



## 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 : 14441

**To cite this version :**

Erbacher, Anne-Laure. *Relation entre l'inflammation mammaire chez la chienne en post-partum et la santé du chiot*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2015, 51 p.

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



Université  
de Toulouse

ANNEE 2015 THESE : 2015 – TOU 3 – 4064

# RELATION ENTRE L'INFLAMMATION MAMMAIRE CHEZ LA CHIENNE EN POST- PARTUM ET LA SANTE DU CHIOT

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

*par*

**ERBACHER Anne-Laure**  
Née, le 7 octobre 1990 à DECINES (69)

---

**Directeur de thèse : Mme Sylvie CHASTANT**

---

## JURY

PRESIDENT :

**M. Olivier PARANT**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

**Mme Sylvie CHASTANT**  
**M. Guy-Pierre MARTINEAU**

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

MEMBRE INVITE :

**Mme Hanna MILA**

Docteur Vétérinaire à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



## Sommaire

Liste des figures.....	3
Liste des tableaux.....	3
Liste des abréviations.....	4
Introduction.....	5
Première partie : Etude bibliographique.....	6
1. Quelques notions d’anatomie mammaire chez la chienne (Sorenmo et al 2011) .....	6
2. Etiologie des mammites chez la chienne .....	7
2.1 Mode de contamination (Jung et al 2002, Fontaine et al 2007) .....	7
2.2 Agents pathogènes .....	7
3. Quelques données de pathogénie des mammites chez la vache .....	9
4. Symptômes lors de mammité clinique.....	10
4.1 Chez la mère.....	10
4.2 Chez les chiots.....	10
5. Diagnostic des mammites .....	11
5.1 Bactériologie du lait .....	11
5.2 Tests semi-quantitatifs sur le lait.....	11
5.3 Cytologie du lait .....	12
5.4 Echographie .....	13
5.5 Analyses sanguines .....	13
6. Traitement des mammites chez la chienne en lactation .....	14
6.1 Antibiothérapie .....	14
6.2 Soins locaux.....	14
6.3 Prévention de la galactostase .....	15
6.4 Analgésie .....	15
6.5 Gestion de la portée .....	15
7. Prévention des mammites chez la chienne.....	16

Deuxième partie : Etude expérimentale .....	17
1. Matériel et méthodes .....	17
1.1 Population .....	17
1.2 Prélèvements .....	18
1.3 Comptage des neutrophiles .....	20
1.4 Statistiques .....	20
2. Résultats .....	21
2.1 Etude de la méthode de préparation des frottis .....	21
2.2 Inflammation mammaire .....	24
2.3 Inflammation pathologique (mammite) .....	29
2.4 Mortalité des chiots .....	32
2.5 Gain moyen quotidien (GMQ) .....	35
Troisième partie : Discussion .....	38
1. Limites de l'étude .....	38
1.1 La population .....	38
1.2 Les prélèvements .....	38
1.3 Les frottis de lait .....	39
1.4 La centrifugation .....	40
2. L'inflammation mammaire au 3 <sup>ème</sup> jour post-partum .....	41
3. Mammite et composition du lait .....	42
4. La mortalité .....	43
4.1 Mortalité néonatale .....	43
4.2 Répercussions des mammites sur la mortalité néonatale .....	44
5. Le Gain Moyen Quotidien (GMQ) .....	45
5.1 GMQ de J3 à J7 et l'inflammation mammaire .....	45
5.2 GMQ pathologique de J0 à J2 .....	46
6. Perspectives, méthodes diagnostiques issues de l'élevage bovin .....	46
Conclusion .....	47
Bibliographie .....	48

## Liste des figures

Figure 1 : Anatomie des mamelles chez la chienne .....	6
Figure 2 : Structure des mamelles de la chienne (Johnston et al 2001) .....	7
Figure 3 : Neutrophile sur un frottis de lait non centrifugé au grossissement X 1000 .....	20
Figure 4 : Frottis de lait non centrifugé (lait total) de la chienne 32, mamelle M2G .....	21
Figure 5 : Frottis de lait centrifugé de la chienne 32, mamelle M2G (grossissement X 200).....	22
Figure 6 : Répartition du nombre de neutrophiles (NN) sur les frottis non centrifugés et centrifugés (N = 256) .....	23
Figure 7 : Corrélation entre le nombre de neutrophiles (NN) comptés sur lait après centrifugation et sur lait total .....	23
Figure 8 : Répartition de la différence entre les deux comptages (NN sur lait centrifugé – NN sur lait total) en fonction de la période de l'étude .....	24
Figure 9 : Distribution du nombre de neutrophiles comptés sur les frottis de lait (N = 422) .....	25
Figure 10 : Nombre de neutrophiles en fonction de la mamelle .....	26
Figure 11 : Nombre de neutrophiles (NN) moyen par paire de mamelle .....	26
Figure 12 : Nombre de neutrophiles (NN) moyen par chaîne mammaire .....	27
Figure 13 : Distribution du nombre moyen de neutrophiles par chienne (N = 50).....	28
Figure 14 : Distribution du nombre maximal de neutrophiles par chienne (N = 50) .....	28
Figure 15 : Coefficient de variation du NN entre les mamelles par chienne (N = 50).....	29
Figure 16 : Répartition de l'inflammation suivant la chaîne mammaire.....	30
Figure 17 : Répartition de l'inflammation suivant la paire de mamelle.....	30
Figure 18 : Répartition de l'inflammation suivant le numéro de la mamelle .....	31
Figure 19 : Répartition des chiennes en fonction du nombre de mamelles inflammées .....	32
Figure 20 : Taux de mortalité selon la période (N = 310 chiots nés dans 50 portées) .....	33
Figure 21 : Distribution de la mortalité en fonction de l'âge du chiot (N = 93 chiots).....	33
Figure 22 : Corrélation entre le nombre moyen de neutrophiles par chienne et le pourcentage de mortalité dans leur portée entre la naissance et J7.....	34
Figure 23 : GMQ de J0 à J7 en pourcentage du poids de naissance (47 portées ; 228 chiots) .....	35
Figure 24 : GMQ moyen en pourcentage du poids de naissance, entre J0 et J7, suivant l'inflammation mammaire de la mère (47 portées; 228 chiots).....	36
Figure 25 : Proportion des leucocytes en fonction du stade de lactation chez la vache .....	39
Figure 26 : Frottis de lait après centrifugation de la chienne 30, mamelle M2G (grossissement X200) .....	41

