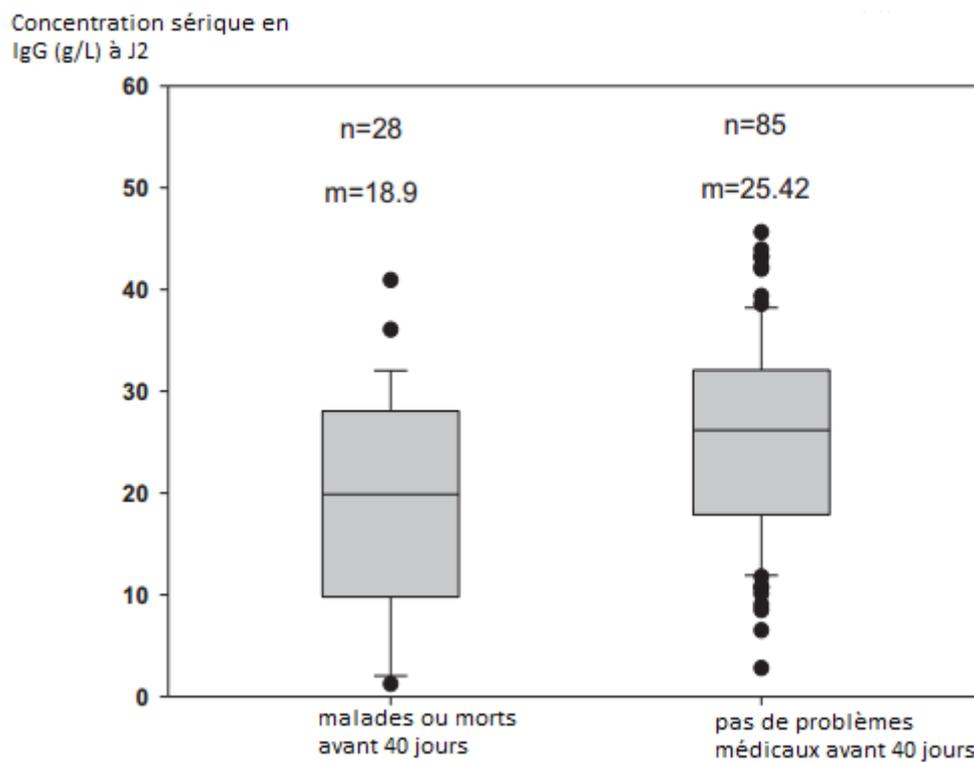


Figure 9 : Relation entre les concentrations sériques en IgG à J2 et la morbidité et mortalité de J0 à J40 chez l'agneau d'après Almaric (2011)

Nombre de chiots vivants (%)

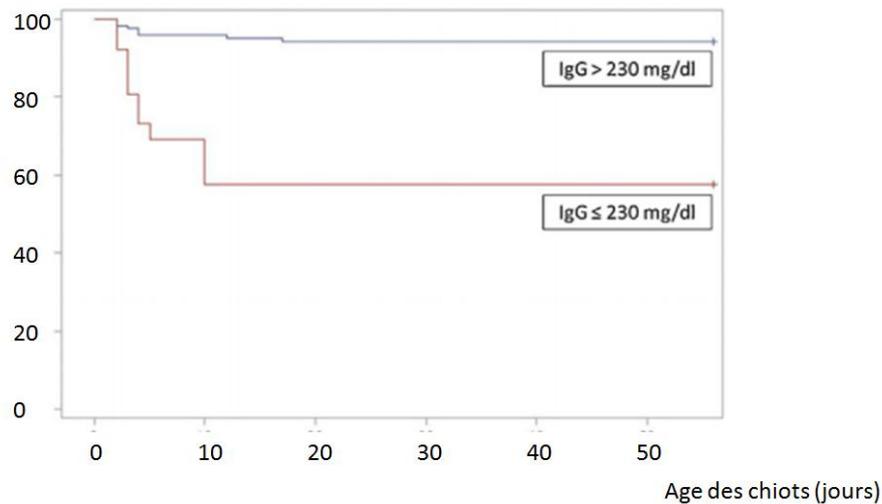


Figure 10 : Relation entre la concentration circulante d'Ig à J2 chez le chiot et la mortalité d'après Mila et al (2014) ($n=123$)

Un lien entre le transfert passif et la croissance a également pu être observé. Moraes et al (2000) montrent que des veaux ayant eu un défaut de transfert d'immunité passive présentent des gains de poids moindres jusqu'au sevrage (1kg de gain par jour versus 1,100 kg chez les veaux ayant reçu suffisamment d'IgG) mais également plus tard (différence visible jusqu'à 16 mois). Ferrari et al (2014) montrent qu'un apport supérieur à 250 g de colostrum est directement lié à la croissance du porcelet entre J0 et J42 (1 kg supplémentaire à J42 par rapport aux porcelets recevant moins de 250g de colostrum à la naissance) (figure 11).

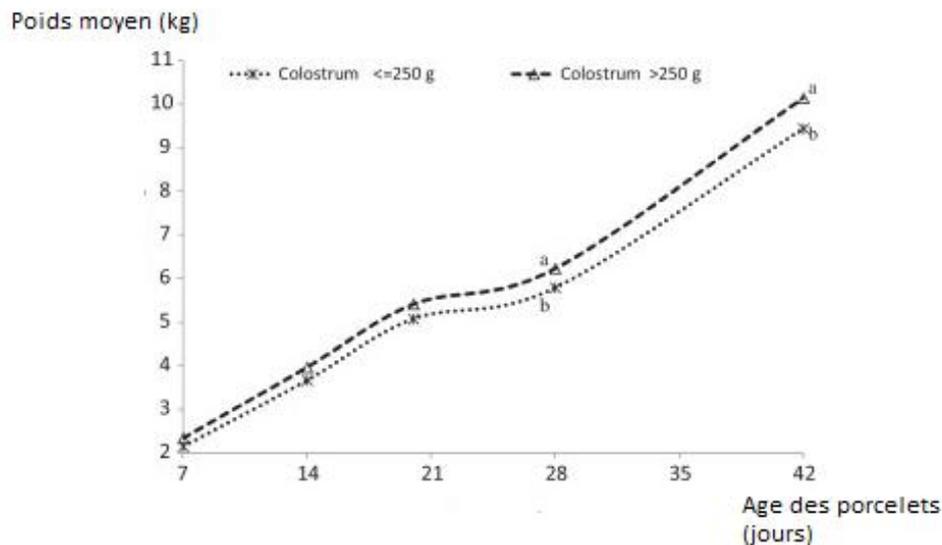


Figure 11 : Effet de la quantité de colostrum absorbé à la naissance sur la croissance de J0 à J42 sur 556 porcelets d'après Ferrari et al (2006)

Massimi et al (2006) étudient ce lien entre le transfert passif et l'immunité acquise par les agneaux via le colostrum (mesure des concentrations sériques en IgG à 24h de vie) et la croissance de ceux-ci jusqu'à leur sevrage à 28 jours. La concentration moyenne en IgG à la naissance est de $24,6 \pm 17,5$ mg/ml. Chaque milligramme d'IgG supplémentaire par millilitre dans la concentration sérique en IgG 24 heures après la naissance est associé à un gain de croissance quotidien moyen jusqu'au

sevrage d'environ 1,8g. Cet effet est majeur à J28 où 1 mg/ml d'IgG supplémentaire à 24 heures de vie entraîne un gain de poids supplémentaire de l'ordre de 61 g. Le lien entre le transfert d'immunité colostrale et la croissance est ainsi prouvé. Toutefois, Wittum et Périno (1995) supposent que cette différence de croissance serait un effet indirect du défaut en Ig sur la morbidité, un animal malade ayant tendance plus à perdre du poids qu'à en gagner.

Un déficit en immunoglobulines peut être lié à l'âge du jeune au moment de la première tétée donc à un défaut d'absorption, à un défaut d'ingestion suite par exemple à un part difficile avec des chiots hypoxiques à la naissance, à la qualité/quantité du colostrum qui est fonction du nombre de chiots dans la portée et de la mère, notamment des apports nutritionnels de celle-ci. En effet, d'après Zentek (2005), la prise de protéines, d'acides aminés essentiels et de vitamines A, E ainsi que B est particulièrement importante et affecte la qualité du colostrum chez la chienne. D'après Banchemo et al (2006) étudiant l'effet des apports énergétiques alimentaires sur la qualité du colostrum, des brebis sous alimentées (recevant seulement 70 % des besoins énergétiques quotidiens) pendant les deux derniers mois de gestation, accumulent 2,7 fois moins d'IgG1 (168 ± 48 g) que des brebis correctement alimentées (recevant 100 % des besoins) (451 ± 103 g). Aucune étude n'existe à l'heure actuelle sur l'effet énergétique de la ration de la chienne sur sa production de colostrum.

Sachant que l'on risque même en ayant veillé avant la mise-bas à un statut nutritionnel et vaccinal correct de la mère, d'obtenir des nouveau-nés refusant de téter suffisamment et de souffrir d'un défaut de transfert d'immunité, des solutions alternatives pour apporter des Ig ont été recherchées.

III- Différents types de substitut colostraux

Différentes stratégies ont été développées, notamment chez les animaux de rente où la prise colostrale est un enjeu économique : un animal ayant correctement reçu son colostrum aura une immunité plus forte, sera plus résistant aux agents infectieux et aura une croissance supérieure. Dans un objectif donc économique, différents substituts d'immunoglobulines ont été étudiés et mis en place afin d'optimiser l'acquisition d'une immunité passive suffisante pour limiter morbidité et mortalité.

A- Colostrum frais, congelé et lyophilisé

Il existe tout d'abord des méthodes « naturelles » qui consistent en élevage bovin à prélever du colostrum et à le réfrigérer ou à le congeler afin de réaliser une colostrothèque. Le colostrum excédentaire issu de la première traite de vaches en bonne santé et de préférence multipares est conditionné en petits volumes (1 à 2L) puis congelé à $-20/25^{\circ}$ C. Avant congélation, il faut évaluer la qualité immunologique du colostrum à l'aide d'un pèse colostrum ou d'un réfractomètre afin de ne conserver les colostrums d'excellente qualité immune, généralement ceux contenant plus de 100 g/L d'immunoglobulines. Tout comme pour la réfrigération, la congélation doit avoir lieu dans l'heure qui suit la récolte du colostrum (Ravary et Sattler, 2006). Du colostrum congelé peut être conservé jusqu'à six mois contre une semaine pour le réfrigéré. Ce stockage permet à l'éleveur d'avoir toujours du colostrum disponible et d'en apporter si besoin au veau nouveau-né. De plus, une banque de colostrum interne à l'élevage a l'avantage d'apporter une protection adaptée au microbisme de l'élevage et de valoriser les vaccinations réalisées dans l'exploitation. On pourrait donc imaginer un système identique chez les éleveurs de chiens qui prélèveraient du colostrum par exemple sur une chienne ayant peu de petits ou en cas de mort précoce de la portée, voire après la fermeture de la barrière intestinale de ses propres chiots. Les apports recommandés sont de 9ml de colostrum/100g de chiot pour leur premier jour de vie avec une concentration colostrale en Ig de 15mg/ml (Poffenbarger et al, 1991). Si la conservation ne nécessite pas de technique particulière, la décongélation, quant à elle, doit être réalisée lentement à 56° C maximum pendant 30-40 minutes

(Jones et al, 1987) afin de ne pas dénaturer les immunoglobulines colostrales, l'utilisation du micro-onde est donc à proscrire.

Certains éleveurs ont également mis au point une technique de lyophilisation du lait qui consiste à déshydrater le lait par pulvérisation afin de mieux le conserver. Chelack et al (1993) n'ont pas observé de différence significative entre les concentrations sériques en immunoglobulines des veaux ayant reçu le colostrum lyophilisé et celles du groupe témoin ayant reçu du colostrum frais. Cette technique serait également envisageable en élevage canin si un groupe industriel décidait de produire du colostrum de chienne à reconstituer de la même façon que le lait maternisé. Toutefois, le colostrum canin serait plus difficilement collectable du fait qu'à la différence de l'élevage bovin, il n'existe que très peu de grands élevages canins, et que les quantités produites par les chiennes sont bien inférieures à celles produites par les vaches.

Enfin, il est toujours possible de pasteuriser le colostrum. La pasteurisation représente un moyen de réduire la population bactérienne pathogène contenue dans le colostrum tout en conservant, voire en améliorant, l'absorption intestinale des IgG. Les paramètres de pasteurisation recommandés actuellement sont de 60° C pendant 30 à 60 min chez les bovins (Godden et al, 2003). La pasteurisation permet de conserver des produits traités jusqu'à 30 jours après traitement thermique (la durée de conservation est fonction de la température du traitement) (Van Beneden, 2012).

B- Suppléments colostraux et colostro-remplaceurs

Les succédanés du colostrum sont des produits offrant une source exogène d'immunoglobulines. Ils peuvent constituer une alternative ou un complément à l'utilisation du colostrum dans les élevages ne disposant pas de colostrums de bonne qualité immune ou ne détenant pas de réserves suffisantes de colostrum. Par ailleurs, leur praticité est souvent préférée aux contraintes du testage et du conditionnement du colostrum frais.

Chez les bovins, deux produits issus de sang bovin (sérum ou plasma) ou de sécrétions lactées (colostrum ou lactosérum) existent (Quigley et al, 2001) : les « suppléments colostraux » qui désignent un produit contenant moins de 100g d'IgG par dose et qui sont destinés à être distribué en concomitance avec le colostrum et les « colostro-remplaceurs » qui font référence à un produit capable de fournir une quantité d'IgG supérieure à 100 g d'Ig/dose, ils sont indiqués en remplacement du colostrum (Jones et Heinrich, 2011). L'efficacité de ces produits a été évaluée dans différentes études et les résultats sont le plus souvent décevants (tableau 8). Après administration à des veaux nouveau-nés, l'efficacité des colostro-remplaceurs et des suppléments colostraux a été évaluée à l'aide de trois critères : la quantité réelle d'Ig administrée, les concentrations sériques ou plasmatiques en IgG à 24 ou 48 h chez le veau et l'efficacité apparente d'absorption (EAA) des IgG à 24 ou 48 h (elle correspond au rapport de la quantité en IgG réelle présente dans le sang et la quantité d'IgG administrée). Les valeurs obtenues sont comparées avec celles observées chez des veaux recevant du colostrum naturel (groupe témoin). En moyenne, les colostro-remplaceurs apportent 157 g d'IgG avec une efficacité apparente d'absorption (EAA) de 31 % et des taux sériques d'IgG chez le veau de 12mg/ml. Les suppléments colostraux donnent en moyenne 136 g d'IgG avec une EAA de 19 % et des concentrations sériques en IgG de 9mg/ml (Jones et Heinrich, 2001). Les valeurs obtenues sur des veaux recevant du colostrum maternel sont plus élevées : l'administration moyenne est de 203 g et les concentrations sériques chez le veau d'environ 16mg/ml. Le colostrum reste donc la meilleure source d'IgG. Les suppléments et remplaceurs colostraux administrés seuls ne permettent donc pas un bon transfert de l'immunité passive du fait de la faible quantité d'Ig qu'ils contiennent (30 à 50 % de moins que le colostrum maternel) et, dans le cas des suppléments colostraux de la faible efficacité d'absorption des IgG (12 %). Ces succédanés permettent d'obtenir des concentrations sériques en IgG entre 9 et 11mg/ml, soit moitié moins que celles obtenues avec du colostrum maternel (16 mg/ml).

Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer l'inefficacité de certains produits : des recommandations de doses insuffisantes, une compétition au niveau intestinal entre les IgG et les

autres protéines contenues dans les suppléments colostraux, l'absence ou le déficit en trypsine ne permettant pas de protéger les Ig d'une dégradation par la trypsine au niveau digestif (Quickley et al, 1995).

L'augmentation de la dose de supplément colostrale utilisé donne souvent des résultats décevants. Une étude a ainsi montré que l'administration de 2 repas d'un supplément colostrale issu de colostrum contenant 50 g IgG/dose (soit une quantité totale administrée de 100 g d'IgG) ne suffit pas à assurer un transfert colostrale satisfaisant ([IgG sériques] > 10g/L) (Quigley et al, 2001). Même en doublant les préconisations industrielles, un veau n'atteint jamais à 48h des concentrations sériques en IgG proches de celles obtenues avec un colostrum frais. Les concentrations sont cinq fois supérieures avec le colostrum qu'avec le supplément colostrale (Holloway et al, 2002). Par ailleurs, l'efficacité d'absorption des immunoglobulines contenues dans les suppléments colostraux est variable (6-38 %, Jones et Heinrich, 2011) et est particulièrement faible pour les produits dérivés de colostrum. En revanche, l'absorption des immunoglobulines issues de produits d'origine sanguine (Quigley et al, 2001) est en général assez proche de celle classiquement décrite pour le colostrum naturel (20-35 %).

Toutefois, une étude réalisée sur des 96 porcelets nourris avec différents suppléments colostraux issus de colostrum et de sérum porcin contenant des concentrations en IgG similaires à celles contenues dans un colostrum maternel (obtenu par le mélange du colostrum de 5 truies) ne montre aucune différence dans les concentrations sériques en IgG des porcelets 12h après administration (Campbell et al, 2012). Les défauts d'apport d'IgG avec des suppléments colostraux seraient donc liés à des défauts de concentrations initiales dans les produits reconstitués.

Le recours aux succédanés de colostrum seuls doit donc être envisagé après avoir étudié la possibilité d'utiliser du colostrum frais, réfrigéré, congelé, voire lyophilisé, le transfert d'Ig étant meilleur avec ce dernier. Ils peuvent toutefois être utilisés en complément avec du colostrum afin d'augmenter le pool sérique d'Ig du veau nouveau-né.

Aux Etats-Unis, différents suppléments colostraux sont disponibles pour les chiots tels que Colostrum PlusND (Symbiotics, Orange, CA, USA), Nutri Cal Puppy ReplacerND (Vetoquinol, Fort Worth, TX, USA) ou encore Colostrum CareND (Alta Genetics, Watertown, WI, USA) constitués à base de colostrum bovin. La question se pose ensuite de l'intérêt et de l'innocuité de sources hétérosécifiques de colostrum (voir plus loin).

C- Sérum maternel et sérum hyperimmunisé

Lorsqu'il est impossible d'avoir accès à du colostrum, ou pour compléter l'apport immunologique d'un point de vue systémique, il est également possible d'administrer du plasma sanguin aux nouveau-nés. Cette méthode est mise en oeuvre chez de nombreuses espèces.

En pédiatrie humaine, des préparations à base d'immunoglobulines sériques sont administrées de façon préventive lorsqu'un enfant naît chétif, avec un poids faible ou avant le terme. Leur efficacité a été établie et permet notamment de réduire jusqu'à 6 fois le risque d'apparition d'un sepsis néonatal (Jenson et Pollock, 1997).

Chez les poulains, un produit issu de sérum de juments adultes lyophilisé et purifié, a été administré à 18 poulains nouveau-nés, à raison de 10 mg d'IgG pour 15 kg de poids vif. L'apport par voie orale et ou intra-veineuse permet une augmentation significative des concentrations sériques en Ig dès 2h à 6h post-ingestion/injection si l'apport est réalisé dans les 24 premières heures de vie du poulain. Les concentrations moyennes étaient comprises entre 0,94 g/L et 2,20 g/L d'IgG 2h après l'administration ce qui correspond aux concentrations obtenues sur les poulains nourris au colostrum (1,26g/L). Les concentrations sériques atteintes chez le poulain sont exactement proportionnelles aux quantités administrées dans les 8 premières heures de vie des poulains. Il semble ensuite qu'il y ait un effet seuil avec des concentrations maximales de l'ordre de 4,00 g/L d'IgG, puis une diminution progressive des concentrations au-delà de 24h (Franz et al, 1999).

		Nombre de types de traitements	Moyenne	Maximum	Minimum
Quantité d'IgG administrées (g)	Colostrum maternel	19	203	447	53
	Colostro-remplaceurs dérivés de colostrum	21	126	210	18
	Colostro-remplaceurs dérivés de sérum	30	129	260	53
	Colostro-suppléments dérivés de colostrum	8	157	297	85
	Colostro-suppléments dérivés de sérum	4	96	100	90
Taux sérique d'IgG (mg/mL)	Colostrum maternel	25	16	27	3
	Colostro-remplaceurs dérivés de colostrum	21	11	20	2
	Colostro-remplaceurs dérivés de sérum	30	9	16	5
	Colostro-suppléments dérivés de colostrum	8	10	20	5
	Colostro-suppléments dérivés de sérum	6	9	11	7
Efficacité apparente d'absorption (%)	Colostrum maternel	16	23	36	10
	Colostro-remplaceurs dérivés de colostrum	14	33	51	12
	Colostro-remplaceurs dérivés de sérum	22	25	38	15
	Colostro-suppléments dérivés de colostrum	7	12	26	6
	Colostro-suppléments dérivés de sérum	4	32	38	25

Tableau 8 : Synthèse des résultats obtenus à partir de 26 publications étudiant 90 produits différents (colostro-remplaceurs et suppléments colostraux) sur des veaux nouveau-nés d'après Jones et Heinrich (2001)

Chez les veaux, une étude de Arthrington et al (2000) met en évidence des résultats similaires : les veaux recevant des Ig issues de sérum bovin présentent de meilleures absorptions que ceux ayant ingéré des suppléments colostraux d'origine bovine, avec des concentration en IgG de 4,1 g/L chez les veaux recevant du sérum contre 2,1 g/L pour ceux nourris avec des suppléments colostraux. De plus, les taux de morbidité et de mortalité sont plus faibles chez les veaux recevant du sérum que chez ceux ayant un supplément colostrale : 12,5 % de morbidité et 12,5 % de mortalité (sur 8 veaux) contre 27 % de morbidité et 17,5 % de mortalité (sur 18 veaux) (Arthrington et al, 2000). Les résultats obtenus en terme de morbidité sont meilleurs chez les veaux ayant reçu une administration de sérum que chez ceux ayant été nourris au colostrum (morbidité de 57,1 % sur 7 veaux).

Levy et al (2001) ont cherché à évaluer l'intérêt immunologique chez le chaton du remplacement du colostrum par du sérum provenant de chats adultes sains et vaccinés, administré par voie sous-cutané (SC) ou intra-péritonéale (IP). Les concentrations d'IgG sériques ont été analysées par immunodiffusion radiale le jour de la naissance des chatons, deux jours plus tard, puis 1, 2, 4, 6 et 8 semaines après le part (figure 12). Les chatons supplémentés étaient par ailleurs privés de colostrum.

Les taux d'IgG sériques des chatons complémentés en sérum sont proches de ceux des chatons laissés sous la mère, et ce quelle que soit la voie d'administration du sérum. Cette expérience suggère que l'administration de sérum de chat par voie sous-cutanée ou intra-péritonéale avec une dose totale approximative de 150 mL/kg soit 3,65 mg d'IgG/kg corrige avec succès le déficit en IgG des chatons dépourvus d'alimentation colostrale. Le sérum a été administré par voie parentérale car la dose nécessaire est supérieure à ce que peut ingérer un chaton pendant les 16 premières heures de vie (période d'absorption intestinale). En pratique, cette voie d'administration permet de compenser le déficit même au-delà de la période d'absorption. Il faut cependant dans la mesure du possible être sûr des sources de sérum qui doit être stérile et doivent provenir de chats vaccinés et exempts de maladies et, typer le sérum pour éviter d'administrer du sérum de type B qui pourrait entraîner une isoérythrolyse chez le chaton.

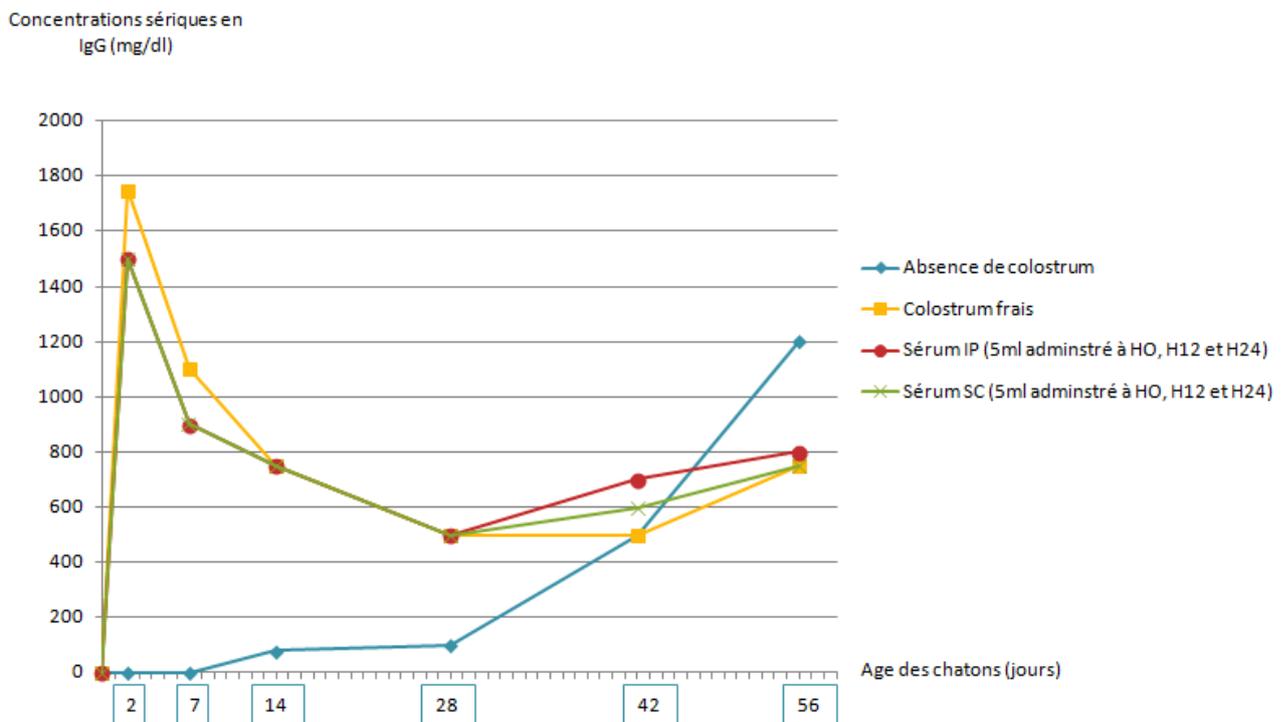


Figure 12 : Evolution du taux sérique d'IgG chez le chat en fonction de la voie d'administration du complément d'après Lévy et al (2001)

L'évolution sérique des concentrations en Ig est similaire chez un chaton ayant reçu du sérum ou du colostrum. En effet, on voit qu'à l'âge de 8 semaines, les concentrations en IgG sont du même ordre de grandeur : elles sont comprises entre 750 et 800mg/dl d'IgG. La protection amenée par le sérum est donc aussi efficace dans le temps que celle du colostrum naturel (Lévy et al, 2001).

Poffenbarger et al (1991) ont réalisé une étude sur 25 chiots nouveau-nés de race Beagle. Ils les ont séparés en trois groupes : le premier a accès au colostrum maternel, le second reçoit 22 ml de sérum/kg par voie sous-cutanée (SC) à la naissance et le troisième 22 ml de sérum/kg *per os* (PO) à l'aide d'une sonde œsophagienne. Les chiots des groupes 2 et 3 sont séparés de la mère durant les

48 premières heures afin qu'ils n'ingèrent pas de colostrum. Les concentrations sériques en IgG des chiots au-delà de 7 jours sont similaires quelque soit la voie d'apport. Toutefois, les concentrations en IgG des premiers jours de vie après administration de sérum sont nettement inférieures à celle obtenue avec un apport colostrale d'Ig. Poffenbarger et al suggèrent que la dose de sérum administrée était peut être trop faible et calculent la dose d'immunoglobulines nécessaire en multipliant la quantité de colostrum que le chiot consomme normalement par la concentration en immunoglobulines du colostrum (on attend qu'ils boivent 88 mL de colostrum par kg pendant les 24 premières heures). Juste après la mise-bas, le colostrum contient 15 mg/mL d'immunoglobulines pour tomber à 2 à 3 mg/mL le deuxième jour. Pour un Beagle, la dose d'immunoglobulines nécessaire est de 160 à 320 mg et la dose administrée dans cette étude est de 123 à 246 mg (le sérum de chien contenant 24,6 mg d'immunoglobulines /mL). Elle est donc dans la limite basse des quantités nécessaires au jeune Beagle (figure 13).

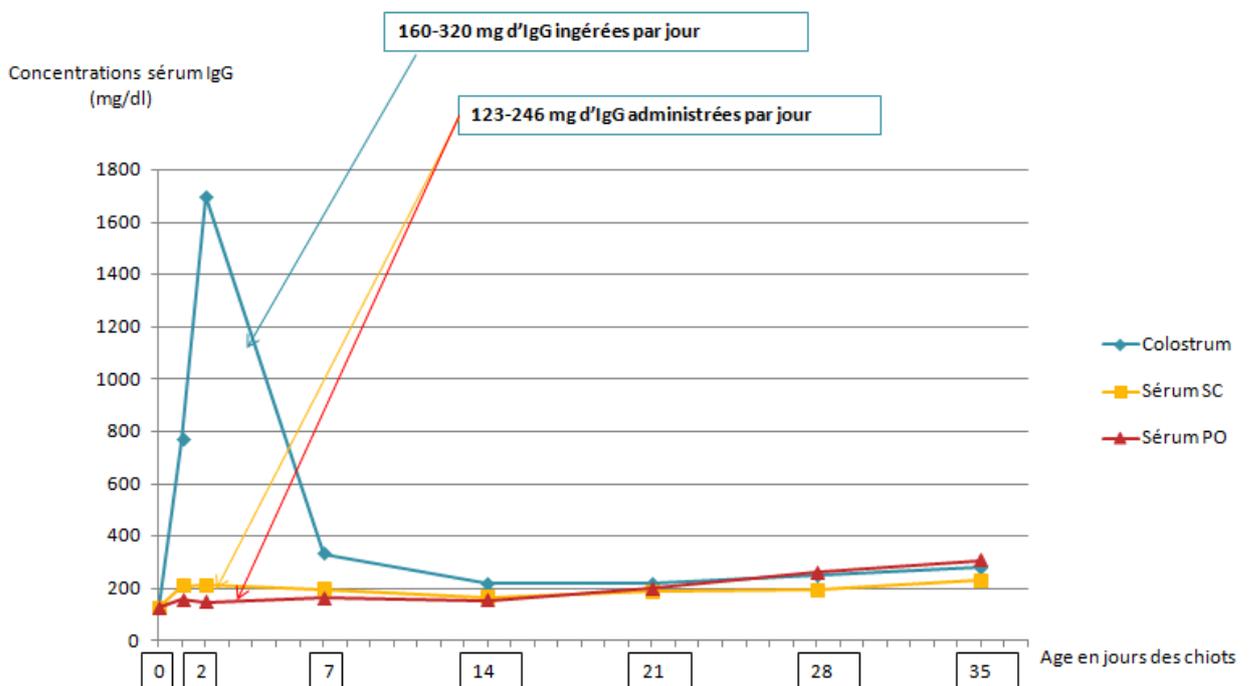


Figure 13 : Evolution du taux sérique d'IgG chez le chiot en fonction de la voie d'administration (sous-cutanée ou *per os*) du sérum d'après Poffenbarger et al (1991)

Bouchard et al (1992) testent différentes voies (sous-cutané et *per os*) et rythmes d'apport en Ig sur 37 chiots nouveau-nés de grande race (figure 14). Les chiots nourris avec 8 mL de sérum à la naissance et 12 heures plus tard ont des concentrations d'Ig supérieures à celles des chiots nourris avec du lait maternisé, mais inférieures à celles des chiots nourris avec du colostrum. Les chiots auxquels on administre 8 mL de sérum par voie sous cutanée à la naissance ont le même taux d'IgG que le groupe nourri deux fois avec du sérum par voie orale. Les chiots ayant reçu 16 mL de sérum par voie SC à la naissance ont les plus hautes concentrations en IgG de tous les groupes supplémentés, mais celles-ci restent inférieures à celles des chiots nourris avec du colostrum. L'alternative la plus intéressante au colostrum est donc l'administration de 16 mL de sérum par voie sous cutanée à la naissance, avec un minimum de douleur pour les chiots si le sérum est administré lentement (Bouchard et al, 1992).