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Fréquence d'isolement de <i>Staphylococcus spp</i> selon le type de mammite .....	8
Tableau 2 : Etiologie des mammites aiguës chez la chienne .....	8
Tableau 3 : Comptage et typage cellulaires dans le lait de chiennes saines ou non (Morrow 1986) ...	12
Tableau 4 : Répartition des chiennes selon leur format racial.....	17
Tableau 5 : Répartition des mamelles productrices de lait (pour 50 chiennes étudiées).....	25
Tableau 6 : Modifications de la composition du lait chez les vaches présentant une augmentation du nombre total de cellules dans leur lait (Harmon 1994) .....	43
Tableau 7 : Mortalité néonatale (en %) selon les études.....	44

## Liste des abréviations

**BID** : *bis in die* (deux fois par jour)

**PO** : per os (par voie orale)

**AINS** : anti-inflammatoire non stéroïdien

**MGG** : May-Grünwald-Giemsa

**M1G** : première mamelle gauche

**GMQ** : gain moyen quotidien

**J1** : premier jour post-partum

**NN** : nombre de neutrophiles

**CV** : coefficient de variation

**%GMQ** : gain moyen quotidien en pourcentage du poids de naissance

## Introduction

Une mammite est une inflammation des glandes mammaires d'origine bactérienne. Elle peut toucher seulement une partie d'une glande, la totalité d'une glande, plusieurs glandes d'une même chaîne mammaire ou des deux chaînes mammaires, une chaîne mammaire entière (Fontbonne et al 2007).

Cette pathologie semble rare chez la chienne. Néanmoins, les méthodes diagnostiques sont peu nombreuses et le diagnostic de mammite repose essentiellement sur la présentation clinique de l'animal. Or il existe des mammites subcliniques, infections du tissu mammaire sans symptôme associé. Ces formes de mammites, connues et couramment diagnostiquées chez les bovins, ne sont pas recherchées chez la chienne.

D'après Jung et al (2002), les mammites sont rencontrées chez les chiennes ayant une galactorrhée lors de pseudogestation dans 27% des cas, en fin de gestation dans 23% des cas et dans un cas sur deux durant le post-partum. D'autres auteurs affirment qu'elles affectent dans 98% des cas, les chiennes en post-partum (Fontaine et al 2007). Cependant, c'est lors du post-partum qu'elles revêtent une importance primordiale. En effet, pendant les premières semaines de vie, les chiots ne s'alimentent qu'à partir du lait de leur mère. C'est également une période durant laquelle ils sont particulièrement sensibles aux maladies puisque leur système immunitaire est encore naïf. Ainsi, un risque de contamination du chiot par les toxines bactériennes présentes dans le lait de la mère peut survenir et aboutir à la mort des chiots ayant ingéré ce lait. Néanmoins, l'impact des formes subcliniques sur la mortalité et/ou la croissance des chiots n'a jamais été évalué.

De plus, pour des raisons évidentes d'antibiorésistance, un traitement précoce des mammites est préférable à une antibioprophylaxie, d'où l'intérêt de posséder des méthodes de détection suffisamment puissantes et aisément réalisables. L'étude de De Graef et al (2004) portant sur la comparaison des antibiorésistances de la flore intestinale des chiens a montré une plus forte proportion de souches d'*Escherichia coli* antibiorésistantes chez les chiens en élevage que chez les chiens de propriétaire. En élevage, l'utilisation d'antibiotiques est moins raisonnée que chez les particuliers, ce qui aboutit à davantage de résistances. Selon Milani et al (2012) l'antibioprophylaxie ne permet pas de diminuer la mortalité néonatale mais qu'au contraire elle induit des résistances. Il serait donc préférable de ne pas réaliser d'antibioprophylaxie et de miser sur une détection précoce des mammites. Mais la littérature vétérinaire possède peu de données sur l'inflammation mammaire chez la chienne, que ce soit au niveau pathogénique ou au niveau diagnostique.

L'objectif de cette étude sera de tester une méthode de comptage cellulaire dans le lait, réalisable en élevage et permettant de refléter l'état inflammatoire des mamelles des chiennes. L'inflammation mammaire sera confrontée à la mortalité néonatale et à la croissance des chiots dans le but d'évaluer la répercussion des mammites sur la portée.

## Première partie : Etude bibliographique

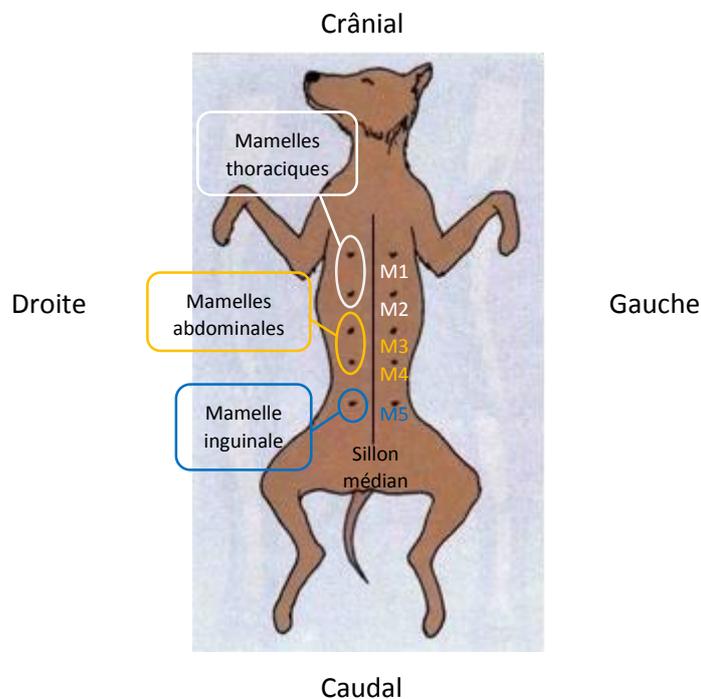
Les mammites post-partum apparaissent le plus fréquemment entre le 6<sup>ème</sup> et le 10<sup>ème</sup> jour après la mise-bas (Ververidis et al 2007). La majorité de ces inflammations est subclinique : dans l'étude de Jung et al (2002) portant sur 111 chiennes ayant une mammite, 77,5% d'entre elles ne présentaient aucun symptôme.

### 1. Quelques notions d'anatomie mammaire chez la chienne (Sorenmo et al 2011)

La mamelle est une glande exocrine adaptée à la sécrétion d'un liquide nutritif pour le jeune, le lait. La chienne compte communément dix mamelles réparties sur deux chaînes mammaires, une à droite de la ligne médiane, l'autre à gauche (Figure 1). Cranio-caudalement se trouvent :

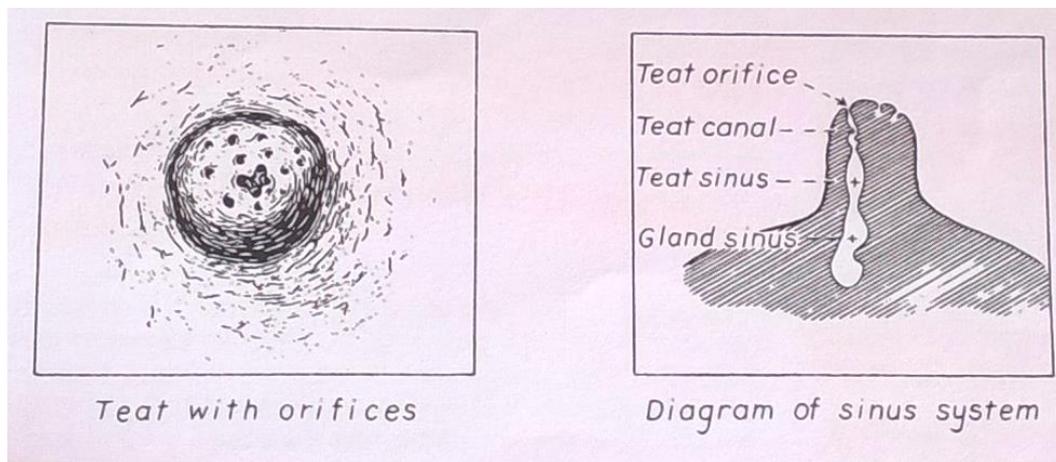
- + Les mamelles thoraciques (M1 et M2) droites et gauches
- + Les mamelles abdominales (M3 et M4) droites et gauches
- + Les mamelles inguinales (M5) droites et gauches.

Cependant, il n'est pas rare que les mamelles M1 aient disparu, notamment pour les races de petit format. De même, certaines chiennes possèdent des mamelles surnuméraires.



**Figure 1 : Anatomie des mamelles chez la chienne**

Les mamelles des chiennes sont des glandes exocrines, tubulo-alvéolaires dont l'unité fonctionnelle est le lobule. Un lobule est composé de tubulo-alvéoles, correspondant à la partie sécrétrice de la glande. Les lobules sont regroupés en lobes, séparés les uns des autres par du tissu conjonctif dense. Les lobules sont en continuité avec les sinus lactifères qui se prolongent ensuite par les canaux galactophores et débouchent sur un orifice au niveau de la tétine. Une tétine possède plusieurs orifices, entre 7 et 22 chez la chienne (Figure 2).



**Figure 2 : Structure des mamelles de la chienne (Johnston et al 2001)**

## 2. Etiologie des mammites chez la chienne

### 2.1 Mode de contamination (Jung et al 2002, Fontaine et al 2007)

L'infection du tissu mammaire se fait essentiellement par voie ascendante, consécutivement à des lésions créées par les chiots, par exemple avec leurs griffes, ou par la chienne elle-même en se léchant. Une contamination par voie descendante est également possible. Dans ce cas, la diffusion de germes se fait par voie hématogène ou lymphatique ; ce mode de contamination est favorisé par le développement du réseau capillaire sanguin dans le tissu mammaire lors de la lactation. Dans ce cas, la mammité est souvent associée à une métrite.