Toutefois, les préparations à base d'immunoglobulines purifiées et les sérums hyper-immuns (obtenus à partir de mère ayant reçu de multiples vaccinations) présentent deux inconvénients

majeurs : la spécificité des anticorps qu'ils contiennent n'est pas forcément adaptée aux agents pathogènes présents dans l'élevage dans lequel ils sont utilisés et pour obtenir des sérums immunisés en quantité suffisantes, il faut prélever des volumes sanguins importants d'un large panel d'individus qui auraient été confrontés au maximum d'agents infectieux possibles. L'idéal serait un produit comme défini ci-dessus et commercialisé pour les animaux de compagnie de la même façon qu'il en existe pour les bovins et équins (Franz et al, 1999 ; Holloway et al, 2002). Toutefois, on doute qu'un tel produit puisse être conçu du fait de la spécificité des pathogènes présents intra-élevage. Ceci est également valable pour les autres espèces, aucun produit commercialisé à grande échelle ne pourra correspondre totalement à la pression infectieuse d'un élevage.

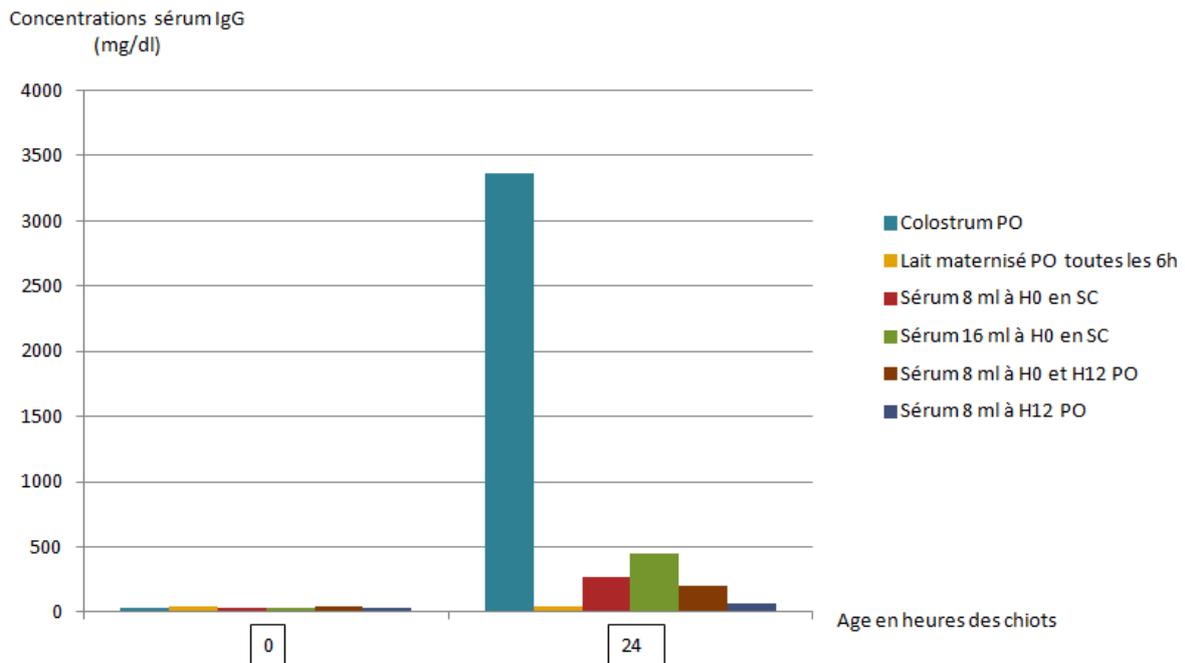


Figure 14 : Evolution du taux sérique d'IgG chez le chiot en fonction de la voie d'administration (sous-cutanée ou *per os*) et de la quantité en IgG du sérum d'après Bouchard et al (1992)

D- Hétérospécificité : peut-on utiliser des Ig d'autres espèces ?

Selon Zoltan (1998), le « colostrum de bovin est biologiquement transférable à tous autres mammifères et même aux humains ». En effet, celui-ci contient tous les composants de la réponse immunitaire humorale et cellulaire bovine et notamment des anticorps et des facteurs du complément. L'avantage du colostrum bovin, d'un point de vue économique, est qu'il est relativement stable en comparaison avec des substances d'origine sanguine et qu'il ne pose pas de difficultés particulières pour sa collecte. Cependant, la grande limite de l'utilisation de ces anticorps d'origine bovine sur des espèces animales différentes est qu'ils ne sont pas spécifiques pour l'espèce en question. Aucun transporteur spécifique ne peut les transférer de la lumière digestive au sang. Ils ne peuvent donc être administrés que par voie orale et permettre une défense immunitaire locale dans la lumière gastro-intestinale contre les pathogènes. Ils n'apportent donc aucune défense immunitaire systémique contrairement au transfert d'immunité passive réalisée via le colostrum spécifique (Korhonen et al, 2000).

De nombreuses études ont montré l'efficacité de l'administration de colostrum bovin dans la prévention des gastro-entérites chez les souris (Ebina et al, 1992), les porcs (Schaller et al, 1992), les enfants et personnes immuno-déprimés (Mietens et al, 1992). Une étude de Giffard et al (2004) vise à évaluer les effets d'une supplémentation en colostrum bovin sur les scores fécaux de 70 chiots

proches du sevrage (il ne s'agit donc plus ici de transfert de l'immunité mais uniquement d'une action locale). 0,5 g de lait en poudre ou 0,5 g de colostrum bovin était rajouté à la ration des chiots. Une amélioration marquée des selles a été notée sur les chiots traités avec l'ajout de colostrum bovin, les scores fécaux étant en moyenne plus élevés sur 10 jours (plus le score est bas, plus les selles s'apparentent à de la diarrhée). Il semblerait donc que le colostrum bovin puisse jouer un rôle local au niveau du tube digestif de chiots en âge d'être sevrés et donc prévenir l'apparition et le développement de gastro-entérite liée au CPV-2. Satyaraj et al (2013) ont également testé l'effet d'un régime alimentaire enrichi en colostrum bovin sur des chiens adultes après vaccination contre la maladie de Carré. Les résultats montrent un effet sur l'immunité locale avec une augmentation des concentrations d'IgA dans les fécès des chiens supplémentés et, plus surprenant, un effet systémique avec une réponse vaccinale meilleure chez les chiens supplémentés (taux d'anticorps spécifiques de la maladie de Carré 2 fois plus élevé chez le groupe recevant le colostrum).

En ce qui concerne le transfert précoce de l'immunité maternelle, il existait il y a une dizaine d'années un substitut de colostrum pour chiots ou chatons sous le nom déposé ImmustrumND (Orsco Laboratoire vétérinaire, Neyron, France). Il s'agissait d'un colostrum en poudre fabriqué à partir d'un colostrum naturel bovin issu de mères de moins de 6 ans, séché à basse température afin de conserver l'intégrité de ses protéines puis enrichi en vitamines. Il possédait des ingrédients nutritionnels (de l'énergie, des vitamines, des facteurs de croissance) et antimicrobiens (lactoferrine, lactoperoxydase, lysozyme, immunoglobulines). Une étude réalisée par le laboratoire produisant l'ImmustrumND a évalué l'intérêt de l'utilisation du colostrum d'origine bovine chez 27 chiots nouveau-nés de race Berger allemand et Terre-neuve. Elle a montré qu'au bout de quinze jours, les animaux nourris avec du colostrum étaient légèrement plus lourds (d'environ 100 g) que ceux nourris avec le placebo (lait maternisé). De plus, la mortalité était plus basse avec l'utilisation de ce produit dans les premiers jours de vie (5% de mortalité totale jusqu'au sevrage avec l'ImmustrumND contre 9% sans le supplément colostrale). Aucune analyse statistique précisant la significativité de ces résultats n'a été publiée.

Dans une démarche identique, Crawford et al (2003) ont comparé les effets de l'administration à des chatons privés de colostrum, d'IgG équine et de sérum de chats adultes par voie sous-cutanée et per os. Leurs objectifs étaient de voir si les IgG équines pouvaient être absorbées aussi bien que les IgG félines par les chatons, et dans un second temps de voir dans quelle mesure ces IgG équines pouvaient agir sur les antigènes afin de les rendre phagocytés par les leucocytes félines. L'étude porte sur 77 chatons nés depuis moins de 12h. Les chatons étaient séparés de leur mère dès la naissance afin d'éviter qu'ils ingèrent du colostrum (figures 15 et 16).

Ces résultats mettent en évidence qu'il y a bien une absorption des IgG d'origine équine par les chatons nouveau-nés au sens où elles peuvent être résorbées du tissu sous-cutané et absorbées dans la lumière intestinale vers le torrent sanguin. L'administration d'un supplément d'IgG équines ou félines est plus efficace par voie sous-cutanée (quantité absorbée plus importante, pic d'immunoglobulines plus élevé, obtention d'une quantité d'immunoglobulines adéquate pour la protection (800mg/dl) selon cette étude, temps de demi-vie et donc durée de protection et plus longs) que par voie orale. Les concentrations obtenues après administration par voie sous-cutanée sont supérieures avec les IgG équines qu'avec les IgG félines bien qu'elles restent inférieures à celles obtenues après ingestion de colostrum. Les moindres concentrations sanguines en IgG après administration par voie orale de celles-ci seraient dues à une saturation des transporteurs macromoléculaires au niveau intestinal, au temps de transit dans l'intestin, à l'absence dans ces préparations d'inhibiteurs de la trypsine normalement présents dans le colostrum, ou enfin au procédé : les immunoglobulines utilisées se trouvaient sous forme de lyophilisats, ce qui a peut-être dégradé plus rapidement les molécules. Ces résultats vont dans le même sens que ceux obtenus par Logan et al (1978) qui testaient un apport d'IgG par voie orale d'origine bovine sur des agneaux.

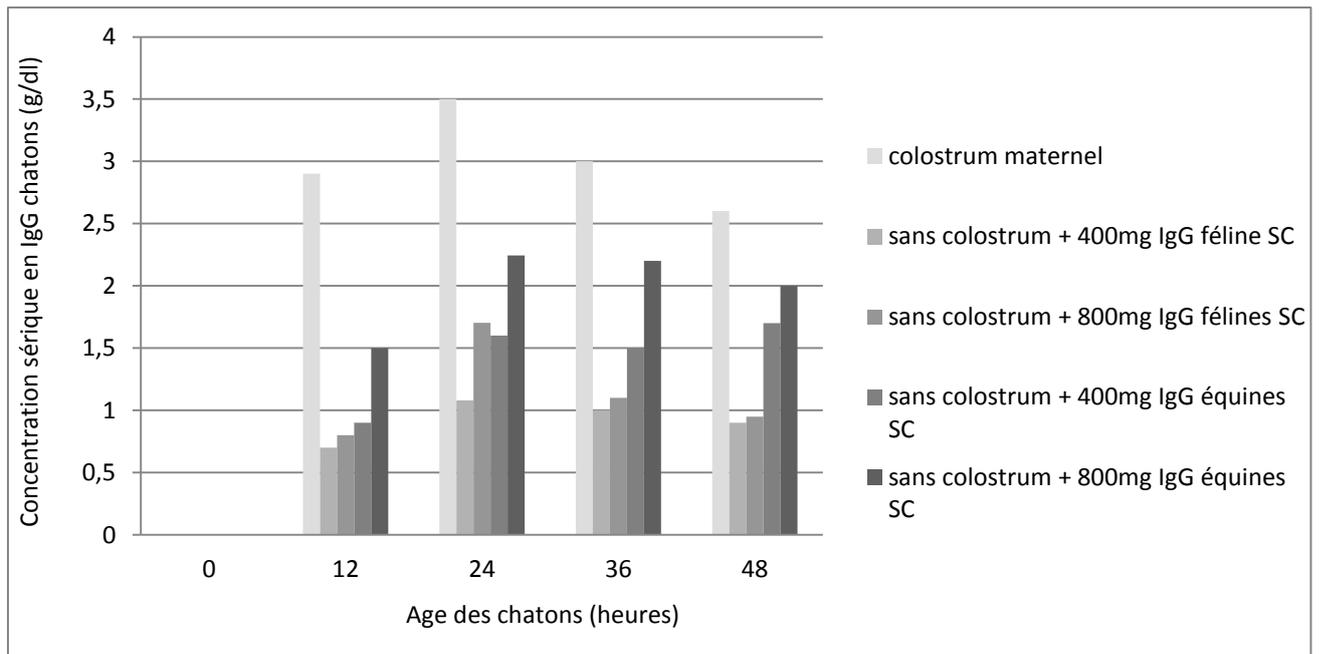


Figure 15 : Evolution des concentrations sériques en IgG des chatons durant leurs 48 premières de vie avec ou sans un apport en IgG par voie sous-cutané d'après Crawford et al (2003)

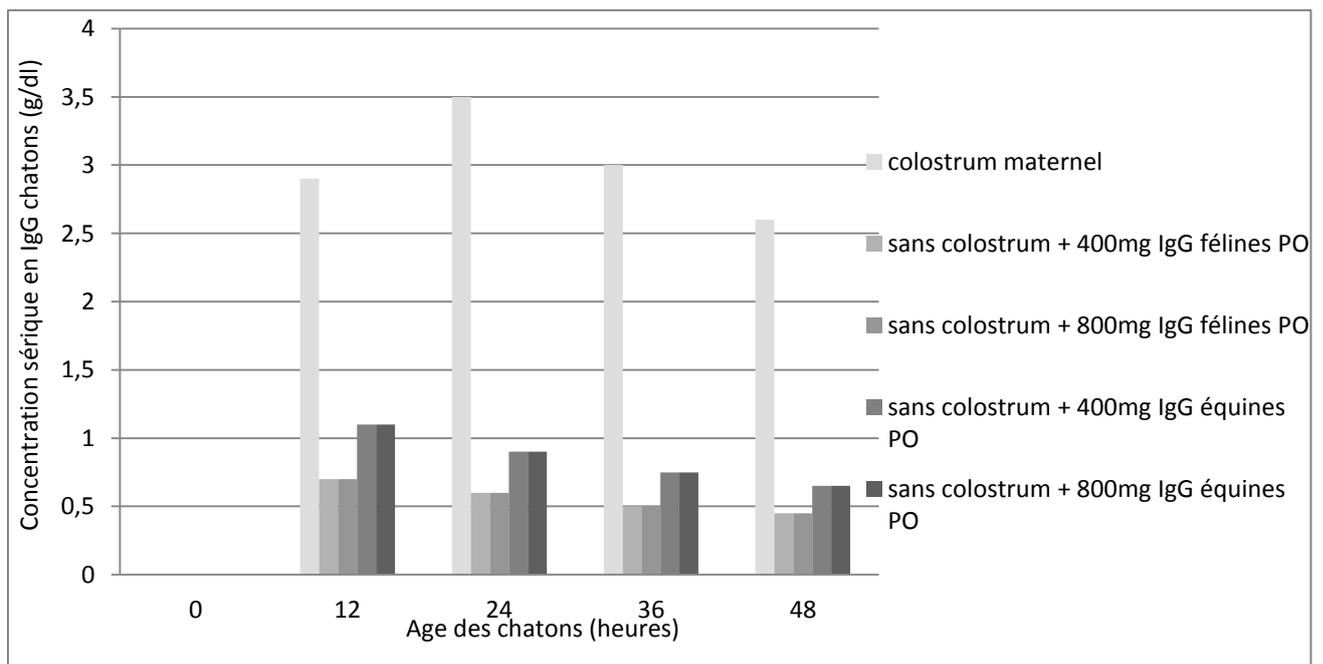


Figure 16 : Evolution des concentrations sériques en IgG des chatons dans leurs 48 premières heures de vie avec ou sans apport en IgG par voie orale d'après Crawford et al (2003)

S'il est possible d'obtenir des concentrations sériques d'IgG équines chez le chaton similaires à celles obtenues après ingestion de colostrum, ces anticorps n'exercent cependant quasiment aucune activité d'opsonisation des bactéries. Pour des concentrations en IgG félines de 20g/L, 60% des bactéries *S.aureus* sont phagocytées *in vitro* contre moins de 20% pour la même concentration en IgG équines. Ces résultats suggèrent que l'utilisation d'IgG issues d'espèces différentes serait d'un intérêt limité dans le traitement des jeunes lors de défaut de prise colostrale (Crawford et al, 2003).

E- L'utilisation des IgY

Une autre option pour améliorer l'immunité s'appuie sur les IgY, immunoglobulines obtenues dans le jaune d'œuf de poule. Le principe est le suivant : les poules sont vaccinées contre un virus ou une bactérie pathogène dans l'espèce de destination (CPV-2 chez le chien par exemple). Le jaune est ensuite séparé du reste de l'œuf puis déshydraté afin de permettre l'extraction des IgY spécifiques induits par la vaccination. Les avantages de cette technique sont nombreux : il s'agit d'une méthode peu invasive, indolore puisque réalisée sur des œufs et enfin productive, une poule produisant en moyenne 17-35g d'IgY par an (Schade et al, 2005).

Les IgY font l'objet d'études nombreuses sur une grande variété d'espèces qui mettent en exergue leur efficacité et l'avenir qu'elles constituent en traitement prophylactique voire curatif dans certains cas.

Dans un premier temps, nous nous intéresserons aux effets des IgY sur l'immunité locale chez les animaux et chez l'Homme.

La poudre d'œuf ou les œufs entiers ont été largement étudiés en médecine vétérinaire comme source thérapeutique peu coûteuse pour le traitement d'affections gastro-intestinales. Un succès thérapeutique a été obtenu par Li et al (2009), des IgY étant utilisées comme traitement curatif des entérites à *E. coli* (K88) chez les porcelets (figure 17). Tous les porcelets sont contaminés par une souche d'*E.coli* (K88) : 30ml d'une solution contenant 10^{11} UFC de bactéries par ml de solution par voie orale (PO). Les effets de la supplémentation sont visibles sur la morbidité (présence de diarrhée) : 4 jours après l'infection, tous les porcelets sont guéris, alors que 100% de ceux du lot témoin positif sont toujours malades voire morts. Cette étude met en évidence un effet bénéfique de la supplémentation en IgY non seulement sur la morbidité (75% à J2 chez le groupe témoin contre 13% chez le groupe supplémenté) et la mortalité (100% dans le groupe témoin contre 0% chez le groupe supplémenté) mais également la croissance des porcelets (gain de poids de 1131 ± 115 g en 4 jours presque aussi élevé que celui d'un lot de porcelets sains, témoins négatifs non représentés sur le graphe, présentant un gain de poids de 1400 ± 129 g). Sunwoo (2002) a démontré l'effet in-vitro des IgY sur *E. coli* O157:H7. Les IgY agiraient en remaniant la structure bactérienne du colibacille en surface entraînant une inhibition de la croissance bactérienne.

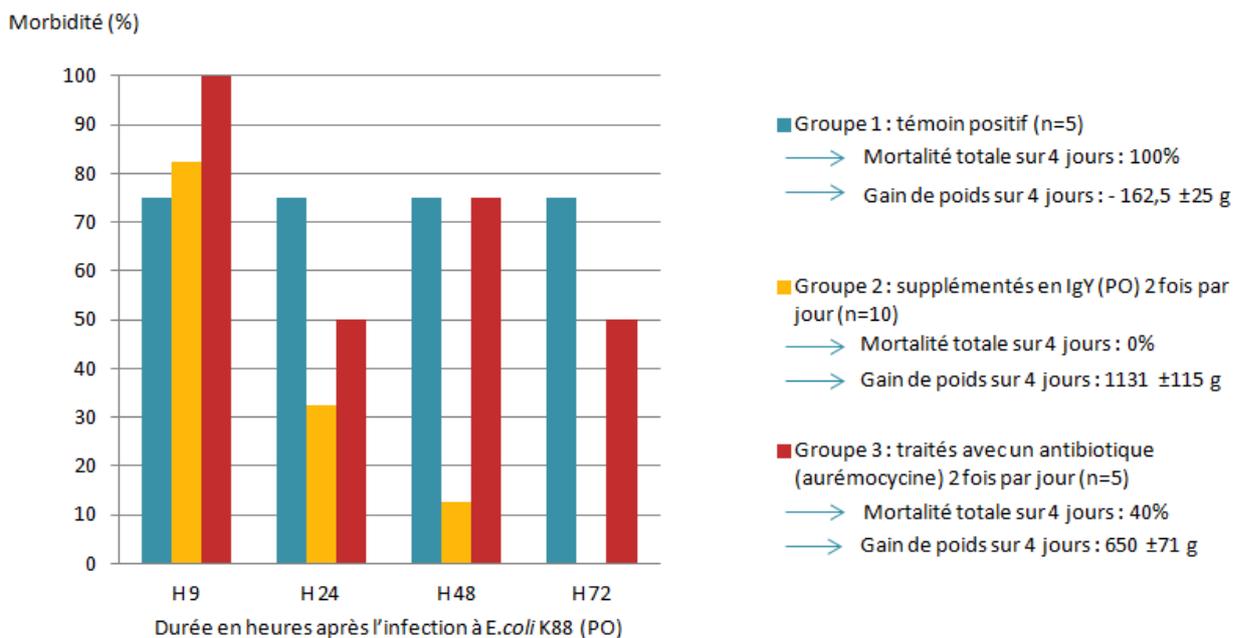


Figure 17 : Effet d'une supplémentation en IgY (0,4 g per os) et d'un traitement antibiotique suite à une infection à *E. coli* K88 chez 20 porcelets de 4 semaines d'après Li et al (2008)

Kweon et al (2000) ont étudié l'efficacité d'un traitement quotidien d'IgY administré trois par jour par voie orale dirigées contre le coronavirus à l'origine de la diarrhée épidémique porcine sur 36 porcelets âgés de 3 jours. Tous les porcelets sont infectés avec une souche identique (LD50) du coronavirus en une seule exposition. Les porcelets supplémentés le sont durant toute l'étude soit quinze jours. Les résultats obtenus durant les quinze jours suivant l'exposition virale montrent une morbidité similaire entre le groupe traité aux IgY et le groupe placebo mais une mortalité nettement inférieure dans le groupe traité de l'ordre de 40% contre 70% dans le groupe témoin (figure 18).

Taux de survie (%)

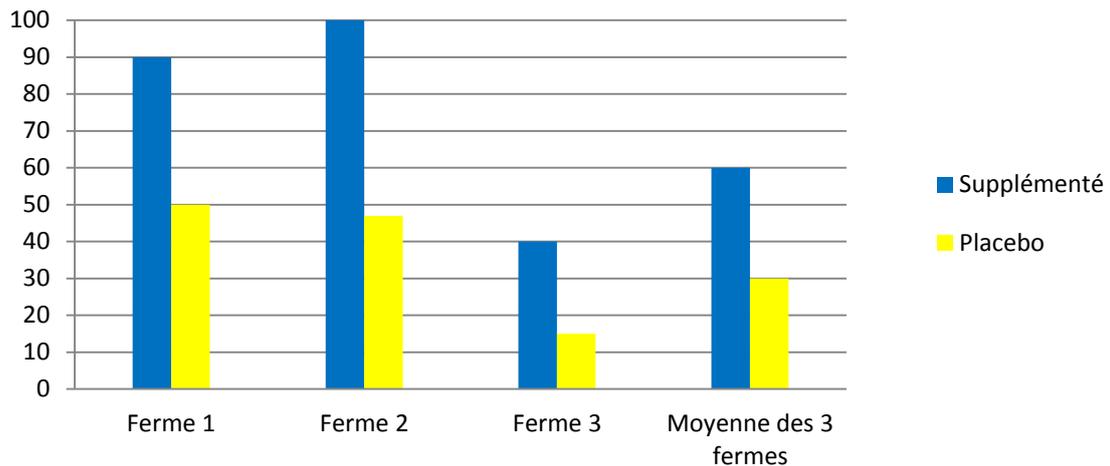


Figure 18 : Taux de survie des porcelets après mise en contact avec le virus de la diarrhée porcine en fonction d'un traitement ou non aux IgY d'après Kweon et al (2000). *Ferme 1 : 18 porcelets dont 8 supplémentés ; Ferme 2 : 20 porcelets dont 8 supplémentés ; Ferme 3 : 54 porcelets dont 27 supplémentés.*

Vega et al (2011) ont testé sur des veaux nouveau-nés un apport en IgY dirigées contre le rotavirus, agent infectieux majeur de diarrhée néonatale en élevage bovin. Tous les veaux (n=20) ont bu du colostrum maternel, ils sont inoculés par $10^{5,85}$ unités de virus à l'âge de deux jours puis sont supplémentés ou non en IgY. La supplémentation est donnée du second au quatorzième jour de vie des veaux. L'objectif des auteurs étant de ne pas interférer avec le colostrum maternel et d'étudier le rôle des IgY dans l'immunité locale. La morbidité du groupe de veaux supplémentés est de 20% contre 100% dans le groupe témoin. Un veau sur 5 (du groupe supplémenté) a présenté une légère diarrhée accompagnée d'hyperthermie, celles-ci ont duré 0,2 jour contre des durées comprises entre 4,4 et 7,4 jours pour les 6 veaux du groupe témoin (n=6). La supplémentation en IgY a également eu un effet sur la croissance : en 21 jours, les veaux supplémentés ont eu un gain de poids de 7,06 kg contre 3,72 kg pour l'autre groupe, soit un gain de poids 2 fois plus important. Vingt et un jours après l'infection, les auteurs étudient le duodénum des veaux infectés et mettent en exergue une sécrétion d'anticorps anti-rotavirus accrue chez les veaux supplémentés en IgY. Un apport en IgY semble donc être à même de moduler la réponse immunitaire au moins au niveau local.

N'Guyen et al (2006) ont également testé selon le même principe l'efficacité locale d'IgY dirigées contre le parvovirus canin CPV-2, il s'agit de la seule étude publiée traitant des IgY menée à ce jour sur des chiens. L'effet protecteur d'immunoglobulines provenant du jaune d'œuf de poule (IgY) contre CPV-2 a été évalué chez 10 chiens de race Beagle infectés par voie orale avec une souche du virus. Les chiens âgés de 2 mois ont été répartis en 3 groupes et traités pendant 7 j après l'infection avec de la poudre contenant des IgY dirigés contre CPV-2 (0,5 g ou 2 g/jour) ou du jaune d'œuf normal (groupe placebo, n=4). Les chiots du groupe placebo ont montré des symptômes d'infection :

vomissements, diarrhée et perte de poids. Aucun symptôme n'a été observé jusqu'au 16^{ème} jour post-infection chez les chiens recevant 2 g de poudre d'IgY (n=3). Parmi les 3 chiens recevant 0,5 g de poudre d'IgY, 2 ont présenté des signes cliniques d'infection par CPV-2 avec cependant des durées symptomatiques (diarrhée) moindres que chez les animaux du groupe témoin : 2 jours contre 4,4. La morbidité est de 100% dans le groupe placebo. De plus, les groupes traités avec les IgY ont présenté un meilleur gain de poids (compris entre 230 g et 320 g, 16 jours après l'infection contre une perte de poids de l'ordre de 210 g chez les chiots du groupe placebo) et une période d'excrétion du virus plus courte (comprise entre 6,6 et 7,3 jours contre 11,6 jours chez le groupe placebo). Ce résultat, obtenu sur un nombre limité d'animaux, suggère que les IgY peuvent exercer un effet sur l'immunité digestive locale chez le chien et limiter l'expression clinique causée par CPV-2. Néanmoins, l'absence de cas de mortalité dans le groupe placebo ne permet pas de savoir si la supplémentation pourrait diminuer la mortalité des chiots.

De nombreuses études ont été menées en médecine humaine. Sarker et al (2000) étudient le rôle des IgY face à une infection par le rotavirus chez des enfants. Soixante-dix neuf enfants atteints de diarrhée liée au rotavirus ont été inclus : un groupe a reçu 10g sur 4 jours de poudre d'œufs immunisés contre ce rotavirus, le groupe placebo a reçu une préparation similaire obtenue à partir d'œufs non immunisés pendant 4 jours. Les pertes hydriques par vomissements et selles des enfants sont évaluées ainsi que la prise de réhydratant oral destiné à combler les pertes hydriques journalières. La clairance d'excrétion du virus par voie urinaire est suivie. Durant les 4 jours, les résultats montrent une amélioration des pertes hydriques chez les enfants supplémentés (87 ± 59 vs. 120 ± 75 chez le groupe témoin en g/kg) associée à une diminution de la prise de réhydratant par voie orale le premier jour (84 ± 46 vs. 122 ± 72 chez le groupe placebo en ml/kg). Le suivi de l'excrétion virale montre une élimination plus rapide durant les 4 jours chez les enfants recevant les IgY : 73% vs. 46%.

Sarker et al (2007) étudient plus tard, les effets d'une supplémentation orale en IgY sur une infection virale chez des souris. Cinquante-six souriceaux âgés de 4 jours sont infectés par un rotavirus à l'origine de diarrhées infantiles humaines : les groupes supplémentés ont reçu 10 μ l de solution saline reconstituée en IgY avec des concentrations variant entre 0.1 et 10 mg/ml, le groupe placebo ne reçoit aucun traitement oral. Les résultats montrent une prévalence de la diarrhée inférieure chez le groupe traité avec des doses élevées d'IgY : la prévalence de la diarrhée étant de 33 % contre 67 % pour le groupe témoin ($p=0,006$), et la diarrhée durant $2,9 \pm 1,2$ jours chez le groupe témoin contre en moyenne $1,75 \pm 1,2$ jours chez les souriceaux supplémentés. Les doses en IgY sont d'après cette étude un facteur important et devront être réévaluées pour atteindre une efficacité optimale : la diarrhée dure deux fois moins longtemps si l'on augmente la concentration en la multipliant par 100.