### 2.2 Agents pathogènes

Jung et al (2002) ont étudié l'étiologie des mammites cliniques et subcliniques chez la chienne. La mammité était considérée comme clinique lorsqu'au moins deux des symptômes suivants étaient réunis : une hyperthermie, un tissu mammaire gonflé, chaud, rouge, ou, douloureux, une modification macroscopique de l'aspect du lait. Les chiennes n'ayant pas de symptôme correspondant à une mammité clinique et pour lesquelles les échantillons de lait contenaient des bactéries (*Staphylococcus spp*, *Escherichia coli*) étaient considérées comme atteintes d'une mammité subclinique. Cette étude portait sur 111 chiennes. Les staphylocoques (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*) ont aussi bien été retrouvés dans les cas de mono-infection (staphylocoques présents dans 70% des cas de mono-infection) que dans les mammites associant plusieurs germes (avec au moins un staphylocoque dans 57% des cas).

De même, quelle que soit la forme de la mammite (clinique ou subclinique), les staphylocoques étaient les germes les plus représentés (Tableau 1).

**Tableau 1 : Fréquence d'isolement de *Staphylococcus spp* selon le type de mammite (111 chiennes, Jung et al 2002)**

Présence de <i>Staphylococcus spp</i>	Mono-infection		Pluri-infection	
	70%		57%	
	Mammite clinique	Mammite subclinique	Mammite clinique	Mammite subclinique
	72,7%	92,9%	50%	65,8%

L'étude de Walser et Henschelchen (1983) s'est quant à elle uniquement intéressée à l'étiologie des mammites cliniques, aussi appelées mammites aiguës. Elle a été réalisée sur 173 chiennes présentant des symptômes de mammite.

Les mammites aiguës sont essentiellement dues à un seul germe puisque 88,4% des mammites aiguës sont des mono-infections. Que la mammite soit une mono-infection ou une pluri-infection, des staphylocoques sont présents : ils sont isolés dans 90% des cas de mono-infection et dans 84,5% des cas de pluri-infection (Tableau 2).

**Tableau 2 : Etiologie des mammites aiguës chez la chienne (173 chiennes, Walser et Henschelchen, 1983)**

Mono-infection			Pluri-infection		
88,4%			11,6%		
Staphylocoques	Streptocoques	Coliformes	Staphylocoques + Streptocoques	Staphylocoques + Coliformes	Streptocoques + Coliformes
79,5%	3,6%	5,3%	8%	1,8%	1,8%

Cependant, dans la majorité des cas, les Staphylocoques isolés sont des *Staphylococcus pseudointermedius*. Sa fréquence est néanmoins plus faible dans le colostrum (durant le premier jour post-partum) que durant le reste de la lactation. Cependant, ce germe a un rôle pathogène mineur, aussi bien dans le tissu mammaire que pour la santé des chiots. En effet, il est rarement associé à des signes cliniques chez les animaux atteints (Kuhn et al 1991, Rota et al 2015).

En résumé, les principaux germes isolés lors de mammite sont des bactéries communes, présentes dans l'environnement ou appartenant à la flore cutanée des chiens (Root Kustritz 2010). Ce sont fréquemment des agents pathogènes opportunistes, dont la croissance sera rendue possible par la présence de facteurs prédisposants (Wilson 2013). Les germes essentiellement représentés sont *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp*, des streptocoques  $\beta$ -hémolytiques et plus rarement *Pseudomonas spp*, *Klebsiella spp*, *Pasteurella spp*, *Clostridium spp*. Les mammites gangréneuses sont causées essentiellement par des

staphylocoques pouvant sécréter des hémolysines : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pyogenes*. Lors de mammite associée à une métrite, les principaux germes impliqués dans la mammite sont des streptocoques, le plus souvent *Streptococcus canis* (Fontaine et al 2007).

### 3. Quelques données de pathogénie des mammites chez la vache

La physiopathogénie des mammites n'a pas été étudiée chez la chienne. En revanche, les données chez les bovins sont nombreuses. Pour comprendre le mécanisme de l'inflammation mammaire, nous présenterons donc les données issues d'études menées chez la vache (Burvenich et al 1994, Paape et al 2002, 2003).

Deux groupes de cellules participent aux défenses des mamelles. D'une part, les lymphocytes interviennent dans la réponse humorale et à médiation cellulaire. D'autre part, les granulocytes neutrophiles et les macrophages sont responsables de la phagocytose et ont aussi un rôle dans la synthèse des médiateurs de l'inflammation. Les macrophages ont un rôle important dans l'initiation de la réaction inflammatoire en activant la sécrétion de cytokines. En réponse à un stimulus inflammatoire, les neutrophiles sont recrutés et migrent des capillaires sanguins jusqu'à l'épithélium mammaire et dans le lait, c'est la diapédèse. Par conséquent, suite à une infection aiguë, le nombre de neutrophiles dans le sang diminue dans un premier temps. En réponse à cette diminution, la moelle osseuse va produire des neutrophiles. Ces derniers se distinguent des neutrophiles plus anciens par la forme de leur noyau qui n'est pas segmenté (ils sont dénommés *band cells*). Ainsi, la courbe d'Arneth sera déviée à gauche.

La migration des neutrophiles jusqu'au lieu de l'inflammation est régie par des phénomènes de chimiotactisme. Les neutrophiles présents dans la circulation sanguine sont alors attirés jusqu'au lieu de l'infection. Différentes molécules interviennent alors pour permettre l'adhésion entre la membrane des neutrophiles et celle des cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. L'adhésion permet ensuite aux neutrophiles de quitter la circulation sanguine et ainsi rejoindre le lieu de l'infection. L'influx de neutrophiles sur le site de l'infection est maximal dans les 6-24 heures après le début de l'infection (Mehrzaad et al 2004).

Le complément et les immunoglobulines permettent ensuite aux neutrophiles de reconnaître les agents pathogènes et de les phagocyter. Les neutrophiles possèdent deux mécanismes bactéricides : oxygène-dépendant et oxygène-indépendant. Les macrophages interviennent de nouveau pour éliminer rapidement les neutrophiles après destruction des bactéries. En effet, les neutrophiles relarguent des molécules toxiques pour le tissu environnant, comme des radicaux libres, des protéases et des cytokines pro-inflammatoires. Il est donc essentiel que leur élimination soit rapide pour éviter des dégâts tissulaires majeurs et un emballement de la réaction inflammatoire.

## 4. Symptômes lors de mammite clinique

### 4.1 Chez la mère

#### 4.1.1 Aspect du lait

Lorsque le tissu mammaire est sain, le lait produit est blanc-jaune pendant les vingt-quatre premières heures de la phase colostrale, puis il devient totalement blanc. Toute modification de la coloration du lait pendant la lactation est anormale. Lors de mammite, le lait s'écoulant des mamelles atteintes peut être purulent, plus ou moins teinté de sang, il prendra alors une coloration brune ou rosée (Smith 1986, Johnston et al 2001). Cependant, il peut aussi ne présenter aucune modification de sa coloration et ainsi être similaire à du lait issu d'une mamelle saine. Par ailleurs, l'inflammation mammaire peut engendrer une galactostase, cette dernière est elle-même à l'origine d'une inflammation, un cercle vicieux se met alors en place (Dozsa et Paal 1950).

#### 4.1.2 Signes locaux

Les mammites peuvent toucher seulement une partie d'une glande, la totalité d'une glande, plusieurs glandes d'une même chaîne mammaire ou des deux chaînes mammaires, une chaîne mammaire entière (Fontbonne et al 2007).

Lors de mammite, les signes cliniques locaux sont ceux de l'inflammation, le tissu mammaire affecté est alors volumineux, chaud, rouge à violet et douloureux (Burke 1986). Des nodules fermes ou une masse sont parfois palpables dans le tissu mammaire lors de mammite chronique ; ils sont consécutifs à la mise en place de tissu fibreux au sein de la mamelle (Feldman et Nelson 1987, Orfanou et al 2010). L'atteinte peut être localisée à la base ou au voisinage du trayon, ou alors elle peut s'étendre sur la totalité de la mamelle. Lors de mammite gangréneuse, des signes locaux caractéristiques sont présents comme un sillon disjoncteur, un noircissement de la peau et la formation d'un sphacèle.

#### 4.1.3 Signes généraux

Les chiennes ayant une mammite présentent occasionnellement des symptômes systémiques. Ces derniers sont assimilables à un syndrome fébrile, avec hyperthermie et abattement. Dans certains cas, la chienne se désintéresse de ses chiots (Smith 1986), les rejette et les empêche de téter en cas de douleur marquée. Dans les cas les plus graves, la chienne est en choc septique avec au moins une glande mammaire nécrotique ou abcédée.

### 4.2 Chez les chiots

Bien qu'un lait anormal ou "toxique" soit lié à une morbidité et une mortalité durant la période néonatale (entre le 3<sup>ème</sup> et le 14<sup>ème</sup> jour post-partum), actuellement aucune définition du lait "toxique" n'a été établie : le rôle exact et la composition du lait impliqués dans cette mortalité néonatale ne sont pas connus. Ce syndrome est employé lorsque les chiots deviennent faibles, inconfortables et se plaignent ; leur croissance est plus lente (Johnston et al 2001). Une diarrhée verdâtre peut également apparaître. Dans certains cas, des signes de septicémie sont aussi présents, à savoir une déshydratation, une congestion des muqueuses, une hypothermie. La protrusion de la muqueuse anale est un signe caractéristique de septicémie chez le chiot (Fontaine et al 2007). Néanmoins, le plus souvent les bactéries et/ou les toxines bactériennes transmises aux chiots par le lait ne sont pas la cause de la septicémie mais

constituent un facteur prédisposant au développement d'autres agents infectieux (bactéries, virus) en affaiblissant le système immunitaire des chiots (Schäfer-Somi et al 2003). L'étude de Münnich et Lübke-Becker (2004) portant sur le typage des souches d'*Escherichia coli* présentes lors d'infections chez les nouveau-nés montre que le lait est un réservoir peu fréquent de ce germe. Les principales sources d'*Escherichia coli* chez la mère sont vaginales, puis fécales. Lorsque la même bactérie est retrouvée chez les chiots morts de septicémie et dans le lait de la mère, le plus probable est une inoculation des germes par le chiot, directement dans la mamelle lors de la tétée, et non le contraire (Traas 2008).