Ibrahim et al (2008) étudient les effets d'IgY anti-*Candida albicans* sur des souris en vue d'appliquer ce type d'immunoglobulines chez l'Homme. Leurs premiers tests mettent en évidence que les IgY réduisent de façon significative *in vitro* les capacités d'adhérence de *C. albicans* à des cellules carcinomateuses de pharynx humain. L'administration orale quotidienne d'IgY à des souris infectées par la candidose diminue significativement le nombre de *C. albicans* (évaluation du nombre de colonies en UFC après mise en culture d'échantillons dilués de tissus linguaux infectés dans des gels d'agar à 37°C pendant 24 h) et le nombre de lésions sur la langue (score de 1 à 4 en fonction de l'étendue et de la profondeur des lésions). Le nombre de colonies de *C. albicans* était, 7 jours après l'infection, de $5,05 \pm 0,77 \log_{10}$ UFC /g de tissu chez le groupe recevant les IgY anti-*C. albicans* et de $6,15 \pm 0,34 \log_{10}$ UFC/g de tissu chez le groupe placebo. Les scores évaluant les lésions sur la langue étaient significativement plus faibles (ce qui correspond à des lésions moindres) chez les souris supplémentées 5 jours après l'infection (score 10 fois inférieur chez les souris supplémentées). Une supplémentation en IgY pourrait donc être efficace sur les candidoses comme mesure de prophylaxie ou comme traitement complémentaire.

D'autres tests en médecine humaine ont prouvé l'efficacité des IgY dans des affections variées telles que pathologies bucco-dentaires (Otake et al, 1991 ; Hamada et Kodoma, 1996 ; Hatta et al, 1997 ;

Chang et al, 1999 ; Smith et al, 2001), infections digestives et notamment gastriques à *Helicobacter pylori* (Shimamoto et al, 2002 ; Suzuki et al. 2004), infections virales comme les rotaviroses (Ebina et al, 1985), bactériennes à *E. coli* (Lodinova-Zadnikova et al, 1987 ; Tacket et al, 1992) et cystites fibrosantes (Carlander et al, 2002).

Les IgY ont donc un effet démontré en tant que traitement curatif de diverses infections bactériennes, virales ou parasitaires aussi bien chez l'Homme que chez l'animal. Quelques études ont cherché à évaluer dans quelles mesures les IgY pouvaient avoir un rôle sur l'immunité non plus locale mais systémique des individus et permettre un transfert passif d'immunoglobulines notamment chez les nouveau-nés. En effet, pour que les IgY jouent un rôle systémique, elles doivent rejoindre le flux sanguin. Ceci n'est possible que si on les administre par injection ou par voie orale mais dans ce cas, avant la fermeture de la barrière intestinale chez le jeune. A l'heure actuelle, très peu d'études traitent d'injection d'IgY. Liou et al (2010) comparent les effets d'une supplémentation par voie orale ou intra-péritonéale sur 71 souriceaux âgés de 1 jour à 5 jours en IgY anti-EV71 (entérovirus). Tous sont contaminés par la souche virale EV71 par voie orale, quelques heures avant la supplémentation (tableau 9).

		Taux de morbidité (%)	Taux de mortalité (%)
Voie parentérale	<i>Groupe supplémenté</i>	13,0	28,0
	<i>Groupe placebo</i>	93,0	86,33
Voie orale	<i>Groupe supplémenté</i>	13,0	8,0
	<i>Groupe placebo</i>	29	26,5

Tableau 9 : Effets sur la morbidité et la mortalité de souriceaux âgés de moins de 1 semaine d'un apport par voie orale ou intra-péritonéale d'IgY anti-EV71 d'après Liou et al (2010)(n=268)

Les effets des IgY sont identiques quelque soit la voie d'administration : toutes deux diminuent le taux de morbidité par 2 par rapport à un groupe témoin infecté par EV 71, et le taux de mortalité par 3 toujours par rapport au groupe placebo pour une dose d'Ig administrée identique (titre de neutralisation en anticorps IgY de 512). Liou et al (2010) mettent également en évidence que des injections répétées en IgY durant les trois premiers jours de vie sont associées à des taux de mortalité et de morbidité nuls (n=23 souriceaux). Cette étude montre donc qu'un apport injectable d'IgY est possible et améliore l'immunité des jeunes lorsque cette injection est réalisée précocement.

Yokohama et al (2003) évaluent chez le porcelet le passage et la cinétique des IgY anti-*E. coli* K88, apportées par voie orale, dans l'intestin puis vers le flot sanguin grâce à un marquage immuno-fluorescent de celles-ci. Leur objectif est de prouver qu'une absorption intestinale des IgY est possible et que l'on peut donc agir sur l'acquisition d'une immunité systémique chez le nouveau-né. Les IgY apportées *per os* chez 30 porcelets nouveau-nés se retrouvent dans l'estomac, le duodénum et le jéjunum 2 heures post-ingestion, dans l'iléon 4h plus tard et enfin dans les fécès au bout de 24h (évaluation de l'activité anti-K88 par test ELISA). Chez les porcelets nouveau-nés, les IgY sont très peu dégradées contrairement aux porcelets plus âgés (1 mois) chez qui les concentrations sont diminuées d'un facteur 10^5 au niveau stomacal. L'absorption des IgY vers le sérum des porcelets (n=35) est ensuite évaluée (figure 19). Chaque porcelet reçoit 64,5 mg d'IgY dans un volume de solution de 5 ml.

Cette étude montre qu'une absorption des IgY est possible au niveau intestinal si celles-ci sont administrées avant 34h chez le porcelet, avant la fermeture de la barrière intestinale. On observe une valeur moyenne de 85,2 $\mu\text{g/ml}$ durant le premier jour pour les porcelets recevant les IgY 10h après la naissance, et des valeurs très proches de 0,5 $\mu\text{g/ml}$ pour les porcelets de 34h et de 0 $\mu\text{g/ml}$ pour les porcelets âgés de plus de 34h. Les taux d'IgY diminuent ensuite suivant une courbe exponentielle du second au 21^{ème} jour de vie des porcelets. Cette expérimentation a évalué grâce à des dosages via le test ELISA la vitesse de diminution des concentrations en IgY dans le sérum : elles ont une demi-vie sanguine de l'ordre de 1,85 jours, leurs concentrations sériques sont diminuées par 10 au bout de 6,2 jours et par 100 au-delà de 12,3 jours. Les IgY restantes dans le tube digestif sont ensuite inhibées puis dégradées : après 1,73 h, seulement la moitié des IgY sont encore fonctionnelles, 1/10 au-delà de 5,75h. L'absorption et le transfert vers le sang des IgY administrées par voie orale est donc réalisable dans la limite où cet apport est réalisé avant la fermeture de la barrière intestinale. Une fois absorbées, celles-ci ont cependant des vitesses de dégradation supérieures à celles des IgG amenées par le colostrum maternel, la demi-vie des IgG colostrales étant comprise entre 12 et 14 jours contre 1,85 jour pour les IgY (Curtis et Bourne, 1973).

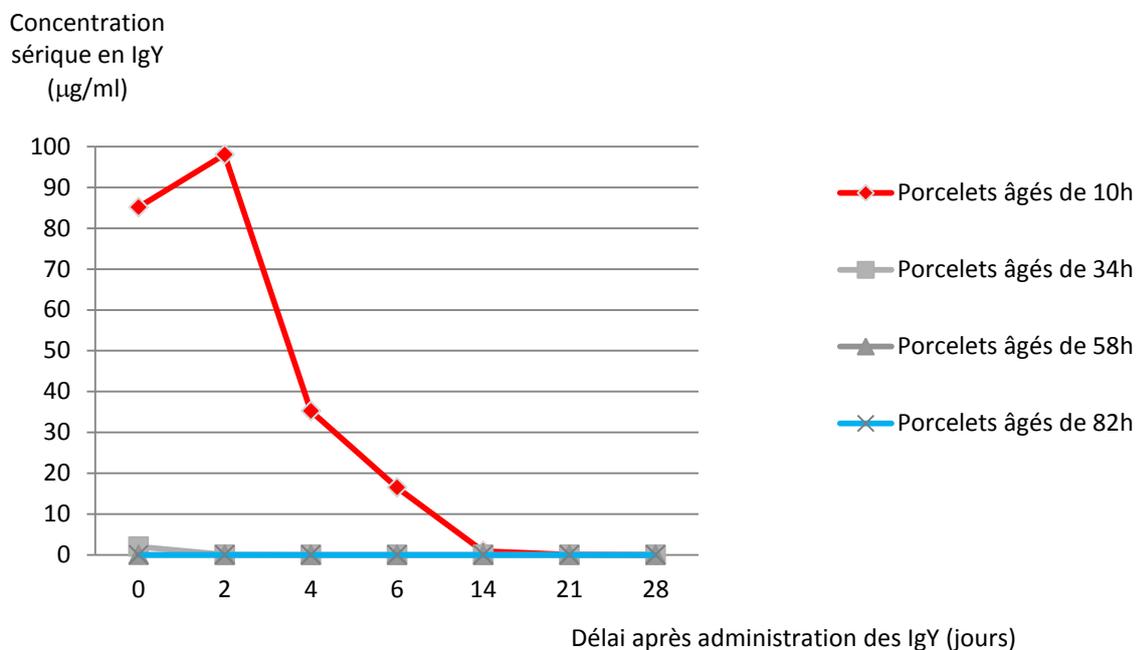


Figure 19 : Concentrations sériques obtenues en IgY anti-*E. coli* K88 après une unique administration orale chez des porcelets d'âges différents d'après Yokohama et al (2003). A J0, le dosage est en réalité évalué 2 heures après administration des IgY, n=36.

Les immunoglobulines provenant d'œufs de poules immunisées contre un pathogène particulier peuvent donc avoir un effet sur l'immunité locale mais également systémique de l'individu lorsqu'elles sont administrées par voie orale avant la fermeture de la barrière intestinale chez le nouveau-né. Elles agissent ainsi sur la morbidité, la mortalité et la croissance de l'individu supplémenté en améliorant ses défenses immunitaires.

L'objectif de notre étude est d'améliorer l'acquisition d'une immunité systémique spécifique par les chiots par l'administration d'IgY dirigées contre *E. coli* et CPV-2 avant la fermeture de la barrière intestinale. L'effet était évalué sur la mortalité entre 0 et 56 jours de vie, la morbidité et la croissance sur la même période.

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

I- Matériels et méthodes

A- Population étudiée

Les données sont issues d'un seul élevage français. Elles ont été recueillies entre le 15 août 2013 et le 30 novembre 2013. 347 chiots issus de 66 portées différentes et de 14 races différentes ont été suivis de J0 (jour de la naissance) à J+56.

Les 14 races suivantes ont été incluses : Berger allemand, Bichon frisé, Bichon Maltais, Boxer, Caniche, Cocker, Golden retriever, Jack Russel, Labrador, Lhasa-apso, Shi-tsu, Spitz, Westie et Yorkshire terrier.

A la naissance, les chiots étaient classés en fonction de leur race puis de leur poids de naissance. Trois groupes de format racial étaient d'abord définis. Si le poids adulte du chien était inférieur à 15kg, il appartenait au groupe Small. Si son poids adulte était compris entre 15-25kg il était considéré comme Medium. Et au-delà d'un poids adulte >25kg, il appartenait au groupe Large. Ensuite, il était classé en fonction de son poids de naissance (tableau 10). Les chiots de type petite et moyenne race seront regroupés dans la suite de notre étude sous l'appellation petite race (Small : S).

Poids du chiot à la naissance (g)				
Race	Q1	Q2	Q3	Q4
Small	< 208	208 – 215,5	216 – 234,3	> 234,3
Medium	< 210	211 – 250	251 – 280 g	> 281
Large	< 283,5	283,5 – 365	366 – 420	> 420

Tableau 10 : Classification des chiots en fonction de leur race et de leur poids de naissance

Pour chaque type de race, les poids de naissance ont été étudiés et classés : Q1 correspond au 1^{er} quartile (25% des chiots ont un poids de naissance inférieurs à celui-là), 25% des chiots ont un poids compris dans Q2, 25% dans Q3 et 25% dans Q4. Par exemple pour les chiots de type petite race (Small), la médiane du poids de naissance est de 215,75g. 25% des chiots ont un poids inférieur à 208g qui est donc le premier quartile et 25% des chiots ont un poids supérieur à 234.3g qui est le troisième quartile.

Chaque portée est suivie de J0 à J56. Les portées comprennent $6,7 \pm 2,2$ chiots pour les grandes races et $5,0 \pm 1,7$ chiots pour les chiennes de petite race. Toutes les données sont retranscrites sur une fiche, présentée plus loin, reprenant la race des chiots, leur sexe, le jour et l'heure de la naissance de la portée ainsi que l'identification individuelle des chiots.

Dans la suite de notre étude, deux grandes périodes seront analysées : une première période néonatale (J0-J21) et une seconde pédiatrique (J21-J56). Les populations étudiées à chaque période sont représentées ci-dessous (tableau 11).

	Période néonatale		Période pédiatrique		
	J0-J21	n=357	J21-J56	n=166	
	Nombre	Proportion de la population étudiée	Nombre	Proportion de la population étudiée	
Mère S	42	69 %	9	67,3 %	
Chiots S	207	61 %	92	58,2 %	
Chiots les plus représentées	Golden retriever	71	20 %	41	26 %
	Cocker	70	19 %	30	19 %
Sex ratio					
Mâle : Femelle		56 : 44		35 : 65	

Tableau 11 : Effectif de populations durant les périodes néonatale et pédiatrique

B- La supplémentation

A la naissance, les chiots sont séparés en deux groupes distincts : le groupe supplémenté recevant les IgY anti-CPV2 et anti-*E. coli* diluées dans du lait maternisé et le groupe placebo recevant une quantité équivalente à celle reçue par le premier groupe en lait maternisé pour chiot.

Les chiots ont été randomisés sur le format racial et le poids de naissance en quartiles.

La fabrication de la supplémentation s'appuie sur l'extraction de jaune d'œuf enrichi en CPV-2 et *E. coli*. La question que l'on s'est posée est la suivante : quelle quantité de poudre d'œuf doit-on utiliser pour avoir des concentrations d'Ig sériques après administration aussi élevées que si le chiot avait tété du colostrum maternel. La dose d'IgY administrée a été calculée de la façon suivante. On s'attend à avoir un niveau minimum de 2-3 g/L d'IgG dans le sérum chez les chiots après la prise du colostrum. L'hématocrite d'un chiot est de l'ordre de 50 %, la concentration sanguine en IgG est donc de 1,2 g/L. Pour un poids de 100g, un chiot possède 7 g de sang. Sachant que l'on souhaite obtenir 1,2 g d'IgG pour 1000g de sang, on doit donc administrer 8,4mg d'IgG pour 7g de sang soit pour 100 g de chiot. Par ailleurs, à partir de huit heures de vie, seulement 15 % des IgG administrées *per os* sont absorbées (Chastant et al, 2013) : pour obtenir une concentration sanguine de 8,4mg d'IgG, il faudra donc en administrer 56mg/100 g de chiot. Les IgY représentent 25 % du poids de la poudre d'œuf, la dose a été fixée à 240mg de poudre d'œuf enrichie pour 100 g de chiot.

La solution à administrer est donc composée de 1 g de poudre d'œuf contenant des anticorps anti-CPV-2 et de 1 g de poudre contenant des anticorps anti-*E. coli* dilués dans 12 ml de lait maternisé. 1,5 ml/100 g de chiot seront administrés une seule fois dans les 8h suivant la naissance, avant la fermeture de la barrière intestinale. Le groupe placebo reçoit une quantité équivalente de lait maternisé. L'administration se fait via une sonde oro-gastrique après la mesure préalable de la distance entre la pointe du nez et le coude du chiot (figure 20). Des cathéters urinaires de type TomCatND (Mila International, Erlanger, USA) sont introduits dans l'œsophage, ils mesurent de 13 à 15 cm en longueur et 3,5 à 5 Fr soit 1 à 2 mm de diamètre).



Figure 20 : Administration œsophagienne de lait maternisé à un chiot via la sonde oro-gastrique

C- Suivi clinique

A la naissance, chaque chiot a été identifié à l'aide d'un collier de couleur différente pour chaque chiot d'une même portée, associé à une lettre alphabétique. Ainsi chaque chiot peut être suivi individuellement de sa naissance jusqu'à son 56^{ème} jour de vie (tableau 12).

A 8h de vie, sont enregistrées la portée, l'identification de sa mère, l'heure et la date de sa naissance, son identification (collier + lettre alphabétique), son sexe, son poids et groupe de naissance, s'il est ou non supplémenté, la dose de lait ou de supplémentation administrée à la naissance. Différents paramètres sont ensuite enregistrés entre 0 et 56 jours (certains concernent d'autres études).

Tous les chiots suivis dans la période néonatale ne sont pas étudiés jusqu'à J56. Il y a tout d'abord des chiots qui sont décédés dans la première période. Ensuite, environ 50% des chiots présents en période néonatale non supplémentés sont exclus de la période pédiatrique. On a donc un effectif initial de 347 chiots en période néonatale et de 166 chiots en période pédiatrique (tableau 13).

Numéro de la portée:		Mise- bas (date,heure) :									
Identification de la mère :											
Race :											
Numéro de box:	collection de lait <8H <input type="checkbox"/>	J1 <input type="checkbox"/>		collection de sang		J1 <input type="checkbox"/>					Décédé le :
Identification chiot:		Q1 <input type="checkbox"/>	Q2 <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	O <input type="checkbox"/>						
Couleur collier :		Q3 <input type="checkbox"/>	Q4 <input type="checkbox"/>								
Sexe : M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>											
Dose de supplémentation ou de lait administrée :	<8 h	J1	J2	J7	J14	J21	J28	J35	J42	J49	J56
Poids (g)											
Prise de sang	G:	G:									
	L:	L:									
	A:	A:									
Ecouvillon rectal											
Température rectale											
Température sur la peau											
Hydratation	du	du	du	du							
Couleur des muqueuses											
FC/FR											
Auscultation thoracique											
Motilité/Palpation abdominale											
Ecoulement oculaire/nasal											
Diarrhée											

Tableau 12 : Fiche de suivi des chiots (J= jour, E= supplémenté, O=placebo, F=femelle, M=mâle, G=glycémie, L=lactatémie, A=Dosage des corps cétoniques, du=densité urinaire, FC=fréquence cardiaque, FR=fréquence respiratoire)

	Format racial	Groupe supplémenté	Groupe non supplémenté
Période néonatale	S	100	106
n=357	L	70	37
Période pédiatrique	S	51	49
n=166	L	34	32

Tableau 13 : Effectif en période néonatale et pédiatrique



1) Le poids

Dès la naissance, les chiots sont pesés à l'aide d'une balance électronique précise à 0,5g près (figure 21). La pesée est réalisée à la naissance (classement en quartile pour la randomisation), à J1, J2, puis toutes les semaines (J7, J14, J21, J28, J35, J42 et J56). Cette pesée permet d'obtenir pour chaque individu un suivi précis de sa croissance.

Figure 21 : Pesée d'un chiot

2) Examen clinique

L'examen clinique est réalisé à la naissance, à J1, J2, J7 puis une fois par semaine jusqu'à J56. La température rectale est évaluée à l'aide d'un thermomètre électronique (figure 22).



Figure 22 : Prise de température sur un chiot de 7 jours

Le degré d'hydratation est suivi via la densité urinaire les premiers jours et les 2 premières semaines de vie du chiot. L'urine est recueillie après stimulation avec une compresse humidifiée du pénis pour les chiots mâles et de la région vulvaire pour les femelles. La densité est mesurée grâce à un réfractomètre. On considère qu'un chiot est déshydraté lorsque la densité urinaire est supérieure à 1,035 (Poffenbarger et al, 1991).

L'auscultation du chiot passe ensuite par une auscultation cardio-respiratoire (évaluation des fréquences cardiaques et respiratoires), de la couleur de ses muqueuses, une évaluation de sa réponse aux stimuli externes dit réflexe d'irritabilité (on pince légèrement sa patte et on observe sa réaction), ses mouvements (motilité). Tous ces critères sont scorés de 0 à 2 et retranscrits dans la fiche de suivi (tableau 14).

Paramètres	Score		
	0	1	2
Fréquence cardiaque	<180 battements par minute	180-220 battements par minute	>220 battements par minute
Fréquence respiratoire	Pas de cri/<6mpm	Quelques cris/6-15mpm	Cris/>15mpm
Réflexe d'irritabilité	Absent	Grimace	Vigoureux
Motilité	Flasque	Quelques mouvements	Mouvements ++
Couleur des muqueuses	Cyanosée	Pâle	Rose

Tableau 14 : Score traduisant l'état de santé des chiots. Les différentes données correspondent pour les premières aux critères dans les 48 premières de vie, les seconds au-delà de 48 heures de vie.

Durant la période pédiatrique, certains critères permettant d'évaluer l'état de santé des chiots et donc la morbidité de l'élevage sont rajoutés : on note si le chiot a été hospitalisé et/ou a présenté de la diarrhée (nombre d'épisodes), des vomissements et/ou une perte de poids à au moins un des examens cliniques hebdomadaires. Ces 4 critères nous ont permis de définir un score de morbidité : si l'animal présente un des symptômes ci-dessus, on lui attribue 1 ou 2 points par symptôme en fonction de la fréquence de ces derniers (tableau 15). Le score de morbidité est calculé sur l'ensemble des 6 examens hebdomadaires réalisés en période pédiatrique, il est compris entre 0 et 5. Par exemple, si un chiot présente des vomissements, de la diarrhée (1 épisode) et une perte de poids, il se voit attribuer un score de morbidité de 4.

Symptôme	Présence du symptôme	
	Oui	Non
Diarrhée	1 fois : 1 point 2 fois ou + : 2	0 point
Vomissements	1 fois ou + : 1 point	0 point
Perte de poids	1 fois ou + : 1 point	0 point
Hospitalisation	1 fois ou + : 1 point	0 point

Tableau 15 : Définition du score de morbidité

Le suivi clinique des chiots nous a également permis de définir le Sanitary Risk Index (SRI) qui représente la probabilité pour le chiot de mourir lorsqu'il est malade :

$$SRI (\%) = \frac{\text{Nombre de chiots malades ayant survécus entre } J_a \text{ et } J_b + \text{Nombre de chiots décédés entre } J_a \text{ et } J_b}{\text{Nombre de chiots vivants à } J_b}$$

Avec J_a étant l'âge du chiot au début de la période étudiée et J_b l'âge à la fin de la période.

Le SRI est calculé de façon indépendante pour la période néonatale et pour la période pédiatrique.

3) Glycémie

La glycémie est mesurée grâce à un glucomètre utilisé en médecine humaine (Free Style OptiumND, Abbott, North Chicago, USA). L'appareil ne peut détecter des concentrations en glucose inférieures à 0,2mg/dl. Dans la suite de nos calculs nous considérerons que toute concentration inférieure à 0,2mg/dl est équivalente à 0mg/dl.

Le sang est prélevé sur le bord libre de l'oreille des chiots, à l'aide d'une aiguille de taille 0,5*16mm. Une ponction superficielle permet d'obtenir une goutte de sang (figure 23). La mesure de la glycémie est réalisée uniquement le jour de la naissance et à J1.



Figure 23 : Mesure de la glycémie sur un chiot âgé de 2 jours à l'aide d'un glucomètre

4) Lactatémie

Les lactates sont produits à partir du glucose en milieu anaérobie, et peuvent témoigner d'un état d'hypoxie chez le chiot.

La lactatémie est mesurée grâce à un appareil utilisé en médecine humaine (Free Style OptiumND, Abbott, North Chicago, USA). L'appareil ne peut détecter des concentrations inférieures à 20mmol/L ; pour la suite de nos calculs, nous considérerons que toute valeur inférieure à ce seuil est nulle.

Le sang est prélevé comme pour la mesure de la glycémie et uniquement le jour de la naissance et à J1.

5) Corps cétoniques

Les corps cétoniques sont évalués de façon similaire aux lactates avec un appareil spécifique (Free Style OptiumND, Abbott, North Chicago, USA) à la naissance puis à J1. L'appareil ne peut détecter des concentrations en corps cétoniques inférieures à 0,1mg/dl. Dans la suite de nos calculs, nous considérerons que toute concentration inférieure à 0,1mg/dl est équivalente à 0mg/dl.

Seul le β -D-hydroxybutyrate est dosé. Il est le corps cétonique le plus abondant et est produit dans le foie à partir de la dégradation des acides gras lorsque l'organisme ne dispose plus de réserve énergétique suffisante, notamment en glucose.

Le protocole de suivi des chiots est résumé dans la figure 24.

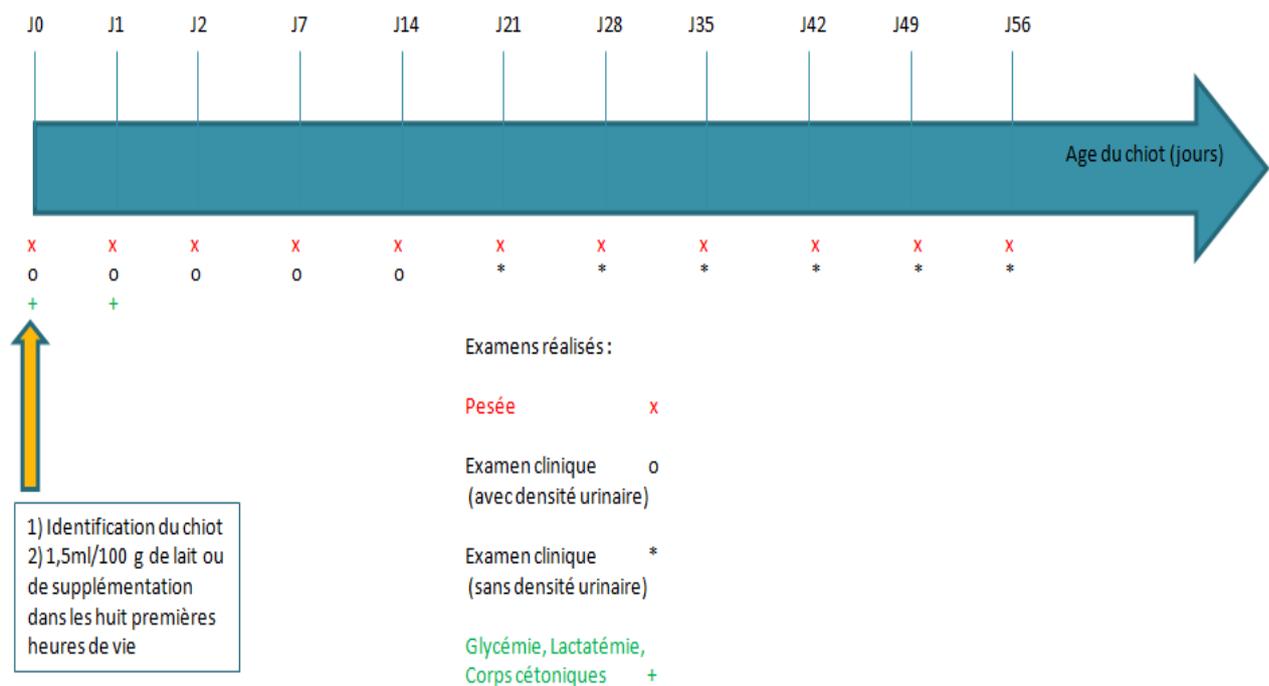


Figure 24 : Protocole du suivi des chiots de J0 à J56

D - Outils statistiques

Les moyennes sont indiquées avec l'écart type sous la forme $M \pm SEM$. SEM représente l'erreur type de la moyenne ($SEM = \sigma / \sqrt{n}$), σ étant l'écart type et n le nombre d'échantillons de la population).

Les tests de Student et T-test nous ont permis de comparer des moyennes deux par deux. Nous les avons utilisés pour étudier la croissance, le métabolisme et le score de morbidité des chiots de grand format (L) et de petit format (S), et des chiots supplémentés ou non supplémentés (=placebo).

Le test du χ^2 nous a permis d'étudier et comparer des pourcentages, tels que les taux de morbidité, de mortalité et les SRI des chiots S et L, et supplémentés ou placebo.

Le test ANOVA nous a permis de comparer plus de deux moyennes entre elles et de rechercher les effets liés au format racial sur le gain de croissance, le métabolisme, les taux de morbidité et de mortalité et le SRI en fonction de différentes périodes (période néonatale et pédiatrique subdivisée en semaines) et du statut supplémenté ou non.

L'analyse multivariée a été réalisée avec le logiciel SAS (version 9.3 ; SAS Institute Inc., Cary, N.C, USA) avec la procédure statistique PROC MIXED qui nous a permis de randomiser.

Deux valeurs sont considérées comme significativement différentes pour une valeur de $p < 0,05$, et considérées comme fortement différentes si $p < 0,001$.

II - Résultats

Notre étude recherche les effets possibles d'une supplémentation en IgY anti-CPV-2 et anti-*E. coli* sur la croissance, la morbidité et la mortalité de chiots. Deux périodes seront étudiées distinctement : la période néonatale (J0-J21) et la période pédiatrique (J21-J56). En période néonatale seront également étudiés des paramètres biochimiques permettant de suivre le métabolisme des chiots : la glycémie, la lactatémie et la concentration sérique en corps cétoniques.

Pour rappel, les chiots de grand format racial seront représentés avec « L » et les chiots de petit format avec « S ». Les chiots supplémentés seront dit « supplémentés » et les autres chiots « placebo ».

A- Période néonatale

1) Métabolisme

* Glycémie

a- Descriptif de la population

La glycémie moyenne des chiots à la naissance était de $104,3 \pm 2,7$ mg/dl avec des valeurs comprises entre 0,0 mg/dl et 287,0 mg/dl. Dans son premier jour de vie, elle était de $114,3 \pm 2,4$ mg/dl avec des valeurs extrêmes de 0,0 mg/dl et 224 mg/dl. Alors que la glycémie n'était pas différente entre les chiots S et L à la naissance ($95,3 \pm 4,5$ mg/dl pour les chiots L et $110,5 \pm 3,2$ mg/dl pour les chiots S), il existait une différence significative à J1 ($95,2 \pm 3,5$ mg/dl pour les chiots L et $128,5 \pm 2,6$ mg/dl pour les chiots S) (figure 25).

D'autre part, il existe une différence significative sur l'évolution de la glycémie entre J1 et J0 entre les chiots S et L ($p=0,007$). L'évolution de la glycémie entre J1 et J0 est définie comme la moyenne des différences des glycémies entre J1 et J0. Pour les chiots L, cette différence est négative ($- 1,4 \pm 4,9$ mg/dl). Pour les chiots S, elle est de $15,3 \pm 2,7$ mg/dl (figure 26).

b- Effet de la supplémentation

La supplémentation n'a aucun effet significatif sur la glycémie à J1 ($p=0,73$) : celle-ci est de $116,2 \pm 9,1$ mg/dl [0,0 ; 228,0] pour les chiots supplémentés et de $114,4 \pm 3,4$ mg/dl [0,0 ; 224,0].

La supplémentation n'a aucun effet significatif quelque soit le format racial : $95,9 \pm 10,2$ mg/dl pour les chiots L supplémentés *versus* $95,8 \pm 9,7$ mg/dl pour les chiots L placebo ($p=0,78$) et $126,5 \pm 10,5$ mg/dl pour les chiots S supplémentés *versus* $124,0 \pm 11,4$ mg/dl pour les chiots S placebo ($p=0,95$) (figure 27).

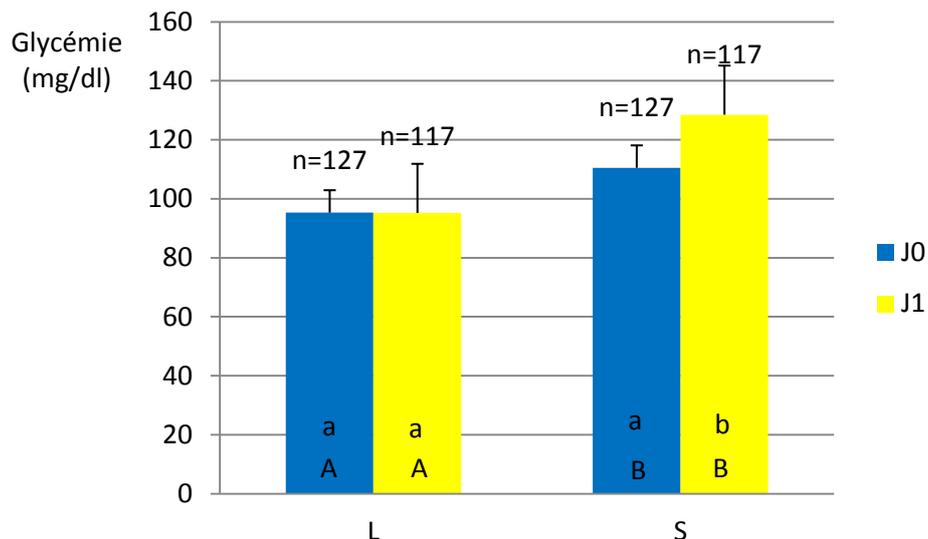


Figure 25 : Effet du format racial sur la glycémie moyenne à J0 et J1. Les lettres majuscules sont différentes : il y a une différence significative entre les chiots S et L à J1 ($p=0,0002$). Les lettres minuscules sont identiques : il n'existe aucune différence significative pour un format racial entre la glycémie moyenne à J0 et celle à J1 ($p>0,05$).

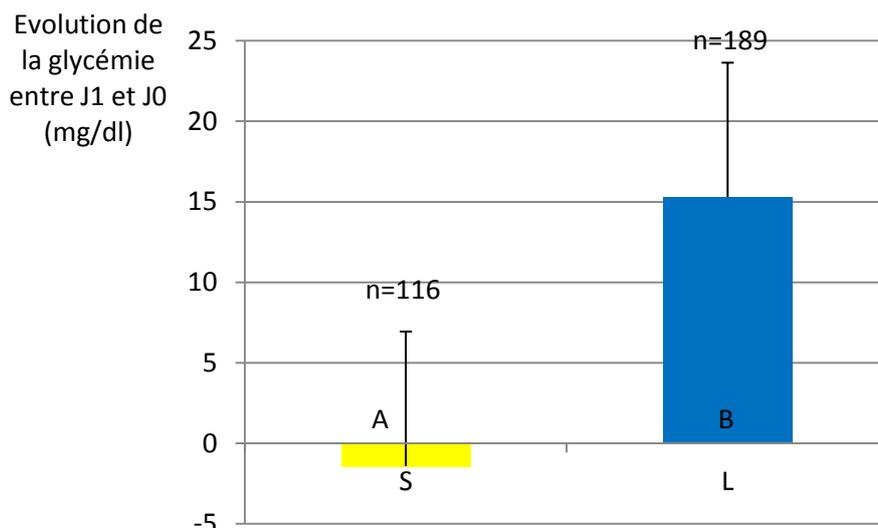


Figure 26 : Effet du format racial sur l'évolution de la glycémie entre J0 et J1. Les lettres majuscules différentes montrent qu'il existe une différence significative entre l'évolution de la glycémie entre les chiots S et L ayant le même type de supplémentation ($p=0,0007$).

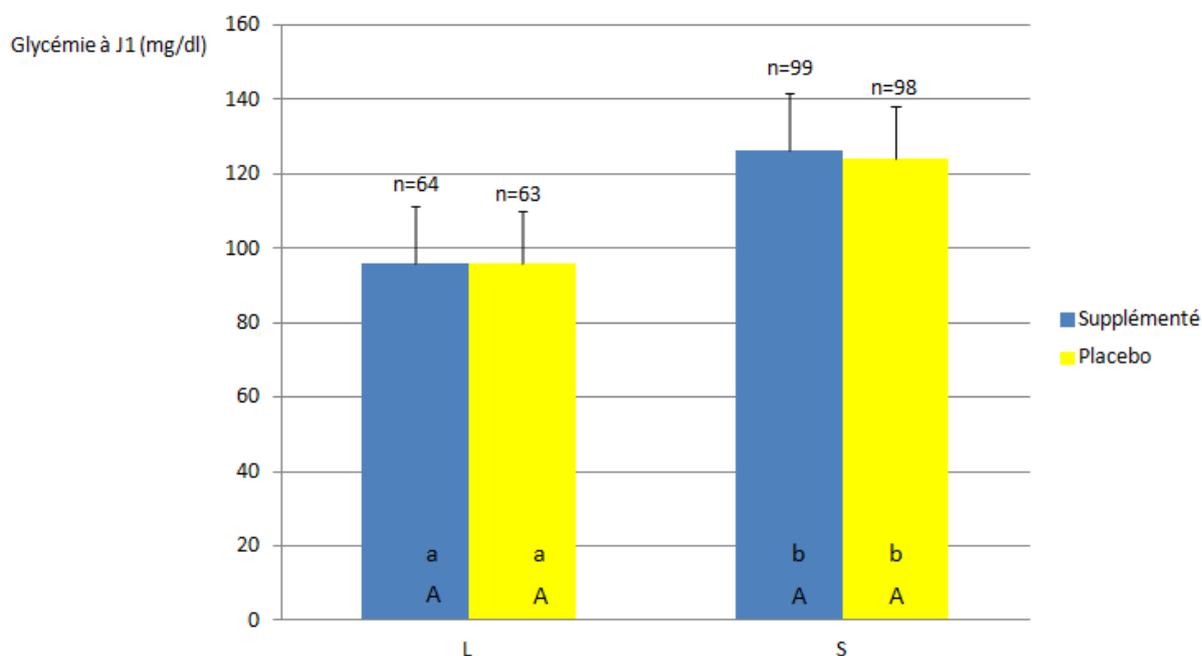


Figure 27 : Effet de la supplémentation sur la glycémie à J1 en fonction du format racial. Les lettres majuscules identiques montrent qu'il n'y a aucun effet significatif de la supplémentation sur la glycémie à J1 pour un format racial fixé. Les lettres minuscules différentes montrent qu'il existe une différence significative entre la glycémie des S et L ayant le même type de supplémentation ($p=0,002$).

La supplémentation n'a aucun effet sur l'évolution de la glycémie entre J1 et J0 quelque soit le format racial étudié ($p=0,84$)(figure 28). Celle-ci est de $1,5 \pm 5,1$ mg/dl pour les chiots L supplémentés et de $-1,5 \pm 4,8$ mg/dl pour les chiots L placebo et, de $14,5 \pm 4,7$ mg/dl pour les chiots S supplémentés versus $15,4 \pm 5,8$ mg/dl pour les chiots S placebo.

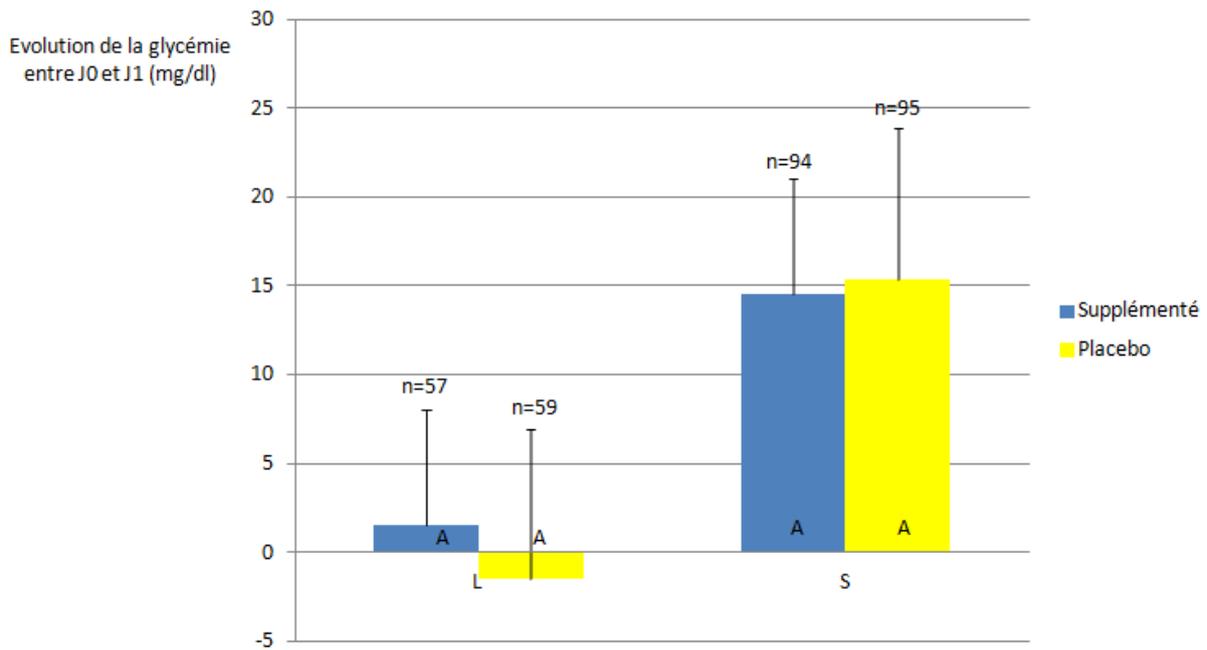


Figure 28 : Effet de la supplémentation sur la moyenne de l'évolution de la glycémie entre J0 et J1 en fonction du format racial. Les lettres majuscules identiques montrent qu'il n'y a aucun effet significatif de la supplémentation sur l'évolution de la glycémie entre J et J0 pour un format racial fixé.

* Lactates

a- Descriptif de la population

La lactatémie moyenne des chiots à la naissance était de $2,9 \pm 0,2$ mmol/L avec des valeurs comprises entre 0,0 mmol/L et 16,3 mmol/L. Dans son premier jour de vie, elle était de $1,4 \pm 0,1$ mmol/L avec des valeurs extrêmes de 0,0 mmol/L et 5,9 mmol/L. Alors que la lactatémie n'était pas différente entre les chiots L et S à la naissance ($3,4 \pm 0,2$ mmol/L pour les chiots L et $3,1 \pm 0,3$ mmol/L pour les chiots S), il existait une différence significative à J1 ($1,5 \pm 0,1$ mmol/dl pour les chiots L et $1,4 \pm 0,2$ mmol/L pour les chiots S) (figure29).

D'autre part, il existait une différence significative sur l'évolution de la lactatémie entre J1 et J0 entre les chiots S et L ($p < 0,001$). L'évolution de la lactatémie entre J1 et J0 est définie comme la moyenne des différences des lactatémies entre J1 et J0. Pour les chiots L, cette différence est négative de $-2,3 \pm 0,3$ mmol/L. Pour les chiots S, elle est de $-1,1 \pm 0,2$ mmol/L (figure 30).

b- Effet de la supplémentation

La supplémentation n'a aucun effet significatif sur la lactatémie à J1 ($p=0,47$) : celle-ci est de $1,5 \pm 0,1$ mmol/L (valeurs comprises entre $<0,2$ mmol/L et 2,4 mmol/L) pour les chiots supplémentés et de $1,5 \pm 0,1$ mmol/L (valeurs comprises entre $<0,2$ mmol/L et 3,8 mmol/L).

La supplémentation n'a aucun effet significatif sur la lactatémie à J1 quelque soit le format racial : $1,4 \pm 0,5$ mg/dl pour les chiots L supplémentés versus $1,3 \pm 0,4$ mg/dl pour les chiots L placebo ($p=0,78$) et $1,4 \pm 0,5$ mmol/L pour les chiots S supplémentés et placebo ($p > 0,05$) (figure 31).

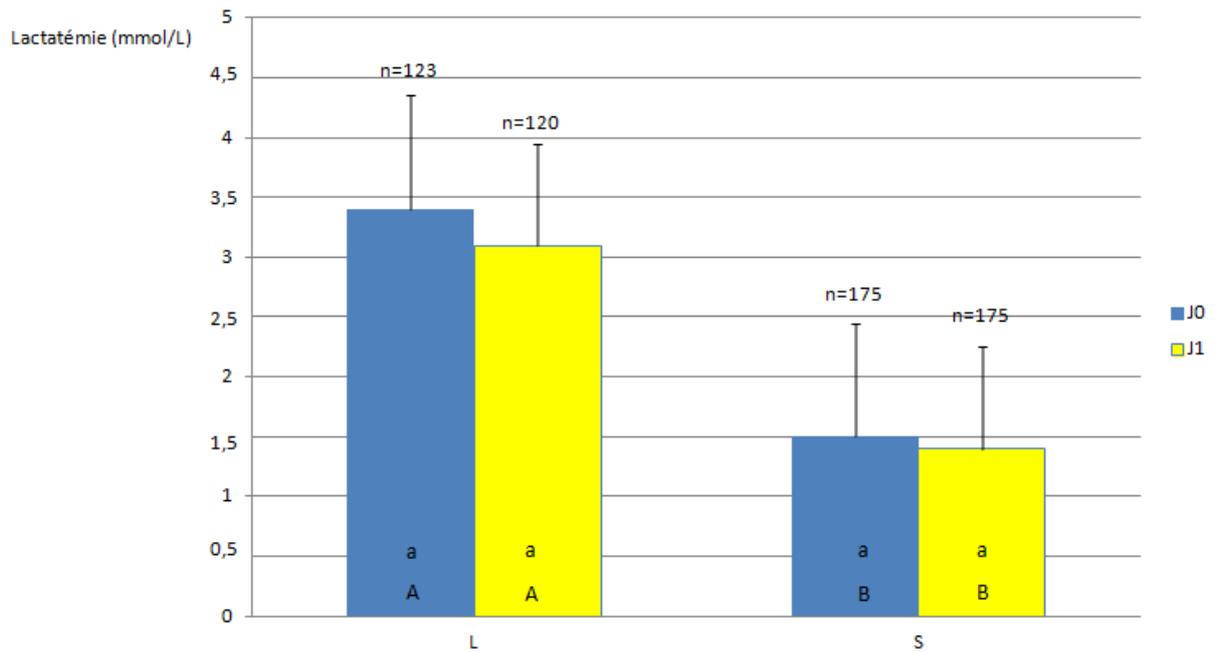


Figure 29 : Effet du format racial sur la lactatémie moyenne à J0 et J1. Les lettres majuscules sont différentes : il y a une différence significative entre les chiots S et L à J1 et J0. Les lettres minuscules sont identiques : pour un format racial fixé, il n’y aucune différence significative entre J1 et J0.

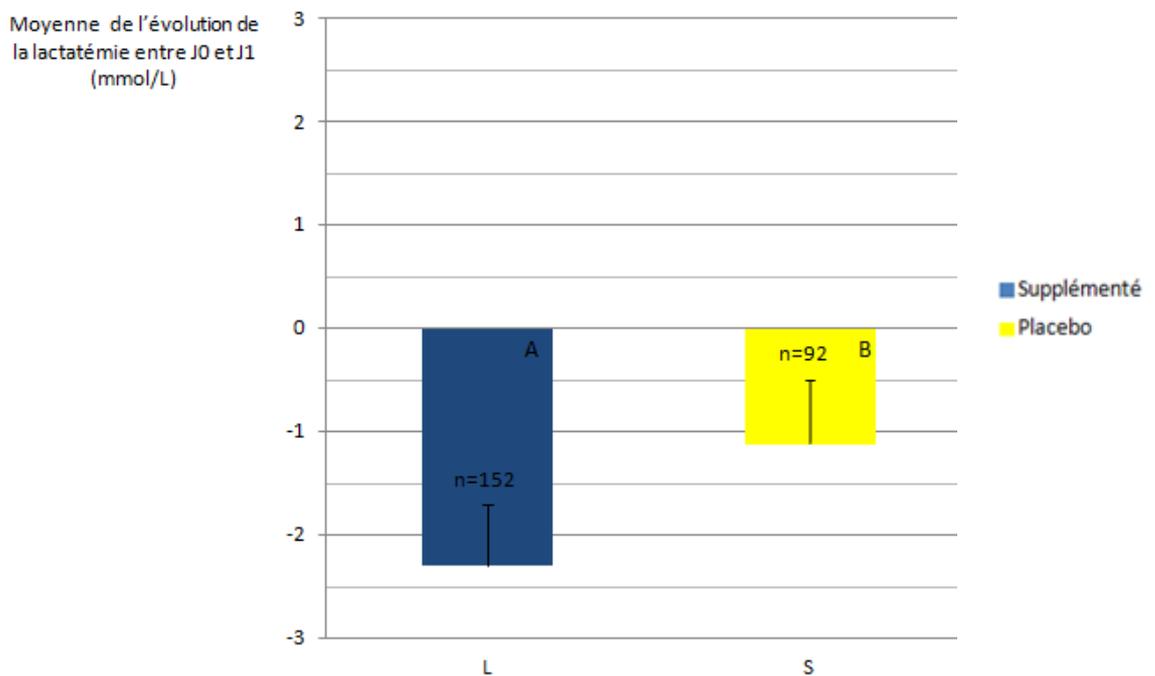


Figure 30 : Effet du format racial sur l'évolution de la lactatémie entre J0 et J1. Les lettres majuscules différentes montrent qu'il existe une différence significative entre l'évolution de la lactatémie entre les chiots S et L ayant le même type de supplémentation ($p < 0,05$).

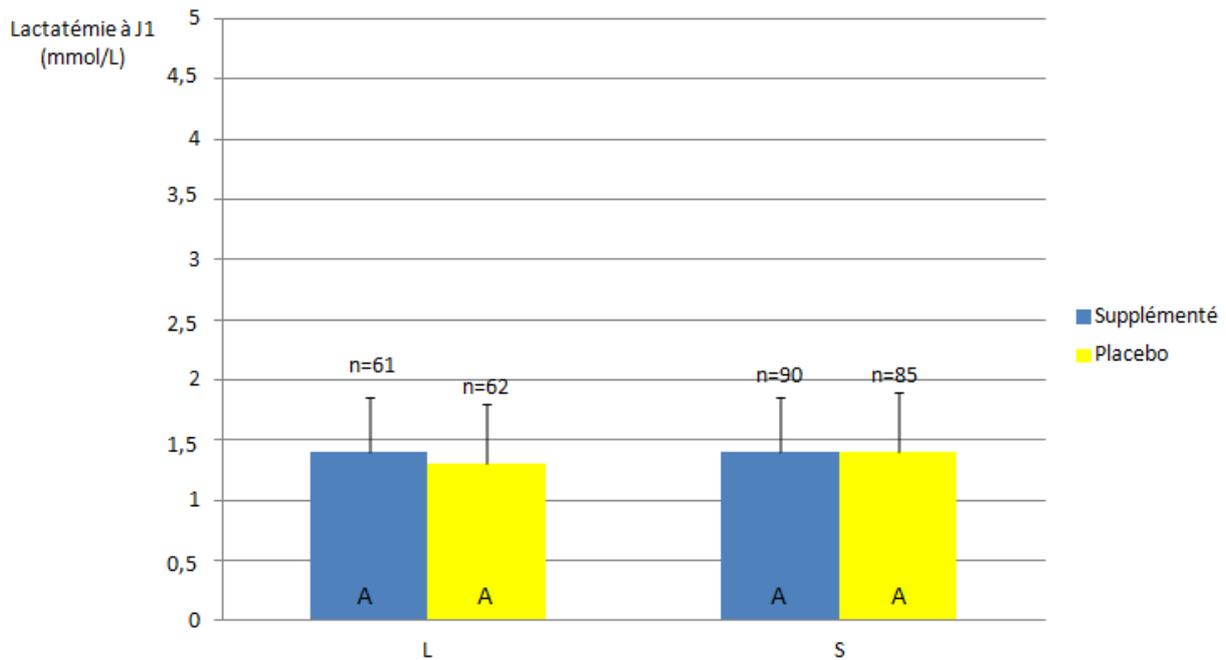


Figure 31 : Effet de la supplémentation sur la lactatémie moyenne en fonction du format racial à J1. Les lettres majuscules sont identiques : il n’y a aucune différence significative entre les chiots supplémentés ou placebo pour un format racial fixé.

La supplémentation n’a aucun effet sur l’évolution de la lactatémie entre J1 et J0 quelque soit le format racial étudié ($p=0,49$) (figure 32). Celle-ci est de $-1,6 \pm 0,3$ mmol/L pour les chiots L supplémentés et de $-2,6 \pm 0,2$ mmol/L pour les chiots L placebo et de $-1,1 \pm 0,2$ mmol/L pour les chiots S supplémentés versus $-1,2 \pm 0,2$ mmol/L pour les chiots S placebo.

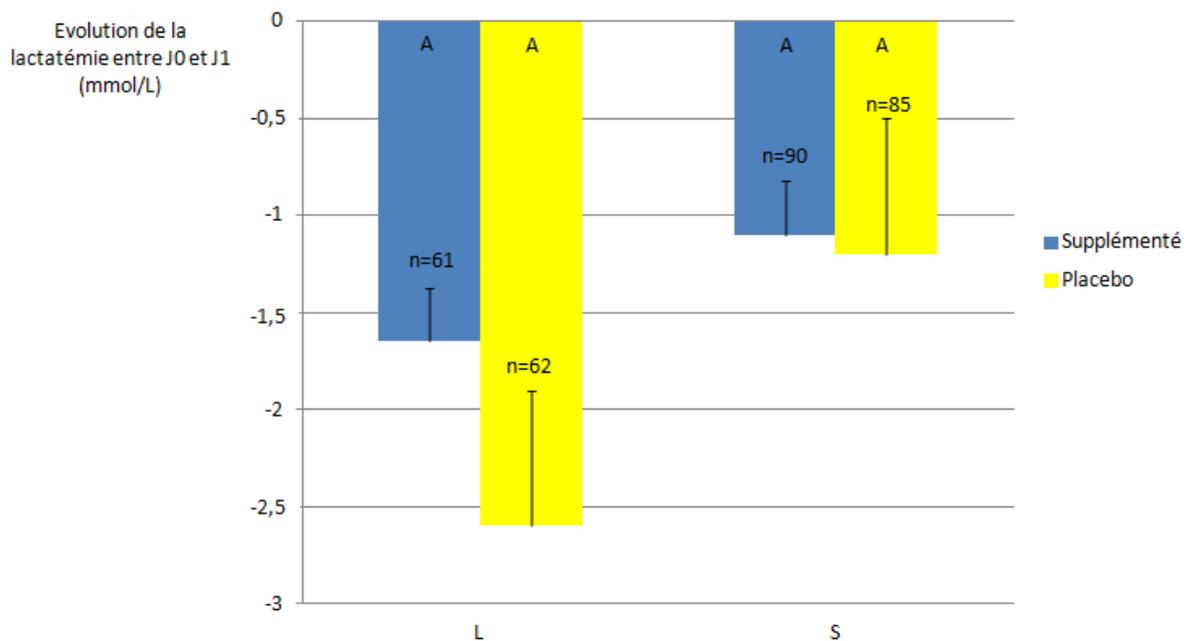


Figure 32 : Effet de la supplémentation sur l’évolution de la lactatémie entre J0 et J1 en fonction du format racial. Les lettres majuscules identiques représentent le fait qu’il n’y ait aucune distinction significative entre les chiots supplémentés ou non pour un format racial fixé.

* Corps cétoniques

a- Descriptif de la population

La concentration sanguine en corps cétonique des chiots à la naissance étaient de $0,4 \pm 0,0$ mg/dl [0 ; 3,1]. Dans son premier jour de vie, elle était de $0,3 \pm 0,0$ mg/dl avec des valeurs extrêmes de 0 mg/dl et 1,9 mg/dl. Alors que la concentration en corps cétonique à la naissance n'était pas différente entre les chiots S et L ($0,4 \pm 0,0$ mg/dl pour les chiots L et $0,4 \pm 0,0$ mg/dl pour les chiots S), il existe une différence significative à J1 ($0,3 \pm 0,0$ mg/dl pour les chiots L et $0,3 \pm 0,0$ mg/dl pour les chiots S).

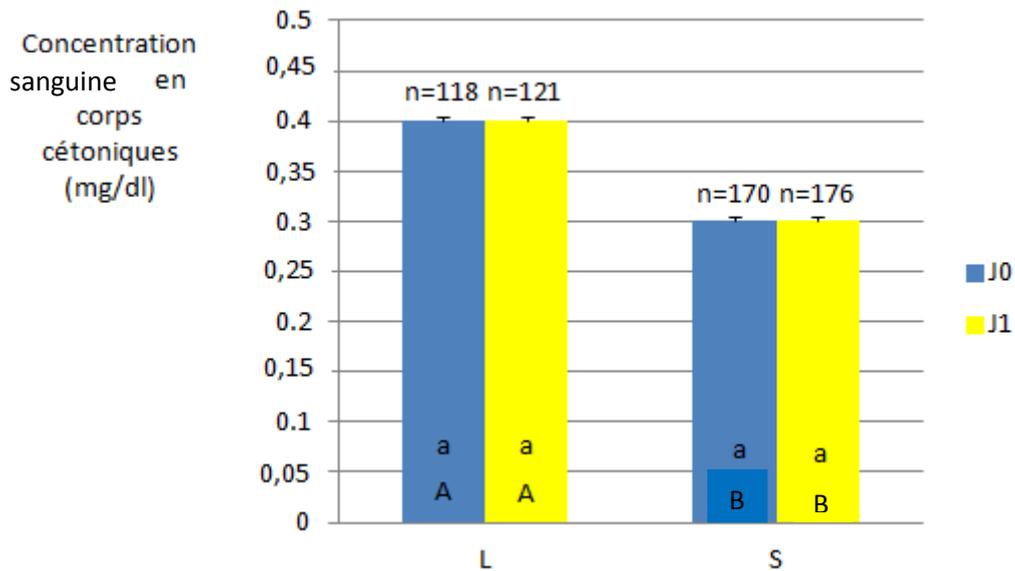


Figure 33 : Effet du format racial sur la concentration moyenne en corps cétonique à J0 et J1. Les lettres majuscules sont différentes : il y a pas une différence significative entre les chiots S et L à J1 ($p > 0,005$). Les lettres minuscules sont identiques : il n'existe aucune différence significative pour un format racial entre la concentration en corps cétonique moyenne à J0 et J1 ($p > 0,05$).

D'autre part, il n'existe aucune différence significative sur l'évolution de la concentration en corps cétonique entre J1 et J0 entre les chiots S et L ($p = 0,49$). On considère l'évolution de la concentration en corps cétonique entre J1 et J0 comme la moyenne des différences de ces concentrations entre J1 et J0. Pour les chiots L, cette différence était négative de $-0,05 \pm 0,05$ mg/dl. Pour les chiots S, elle était de $-0,03 \pm 0,06$ mg/dl.

b- Effet de la supplémentation

La supplémentation n'a aucun effet significatif sur la concentration sanguine en corps cétoniques à J1 ($p = 0,72$) : celle-ci est de $0,3 \pm 0,0$ mg/dl [0 ; 1,9] pour les chiots supplémentés et de $0,3 \pm 0,0$ mg/dl [0,1 ; 1,0].

La supplémentation n'a aucun effet significatif quelque soit le format racial : $0,3 \pm 0,0$ mg/dl pour les chiots L (n=121) supplémentés (n=36) et placebo (n=50) ($p = 0,98$) et $0,3 \pm 0,0$ mg/dl pour les chiots S (n=176) supplémentés (n=89) et placebo (n=87) ($p = 0,78$).

La supplémentation n'a aucun effet significatif sur l'évolution de la concentration sanguine en corps cétoniques entre J1 et J0 ($p = 0,50$), quelque soit le format racial étudié. La moyenne des différences entre la concentration à J1 et J2 est de $0,0 \pm 0,0$ mg/dl pour les chiots L supplémentés (n=36) et de $-0,2$ mg/dl $\pm 0,1$ mg/dl pour les chiots L placebo (n=50), de $0,0 \pm 0,0$ mg/dl pour les chiots S supplémentés (n=89) et placebo (n=89).

2) Croissance

Les groupes expérimentaux (supplémenté et non supplémenté) étaient comparables en terme de poids de naissance. Pour le groupe supplémenté, le poids était de $268,8 \pm 8,5$ g et pour le groupe non supplémenté de $265,9 \pm 8,1$ g ($p > 0,05$).

a- Description de la population

Le poids de naissance moyen pour les chiots de grande race était de $366,6 \pm 7,6$ g et de $206,0 \pm 4,6$ g pour les chiots de petite race. La croissance des chiots a été évaluée sur 3 périodes : entre J0-J7, J7-J14 et J14-J21.

Le gain de poids moyen total entre J0-J21 pour les chiots L est de $691,2 \pm 17,9$ g soit $32,9 \pm 0,9$ g de gain de poids moyen quotidien ; plus précisément, il est de $184,4 \pm 27,2$ g entre J0-J7, de $225,3 \pm 12,0$ g entre J7-J14 et de $281,5 \pm 14,5$ g entre J14 et J21. Pour les chiots S, le gain de poids moyen total est de l'ordre de $502,5 \pm 21,9$ g soit un gain de poids moyen quotidien de $23,9 \pm 1,1$ g ; plus précisément, il est de $116,7 \pm 5,8$ g entre J0-J7, de $166,5 \pm 9,5$ entre J7-J14 et de $219,3 \pm 6,6$ g entre J14 et J21 (figure 34).

Il y a donc un effet significatif de la période pour un format racial donné sur le gain de poids moyen : le gain de poids est significativement différent entre les chiots L et S sur différentes périodes ($p < 0,001$). On peut toutefois remarquer que bien qu'il existe une différence marquée entre le gain de poids des L et S ($p < 0,001$), cette différence est non significative entre J7-J14 ($p = 0,15$) et J14-J21 ($p = 0,79$).

D'autre part, les gains de poids sont différents entre les 3 périodes étudiées : de plus en plus importants au fur et à mesure que le chiot vieillit pour les races L et S.