## 5. Diagnostic des mammites

Le diagnostic de mammite clinique repose sur l'anamnèse, les commémoratifs, et principalement sur les signes cliniques et un examen clinique. L'analyse macroscopique du lait à elle seule ne permet en aucun cas d'établir un diagnostic. En effet, l'aspect du lait n'est pas toujours modifié lors de mammite. Des examens complémentaires permettent d'orienter le diagnostic.

### 5.1 Bactériologie du lait

Un examen bactériologique du lait permet de mettre en évidence les bactéries présentes et de tester leur sensibilité aux antibiotiques. Lors de septicémie associée chez les chiots, il est également important d'envoyer au laboratoire les organes des cadavres (notamment l'encéphale, la moelle osseuse, la rate, le foie, le cœur, les reins et les poumons) pour effectuer une bactériologie et donc essayer de trouver l'origine de la septicémie. Dans ce cas, il faut être vigilant à la conservation des prélèvements. En effet, l'autolyse post-mortem peut être responsable d'une contamination bactérienne. C'est ainsi, en réalisant une bactériologie sur le lait de chienne n'ayant aucun signe clinique de mammite, que Kuhn et al (1991) montrent la présence de germes dans le lait de 68,2% des chiennes (30 chiennes ayant des bactéries dans au moins un échantillon de lait parmi les 44 chiennes de l'étude). Par conséquent, environ deux chiennes sur trois serait déclarées atteintes de mammite subclinique dans cette étude. Parmi les échantillons prélevés sur ces chiennes cliniquement saines, 30,3% (40 échantillons parmi les 132 échantillons analysés) ne contiennent qu'un seul type de germe, le plus souvent un staphylocoque. Dans la plupart des échantillons contenant des germes, peu de bactéries sont présentes ( $\leq 10^4$  bactéries/mL).

### 5.2 Tests semi-quantitatifs sur le lait

D'autres tests peuvent être réalisés directement au chevet de l'animal lors d'une suspicion de mammite. Sangha et al (2011) ont ajouté du lauryl sulfate de sodium à des prélèvements de lait issus de chiennes ayant une mammite, ce qui a entraîné la formation d'un gel. De même, lorsque du bleu de bromothymol a été ajouté à du lait issu d'une mamelle infectée, une modification de la couleur du mélange s'est opérée, passant du jaune au vert. Ces tests permettent de confirmer la présence d'une mammite.

Le pH du lait est également un paramètre qui varie lors d'inflammation mammaire. Le lait des chiennes saines est légèrement plus acide que leur sérum. Lors d'inflammation, le lait s'alcalinise et son pH avoisine le pH sérique lors d'une forte inflammation (Morrow 1986).

### 5.3 Cytologie du lait

Plutôt que de rechercher l'infection, le diagnostic peut viser à la mise en évidence de l'inflammation de la glande mammaire, ce qui permet alors de détecter les mammites subcliniques.

Les macrophages et les neutrophiles sont les principales cellules visibles sur les frottis de lait. Les macrophages, qui phagocytent les globules lipidiques, ont de ce fait une taille variable.

Lors de mammite, le lait contient effectivement un grand nombre de leucocytes et de bactéries qui peuvent être directement observés sur un étalement de lait coloré ; des neutrophiles dégénérés ayant phagocyté des bactéries sont également observables. Cependant, le lait de chiennes saines contient de façon physiologique des leucocytes avec une variation en nombre entre les chiennes, mais également entre les différentes glandes mammaires d'une même chienne. Par conséquent, le nombre total de cellules ne peut être utilisé chez la chienne pour évaluer le statut inflammatoire du tissu mammaire (Morrow 1986, Smith 1986, Johnston et al 2001).

Pour ce faire, une différenciation des leucocytes est nécessaire. En effet, les macrophages prédominent et parfois quelques neutrophiles sont présents dans le lait de femelles saines, en lactation (Tableau 3, Morrow 1986). Lorsqu'une mammite est présente, la quantité de neutrophiles augmente. En début d'infection (jusqu'à 11 jours après le début de l'infection), ils représentent près des  $\frac{3}{4}$  des cellules du lait de la mamelle infectée. Des neutrophiles toxiques sont également observables dès les premiers jours après le début de l'infection. La quantité de lymphocytes augmente également mais plus tardivement (à partir du 6<sup>ème</sup> jour post-infection) et prédominent dès le 14<sup>ème</sup> jour post-infection (Ververidis et al 2007).

**Tableau 3 : Comptage et typage cellulaires dans le lait de chiennes saines ou non (Morrow 1986)**

	Total Cells	Macrophages	Polymorpho-nuclear Cells	Unidentified Mononuclear* Cells
Normal bitches with nursing pups (n = 13)	33 to 14,548†	0 to 14,088	0 to 1418	0 to 1942
Normal bitches postweaning (n = 3)	13,750 to 67,654	8054 to 8869	5303 to 54,402	1577 to 4875
Pseudopregnant bitches (n = 3)	7302 to 38,233	5448 to 27,211	844 to 8808	0 to 910
Abnormal bitches‡ (n = 6)	4302 to 363,000	157 to 76,230	2352 to 283,400	751 to 24,861

\*Unidentified mononuclear cells probably are degenerative nuclei of fat cells.  
†Range of means; cells/ $\mu$ l milk.  
‡Abnormal bitches include those with mastitis, mammary duct ectasia and galactostasis and those having septicemic puppies.

D'autres cellules peuvent parfois être observées. La galactostase s'accompagne par exemple d'une augmentation du nombre d'éosinophiles. Par ailleurs, en réponse à une blessure, de

nombreux neutrophiles, des cellules épithéliales et du matériel nécrotique sont trouvés sur les frottis de lait (Koss et Melamed 2006).