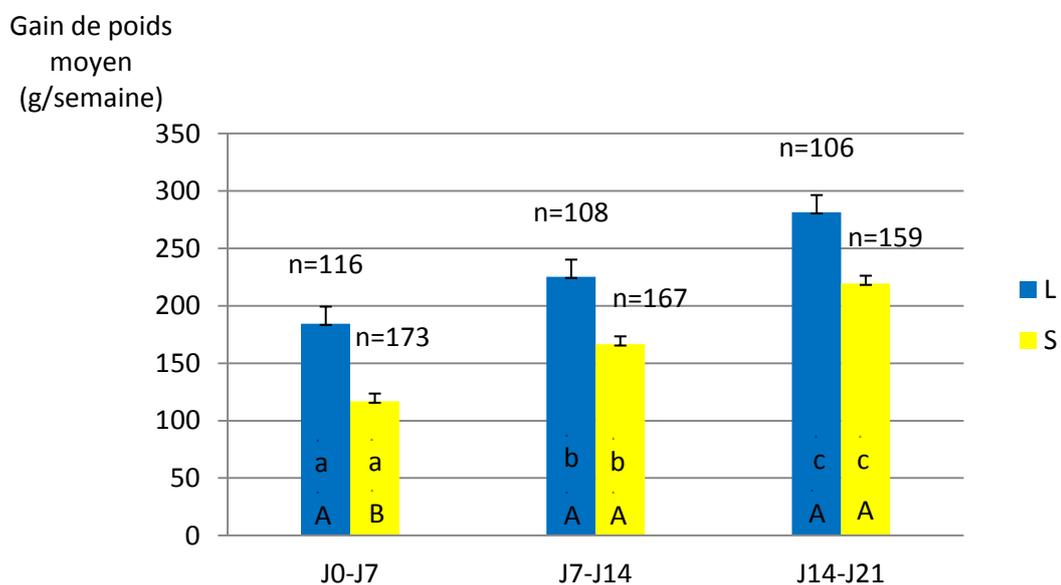


Figure 34 : Effet du format racial sur le gain de poids sur différentes périodes de la période néonatale ($n=334$). Les lettres majuscules représentent la différence entre les formats raciaux pour une période donnée, les minuscules celle au sein du groupe racial sur les trois périodes. Par exemple, sur la période J0-J7, il y existe une différence significative entre L et S (lettres majuscules différentes). Il n'existe pas de différence significative entre le gain de poids chez L et S entre J7-J14 (lettres majuscules identiques).

b- Effet de la supplémentation

L'analyse multivariée montre que la supplémentation a un effet significatif sur la croissance ($p=0,0274$), sans effet de la période considérée (J0-J7, J7-J14, J14-J21) ($p=0,2720$).

Le gain de poids moyen total entre J0 et J21 est significativement différent entre les chiots L supplémentés et placebo (figure 35) : $827,1 \pm 49,7$ g pour les premiers (GMQ= $39,4 \pm 2,6$ g) contre $610,4 \pm 25,6$ g (GMQ= $29,0 \pm 1,1$ g) pour les seconds. Le gain de poids moyen est de 27% supérieur chez les chiots supplémentés L que sur chez les chiots L placebo. La supplémentation a donc un effet significatif sur la croissance des chiots de grande race dans leurs 21 premiers jours de vie ($p=0,05$).

A l'opposé, le gain de poids moyen total entre J0 et J21 n'est pas significativement différent entre les chiots S supplémentés et placebo ($p=0,996$). Il est de $593,3 \pm 33,33$ g chez les chiots supplémentés S et de $593,3 \pm 31,1$ g chez les chiots placebo S.

L'analyse multivariée montre qu'il n'existe aucune différence significative entre les chiots supplémentés S et L et les chiots placebo quelque soit la période étudiée (figure 36) : entre J0-J7 ($p=0,2580$), entre J7-J14 ($p=0,9935$) et entre J14-J21 ($p=0,7314$).

Il existe comme précédemment une différence significative au sein des groupes L ou S du gain de poids hebdomadaire entre chaque période étudiée.

L'analyse multivariée met également en évidence qu'il existe une différence significative des gains de poids pour les chiots L supplémentés et placebo durant J0-J7 ($p=0,01$) et J14-J21 ($p=0,02$)(figure 37). Aucune observation significative n'est notée pour les chiots S.

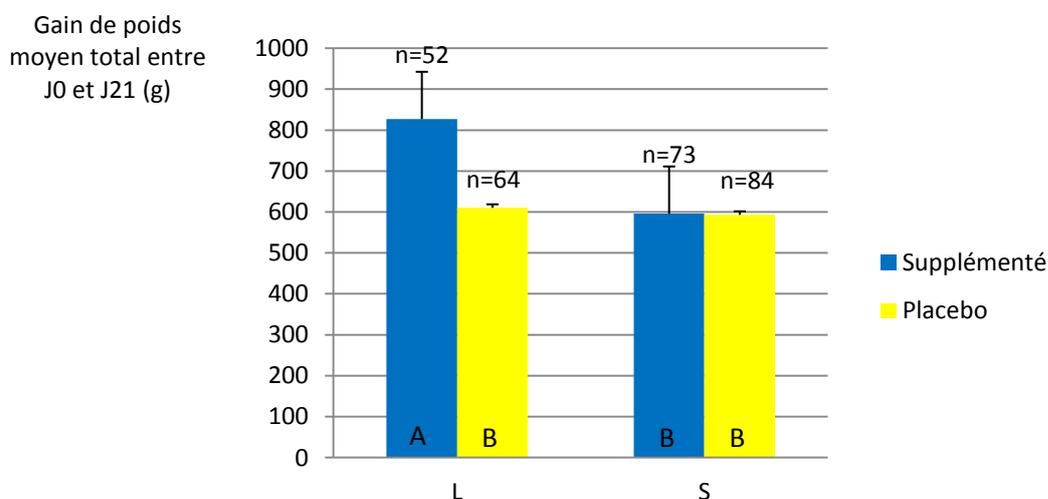


Figure 35 : Effet de la supplémentation sur le gain de poids total entre J0 et J21 en fonction du format racial. Les lettres majuscules identiques montrent qu'il n'y a aucune différence significative sur le gain de poids moyen total entre les chiots supplémentés et placebo ($p>0,1$). Les lettres majuscules différentes montrent qu'il y a une différence significative sur le gain de poids moyen total entre les chiots supplémentés et placebo ($p<0,05$).

Gain de poids
moyen par semaine
(g)

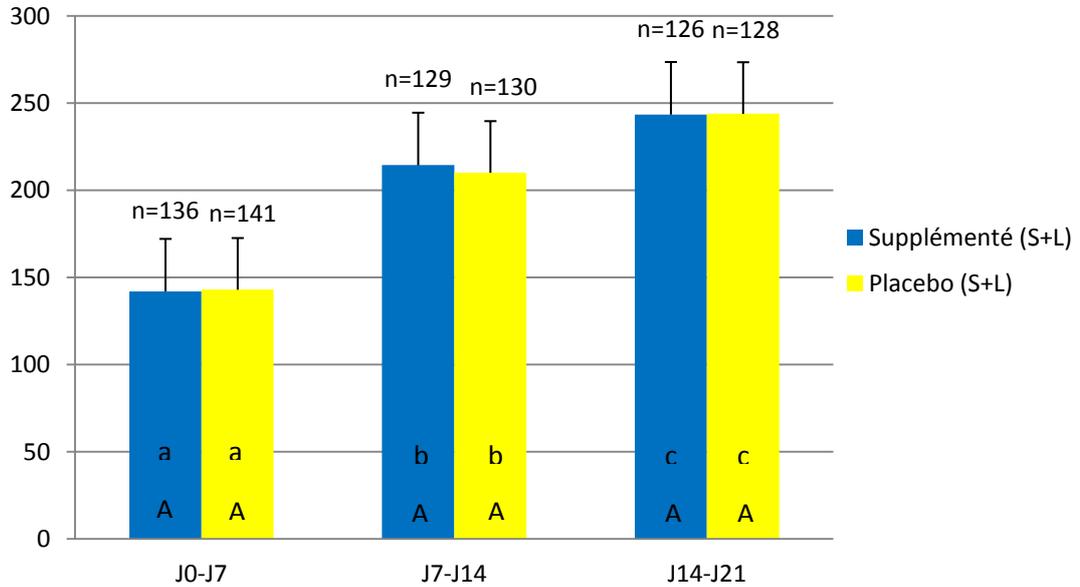


Figure 36 : Effet de la supplémentation sur le gain de poids hebdomadaire entre J0-J7, J7-J14 et J14-J21. Les lettres majuscules identiques montrent qu'il n'y a aucune différence significative sur le gain de poids moyen total entre les chiots supplémentés et placebo quelque soit le format racial ($p > 0,1$). Les lettres minuscules différentes montrent qu'il existe une différence entre les gains de poids hebdomadaire des chiots pour un format racial fixe ($p < 0,05$).

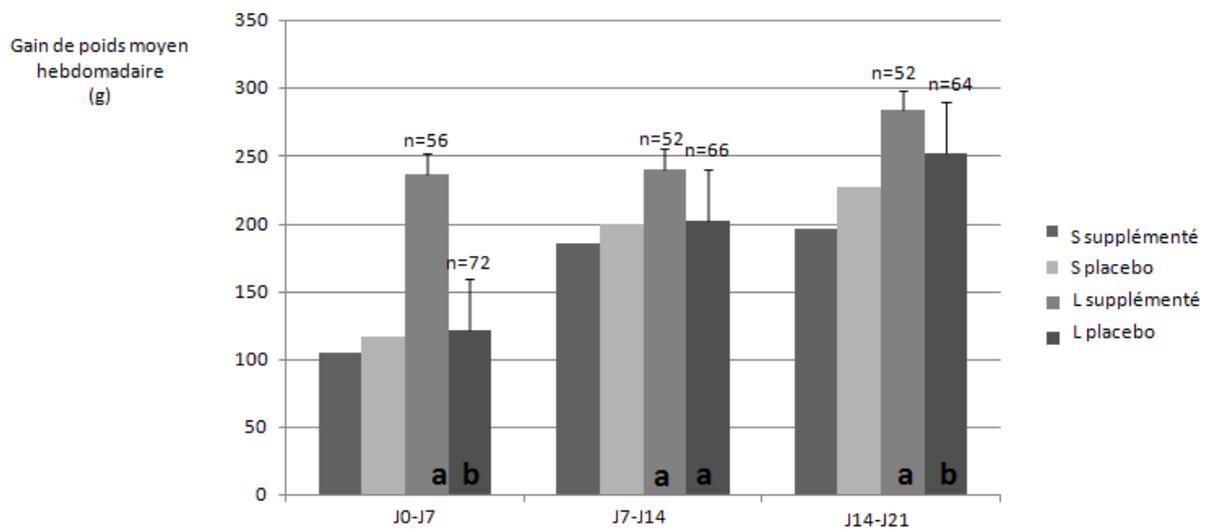


Figure 37 : Effet de la supplémentation sur le gain de poids hebdomadaire sur différentes périodes en fonction du format racial. Les colonnes portant des lettres différentes correspondent à des gains de poids significativement différents au seuil de $p = 0,05$.

Le seul effet de la supplémentation est donc sur le gain de croissance chez les chiots de grand format, notamment lors de leur première et troisième semaine de vie.

3) Morbidité

a- Description de la population

208 chiots sont définis comme étant malades c'est-à-dire présentant au moins un des signes suivants à au moins un des examens cliniques : écoulement nasal ou oculaire, diarrhée, palpation abdominale anormale ou auscultation cardio-respiratoire non habituelle. Le taux de morbidité entre J0 et J21 est de 60 %. L'analyse multivariée montre un effet significatif de la période ($p < 0,001$) et du format racial pour une période donnée ($p = 0,02$) sur le taux de morbidité (figure 38).

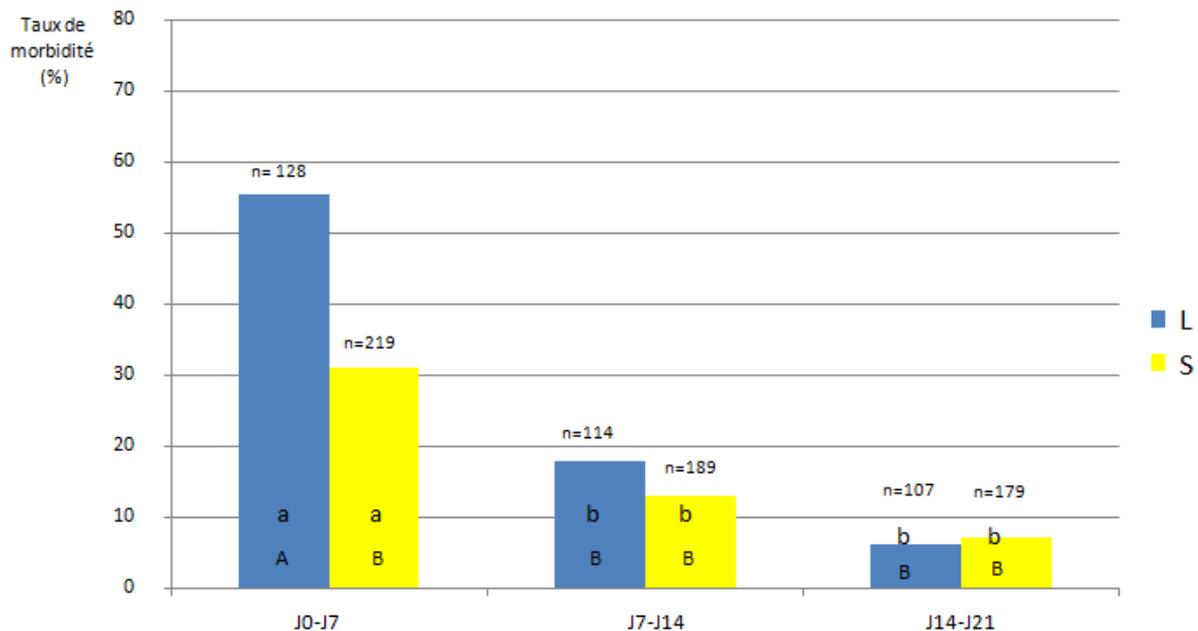


Figure 38 : Effet du format racial et de l'âge des chiots sur le taux de morbidité. Les colonnes portant des lettres différentes correspondent à des taux de mortalité significativement différents au seuil de $p = 0,05$. Les minuscules comparent les taux pour un format racial donné et les majuscules entre L et S pour une période donnée.

Il y a une différence significative entre les taux de morbidité chez les chiots S et L entre J0 et J7 ($p < 0,05$) : le taux de morbidité des chiots L est de 55 % versus 31 % chez les chiots S. Les chiots de grand format racial sont donc plus sensibles que les chiots de petit format durant leur première semaine de vie. Les taux de morbidité ne sont pas significativement différents entre S et L durant les 2 autres périodes. On peut noter que le taux de morbidité varie de façon significative pour un format racial fixé entre J0-J7 et J7-J14/J14-J21 : le taux de morbidité des chiots L est 9 fois plus élevé durant leur première semaine de vie que durant leur troisième (55 % versus 6 %) et 3 fois plus que durant leur seconde semaine de vie (55 % vs 18 %). De même, le taux de morbidité des chiots S est 4 fois plus élevé entre J0 et J7 qu'entre J14 et J21 (31 % versus 8 %), et 2,5 fois supérieur à celui de la période J7-J14 (31 % versus 23 %).

b- Effet de la supplémentation

51% des chiots supplémentés présentent des signes d'atteinte de l'état général entre J0 et J21, tout comme 45% des chiots placebo. Aucune différence significative n'est objectivée entre les taux de morbidité des chiots supplémentés et placebo ($p = 0,71$) : le taux de morbidité des chiots supplémentés est de 50 % ($n = 136$) et de 45 % ($n = 128$) pour les chiots non supplémentés.

Aucun effet significatif de la supplémentation n'est observé sur le taux de morbidité ($p=0,64$) pour une race et une période donnée (figure 39).

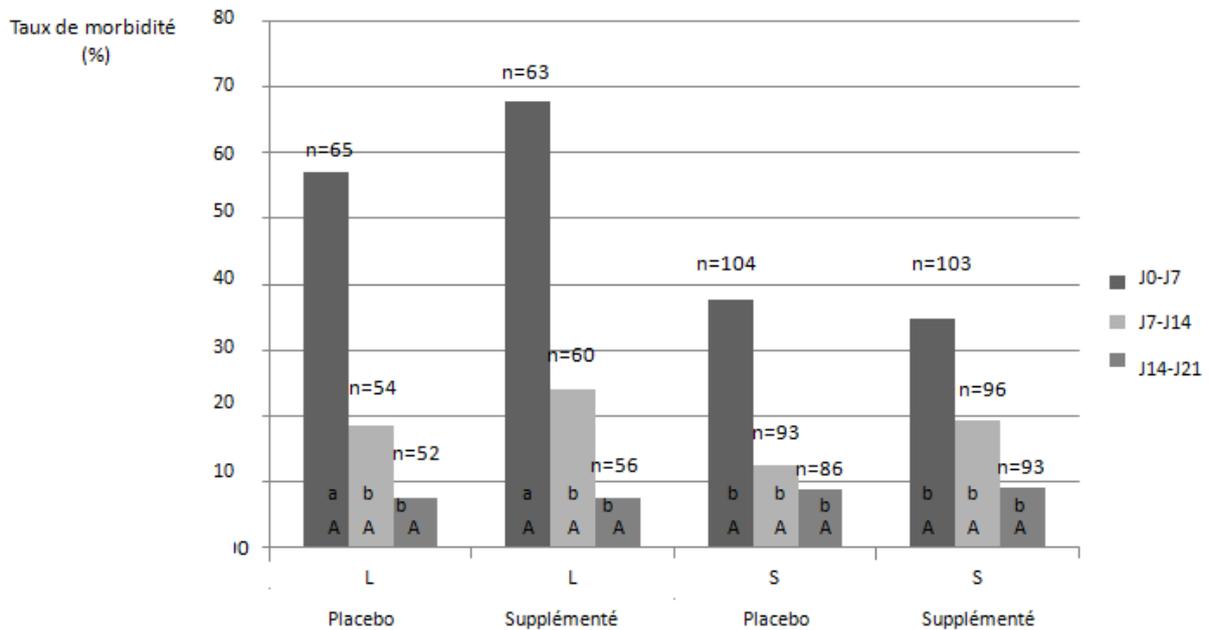


Figure 39 : Effet de la supplémentation et de l'âge des chiots sur le taux de morbidité. Les lettres en minuscules sont différentes lorsqu'il y a une différence significative des taux de morbidité pour un format de race donnée et un type de supplémentation entre deux périodes ; les lettres majuscules sont différentes s'il y a une différence significative pour une période et un format de race fixe des taux de morbidité en fonction de la supplémentation.

4) Mortalité

a- Descriptif de la population

Durant la période néonatale, 64 chiots sont décédés soit 18,4% du nombre de chiots nés vivants (figure 40). Les principales causes de mortalité identifiées sont des décès suite à un désintérêt maternel (27%), au « fadding puppy syndrom » (45%), à des infections de type omphalite ou pneumonie (17%), à l'ingestion de copeaux contenus dans la litière (5%) ou inconnues (6%).

La mortalité néonatale précoce, dans les 7 premiers jours de vie du chiot, représente 69% de la mortalité néonatale totale (figure 41). On observe un pic de mortalité dans les trois premiers jours de vie où ont lieu 43% des décès (figure 42).

Le taux de mortalité varie significativement selon la période considérée ($p<0,001$). Plus le chiot est jeune, plus le risque de mortalité est important.

41% des chiots décédés sont des chiots L et 59 % des chiots S. Il n'y a aucune différence significative du taux de mortalité en fonction de la race ($p=0,64$) : le taux de mortalité des chiots L est de 18% ($n=141$) tout comme celui des chiots S ($n=206$).

b- Effet de la supplémentation

La supplémentation n'a eu aucune influence significative sur le taux de mortalité néonatale d'après l'analyse multivariée ($p=0,67$) quelque soit le format racial ($p=0,35$). Les taux de mortalité sont de 17% dans le groupe supplémentation *versus* 21% dans le groupe placebo.

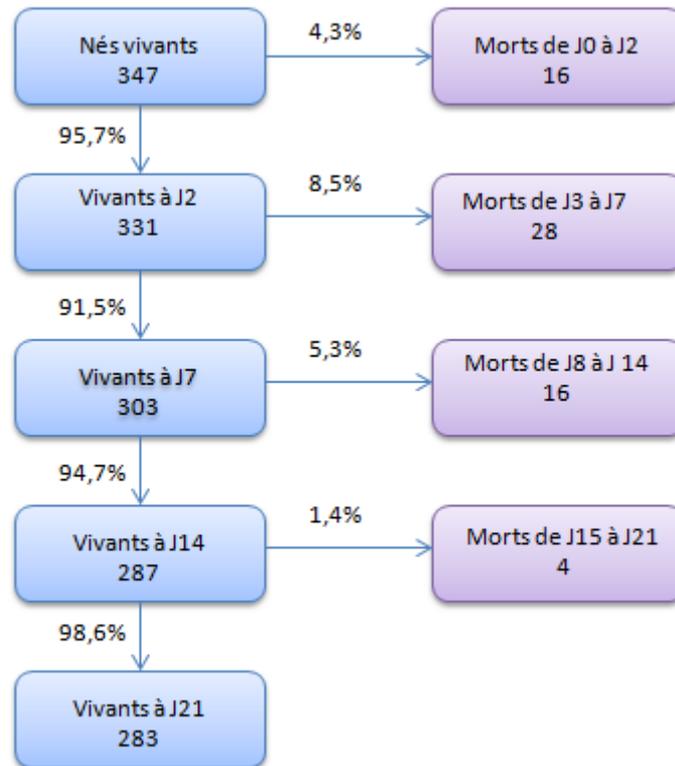


Figure 40 : Schéma descriptif des différentes périodes de mortalité. Les pourcentages associés à chaque flèche correspondent au taux de mortalité des chiots encore vivants à la période considérée.

Si l'on détaille la distribution de la mortalité en fonction du temps, on remarque un pic à J3 avec 11 chiots morts. Le nombre décroît ensuite, à l'exception d'un pic de 4 chiots décédés au 21ème jour de vie (figure 42).

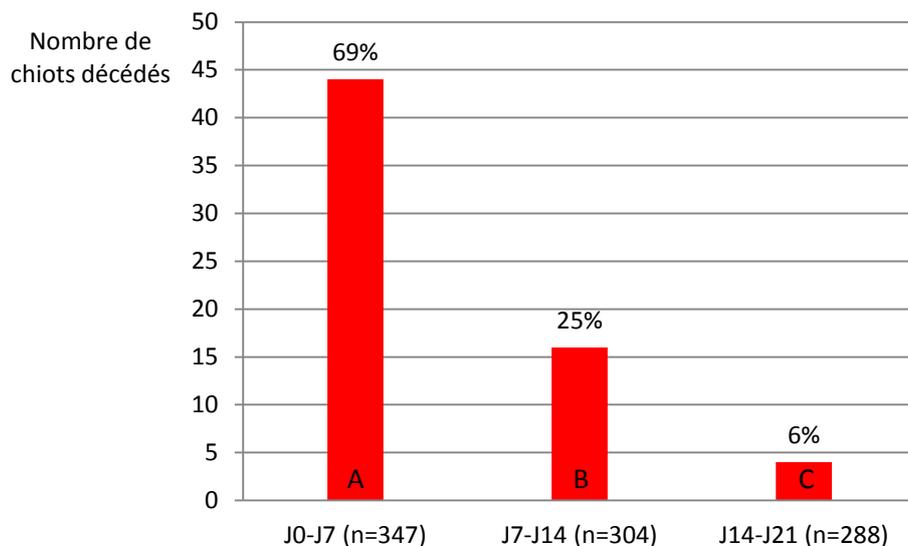


Figure 41 : Nombre de chiots décédés selon la période (J0-J7, J7-J14 et J14-J21). Les colonnes portant des lettres différentes correspondent à des taux de mortalité significativement différents au seuil de $p=0,05$. Les pourcentages indiqués correspondent au pourcentage de la mortalité totale.

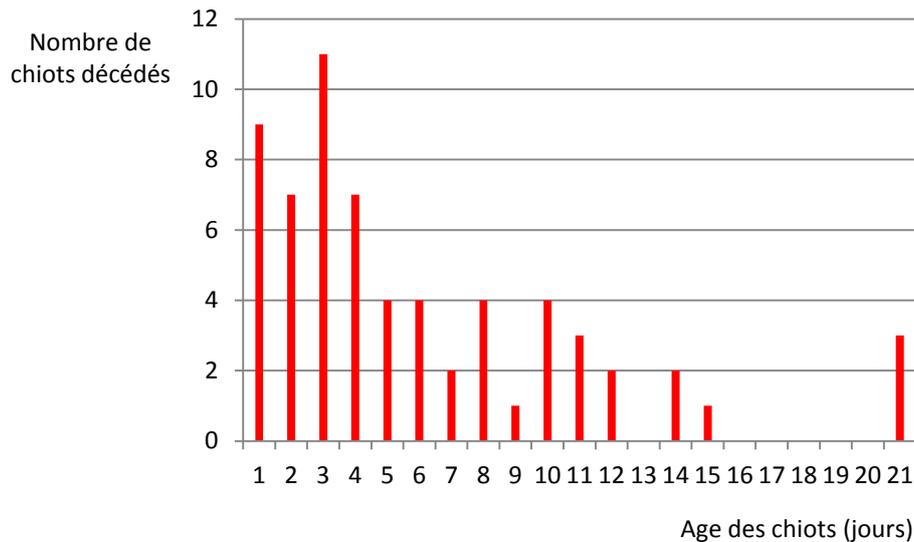


Figure 42 : Distribution des jours de mort des chiots en période néonatale (n=64)

5) Effet de la supplémentation sur le Sanitary Risk Index (SRI)

a- Descriptif de la population

208 chiots ont été notés malades et/ou sont morts durant leur trois premières semaines de vie.

Le SRI est de 30,4 % dans la période néonatale.

L'analyse statistique met en évidence une différence significative du SRI en fonction de la période étudiée ($p < 0,001$). Le SRI est de 53,5 % entre J0 et J7, de 19,4 % entre J7 et J14 et de 8,4 % entre J14 et J21. Le SRI est significativement plus élevé chez les chiots de grand format que chez les chiots de petit format quelque soit la période étudiée ($p = 0,002$) et chez les chiots de moins de 7 jours pour tout type racial ($p = 0,0057$) (figure 43). Le SRI moyen pour les chiots L est 35,2 % et 27,5 % pour les chiots S entre J0 et J21. On retrouve une différence significative entre le SRI des chiots d'un format racial fixé entre les différentes périodes (J0-J7, J7-J14 et J14-J21).

b- Effet de la supplémentation

Il n'y aucune différence significative entre le SRI des chiots supplémentés ou non : le SRI moyen entre J0 et J21 pour les chiots supplémentés est de 32,6 % et pour les chiots placebo de 34,3 % ($p = 0,56$). La supplémentation des chiots n'agit donc pas sur leur résistance aux pathogènes présents dans l'élevage. Pour toute période considérée, aucun écart significatif n'a pu être mis en évidence entre les chiots supplémentés et placebo : le SRI des chiots supplémentés est 55,4 % entre J0 et J7 et de 57,8 % pour les chiots placebo ($p = 0,42$), entre J7 et J14 le SRI est de 22,6 % chez les chiots supplémentés *versus* 25,3 % chez le groupe placebo ($p = 0,84$), enfin entre J14 et J21, le SRI est de 9,3% pour les premiers et de 8,9 % chez les seconds ($p = 0,99$) (figure 44).

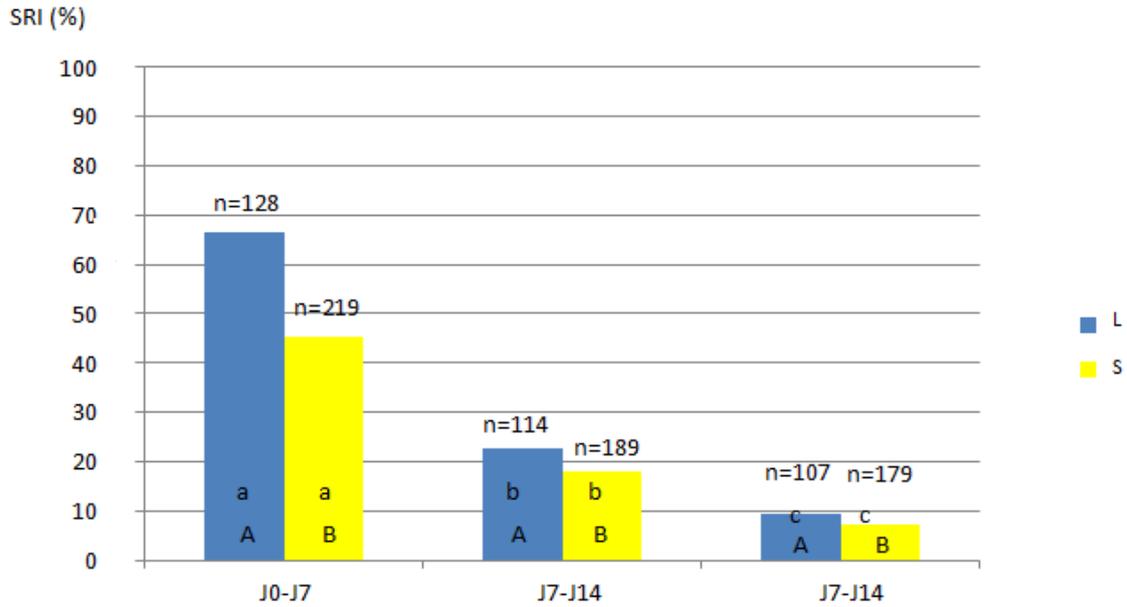


Figure 43 : Effet de l'âge et du format racial des chiots sur le SRI. Les lettres majuscules sont différentes s'il existe une différence significative du SRI pour une période donnée entre les chiots L et S ($p < 0,005$). Les lettres minuscules sont différentes s'il existe un écart significatif pour un type racial particulier entre le SRI des différentes périodes considérées.

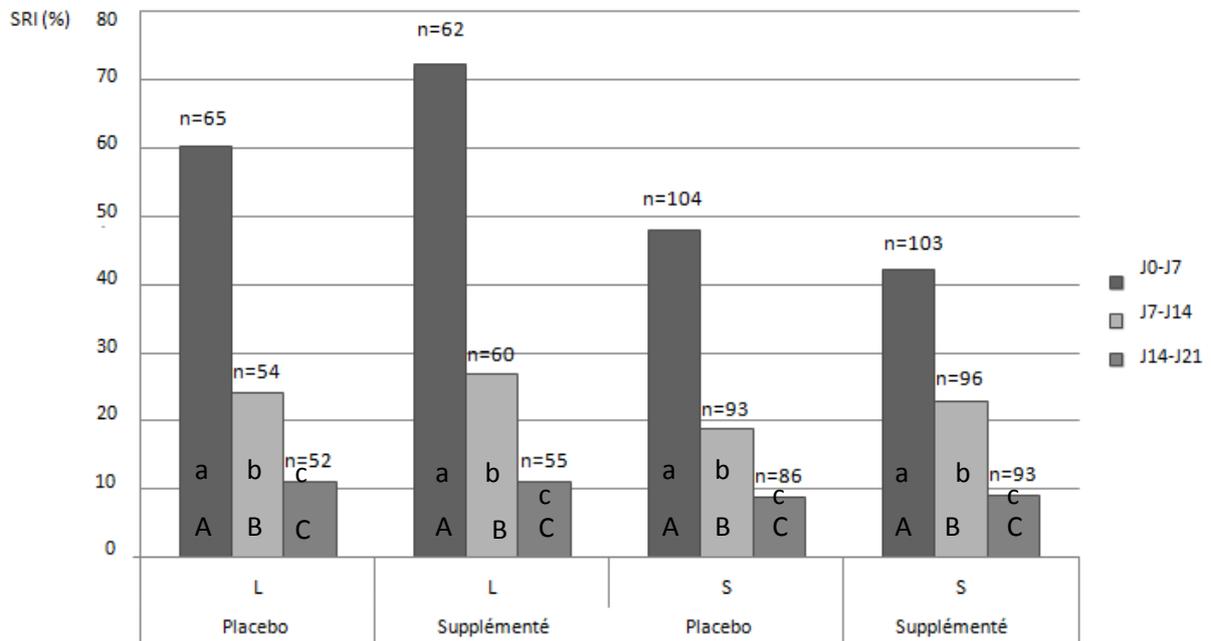


Figure 44 : Effet de la supplémentation et du format racial sur le SRI. Les lettres en majuscules sont différentes lorsqu'il y a une différence significative des SRI pour un format de race donnée et un type de supplémentation entre deux périodes ; les lettres minuscules sont différentes s'il y a une différence significative pour une période et un format de race fixe du SRI en fonction de la supplémentation.

B- Période pédiatrique (J21-J56)

1) Croissance

a- Descriptif de la population

Le poids moyen à J21 est de $958 \pm 24,1$ g. Il est significativement différent entre les chiots L et S ($p=0,004$) : $1260,3 \pm 35,7$ g pour les chiots de grand format ($n=66$) et $755,4 \pm 19,8$ g pour les chiots de petit format ($n=100$). La croissance des chiots est évaluée entre J21 et J56 et plus particulièrement entre J21-J28, J28-J35, J35-J42, J42-J49 et J49-J56.

Le gain de poids moyen total entre J21 et J56 est de $1663,2 \pm 34,9$ g soit $47,5 \pm 7,6$ g de gain de poids quotidien ; plus précisément il est de $1163,5 \pm 34,9$ g pour les chiots S ($n=100$) soit $33,2 \pm 1,2$ g de gain de poids quotidien et de $2470,7 \pm 101,1$ g pour les chiots L ($n=66$) soit $70,6$ g de gain de poids quotidien. Le gain de poids total est significativement différent ($p<0,001$) entre les chiots S et L entre J21 et J56 (figure 45). Le format racial influence donc la croissance.

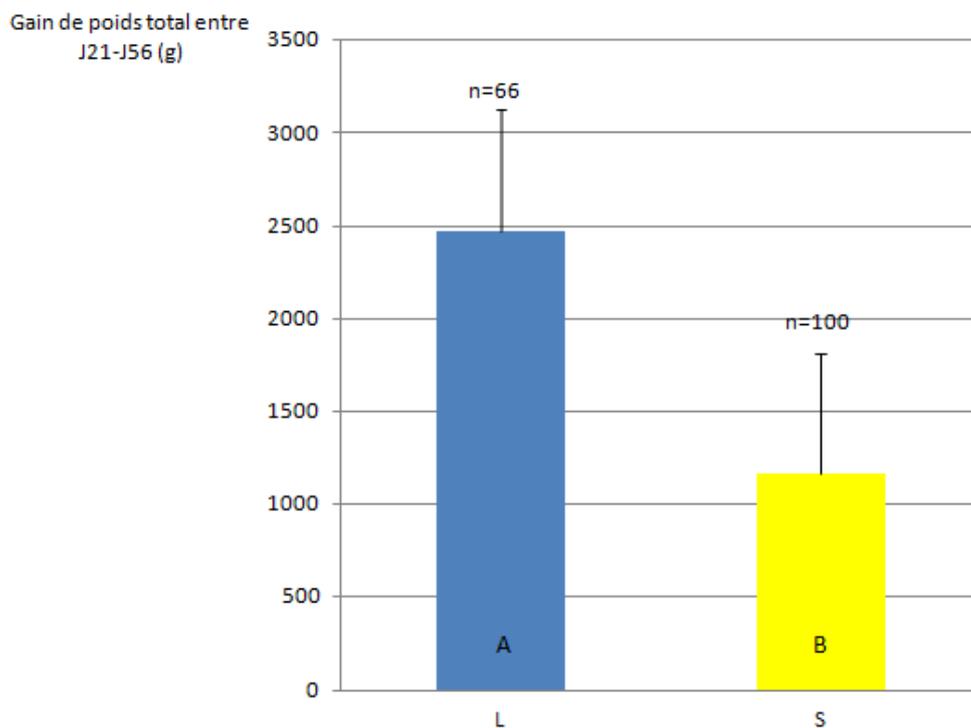


Figure 45 : Effet du format racial sur le gain de poids total entre J21 et J56. Les majuscules signifient qu'il y a une différence significative entre la croissance des chiots S et L durant cette période ($p=0,001$).

Toutefois, si l'on découpe l'intervalle étudié en cinq semaines, les gains de poids hebdomadaires entre les chiots S et L ne sont plus significativement différents ($p>0,05$) sauf entre J49-J56 ($p=0,02$) où le gain de poids des chiots L est 3 fois plus important que celui des chiots S.

Le gain de poids des chiots L est de $511,4 \pm 21,2$ g entre J21 et J28, de $602,8 \pm 28,8$ g entre J28 et J35, de $452,7 \pm 34,6$ g entre J35 et J42, de $345,0 \pm 45,4$ g entre J42 et J49 et de $513,2 \pm 60,0$ g entre J49 et J56. Le poids des chiots L est significativement différent en fonction de la période étudiée sauf entre J21-J28 et J28-J35 ($p=0,46$), J35-J42 et J42-J49 ($p=0,25$), J35-J42 et J42-56 ($p=0,78$) et J42-J49 et J49-J56 ($p=0,71$). Le gain de poids des chiots S est de $228,6 \pm 6,7$ g entre J21 et J28, de $265,0 \pm 9,6$ g entre J28 et J35, de $256,4 \pm 10,2$ g entre J35 et J42, de $251,1 \pm 12,3$ g entre J42 et J49 et de $179,1 \pm 19,7$ g entre J49 et J56. Le poids des chiots L est significativement différent en fonction de la période étudiée sauf entre J21-J28 et J28-J35 ($p=0,67$), J28-35 et J35-42 ($p=0,11$) et J42-49 et J49-56 ($p=0,76$) (figure 46).

b- Effet de la supplémentation

L'analyse multivariée montre que la supplémentation n'a eu aucun effet significatif sur la croissance entre J21 et J56 ($p=0,47$). Le gain de poids moyen des chiots supplémentés est de $1696,2 \pm 106,1$ g et celui des chiots placebo de $1655,6 \pm 97,7$ g. Le gain de poids moyen total entre J21 et J56 des chiots supplémentés L est de $2585,9 \pm 181,1$ g et celui des chiots placebo de $2502,7 \pm 147,9$ g. Il n'y a aucune différence significative entre les chiots supplémentés et placebo L ($p=0,98$). Le gain de poids moyen total entre J21 et J56 des chiots supplémentés S est de $1190,9 \pm 59,0$ g et celui des chiots placebo de $1155,0 \pm 64,1$ g. Il n'y a aucune différence significative entre les chiots supplémentés et placebo L ($p=0,76$) (figure 47).

L'analyse multivariée montre qu'il n'existe aucune différence significative entre les gains de poids hebdomadaires des chiots supplémentés et placebo quelque soit la semaine étudiée ($p=1,00$).

Aucun effet significatif n'est noté sur le gain de croissance moyen hebdomadaire entre les chiots supplémentés et non supplémentés de même format racial.

2- Morbidité

a- Descriptif de la population

81 chiots sont définis comme étant malades entre J21 et J56 c'est-à-dire présentant au moins un des signes suivants à au moins un des examens cliniques : écoulement nasal ou oculaire, diarrhée, palpation abdominale anormale ou auscultation cardio-respiratoire non habituelle. Le taux de morbidité entre J21 et J56 est de 49 %.

Il n'y a aucun effet significatif du format racial ($p=0,12$) sur le taux de morbidité. 53 % des chiots présentant un signe de maladie sont des chiots de petit format et 47% des chiots de grand format. Le taux de morbidité entre J21 et J56 des chiots L est de 58 % et celui des chiots S de 49 % (figure 48).

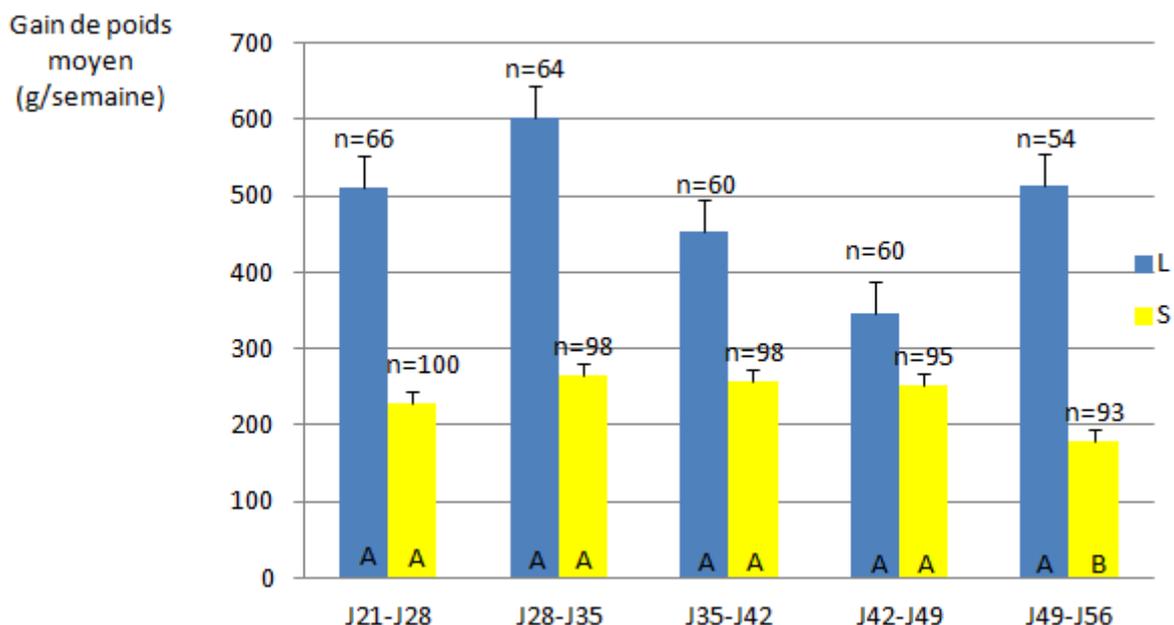


Figure 46 : Effet du format racial et de la période étudiée sur le gain de poids hebdomadaire. Les lettres majuscules identiques signifient qu'il n'y a aucune différence significative entre le gain de croissance des chiots L et S pour une période donnée. Les lettres identiques signifient le contraire ($p < 0,05$).

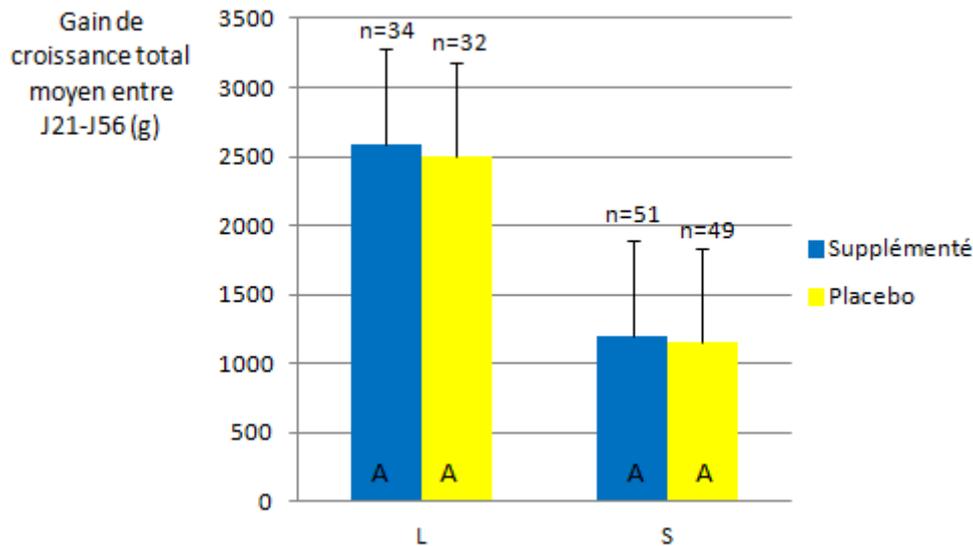


Figure 47 : Effet de la supplémentation et du format racial sur le gain de poids total moyen entre J21 et J56. Les lettres majuscules sont identiques ce qui signifie qu'il n'y a aucune différence significative entre les chiots supplémentés et non supplémentés pour un format racial donné.

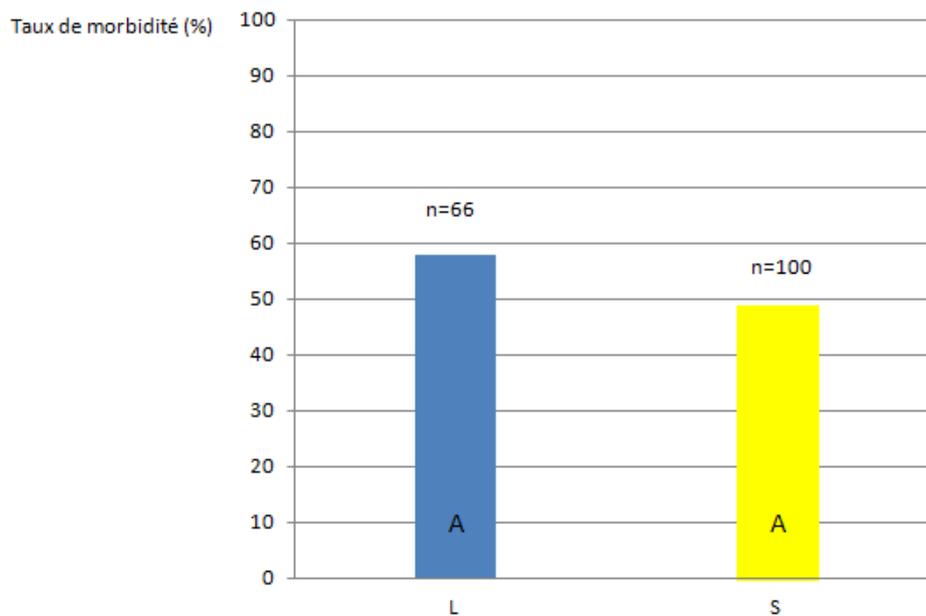


Figure 48 : Effet du format racial sur le taux de morbidité. Les lettres majuscules identiques signifient qu'il n'y a aucune différence significative entre les chiots S et L vis-à-vis du taux de morbidité ($p=0,12$).

Le score de morbidité, défini précédemment, est significativement différent entre les chiots L et S ($p=0,05$). Il est de 1,4 pour les chiots L et de 0,7 pour les chiots S. Les chiots L présentent donc 2 fois plus de signes d'infection lorsqu'ils sont malades dans la période pédiatrique, ils sont significativement plus sensibles.

b- Effet de la supplémentation

47 % des chiots supplémentés ($n=85$) ont présenté un signe de morbidité contre 54% chez les chiots du groupe placebo ($n=81$). Il n'y a aucune différence significative entre le taux de morbidité des chiots

supplémentés et celui du groupe placebo ($p=0,87$) : celui-ci est de 48% chez les chiots supplémentés et de 53% chez chiots placebo.

Aucun effet significatif de la supplémentation n'est noté sur le taux de morbidité quelque le soit le format racial et la période étudiée ($p>0,05$).

La supplémentation n'a aucun effet significatif sur le score de morbidité ($p=0,91$) : le score de morbidité est de $1,2 \pm 0,4$ pour les chiots supplémentés et de $1,0 \pm 0,3$ pour les chiots placebo. Plus précisément, il est de $1,6 \pm 0,3$ pour les chiots L supplémentés et de $1,2 \pm 0,4$ pour les L placebo, de $0,8 \pm 0,4$ pour les chiots S supplémentés et de $0,5 \pm 0,3$ pour les chiots S non supplémentés (figure 49). La supplémentation n'a aucun effet significatif sur le score de morbidité quelque soit le format racial ($p=0,40$)(figure 49).

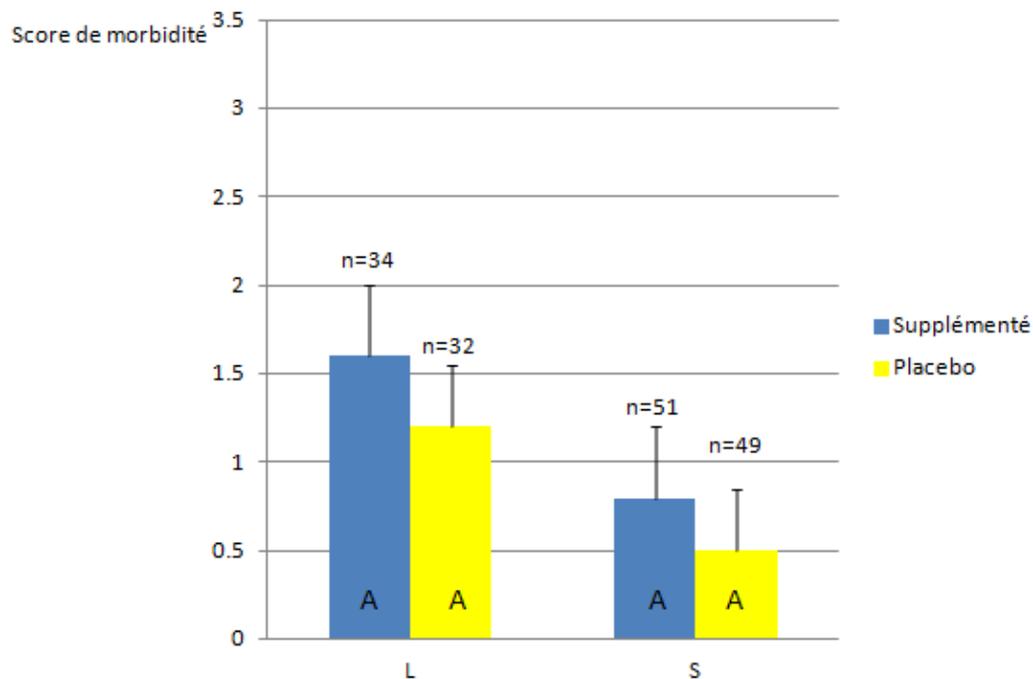


Figure 49 : Effet de la supplémentation sur le score de morbidité pour un format racial fixé. Les majuscules signifient qu'il n'y a aucune différence significative du score de morbidité entre les chiots supplémentés et placebo pour un format racial particulier.

3) Mortalité

a- Descriptif de la population

Entre J21 et J56, 9 chiots sont décédés soit 5% de la population présente à J21 ($n=166$). La seule et unique cause de mortalité est une infection virale alliant coronavirus et CPV-2 (résultats obtenus après autopsie et analyses bactériologiques). Le taux de mortalité varie significativement en fonction de la période étudiée ($p<0,05$) : l'essentiel de la mortalité pédiatrique a lieu durant la dernière semaine de notre étude soit entre J49-J56. En effet, 78% de la mortalité y est concentrée (figure 50).

45% des chiots décédés en période pédiatrique sont des chiots de grand format et 55% des chiots de petit format. Cette différence n'est pas significative ($p=0,09$).

b- Effet de la supplémentation

La supplémentation n'a aucun effet significatif sur le taux de mortalité ($p=0,12$) et ce quelque soit le format racial du chiot ($p=0,34$). Les taux de mortalité sont de 5% dans le groupe de chiots supplémentés versus 6% dans le groupe placebo.

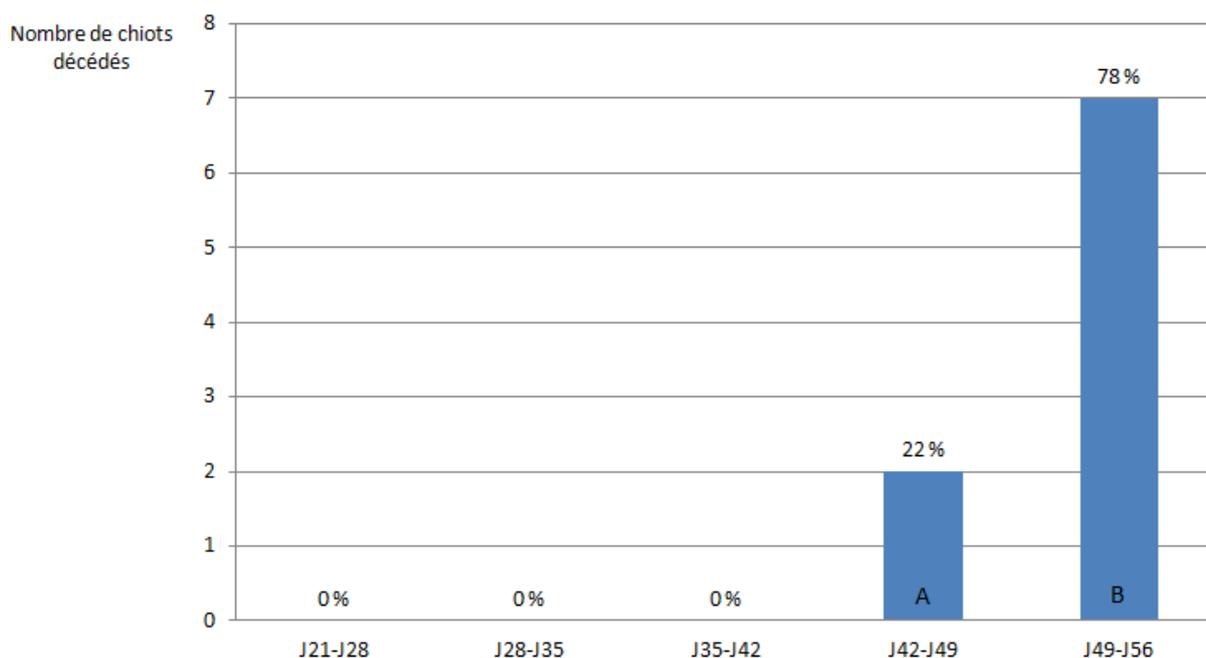


Figure 50 : Nombre de chiots décédés selon la période (J21-J28 avec n=366, J28-J35 avec n=366, J35-J42 avec n=366, J42-J49 avec n=366 et J49-J56 avec n=364). Les colonnes portant des lettres différentes correspondent à des taux de mortalité significativement différents au seuil de $p=0,05$. Les pourcentages indiqués correspondent au pourcentage de la mortalité totale pédiatrique.

4) SRI

a- Descriptif de la population

83 chiots sont notés malades et/ou décédés durant la période pédiatrique. Le SRI sur cette période est de 52,8 %. Le SRI pour le groupe de chiots L est de 63,9% *versus* 45,8 % pour les chiots S. Les SRI ne sont pas significativement différents chez les chiots de grand et petit format sur l'ensemble de la période étudiée ($p=0,18$). L'influence des différentes périodes (J21-J28, J28-J35, J35-J42, J42-J49 et J49-J56) sur le SRI n'a pas été étudiée.

b- Effet de la supplémentation sur le SRI

Il n'y a aucune différence significative entre le SRI des chiots supplémentés et celui des chiots placebo : le SRI entre J21 et J56 pour les chiots supplémentés est 44,7% (n=85) et pour les chiots non supplémentés de 55,5 % (n=81) ($p=0,41$).

III- Discussion

Le taux de mortalité néonatale et pédiatrique, c'est-à-dire de la naissance au sevrage est compris dans la littérature entre 20 et 40 % pour l'ensemble des chiots nés (Lawler, 1989 ; Tonnessen et al, 2012). Ce taux dépend en partie du transfert d'immunité de la mère à ses nouveau-nés à partir des anticorps absorbés par voie intestinale avant la fermeture de la barrière, d'où l'intérêt de la manipulation décrite dans ce manuscrit.

Les chiots ont reçu par voie orale une supplémentation en IgY dirigées contre deux pathogènes canins présents dans l'élevage : *E. coli* et CPV-2. L'administration est réalisée dans les 8 premières de vie alors que l'absorption est optimale et avant la fermeture de la barrière (Chastant et al, 2013). L'objectif est d'augmenter, si possible, le taux d'anticorps circulants dirigés contre *E. coli* et CPV-2. En

effet, on sait que plus la concentration sérique en anticorps est élevée dans les premiers jours de vie (notamment à J2), moins la mortalité est importante (Wittum et al, 1995 ; Almaric, 2011 ; Mila et al, 2014). L'analyse a été menée en distinguant deux formats raciaux. En effet, des différences significatives nombreuses sont apparues entre les chiots S et les chiots L. Nous n'avons pu mettre en évidence aucun effet significatif de la supplémentation en IgY sur le métabolisme, les taux de morbidité et de mortalité, le score de morbidité et le SRI. Toutefois, une différence a pu être mise en évidence entre le gain de croissance des chiots de grand format placebo et supplémentés avec une croissance supplémentaire de 27% pour ces derniers. La supplémentation influe donc uniquement sur la croissance des chiots de grande taille, notamment durant leur première et troisième semaines de vie.

A- Limites de l'étude

1) La population étudiée

Notre étude comporte un nombre important d'animaux : 347 chiots, 66 portées différentes, 14 races, élevés dans un environnement similaire (même alimentation, même éclairage, chauffage, hygrométrie et luminosité, même agents infectieux). Par comparaison, la seule autre étude sur les IgY sur les chiots portait sur 10 animaux (N'Guyen et al, 2006).

Ce nombre élevé nous permet de nous abstraire des effets liés à un type racial. Ainsi, en ayant un panel large de races, on peut espérer représenter la population canine réelle et tenir compte des différences physiologiques entre races. En effet, des différences significatives nombreuses sont apparues entre les chiots S et les chiots L durant notre étude notamment sur le métabolisme (glycémie et lactatémie à J1 significativement plus élevées chez les chiots L), la croissance (significativement plus élevée chez les chiots L de J0 à J7), la morbidité et le SRI (significativement plus élevés chez les chiots L). Les résultats de notre étude ont donc mis en évidence des paramètres biochimiques significativement différents chez les chiots de grand format par rapport aux chiots de petit format (tableau 16) qui sont compatibles avec les données bibliographiques. Malgré des différences selon le format racial, les valeurs biochimiques mesurées se trouvent dans les intervalles décrits dans la littérature (glucose, lactate). Aucune donnée n'est disponible chez le chiot quant à la concentration sanguine en corps cétoniques.

	Glycémie moyenne à J1 (mg/dl)	Lactatémie moyenne à J1 (mmol/L)	Concentration sanguine en corps cétoniques à J1 (mg/dl)
Chiots L	95,2 ± 3,5	1,5 ± 0,1	0,3 ± 0,0
Chiots S	128,5 ± 2,6	1,4 ± 0,2	0,3 ± 0,0
Données existant dans la littérature	Comprise entre 91 ± 9 et 125 ± 3 (Casseleux, 2007)	1,07 – 6,59 (Michael et al, 2005)	Non documenté

Tableau 16 : Comparaison des glycémies, lactatémies et concentrations sanguines en corps cétoniques chez le chiot nouveau-né entre notre étude et les données de la littérature.

Chaque groupe de race est représenté de manière presque équivalente : 60% des chiots sont de petites races et 40% de grandes races. Cependant, les chiots de grand format racial ne comprennent que 4 races (Labrador, Boxer, Berger allemand, Golden retriever), contre 9 races de petite taille, ce qui peut être une source de biais.

Par ailleurs, le fait que l'expérimentation ait été réalisée dans un seul élevage rend homogène les facteurs environnementaux susceptibles d'influer sur la mortalité. Mais, inversement, les résultats peuvent ne pas être extrapolables à toutes les situations d'élevage : prévalence des différents agents pathogènes, conduite d'élevage. Par exemple, la fréquence de nettoyage des boxes des chiots peut favoriser la contamination par des pathogènes particuliers ou fragiliser les chiots (nettoyages très fréquents avec une solution très irritante pour les voies respiratoires).

2) La mortalité pédiatrique et néonatale

Nous avons étudié deux périodes : la période néonatale (0-21 jours d'âge) où la mortalité était de l'ordre de 18,4 % (64 chiots morts/347 nés vivants) avec 68% des chiots mourant dans leur première semaine de vie (pic maximal de mortalité dans les trois premiers jours) ; au cours de la période pédiatrique le taux de mortalité était proche de 7,5%. Les taux obtenus pour la mortalité néonatale correspondent à ceux obtenus sur des porcelets (Herpin et al, 2002- Edwards, 2002 – Tuchscherer et al, 2000) où la mortalité néonatale était comprise entre 18 et 20% avec 70 à 80% de cette mortalité survenant dans les trois premiers jours. Ils correspondent également aux données existant dans la littérature sur la mortalité néonatale canine avec toutefois des valeurs légèrement supérieures pour le taux de mortalité néonatale (tableau 17). La mortalité totale entre J0 et J56 n'est pas évaluable dans notre étude du fait que l'effectif étudié est modifié à J21.

La morti-mortalité et les euthanasies requises par les malformations congénitales n'ont pas été prises en compte. Notre taux de mortalité totale est donc sous-estimé. Le fait de ne pas avoir pris en compte le taux élevé de mortinatalité de cet élevage (43,7% d'après Belin, 2013) a été délibérément choisi. Notre expérimentation traite de l'amélioration des taux de mortalité via une amélioration du transfert passif de l'immunité de la mère à ses chiots nés-vivants et non du rôle maternel sur la mortalité avant et lors de la mise-bas.

	Mortalité entre J0-J21 d'âge hors chiots mort-nés (% par rapports aux chiots nés)	Mortalité entre J0-7 d'âge (en % par rapport à la mortalité totale néonatale)	Mortalité entre J21-J60 d'âge (en % par rapport aux chiots nés)	Mortalité totale (en % par rapport aux chiots nés)
Notre étude	18,4	68,3	7,5	?
Nielen et al (1998)	10,2	47,1	2,1	21,7
Indrebo et al (2007)	6,1	82,6	<1	17,7
Belin (2013)	6,8	69,5	5,2	22,8
Mila et al (2013)	10,8	91,8	4,2	23,2

Tableau 17 : Comparaison des taux de mortalité néonatale et pédiatrique avec les données de la littérature

Les résultats histologiques des prélèvements effectués lors de l'autopsie des chiots décédés au cours de l'expérimentation en période néonatale ont mis en évidence que 40% des bactéries impliquées sont des *E. coli*, 30% des streptocoques et 23% des entérocoques (figure 51). Ces données correspondent à celles retrouvées dans la littérature à savoir que les bactéries les plus fréquemment rencontrées dans les infections néonatales sont les staphylocoques et *E. coli* (Lelli, 1992 ; Munnich, 2008). 36% des chiots ayant présenté des bactéries à l'autopsie présentaient une infection locale, 36,4% une infection systémique et 27,6% souffraient de septicémie.

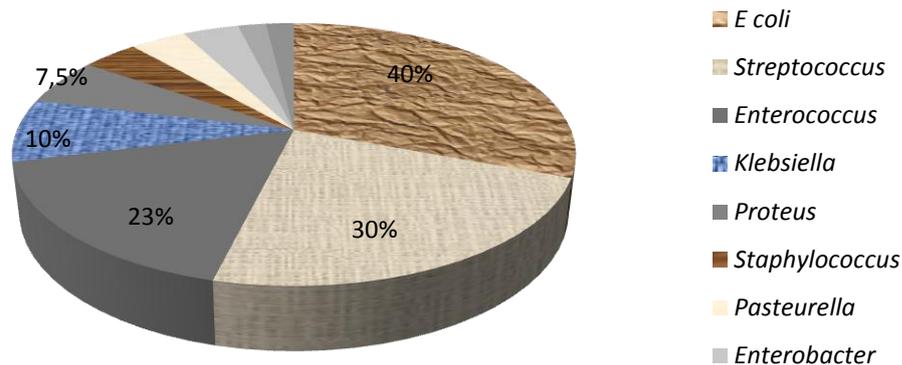


Figure 51: Fréquence des différents types de bactéries retrouvées dans la rate à l'autopsie de chiots décédés entre J0 et J21 (n=43)

La mortalité a donc deux agents différents pour origine : *E. coli* responsable de plus de 40% des septicémies en période néonatale précoce, c'est-à-dire dans les 7 premiers jours de vie des chiots et, CPV-2 circulant depuis plusieurs mois dans cet élevage en période pédiatrique.