#### 5.4 Echographie

Il est également possible de détecter une mammite en réalisant une échographie du tissu mammaire. Dans le tissu sain, plusieurs couches sont identifiables, de la plus superficielle à la plus profonde :

- la peau, d'aspect échographique homogène ;
- le parenchyme mammaire, d'aspect hétérogène avec des plages anéchogènes et des lignes échogènes ;
- le fascia, apparaissant sous forme de ligne hyperéchogène ;
- les muscles, d'aspect hétérogène.

Le signe caractéristique d'une mammite à l'échographie est une perte complète de l'architecture en couches du tissu. Les zones inflammées apparaissent plus hypoéchogènes avec parfois une réverbération artéfactuelle dans le tissu atteint, signe de la présence de bulles de gaz. De plus, la coloration Doppler permet de visualiser le flux sanguin au sein du tissu : lors d'infection, le flux sanguin diminue jusqu'au centre de la zone infectée où il devient inexistant. Dans ce cas, le tissu est nécrosé. L'échographie permet alors de choisir le traitement le plus adapté et d'établir un pronostic plus précis (Trasch et al 2007).

Une échographie utérine peut s'avérer intéressante pour rechercher tout signe de métrite, facteur favorisant des mammites.

#### 5.5 Analyses sanguines

Un cas de mammite gangréneuse (Hasegawa et al 1993), dans lequel des analyses sanguines ont été réalisées, a montré une modification de plusieurs paramètres. Sur son frottis sanguin, la chienne présentait une leucocytose marquée et des macroplaquettes. Le premier jour de l'infection, le nombre de leucocytes était diminué avec ensuite une augmentation. De plus, le nombre de plaquettes avait lui aussi diminué et une anémie légère était présente. L'étude de Ververidis et al (2007) montre des résultats similaires, à savoir une diminution du nombre de leucocytes dans les 12 heures après le début de l'infection, suivie d'une augmentation marquée du nombre de neutrophiles. Le nombre de leucocytes et de neutrophiles se normalise le 6<sup>ème</sup> jour après l'infection. De même une diminution du nombre de plaquettes est observée dès 12 heures après l'infection, suivie d'une augmentation de leur nombre à partir du 4<sup>ème</sup> jour.

Outre les modifications de l'hémogramme, une augmentation des paramètres rénaux et hépatiques ainsi que des désordres électrolytiques peuvent être associés à des mammites cliniques chez la chienne (Lopate 2012). Dans le cas de mammite gangréneuse rapporté par Hasegawa et al (1993), une légère augmentation du taux de phosphatases alcalines, une légère hypernatrémie et une hypokaliémie sont répertoriées. De plus, une électrophorèse des protéines a mis en évidence une augmentation marquée du taux d' $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ -globulines. L'étude de Dziecioł et al (2006) rapporte également une augmentation de la concentration d'haptoglobine chez les chiennes atteintes de mammite.

## 6. Traitement des mammites chez la chienne en lactation

Le traitement doit être mis en place immédiatement après le diagnostic de mammite pour éviter les répercussions sur les chiots de la portée ainsi que les complications pour la mère.

### 6.1 Antibiothérapie

Le lait étant particulièrement riche en lipides, il faudra utiliser des antibiotiques liposolubles dépourvus d'effets secondaires sur les nouveau-nés. L'idéal est d'effectuer un examen bactériologique associé à un antibiogramme afin d'ajuster au mieux l'antibiotique utilisé.

Des études bactériologiques couplées à un antibiogramme ont montré qu'entre 40 et 50% des staphylocoques présents lors de mammite sont résistants à la pénicilline G, à l'ampicilline, à la streptomycine ou à plusieurs de ces antibiotiques (Walser et Henschelchen 1983) ; presque 72% sont résistants aux sulfamides (Jung et al 2002). Un tiers des staphylocoques ne montre aucune résistance et tous sont sensibles à la gentamicine (Walser et Henschelchen 1983). Dans l'étude de Jung (2002), tous les staphylocoques étaient également sensibles au nitrofurantoïne et à l'enrofloxacin. Dans 97% des cas, une sensibilité à l'association amoxicilline + acide clavulanique était présente.

Cependant, le nitrofurantoïne est mutagène et toxique pour les nouveau-nés. La gentamicine est quant à elle néphro- et ototoxique, son élimination chez les nouveau-nés est également plus lente que chez les adultes. L'enrofloxacin peut entraîner des arthropathies. Les tétracyclines, en chélatant le calcium, sont à l'origine d'une hypoplasie de l'émail dentaire et d'une hypotrophie osseuse (Morrow 1986, Johnston et al 2001). Ces trois molécules sont alors contre-indiquées lorsque les chiots sont avec la mère. L'association amoxicilline + acide clavulanique représente donc l'antibiotique de choix, en première intention pour traiter les mammites sur les chiennes gravides ou en lactation (Jung et al 2002). Le traitement avec l'association amoxicilline + acide clavulanique s'effectue à la dose de 15mg/kg BID PO et doit être réalisé jusqu'au minimum deux jours après résolution des signes d'infection, sans dépasser 30 jours de traitement (Plumb 2011). L'antibiotique peut ensuite être modifié en fonction des résultats de l'antibiogramme.