3) Naissance et mise-bas

Tous les chiots inclus dans notre étude ne sont pas tous venus au monde naturellement, certains sont nés par césarienne. Sachant la durée prolongée d'un part naturel et l'utilisation de produits anesthésiques, on peut se demander si ces différents facteurs n'influent pas la réactivité du chiot nouveau-né à avaler le colostrum et surtout à absorber les Ig apportées : Frerking et Aeikens (1980) ont montré que les veaux naissant par césarienne lors d'une dystocie avaient des concentrations plus faibles en Ig que ceux nés spontanément pour un colostrum identique. On peut donc se demander si l'hypoxie ayant lieu durant un part long influe sur la barrière intestinale du chiot et notamment sur l'absorption de la supplémentation au niveau intestinal. Nous avons choisi d'inclure les chiots dystociques et nés par césarienne pour avoir d'une part, un effectif de chiots conséquent et d'autre part, une bonne représentation de la population canine réelle. Les chiots nés par césarienne n'ont pas été identifiés différemment des autres, on ne connaît pas leur nombre exact. 4 césariennes de chiennes ont été réalisées sur les 66 mises-bas, soit 5 % des mises-bas. Le nombre moyen de chiots par portée pour les chiens de petit format étant de $4,7 \pm 1,8$ (Belin, 2013), on peut estimer qu'environ 20 chiots sont nés par césarienne ce qui est négligeable au vu de l'effectif global (5%).

4) Période de suivi

Nous avons étudié les chiots depuis leur naissance jusqu'à leur sevrage. Il s'agit en effet de la période qui concerne le plus directement l'éleveur (les chiots sont ensuite vendus) et qui est une période à risque de mortalité. En effet, la mortalité des chiots étant très importante notamment dans leurs premières semaines de vie (Gill, 2001 ; Tonnessen et al, 2012). Potkay et Bacher (1977) mettent en évidence sur 2872 chiots des taux de mortalité significativement différents entre les périodes néonatale et pédiatrique et la période suivant le sevrage (entre 2 et 6 mois) : 17,4% des chiots nés meurent entre J0 et J56 et seulement 4% entre 2 et 6 mois.

5) La supplémentation

En ce qui concerne notre supplémentation, elle est reconstituée dans des conditions identiques lors de chaque préparation en termes de manipulateurs et de matériels (balance permettant la pesée des quantités de poudre d'œuf, lait maternisé provenant toujours du même fournisseur, bain-marie permettant de chauffer la solution à une température proche de 37-38°C). Seule la température n'est pas mesurée précisément lors de l'administration per os mais limitée à un maximum de 40°C dans le bain marie afin d'être le plus proche possible de la température du lait maternel. De trop fortes températures auraient entraîné une dénaturation des protéines et possiblement des IgY présentes dans le lait.

Par ailleurs, il a été prouvé que la barrière intestinale se fermait à des moments différents en fonction de l'espèce animale. En effet, on observe une réduction de 50% dans l'absorption des Ig chez le veau dans les 12h post-partum contre 4h chez le chiot (Stott, 1979 ; Chastant et al, 2012 et). La fermeture est complète au bout de 16h chez le chat (Casal, 1996), de 24h chez le chien et le porc (Chastant et, 2013 ; Cabrera et al, 2013) et de 36h chez le veau et le poulain (Maillard, 2000 ; Raidal et al, 2005). Toutefois, on peut s'interroger sur l'existence de variations du délai de fermeture entre les différentes races canines, ce qui expliquerait par exemple que notre supplémentation ait un effet sur les chiots de grande race dans leur trois premières semaines et non sur les chiots de petite race. Néanmoins, nous avons administré la supplémentation au cours des 8 premières heures de vie donc bien avant la fermeture de la barrière intestinale.

B - Effet de la supplémentation

Aucun effet significatif de la supplémentation n'a pu être mis en évidence sur les paramètres métaboliques des chiots.

Seul un effet significatif de la supplémentation en IgY sur la croissance des chiots de grand format a pu être mis en évidence : le GMQ est de $39,4 \pm 2,6$ g pour les chiots supplémentés contre $29,0 \pm 1,1$ g pour les chiots non supplémentés entre J0 et J21. Le gain de poids moyen est 27% de fois plus élevé chez les chiots supplémentés L que sur chez les chiots L placebo. Cet effet est plus important dans les première et troisième semaines de vie. Le fait que la supplémentation n'ait un effet que sur la croissance des chiots L et les glycémies mesurées à J1 chez les chiots L et S suggère que cet effet dépend de la glycémie. En effet, on notait une évolution de la glycémie significativement plus importante chez les chiots S que L à J1 (augmentation moyenne de $15,3 \pm 2,7$ mg/dl *versus* une diminution de $-1,4 \pm 4,9$ mg/dl pour les chiots L) ce qui suggérait que les chiots S étaient plus enclins à téter dans leurs premiers jours de vie. Les chiots L moins actifs au niveau de l'ingestion sont donc moins bien armés que les chiots S pour résister notamment contre l'hypothermie, ils sont donc plus sensibles aux effets de la supplémentation.

On peut supposer que l'effet de la supplémentation sur la croissance des chiots de grand format est soit d'origine immunitaire si l'apport en Ig est suffisamment important pour influencer sur la morbidité et la mortalité (Wittum et al, 1995 ; Amalric, 2011 ; Mila et al, 2012), soit d'origine énergétique si l'apport en poudre d'œuf ajouté au lait maternisé apporte un gain d'énergie au chiot lui permettant d'être plus vigoureux dès la naissance, de conserver une température haute et d'être vif afin de téter le plus souvent possible de lait.

On s'intéresse tout d'abord à l'hypothèse énergétique. La poudre d'œuf possède des propriétés antibactériennes, antivirales, anti-inflammatoires, anti-oxydantes. Certaines de ces molécules font l'objet de recherches plus ou moins avancées constituant des pistes prometteuses pour le traitement de différentes maladies importantes en matière de santé publique (cancers, maladie d'Alzheimer, maladies virales). Les lipides sont les constituants majeurs du jaune d'œuf (environ 65% de la matière sèche). Ils sont composés de triglycérides (65%), de phospholipides (29%), de cholestérol (5%) et d'acides gras libres (moins de 1%) (Anton et Gandemer, 1997). Le jaune d'œuf représente donc une source de lipides (acides gras oméga 3, phosphatidylcholine source de choline nutriment important

pour le développement du cerveau et la fonction hépatique) ce qui argumenterait en faveur de l'origine énergétique des effets de la supplémentation sur la croissance. Touchette et al (2003) évaluent le remplacement des protéines du lait par un produit issu des œufs afin de réduire le coût des colostro-remplaceurs. Trois essais furent menés en évaluant la croissance des veaux avec différents régimes à base d'œuf et/ou de lait : les animaux nourris avec un régime contenant des œufs ont des gains de poids plus importants que les veaux nourris avec du lait lorsque la ration contient au moins 15% d'œufs par rapport au poids de la ration.

Pour évaluer l'apport énergétique de la poudre d'œuf utilisée et évaluer si cet apport est significativement important vis-à-vis des besoins énergétiques du chiot, nous avons calculé les apports énergétiques réels. Un chiot avant le sevrage a un besoin énergétique (BE) trois fois plus important qu'un chien adulte (Paragon et Grandjean, 1993) qui répond à la formule suivante : $BEE=132 * P^{0.75}$. Pour 100g de chiot, le BE est donc de l'ordre de 70,4kcal/j. La poudre de jaune d'œuf présente une valeur énergétique de 686 kcal pour 100 g de produit (Lafon et Lafon, 1999). Dans notre supplémentation nous utilisons 2 g de poudre pour 12ml de lait maternisé, chaque chiot reçoit 1,5 ml de la supplémentation ainsi préparée soit 0,25g de poudre de jaune d'œuf (0,125 g de poudre anti CPV-2 et 0,125g de poudre anti-*E. coli*). Ce qui correspond à 0.43 kcal supplémentaire pour 100g de chiot. 17% du volume de la solution administrée est composé de poudre de jaune d'œuf. L'apport de poudre représente donc moins de 3% de leur besoins quotidiens. Cet apport énergétique est donc négligeable et il ne contribue très probablement pas à la croissance supérieure des chiots supplémentés. Ce résultat est compatible avec le fait que la supplémentation n'ait aucun effet sur la glycémie à J1 au vue du faible apport énergétique de la supplémentation. La supplémentation a donc bien un rôle sur le statut immunitaire des chiots.

La croissance plus importante est favorisée par des concentrations en immunoglobulines plus élevées chez le nouveau-né durant ses 2 premiers jours de vie (Mila et al, 2012). Ce fait a également été mis en évidence chez le veau (Moraes et al, 2000), le porcelet (Ferrari et al, 2014) et l'agneau (Massimi et al, 2006). On peut supposer que la croissance est favorisée par des concentrations sériques élevées en immunoglobulines via la protection immunitaire réalisée par ces dernières. En effet, plus un animal possède d'immunoglobulines sériques, plus il sera résistant aux pathogènes infectieux et donc plus il aura une croissance importante. Ahamad et al (2000) mettent en évidence que les agneaux survivants jusqu'à la fin de la période néonatale possèdent des concentrations en immunoglobulines à J2 supérieures aux agneaux décédés (30,89±0.87 g/L versus 7,08±1.99 g/L). Mila et al (2014) montrent chez le chiot que plus la concentration sérique en IgG de celui-ci est élevée à J2 (>230mg/dl), plus ses chances de survie sont élevées, ce qui traduit bien les effets des Ig sur la résistance supérieure des individus ayant reçu plus d'immunoglobulines. Ceci justifie les traitements amenant des immunoglobulines en injection ou par voie orale pour rechercher une amélioration des taux de morbidité. Liou et al (2010) montrent qu'un apport précoce par voie orale ou parentérale (réalisé dans les 3 premiers jours de vie) avant la fermeture de la barrière intestinale en IgY chez des souriceaux réduit de façon significative les taux de morbidité et de mortalité : par exemple, pour les souriceaux ayant reçu un apport oral d'IgY, les taux de morbidité et de mortalité sont respectivement de 13,0 ± 4,2 % et de 8,0 ± 4,2 % alors qu'ils sont de 29,0 ± 4,2 % et de 26,5 ± 7,8 % chez les souriceaux non supplémentés. L'apport oral précoce d'IgY permet dans cette étude une diminution des taux de mortalité et de morbidité de moitié. Un apport oral plus tardif d'IgY anti-CPV-2, après fermeture de la barrière intestinale, influe également sur les taux de morbidité des chiots et le temps d'excrétion virale (N'Guyen et al, 2006).

Cependant, la supplémentation utilisée dans notre étude ne montre aucun effet significatif sur les taux de morbidité et de mortalité quelque soit le format racial du chiot et la période étudiée (néonatale ou pédiatrique). Les taux de morbidité et de mortalité sont respectivement de 50% et 17% chez les chiots supplémentés et de 45% et 21% chez les chiots placebo durant la période néonatale, et de respectivement 48% et 5% chez les chiots supplémentés versus 53% et 5% chez les chiots placebo durant la période pédiatrique.

Des travaux réalisés sur les porcs (Chernysheva et al, 2003) montrent des résultats similaires à notre étude : aucune amélioration de la morbidité et de la mortalité sur un groupe de porcelets âgés de 3 semaines (n=48) supplémentés tardivement (après fermeture de la barrière) *per os* en IgY. Les taux de morbidité et de mortalité des porcelets supplémentés et placebo sont strictement identiques, respectivement de 67% et de 17%. L'hypothèse avancée dans cette étude était que l'activité des IgY pouvait être diminuée par les acides gastriques et la pepsine et les IgY ainsi être inefficaces au niveau intestinal. Cette raison semble peut probable dans notre étude vu que les chiots tétaient leur mère ce qui entraînait un mélange entre les IgY de notre supplémentation et les anti-trypsines présentes naturellement dans le colostrum.

Selon Godden et al (2009), la méthode d'administration (sondage) aurait un impact sur le transfert d'immunité et entraînerait un défaut de transfert par défaut d'absorption des Ig : les concentrations sériques en IgG à 24h de vie sont supérieures chez des veaux nourris au biberon par rapport à des veaux nourris *via* une sonde œsophagienne. Cependant, une étude plus récente de Chigerwe et al (2012) a montré en mesurant les concentrations sériques en IgG à J2 que le transfert passif était identique entre un apport oral de colostrum par sonde ou biberon pour une température et un volume administré identiques.

La dernière hypothèse expliquant que la supplémentation ait un effet immunitaire sur la croissance mais n'ait aucune conséquence sur les taux de morbidité et de mortalité serait que la quantité apportée d'IgY ne soit pas suffisamment importante, c'est-à-dire que les IgY ne soient pas correctement absorbées au niveau intestinal ou que leur dégradation soit si rapide qu'elles n'aient plus aucun effet au bout de quelques heures ou jours. Poffenbarger et al (1991) et Bouchard et al (1992) ont démontré qu'un apport précoce par voie orale ou injectable d'Ig sous forme de sérum chez le chiot ne pouvait égaler l'apport d'Ig d'origine colostrale. Les Ig autres que d'origine colostrale telles que les Ig contenues dans des sérums ou les IgY semblent donc être moins « utilisables » pour le chiot nouveau-né. Pour vérifier dans notre étude si un véritable apport sérique en IgY était effectif, il conviendrait de doser les IgY sériques du chiot à J2 et les jours suivants. Ces mesures nous permettraient d'évaluer l'absorption intestinale des IgY ainsi que leur vitesse d'élimination. Yokoyama et al (1993) ont mis en évidence que les IgY avaient une demi-vie de 1,85 jours dans le sang des porcelets ce qui nettement plus court que la demi-vie classique des Ig (entre 12 et 14 jours pour les IgG par exemple). On peut donc se demander si les durées de vie des IgY des chiots de notre étude sont aussi faibles ce qui expliquerait qu'elles aient eu un effet bénéfique au départ de la vie du chiot en l'aidant à débiter dans la vie, à mieux téter mais un effet nul plus tardivement avec une absence d'amélioration de la mortalité et de la morbidité. Cependant, le fait qu'il n'y ait aucun effet significatif de la supplémentation sur la mortalité néonatale précoce est peu en faveur de cette théorie.

Si l'on suppose que le manque d'effet de la supplémentation utilisée dans notre étude a pour origine une dégradation trop rapide des IgY, on peut se demander si un apport plus important ou la répétition des apports modifieraient cette efficacité. N'Guyen et al (2006) montrent que la protection immunitaire est fonction de la quantité d'IgY apportées : la morbidité est de 0% versus 66% lorsque l'apport est multiplié par 4. Sarker et al (2007) obtiennent des résultats similaires en testant l'efficacité d'un apport oral en IgY chez des souriceaux contaminés par un rotavirus. La morbidité varie avec la concentration d'IgY utilisée : le taux de morbidité est de 86 % pour une solution contenant 0,01 mg/ml d'IgY, 63 % pour 0,1mg/ml d'IgY, 33 % pour 1mg/ml d'IgY et 6 % pour 10 mg/ml d'IgY. Le taux de morbidité est divisé par 15 et la durée des symptômes par 2 lorsque la concentration en IgY est multipliée par 10^3 . La quantité d'IgY influence donc la protection immunitaire.

Les IgY ont été plus étudiées pour leur efficacité dans l'immunité locale lorsqu'elles sont administrées après fermeture de la barrière intestinale. Li et al (2008) ont montré un effet significatif d'une supplémentation orale tardive en IgY sur les taux de morbidité et de mortalité de porcelets contaminés par *E. coli* K88. Kweon et (2000) mettent en évidence des taux de mortalité réduits de

moitié chez des porcelets mis au contact du virus de la diarrhée porcine grâce à la supplémentation en IgY. Vega et al (2011) obtiennent des résultats similaires chez les veaux tout comme N'Guyen et al (2006) qui ont testé selon le même principe l'efficacité locale d'IgY dirigées contre le parvovirus canin CPV-2. Les résultats obtenus montrent une protection significative locale des IgY. Sachant d'après Yokohama et al (2003) que la demi-vie moyenne des IgY est 1,85 jours, on peut se demander si un apport en IgY tous les 2 jours voire quotidien permettrait une protection immunitaire locale efficace, notamment en ce qui nous intéresse contre le parvovirus canin CPV-2.

Plusieurs paramètres seraient donc à explorer pour étudier plus précisément les effets d'une supplémentation en IgY : il conviendrait d'évaluer la quantité réelle d'IgY absorbée en dosant les concentrations sériques en Ig des chiots J2 afin d'ajuster au besoin la quantité de supplémentation administrée, puis étudier leur cinétique de dégradation pour adapter la fréquence d'administration des IgY avant la fermeture de la barrière intestinale pour conférer une immunité systémique (protection contre les septicémies à *E. coli*) ou après en vue d'une protection locale (contre CPV-2).

L'amélioration du transfert passif de l'immunité est toujours à l'étude. Des études cherchent à améliorer ce transfert en amont en évaluant les paramètres influant la quantité d'immunoglobulines contenues dans le colostrum et leur absorption intestinale chez le nouveau-né. L'influence de l'alimentation de la mère fait l'objet de plusieurs publications récentes. Garcia et al (2014) évaluent les effets d'une alimentation enrichie en acides gras (saturés ou insaturés) sur le transfert d'immunité passive chez 78 vaches et veaux laitiers. Durant les 8 dernières semaines de la gestation, les mères sont nourries avec une ration enrichie en acides gras insaturés ou sans supplément. Aucune différence n'est notée entre le gain de poids des vaches en fin de gestation. Les concentrations en IgG sont similaires quelque soit le régime suivi comprises entre 83 et 102g d' IgG/L de colostrum. Chaque veau est nourri avec 4l de colostrum de sa mère ou d'une vache ayant reçu la même alimentation que celle-ci. Les concentrations sériques en IgG des veaux à leur naissance sont également similaires inférieures à 0,3 g/L. Plusieurs effets sont remarqués : un effet de la supplémentation enrichie en acides gras insaturés sur le poids de naissance des veaux, ces derniers sont légèrement plus lourds (40,8 kg *versus* 38,5 kg) et un effet sur la concentration en IgG sérique des veaux à J24. Celle-ci est de 28,3 g/L chez les veaux provenant de mère supplémenté *versus* 23,1 g/L soit une augmentation de 20 % par rapport à la concentration des veaux non supplémentés. Cette différence significative est liée à une absorption différente des IgG au niveau de l'intestin : l'efficacité d'absorption est de 29,5 % chez les veaux supplémentés contre 23,3% chez les veaux placebo. Le régime de la mère enrichi en acides gras joue donc un rôle sur l'absorption intestinale des immunoglobulines. Avec un raisonnement identique, Hall et al (2014) ont montré qu'un régime enrichi en sélénium chez la mère durant les 8 dernières semaines de la gestation permettait des concentrations sériques en IgG à J2 chez les veaux supérieures : $8,0 \pm 0,7$ mg/ml *versus* $6,2 \pm 0,8$ mg/mL chez les veaux non supplémentés. Le sélénium ou vitamine E est connu pour être impliqué entre autres dans le métabolisme protéique et énergétique et favoriser la réponse immunitaire (Forte et al, 1987). On peut donc agir sur le transfert passif d'immunité en modulant par exemple l'alimentation de la mère, ceci reste toutefois à évaluer chez la chienne.

CONCLUSION

Dans notre étude, l'objectif fut d'évaluer l'efficacité d'un apport précoce en IgY anti-CPV-2 et anti-*E. coli* sur l'amélioration de l'acquisition de l'immunité par le chiot. Aucun effet significatif de la supplémentation n'a pu être mis en évidence sur le métabolisme, la morbidité et la mortalité des chiots. Toutefois, notre étude nous a permis de mettre en évidence un effet des IgY sur la croissance des chiots de grand format durant leurs trois premières semaines de vie. La croissance est augmentée de 27% chez les chiots supplémentés de grand format durant la période néonatale. Deux origines ont été suspectées pour cette observation : une origine immunitaire ou énergétique. Cette dernière n'a été mise hors de cause : la poudre d'œuf apportant moins de 3% des besoins énergétiques quotidiens du chiot. La supplémentation en IgY étudiée agit donc sur l'immunité des chiots. Le fait qu'aucun rôle des IgY n'ait été observé sur la morbidité et la mortalité des chiots peut être lié à un défaut d'absorption intestinale, à un apport en immunoglobulines insuffisants ou à une dégradation trop rapide des IgY dans le sérum des chiots (Yokohama et al, 2003 ; N'Guyen et al, 2006). De nouvelles expérimentations sont donc à prévoir afin d'évaluer les paramètres énoncés ci-dessus.

Des études réalisées chez des veaux, des porcelets, des souris, des agneaux et des enfants ont mis en évidence une efficacité locale intestinale des IgY sur l'expression des virus à visée entéropathogènes.

En effet, une administration unique ou répétée quotidienne d'IgY par voie orale entraîne une nette diminution des taux de morbidité et de mortalité chez les espèces étudiées (Sarker et al, 2000 ; Kweon et al, 2000 ; Sarker et al, 2007 ; Vega et al, 2011). Une étude encourageante, bien que réalisée sur un effectif réduit d'animaux, montre également l'efficacité des IgY sur la protection immunitaire locale chez le chiot contre CPV-2 (N'Guyen et al, 2006).

On peut donc envisager d'utiliser notre supplémentation non plus comme transfert d'immunité systémique mais davantage comme protection immunitaire intestinale, locale, notamment contre le parvovirus canin CPV-2 responsable de taux de mortalité pédiatrique très élevé (Casseleux, 2009). Sachant que ce virus est la principale cause de mortalité en période pédiatrique et que la demi-vie moyenne intestinale avant dégradation des IgY est de 1,73 jours, on peut imaginer une expérimentation visant à évaluer l'effet d'une supplémentation en IgY administrée tous les jours ou tous les deux jours, sur la mortalité et la morbidité des chiots suivis ; l'objectif étant, non plus, d'utiliser la fonction immunitaire systémique mais la fonction immunitaire locale des IgY qui agiraient tout comme les IgA, l'administration se ferait donc bien après la fermeture de la barrière intestinale.

BIBLIOGRAPHIE

ADKINS Y, LEPINE AJ, LONNERDAL B (2001)

Changes in protein and nutrient composition of milk throughout lactation in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 62 : 1266-1272

AHAMAD R, KHAN A, JAVED M.D, HUSSAIN I (2000)

The level of immunoglobulins in relation to neonatal lamb mortality in Pak-Karakul sheep. *Veterinarski arhiv*, 70(3) : 129-139

AMALRIC S (2011)

Variabilité de la concentration en immunoglobulines G du colostrum de brebis et conséquences sur la survie précoce de l'agneau. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse 3 - 4068, 95p

ANTON M, GANDEMER G (1997)

Composition, solubility and emulsifying properties of granules and plasma of egg yolk. *J. Food Sci.*, 62(3) : 484-487

ARTHINGTON J.D, CATTELL M.B, QUIGLEY III (2000)

Nutrition, feeding and calves : effect of dietary IgG source (colostrums, serum or milk derived supplement) on the efficiency of IgG absorption in newborn Holstein calves. *J. Dairy Sci.*, 83 : 1463-1467

BARRINGTON GM, MCFADDEN K, HUYLER MT, BESSER TE (2001)

Regulation of colostrogenesis in cattle. *Livestock Production Sci.*, 70 : 95-104

BELIN M (2013)

Croissance et mortalité du chiot en élevage. Thèse de doctorat vétérinaire, TOU 3 - 4063, 74p

BERGUES N, BERTAGNOLI S (2003)

Aménager en pratique le protocole de vaccination du chiot et du chaton. Hors-série néonatalogie et pédiatrie du chien et du chat. *Le nouveau praticien vétérinaire*, 397 : 83-87

BIBRACK B, SCHAUDINN W (1976)

Untersuchungen über das vorkommen von herpesinfektionen bei hunden in der Bundesrepublik Deutschland mit hilfe eines neutralisations-schnelltests. *Zentralbl. Vet. Reihe B.*, 23 : 384-390

BOULLIER S (2003)

La protection colostrale – conséquences sur la vaccination du chiot et du chaton. Hors-série néonatalogie et pédiatrie du chien et du chat, *Le nouveau praticien vétérinaire*, 397 : 77-81

BOUCHARD G, PLATA-MADRID H, TOUGQUIST R, BUENING G, GANJAM V.K, FRAUSE G.F, ALLEN G.K, PAINE A.L (1992)

Absorption of an alternative source of immunoglobulin in pups. *Am. J. Vet. Res.*, 53(2): 230-234

BRIGNOLE T.J, STOTT G.H (1980)

Effect of suckling followed by bottle feeding colostrums on immunoglobulin absorption and calf survival. *J. Dairy Sci.*, 63 : 451-456

BUONAVOGLIA C, MARTELLA V (2007)

Canine respiratory viruses. *Vet. Res.*, 38 : 355–373

- CAMPBELL J, JACOBI S, HARD ROBERTSON K, DRAYTON J, MEDINA I, POLO J, CRENSHAW J, ODLE J (2012)
Evaluation of immunoglobulin G absorption from colostrum supplements gavaged to newborn piglets, *J. Anim. Sci.*, 90 (4) : 4299-301
- CASAL M.L, JEZYK P.F, GIGER U (1996)
Transfer of colostral antibodies from queens to their kittens. *Am. J. Vet. Res.*, 57 (11) : 1653-1658
- CASSELEUX G (2009)
Parvovirose et infections intestinales du jeune chiot. *Encyclopédie vétérinaire*, Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Gastro-entérologie, 2500p
- CABRERA R, KOLLBERG H, LARSSON A (2002)
Early postnatal kinetics of colostral immunoglobulin G absorption in fed and fasted piglets and developmental expression of the intestinal immunoglobulin G receptor. *J. Anim. Sci.*, 91 (1) : 211-8
- CARLANDER D, KOLLBERG H, LARSSON A (2002)
Retention of specific yolk IgY in the human oral cavity. *BioDrugs*, 16 : 433-437
- CARMICHAEL L.E (1991)
Pathogenicity of minute virus of canines (MVC) for the canine fetus. *Corn. Vet.*, 81 : 151-170
- CARMICHAEL L.E (1999)
Neonatal pup diseases, current status of canine herpesvirus (CHV) and minute virus of canines (MVC, canine parvovirus-type 1, CPV-1, L. E. Carmichael (ed.), Document no. A0102.1199. Recent advances in canine infectious diseases. [Online] International Veterinary Information Service, Ithaca, N.Y
- CARMICHAEL L.E, SCHLAEFER D.H, HASHIMOTO A (1994)
Minute virus of canines (MVC, canine parvovirus type-1): pathogenicity for pups and seroprevalence estimate. *J. Vet. Diagn. Investig*, 6 : 165-174
- CASAL M.L, JEZYK P.F, GIGER U (1996)
Transfer of colostral antibodies from queens to their kittens, *Am. J. Vet. Res.*, 57 : 1653-1658.
- CENTER SA, RANDOLPH JF, MANWARREN T, SLATER M. (1991)
Effect of colostrums ingestion on gamma-glutamyltransferase and alkaline phosphatase activities in neonatal pups. *Am. J. Vet. Res.*, 52 : 499-503
- CHANG, H.M., OU-YANG, R.F., CHEN, Y.T. and CHEN, C.C. (1999)
Productivity and some properties of immunoglobulin specific against *Streptococcus mutans* serotype c in chicken egg yolk (IgY). *J. Agri. Food Chem.*, 47 : 61-66
- CHIGERWE M, COONS D, HAGEY J.V (2012)
Comparison of colostrum feeding by nipple bottle versus oroesophageal tubing in Holstein dairy bull calves. *J. Am. Vet. Med. Asso.*, 241(1) : 104-109
- CHAPPUIS G (1998)
Neonatal immunity and immunization in early age. Lessons from veterinary medicine, *Vaccine*, 16 : 1468-1472
- CHASTANT S, FREYBURGER L, MARCHETEAU E, THOUMIRE S, RAVIER J.F, REYNAUD K (2013)
Fermeture de la barrière intestinale chez le chiot. Immunologie canine, *Point vétérinaire*, 336 : 58-62

- CHELACK B.J, MORLEY P.S, HAINES D.M (1993)
Evaluation of methods for dehydration of bovine colostrum for total replacement of normal colostrums in calves. *Can. Vet. J.*, 34 : 407-412
- CHERSNYSHEVA L, FRIENDSHIP R.M, DEWEY C, GYLES C.L (2004)
The effect of dietary chicken egg-yolk antibodies on the clinical response in weaned pigs challenged with a K88+ *Escherichia coli* isolate. *Sw. Health Prod.*, 12(3) : 119-122
- CRAWFORD PC, HANEL RM, LEVY JK (2003)
Evaluation of treatment of colostrum deprived kittens with equine IgG. *Am. J. Vet. Res.*, 64 : 969-975
- CURTIS J, BOURNE F.J (1973)
Half-lives of immunoglobulins IgG, IgA and IgM in the serum of newborn pigs. *Immuno.*, 24 : 147-155
- DAY M, SCHULTZ R (2011)
Veterinary Immunology – Principles and practice, Première édition, Londres, Manson Publishing. 257p. ISBN : 978-1-84076-143-6
- DAVIDSON A P (2003)
Approaches to reducing neonatal mortality in dogs, International Veterinary Services, <http://ivis.org>
[Page consultée le 20/07/2014]
- DECARO N (2008)
Canine Coronaviruses: Epidemiology, Evolution and Pathobiology. Première édition. Bari: Graphica. 57 p. ISBN : 978-90-393-5055-3
- DECARO N, AMORISCO F, LENOCI F, LOVERO A (2012)
Molecular characterization of *Canineminute virus* associated with neonatal mortality in a litter of Jack Russell terrier dogs. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 24(4) : 755-8
- DECARO N, BUONAVOGLIA C (2012)
Canine parvovirus—A review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Vet. Microbio.*, 155 : 1–12
- DELISLE F (1982)
L'herpès-virose canine. *Rec. Méd. Vét.*, 158 : 669-676
- DELOUIS C (1978)
Physiology of colostrums production. *Ann. Rech. Vet.*, 9 : 193-203
- DELVES P.J, BURTON D.R, MARTIN S.J, ROITT I.M
Les fondements de l'immunologie. De Boeck Supérieur, 2 juin 2008 - 496 pages, p51. ISBN : 978-2-8041-5690-9
- DEWELL R.D, HUNGERFORD L.L, KEEN J.E, LAEGREID W.W, GRIFFIN D.D, RUPP G.P, GROTELUESCHEN D.M (2006)
Association of neonatal serum immunoglobulin G1 concentration with health and performance in beef calves. *J. Am. Vet. Med. Asso.*, 228 : 214-221

DONOVAN G.A, HUNGERFORD L.L, KEEN J.E, LAEGREID W.W, GRIFFIN D.D, RUPP G.P, GROTELUESCHEN D.M (1998)

Associations between passive immunity and morbidity and mortality in dairy heifers in Florida, USA, *Prev. Vet. Med.*, 34 : 31-46.

EBINA T, SATO A, UMEZU K, Ishida N, OHYAMA S, OIZUMI A, AIKAWA K, KATAGIRI S, KATSHUSHIMA N, IMAI A, KITAOKA S, SUZUKI H, KONNO T (1985)

Prevention of rotavirus infection by oral administration of colostrum containing anti-human rotavirus antibody, *Med. Microbio. Immuno.*, 174 : 177-185.

EBINA T, OHTA T, KANAMARU M, YAMAMOTO-OSUMI Y, BABA K (1992)

Passive immunizations of suckling mice and infants with bovine colostrum containing antibodies to human rotavirus. *J. Med. Virol.*, 38 : 117-123

EDWARDS S.A (2002)

Perinatal mortality in the pig : environmental or physiological solutions. *Liv. Prod. Sci.*, 78(1) : 3-12

ENGELS M, MAYR-BIBRACK B, RUCKSTUHL B, METZLER A, WYLER R (1980)

Seroepizootiology of canine herpes virus in Switzerland and preliminary trials of a vaccine. *Zentralbl. Vet. Reihe B.*, 27 : 257-267

FERRARI C.V, SBARDETELLA P.E, BERNARDI M.L, COUTINHO M.L, VAZ I.S, WENTZ I, BORTOLOZZO F.P (2014)

Effect of birth weight and colostrum intake on mortality and performance of piglets after cross-fostering in sows of different parities. *Prev. Vet. Med.*, 114(3-4) : 259-66

FONTBONNE A (2002)

Conduite à tenir lors d'avortement chez la chienne. *Le Point Vétérinaire*, 28 (183) : 69-75

FORTE L, PAOLELLA M.C, GLAUBER C.E (1987)

Effects of vitamin E levels on the immune response in cattle. *Vet. Arg.*, 4 : 818-820

FRANZ L.C LANDON J.C, LOPES L.A, MARINHO L.A, SARMA C, BRUEMMER J, SUIRES E.L (1999)

Oral and intravenous immunoglobulin therapy in neonatal foals. *J. Eq. Vet. Sci.*, 14 : 742-748

FRERKING H, AEIKENS T (1978)

About the importance of colostrums for the newborn calves. *Ann. Rech. Vet.*, 9(2) : 361-365

FROESCHLE-CHARRIERE C, VULLIERNE J.C, SOURNAC D (1999)

Intérêt de l'utilisation de colostrum d'origine bovine chez les chiots nouveau-nés. Orsco laboratoire vétérinaire, Programme scientifique du congrès mondial vétérinaire de Lyon du 23 au 26 septembre 1999

FULTON RW, OTT RL, DUENWALD, J.C, GORHAM J.R (1974)

Serum antibodies against canine respiratory viruses : prevalence among dogs of Eastern Chicago. *Am. J. Vet. Res.*, 35 : 853-855.

GARCIA M, GRECO L.F, FAVORETO M.G, MARSOLA R.S, MARTINS L.T, BISINOTTO R.S, SHIN J.H (2014)

Effect of supplementing fat to pregnant non lactating cows on colostrum fatty acid profile and passive immunity of the newborn calf. *J. Dairy Sci.*, 97 : 392-405

- GIFFARD C, MITSURO M.S, MARKWELL P.J, BEKTASH R.M (2004)
Benefits of bovine colostrums on fecal quality in recently weaned puppies. *J. Nutr.*, 134(8) : 2126-2127
- GILL M.A (2001)
Perinatal and late neonatal mortality in the dog. Thèse de doctorat d'Université, University of Sydney, Sydney, NSW, Australie, 190p
- GODDEN S.M., SMITH S, FEIRTAG J.M, GREEN L.R, WELLS S.J, FETROW J.P (2003)
Effect of on-farm commercial batch pasteurization of colostrum on colostrum and serum immunoglobulin concentrations in dairy calves. *J. Dairy Sci.*, 86: 1503-1512
- GODDEN S.M, HAINES D.M, HAGMAN D (2009)
Improving passive transfer of immunoglobulins in calves : dose effect of feeding a commercial colostrum replacer. *J. Dairy Sci.*, 92 : 1750-1757
- GREENE C (2006)
Canine Distemper, infectious diseases of the dog and cat. 3^e edition, St Louis: Saunders Elsevier, p. 25-41. ISBN-13 : 978-1-4160-3600-5
- GRELLET A (2009)
Virus minute, un agent responsable de trouble de la reproduction chez le chien. *Sciences et pratique*, 1039(3)
- GRELLET A (2012)
Evaluation de la santé digestive du chiot en élevage : facteurs de risque des diarrhées. Ed. Pierre et Marie Curie, Paris. 2012, 219p
- GUIGAL PM, FONTBONNE A, BUFF S, VINCETTI M, THEVENET F, PAVLOWIEZ S, GUIOT AL, GRANDJEAN D, POULET H (2002)
Prevalence of antibodies against Canine Herpesvirus in French breeding kennels. In: Proceedings of the third EVSSAR European Congress on reproduction in companion, exotic and laboratory animals. Liège, May 2002. Presses de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège : 2002, 132
- HALL J.A, BOBE G, VORACHEK W.R, ESTILL C.T, MOSHER D, PIRELLI G.J, GAMROTH M
Effect of supranutritional maternal and colostrum selenium supplementation on passive absorption of immunoglobulins G in selenium-replete dairy calves. *J. Dairy Sci.*, 97 : 4379-4391
- HAMADA, S. and KODOMA, Y. (1996)
Passive immunity for protection against mucosal infections and vaccination for dental caries, *Muco. Vacc.* (H. Kiyono, P.L. Ogra and J.R. McGhee eds) p 187–197, New York USA: Academic Press
- HATTA, H., TSUDA, K., OZEKI, M., KIM, M., YAMAMOTO, T., OTAKE, S., HIRASAWA, M., KATZ, J., CHILDERS, N.K. and MICHALEK, S.M. (1997)
Passive immunization against dental plaque formation in humans: effect of a mouth rinse containing egg yolk antibodies (IgY) specific to *Streptococcus mutans*. *Car. Res.*, 31 : 268-274
- HERPIN P, DAMON M, LE DIVICH J (2002)
Development of thermoregulation and neonatal survival in pigs, *Live. Prod. Sci.*, 78 (1) : 25-45
- HEDDLE R.J, ROWLEY D (1975)
Dog immunoglobulins. *Immunology*, 29 : 185

- HOLLOWAY N, TYLER JW, LAKRITZ J, CARLSON S, TESSMAN R, HOLLE J (2002)
Serum Immunoglobulin G concentrations in calves fed fresh colostrum or a colostrum supplement, *J. Vet. Intern. Med.*, 16 : 187–191
- HOSGOOD G, HOSKINS J.D (1998)
Intensive care. *Small animal pediatric medicine and surgery*, Oxford, Butterworth-Heinemann, p41-43
- HOSKINS J.D (2001)
The liver and the pancreas. *Veterinary pediatrics, dogs and cats from birth to 6 month*, 3rd ed, Philadelphia : WB Sanders, p200-201
- IBRAHIM E.S, RAHMANA A.K.M, ISODAA R, UMEDAA K, VAN SAA N.G, KODAMAA Y (2008)
In vitro and in vivo effectiveness of egg yolk antibody against *Candida albicans* (anti-CA IgY), *Vacc.*, 26 : 2073—2080
- INDREBO A, TRANGERUD C, MOE L (2007)
Canine neonatal mortality in four large breeds, *Act. Vet. Scand.*, 49(1)
- JENSON H.B, POLLOCK B.H (1997)
Meta-analyses of the Effectiveness of Intravenous Immune Globulin for Prevention and Treatment of Neonatal Sepsis, *Ped.*, 99(2) : 1-11
- JONES L.R., TAYLOR A.W., HINES H.C. (1987)
Characteristics of frozen colostrum thawed in a microwave oven. *J. Dairy Sci.*, 70 (9) : 1941-5
- JONES C, HEINRICHS J (2011)
Penn State Extension [en ligne]
Disponible sur :<http://extension.psu.edu/animals/dairy/health/nutrition/calves/colostrum/das-11-80>
[Page consultée le 01/05/2014]
- KACSKOVICS I (2004)
Fc receptor in livestock species. *Vet. Immuno. Immunopathol.*, 102 : 351-362
- KORHONEN H, MARNILA P, GILL H.S (2000)
Milk immunoglobulins and complement factors. *Brit. J. Nut.*, 84(1) : 75-80
- KWEON C.H, KWON B.J, WOO S.R, KIM J.M, WOO G.H, SON D.H, HUR W, LEE Y.S (2000)
Immunoprophylactic effect of chicken egg yolk immunoglobulin (IgY) against porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) in piglets. *J. Vet. Med. Sci.*, 62 : 961-964
- LAFON P, LAFON F (1999)
L'œuf et les ovoproduits, *Filières de l'ingénieur : produit d'origine animale*, Ed. Techniques Ingénieurs, 42432210 (ref. 7010)
- LARSEN R (2013)
Canine herpes virus-1 infection in neonatal dogs. Veterinary Master's Thesis, Faculty of Health and Medical Science, University of Copenhagen, 72p
- LASCELLES A.K. (1979)
The immune system of the ruminant mammary gland and its role in the control of mastitis. *J. Dairy Sci.*, 62 (1) : 154-167

LAWLER D. F (1989)

Care and diseases of neonatal puppies and kittens in : *Current Veterinary Therapy X*, Kirk(Ed).W.B. Saunders Co. Philadelphia, p1325 – 1333

LECOCQ S (2007)

Les affections juvéniles du chien : application du diagnostic raisonné du 15ème jour au 3ème mois. Thèse de doctorat vétérinaire, Lyon-44, 195p

LE DIVIDICH J, THOMAS F, RENOULT H, OSWALD I (2005)

Acquisition de l'immunité passive chez le porcelet : rôle de la quantité d'immunoglobulines ingérées et de la perméabilité intestinale. Journées Recherche Porcine, 37 : 443-448

LEECE 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.*, p 263-268

LELLI Jr J. L, DRONGOWSKI R. A, CORAN, A. G., ABRAMS, G. D (1992)

Hypoxia-induced bacterial translocation in the puppy. *J. Ped. Surg.*, 27(8) : 974-982

LEVY J, CRAWFORD C, WERNER R, PAPICH M.G (2001)

Use of adult cat serum to correct failure of passive transfer in kittens. *J. Am. Vet. Med. Asso.*, 219 (10) : 1401-1405

LI X.Y, JIN L.J, UZONNA J.E, LI S.Y, LIU J.J, LI H, LU Y-N, ZHEN Y-H, XU Y-P (2009)

Alginate microcapsules for oral delivery of egg yolk immunoglobulin (IgY): *in vivo* evaluation in a pig model of enteric colibacillosis. *Vet. Immuno. Immunopathol.*, 129 : 132-136

LIOU J.F, CHANG C.W, TAILIU J.J, YU C.K, LEI H.Y, CHEN L.R, TAI C

Passive protection effect of chicken egg yolk immunoglobulins on enterovirus 71 infected mice. *Vacc.*, 28(51): 8189-8196

LODINOVA-ZADNIKOVA R, KORYCH B, BARTAKOVA Z (1987)

Treatment of gastrointestinal infection in infants by oral administration of colostral antibodies. *Die Nahrung*, 31 : 465-467

LOGAN EF, FOSTER WH, IRWIN DA (1978)

Note on bovine colostrums as an alternative source of immunoglobulin for lamb. *Anim. Prod.*, 26 : 93-96

LUNDGREN D.L, CLAPPER W.E (1969)

Neutralization of canine herpesvirus by dog and human serums: a survey. *Am. J. Vet. Res.*, 30 : 479–482

MAILLARD, R. 2000

Immunité, diarrhée, vaccination. XVe Journée Technique des GTV Bourgogne, Autun. 2000, p 5-19

MASSIMINI G, BRITTI D, PELI A, CINOTTI S (2006)

Effect of passive transfer status on preweaning growth performance in dairy lambs. *J. Am. Vet. Med. Asso.*, 229(1) : 111-115.

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. *Immuno.*, 87 : 327-330

MC GUIRE T.C, PFEIFFER N.E, WEIKEL J.M, BARTSCH R.C (1976)

Failure of colostral immunoglobulin transfer in calves dying from infectious disease. *J. Am. Vet. Med. Asso.*, 169 : 713-718

MC MICHAEL M, LEES G.E, HENNESSEY J, SANDERS M, BOGGESS M (2005)

Serial plasma lactate concentrations in 68 puppies aged 4 to 80 days. *J. Vet. Emerg. Critic. Care*, 15(1) : 17-21

MIETENS C, KEINHORST H, HILPERT H, GERBER H, AMSTER H, PAHUD J.J (1992)

Treatment of infantile E. coli gastroenteritis with specific bovine anti-E. coli milk immunoglobulins. *Eur. J. Pediatr.*, 132 : 239-252

MILA H, GRELLET A, CHASTANT MAILLARD S (2012)

Prognostic value of birth weight and early weight gain on neonatal and pediatric mortality : a longitudinal study on 984 puppies, 7th Quadrennial International Symposium on Canine and Feline Reproduction - Whistler, BC, Canada

MILA H, FEUGIER A, GRELLET A, ANNE J, GGONNIER M, MARTIN M, ROSSIG L, CHASTANT-MAILLARD S (2014)

Inadequate passive immune transfer in puppies: definition, risk factors and prevention in a large multi-breed kennel. *Prev. Vet. Med.*, 116(1-2) : 209-2013

MILA H, CHASTANT-MAILLARD S (2014)

The first two days of life of puppies : crucial step for survival. Proceedings of the 17th annual congress of The European Veterinarian Society for Small Animal Reproduction, 17-26 September 2014, Wroclaw, Poland

MOCHIUZUKI M, HASHIMOTO M, HAJIMA T, TAKIGUCHI M, HASHIMOTO A, UNE Y (2012)

Virologic and Serologic Identification of Minute Virus of Canines (Canine Parvovirus Type 1) from Dogs in Japan. *J. Clin. Microbiol.*, 40 (11) : 3993-3998

MORAES M.P, WEIBLEN R, REBELATTO M.C, SILVA, A.M (2000)

Relationship between passive immunity and morbidity and weight gain in dairy cattle. *Sci. Rural* [online], 30, (2) [cited 2014-08-19], p 299-304

MORAILLON A (1982)

La Parvovirose canine. *Rec. Med. Vet.*, numéro special virose du chien et du chat, 158 : 687-705

MUNNICH A, LUBKE-BECKER A (2003)

Escherichia coli infections in newborn puppies - clinical and epidemiological investigations. *Theriogenol.*, 62(3-4): 562-575

MUNNICH A (2008)

The pathological newborn in small animals: the neonate is not a small adult. *Vet. Res. Communic.*, 32(1): S81-85

- N'GUYEN DA, PARLOW AF, NEVILLE MC (2001)
Hormonal regulation of tight junction closure in the mouse mammary epithelium during the transition from pregnancy to lactation. *J. Endocrinol.*, 170 : 347-356.
- N'GUYEN SA, UMEDA K, YOKOYAMA H, TOHYA Y, KODAMA Y (2006)
Passive protection of dogs against clinical disease due to Canine parvovirus-2 by specific antibody from chicken egg yolk. *Can. J. Vet. Res.*, 70(1) : 62-4
- NEWBY T. J., BOURNE J. (1977)
The Nature of the Local Immune System of the Mammary Gland. *J. Immunol.*, 118 (2) : 461-465
- NIELEN A L, VAN DER GAAG I, KNOL B W, SCHUKKEN Y H (1968)
Investigation of mortality and pathological changes in a 14-month birth cohort of boxer puppies. *Vet. Rec.*, 142(22) : 602-606
- NORCROSS N.L (1982)
Secretion and composition of colostrum and milk. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 181 : 1057-1060
- OBLADEN M (1998)
Soins intensifs pour nouveau-nés, Springer, EAN13 : 9782287596452, p 450
- OSTERHAUS A, BERGHUIS-DEVRIES J, STEUR K (1977)
Antiviral antibodies in dogs in the Netherlands. *Zentralbl. Vet. Reihe B.*, 24 : 123-133
- OTAKE, S., NISHIHARA, Y., MAKIMURA, M., HATTA, H., KIM, M., YAMAMOTO, T. and HIRASAWA, M. (1991)
Protection of rats against dental caries by passive immunization with hen-egg-yolk antibody (IgY). *J. Dent. Res.*, 70 : 162-166
- PARAGON BM, GRANDJEAN D (1993)
Enteral Nutrition In Dogs And Cats. In: Proceedings of the 18th World Congress of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA), Berlin, Deutschland, 6-9 October 1993, 127-131
- PASTORET P, GOVAERTS A, BAZIN H (1990)
Immunologie animale, Flammarion, Paris, ISBN : 2257102215, 740p
- POFFENBARGER M, OLSON P, CHANDLER M, HOWARD B.S, VARMAN M (1991)
Use of adult dog serum as a substitute for colostrums in the neonatal dog. *Am. J. Vet. Res.*, 52 : 1221-1224
- PONG A, BRALEY JS (1999)
Bacterial meningitis and the newborn infant. *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 13 : 711-33
- POTKAY S, BACHER J D (1977)
Morbidity and mortality in a closed Foxhound breeding colony. *Lab. Anim.Sci.*, 27(1) : 78-84
- POULET H, DUBOURGET P (1993)
L'herpès-virose canine. *Point Vétérinaire*, 25 : 69-75
- POULET H, GUIGAL P.M, SOULIER M, LEROY V, FAYET G, MINKE J, CHAPPUIS MERIAL G (2001)
Protection of puppies against canine herpesvirus by vaccination of the dams. *Vet. Rec.*, 148 : 691-695

- PRATELLI AA, BUONAVOLIA D, TEMPESTA M, GUARDA F, CARMICHAEL LE, BUONAVOLIA C (1999)
Fatal canine parvovirus type-1 infection in pups from Italy. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 11 : 365–367
- QUIGLEY J.D, MARTIN K.R, DOWLEN H.H (1995)
Addition of soy bean trypsin inhibitor to bovine colostrums : effects on serum immunoglobulin concentrations in Jersey calves. *J. Dairy Sci.*, 78 : 886-892
- QUIGLEY J.D, STROHBEHN R.E, KOST C.J (2001)
Formulation of colostrum supplements, colostrum replacers and acquisition of passive immunity in neonatal calves. *J. Dairy Sci.*, 84 : 2059-2065
- RAVARY B, SATTTLER N (2006)
Néonatalogie du veau, Hors-série *Point Vétérinaire*, IBSN : 2863262262, p266
- RAIDAL S.L, TAGGART C, PENHALE J (2005)
Effect of withholding macromolecules on the duration of intestinal permeability to colostral IgG in foals. *Aust. Vet. J.*, 83(1-2) : 78-81.
- READING MJ, FIELD HJ (1998)
A serological study of canine herpesvirus-1 infection in the English dog population. *Arch. Virol.*, 143(8) : 1477-1488
- RIJSEWIJK F.A.M, LUITEN E.J, DAUS F.J, VAN DER HEIDJEN R.W, VAN ORSCHOT JT (1999)
Prevalence of anti bodies against canine herpesvirus 1 in dogs in the Netherlands in 1997-1998. *Vet. Microbiol.*, 65 : 1-7
- RON SSE V, VERSTEGEN J, ONCLIN K, GUIOT AL, AEBERLE C, NAUWYNCK HJ, POULET H (2002)
Seroprevalence of canine herpesvirus-1 in the Belgian dog population in 2000. *Reprod. Domest. Anim.*, 37 : 299-304
- SARKER A.S, CASWALLT.H, JUNEJA L.R, HOQ E, HOSSAIN I, FUCHS G.J, HAMMARSTRO L (2000)
Randomized, placebo-controlled, clinical trial of hyperimmunized chicken egg yolk immunoglobulin in children with rotavirus diarrhea. *J. Ped. Gastro. Nutr.*, 32: 19–25
- SARKER A.S, PANT N, JUNEJA L.R, HAMMARSTROM L (2007)
Successful treatment of rotavirus-induced diarrhea in suckling mice with egg yolk immunoglobulin. *J. Health Popul. Nutr.*, 25(4) : 465-468
- SATYARAJ E, REYNOLDS A, PELKERA R, LABUDA J, ZHANG P, SUN P (2013)
Supplementation of diets with bovine colostrum influences immune function in dogs. *Brit. J. Nutr.*, 110 (12) : 2216-2221
- SCHADE R, CALZADO E.G, SARMIENTO R, CHACANA P.A, TERZOLO H.R (2005)
Chicken egg yolk antibodies (IgY-technology) : a review in production and use in research and human and veterinary medicine. *Altern. Lab. Anim.*, 33 : 129-154
- SCHAEFER SOMI S, SPERGSEER J, BREITENFELLNER J, AURICH E (2003)
Bacteriological status of canine milk and septicaemia in neonatal puppies – a retrospective study. Clinic of obstetrics, gynecology and andrology, University of Vet Sciences, Vienna, Austria, *J. Vet. Med. B.*, 50 : 343-346

- SCHALLER J.P, SAIF L.J, CORDLE C, CANDLER E, WINSHIP T.R, SMITH K.L (1992)
Prevention of human rotavirus-induced diarrhea in gnotobiotic piglets using bovine antibody, *J. Infect. Dis.*, 165 : 623–630
- SCHWERS A, PASTORET PP, AGUI LAR-SETIEN A (1980)
Fréquence de l'infection par le virus herpétique canine (canine herpesvirus 1) en Belgique. *Ann. Méd. Vét.*, 124 : 353-359
- SHIMAMOTO, C, TOKIOKA, S, HIRATA, I, TANI, H, OHISHI H. and KATS, K. (2002)
Inhibition of *Helicobacter pylori* infection by orally administered yolk derived anti-*Helicobacter pylori* antibody. *Hepatogastroenterol.*, 49 : 709-714
- SMITH, D.J., KING, W.F. and GODISKA, R. (2001)
Passive transfer of immunoglobulin Y antibody to *Streptococcus mutans* glucan binding protein B can confer protection against experimental dental caries. *Inf. Immu.*, 69 : 3135-3142.
- STOTT GH, MARX D.B, MENEFFEE B.E, NIGHTENDALE G.T (1979)
Colostrum immunoglobulin transfer in calves, and effect of suckling. *J. Dairy Sci.*, 62 : 1908-1913
- SUNWOO H.H, LEE E.N, MENNINEN K, SURESH M.R, SIM J.S (2002)
Growth inhibitory effect of chicken egg yolk antibody (IgY) on *Escherichia coli* O157:H7. *J. Food Sci.*, 67 : 1486-1494
- SUZUKI, H., NOMURA, S., MASAOKA, T., GOSHIMA, H., KAMATA, N., KODAMA, Y., ISHII, H., KITAJIMA, M., NOMOTO, K. and HIBI, T. (2004)
Effect of dietary anti-*Helicobacter pylori*-urease immunoglobulin Y on *Helicobacter pylori* infection. *Alim. Pharmacol. Therap.*, 20 (1): 185-192
- TACKET C.O, BINION S.B, BOSTWICK E, LOSONSKY G, ROY M.J, EDELMAN R (1992)
Efficacy of bovine milk immunoglobulin concentrate in preventing illness after *Shigella flexneri* challenge. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 4 : 276-283
- TAKUMI A, KUSANAGI K, TUCHIYA K, XUAN X, AZETAKA M, TAKAHASHI E (1990)
Serodiagnosis of canine herpesvirus infection-development of an enzyme-linked immunosorbent assay and its comparison with two improved methods of serum neutralization test. *J. Vet. Sci.*, 52 : 241-250
- TENNANT B, GASKELL R, KELLY D, CARTER S, GASKELL C (1991)
Canine coronavirus infection in the dog following oronasal inoculation. *Res. Vet. Sci.*, 51: 11-18
- TIZARD I (2013)
Veterinary Immunology. Neuvième édition, Saint Louis : Elsevier Saunders, ISBN 978-1-4557-0362-3 , 551 p
- TONNESSEN R, SVERDRUP BORGE K, NODTVEDT A, INDREBO A (2012)
Canine perinatal mortality: a cohort study of 224 breeds. *Theriogenol.*, 77(9) : 1788-1801.
- TORUN S, YILMAZ Z, PRATELLI A.M (2005)
A serological evidence of minute virus of canines in dogs in Turkey. *J. Vet. Anim. Sci.*, 29 : 923-925
- TOUCHETTE KJ, OBRIEN ML, COALSON JA (2003)
Liquid egg as an alternative protein source in calf milk replacers. *J. Dairy Sci.*, 86(8) : 2622-2628

- TUCHSCHERER M, PUPPE B, TUCHSCHERER A, TIEMANN U (2000)
Early identification of neonates at risk: traits of newborn piglets with respect to survival. *Theriogenol.*, 54(3) : 371-388
- VAN BENEDEN (2012)
[Online]<http://www.frc.ch/articles/entier-uht-ecreme-homogeneise-pasteurise-comment-sy-retrouver-dans-la-mer-de-laits/>
[consultée le 12/08/2014]
- VAN DER BEEK S, NIELEN A L, SCHUKKEN Y H, BRASCAMP E W (1999)
Evaluation of genetic, common-litter, and within-litter effects on preweaning mortality in a birth cohort of puppies. *Am. J. Vet. Res.*, 60 (9) : 1106-1110
- VAN GUCHT S, NAUWYNCK H, PENSAERT M (2001)
Prevalence of canine herpesvirus in kennels and the possible association with fertility problems and neonatal death. *Vlaam. Diergeneesk. Tijdschr.*, 70 : 204-211
- VEGA C, BOK M, CHACAN P, SAIF L, FERNANDEZ F, PARRENO V (2011)
Egg Yolk IgY: protection against rotavirus induced diarrhea and modulatory effect on the systemic and mucosal antibody responses in newborn calves. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 142(3-4) : 156-169
- VELA I, FALSEN E, SIMARRO I, ROLLAN E, COLLINS M D, DOMINGUEZ L, FERNANDEZ-GARAYZABAL J F (2006)
Neonatal mortality in puppies due to bacteremia by *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *Dysgalactiae*, *J. Clin. Microbio.*, 44 (2): 666-668
- YOKOYAMA H, PERALTA R.C, SENDO S, IKEMORI Y, KODAMA Y (1993)
Detection of passage and absorption of chicken egg yolk immunoglobulins in the gastrointestinal tract of pigs by use of enzyme-linked immunosorbent assay and fluorescent antibody testing. *Am. J. Vet. Res.*, 54(6) : 867-872
- ZENTEK J (2005)
Nutrition of the puppies and kittens: an overview. In: Iams Clinical Nutrition Symposium. Seville, Spain, 29 January 2005, p7-14
- WITTUM, T.E, PERINO, L.J (1995)
Passive immune status at postpartum hour 24 and long-term health and performance of calves. *Am. J. Vet. Res.*, 56 : 1149-1154
- ZOLTAN R (1998)
Clinical applications : bovine colostrums as immune system mediator. *Am. J. Nat. Med.*, 5(2) : 19-23

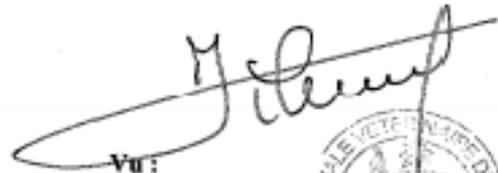
AGREMENT SCIENTIFIQUE

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

Je soussignée, Sylvie CHASTANT, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **OLIVIER Cynthia** intitulée « **Impact d'une supplémentation précoce en immunoglobulines sur chez le chiot sur le taux de mortalité néonatale et pédiatrique.** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.



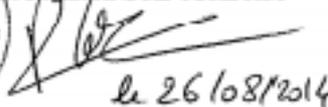
Fait à Toulouse, le 17 juillet 2014
Professeure Sylvie CHASTANT
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse


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

Vu : le 18/7/2014
Le Président du jury :
Professeure Charlotte CASPER

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

Professeur Bertrand MONTEUBERT
Par délégation, la Vice-Présidente du CEVU
Madame Régine ANDRÉ OBRECHT


le 26/08/2014

Conformément à l'Arrêté du 20 avril 2007, article 6, la soutenance de la thèse ne peut être autorisée qu'après validation de l'année d'approfondissement.

NOM : OLIVIER

PRENOM : Cynthia

TITRE DE LA THESE : Impact d'une supplémentation précoce en immunoglobulines chez le chiot sur la croissance, la morbidité et la mortalité néonatale et pédiatrique.

RESUME : Les premières semaines de vie en élevage canin constituent une période critique pour la survie des chiots, la mortalité étant principalement due à des agents infectieux. Le chiot naissant quasiment agammaglobulinémique, il acquiert 90% des immunoglobulines circulantes par absorption intestinale à partir du colostrum. Notre étude, réalisée sur 347 chiots de 14 races différentes vise à évaluer l'impact d'un apport précoce (avant la fermeture de la barrière intestinale) en immunoglobulines IgY dirigées contre le parvovirus CPV2 et *E. coli* sur la croissance, le métabolisme (glycémie, lactatémie, concentration sanguine en corps cétoniques), la morbidité et la mortalité au cours des deux premiers mois de vie. Un effet significatif a été observé sur la croissance des chiots supplémentés de grande race entre leur naissance et leur troisième semaine de vie (gain de poids supérieur de 27% à celui des chiots non supplémentés). Cependant, aucun effet de notre supplémentation n'a été mis en évidence sur les taux de morbidité et de mortalité. L'effet de la supplémentation ne passe pas par une voie énergétique mais plus probablement immunitaire. Le dosage du taux circulant d'IgY chez les chiots permettrait de valider l'importance du transfert, la demi-vie des IgY et si nécessaire d'augmenter la dose administrée.

MOTS-CLES : immunoglobulines/transfert passif/chiot/mortalité/croissance/métabolisme

ENGLISH TITLE: ENGLISH TITLE: Impact of immunoglobulin supplementation on neonatal and pediatric weight gain, morbidity and mortality in puppies.

ABSTRACT: In puppies, the first weeks of life are critical for their survival, mortality is mainly due to infectious agents. In order to obtain the passive immune protection, canine neonates acquire 90% of immunoglobulins at birth through colostrum, similarly to other agammaglobulinemic mammals. The aim of our study, conducted on 347 puppies from 14 different breeds, was to evaluate the effect of IgY supplementation against CPV-2 and *E. coli* administered at birth on growth rate, metabolism (glycemia, lactatemia, ketonemia), morbidity and mortality during the first 2 months of age of puppies. Supplemented puppies from large breeds presented better growth rate between birth and 21 days of age than placebo group (27% of weight improvement in supplemented puppies in comparison with non supplemented puppies). However, no effect of supplementation on mortality and morbidity was evidenced in our study. The effect of our supplementation is probably due not to energizing but immune reasons. Circulating free immunoglobulins in blood measures would allow us to evaluate the efficiency of passive immune transfer, the half-life of IgY in blood and if necessary, to increase the administered dose.

KEYWORDS: immunoglobulin/passive immunity transfer/puppies/mortality/weight gain/metabolism