### 6.2 Soins locaux

Si le tissu mammaire est abcédé ou que la chienne présente une mammite gangréneuse, un parage chirurgical est nécessaire (Smith 1986, Orfanou et al 2010) avec la mise en place de drains. Un lavage de la glande atteinte avec de la povidone iodée (diluée entre 0,5% et 1%) peut être réalisé deux fois par jour (Johnston et al 2001). La cicatrisation se fera par seconde intention lorsque la perte tissulaire n'est pas trop importante. Le miel ayant une activité antibactérienne et cicatrisante, il est possible d'en appliquer directement sur la lésion pour favoriser la cicatrisation. En effet, le miel favorise la mise en place du tissu de granulation et l'épithélialisation de la plaie (Mphande et al 2007).

Dans tous les cas de mammite, le tissu mammaire atteint étant très fragile, il est conseillé de le protéger des excoriations pouvant être causées par les nouveau-nés, principalement avec leurs griffes.

La mastectomie est une alternative de choix lors de mammite gangréneuse ou de nécrose grave pour limiter tout sepsis.

### 6.3 Prévention de la galactostase

Un point primordial dans le traitement des mammites concerne la vidange des glandes mammaires. Il est nécessaire d'éviter que le lait ne s'accumule dans la/les glandes mammaires affectées. Pour cela il faut les vider manuellement au moins deux fois par jour (Burke 1986, Orfanou et al 2010).

Un traitement anti-prolactinique peut également être instauré pour diminuer la production de lait, d'autant plus lorsque les chiots sont retirés de la mère, avec par exemple de la cabergoline à 0,75-2,5µg/kg BID pendant 7 jours (Nelson et Couto 2014).

La sécrétion de la prolactine est stimulée par une diminution des concentrations circulantes en hormones stéroïdiennes. Dozsa et Paal (1950) utilisent ce principe pour réduire la production lactée lors de mammite. L'usine Richter a produit un œstrogène de synthèse, la "Syntestrin" (4,4-dioxy-alpha-beta-diethylstilbendipropionate 0,005g, alcool benzylique 0,1mL). Une injection en intra-musculaire de 2-2.5mg de Syntestrin par chienne par jour, pendant 4 jours, permet de réduire de façon satisfaisante la production de lait en 4 à 5 jours et ainsi participe efficacement à la guérison des mammites secondaires à une galactostase. Cependant, l'administration de stéroïdes à forte dose augmente le risque de tumeur utérine, ovarienne et mammaire alors que le principal effet secondaire de la cabergoline est l'induction de vomissements sur les premières administrations. La cabergoline est donc le traitement de choix pour réduire la production lactée chez la chienne (Bastan et al 1998).

### 6.4 Analgésie

La principale difficulté du traitement des mammites reste l'analgésie. En effet, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ne peuvent être utilisés car ils sont très toxiques pour les reins des nouveau-nés et peuvent à terme engendrer une insuffisance rénale. Par ailleurs, peu de données existent concernant les effets secondaires sur les nouveau-nés des autres analgésiques disponibles. Les opioïdes comme la morphine sont distribués dans le lait en faible quantité. Leur utilisation chez les mères allaitantes semble alors possible en surveillant de près les chiots de la portée. Par ailleurs, en cas d'effets indésirables, il est toujours possibles d'utiliser un antagoniste comme la naloxone (Plumb 2011).

Un traitement hygiénique peut être mis en place, consistant en l'application de compresses chaudes sur le tissu mammaire, ce qui permet de favoriser le drainage et ainsi soulager l'animal (Biddle et Macintire 2000).

### 6.5 Gestion de la portée

L'implication du lait et de sa composition dans le syndrome du lait "toxique" n'ayant pas été mise en évidence, il a pour l'instant été admis que les chiots peuvent rester avec leur mère et continuer à téter tant que celle-ci ne présente pas de mammite gangréneuse (Smith 1986, Johnston et al 2001). Une diarrhée transitoire peut affecter les nouveau-nés qui ingèrent du lait contenant des antibiotiques.

Lorsqu'un parage chirurgical associé à un drainage est nécessaire, il est primordial de veiller à ce que les nouveau-nés ne soient pas en contact direct avec le tissu drainé, soit en retirant les chiots de leur mère, ce qui reste l'option de choix, soit en recouvrant le tissu d'un pansement. Les chiots retirés de leur mère doivent être nourris avec un lactoreemplaceur. Pendant les 2 premières semaines de vie, les chiots doivent être nourris au biberon toutes les 2 à 4 heures (Johnston et al 2001), ce qui représente une contrainte, d'où la nécessité de prendre en compte le côté pratique pour l'éleveur lorsqu'il est choisi de retirer les chiots de leur mère (Segalini 2008). Lorsqu'ils ont plus de 3 semaines, il est possible de les sevrer en réalisant une transition alimentaire sur une semaine avec un aliment humide de préférence. En élevage, le recours à une nourrice (autre chienne en lactation) est une bonne alternative.

## 7. Prévention des mammites chez la chienne

La prévention des mammites chez la chienne passe avant tout par une bonne hygiène de la salle de maternité. Tous les matériaux ne permettant pas un nettoyage et une désinfection totale sont à proscrire, comme les caisses en carton ou en bois non traité. Un nettoyage et une désinfection doivent avoir lieu tous les jours. En outre, il est conseillé de couper les griffes des chiots pour diminuer le risque de lésion du tissu mammaire.

En résumé, les mammites sont peu étudiées chez la chienne et la recherche de mammite subclinique est très rare. Or les mammites pourraient être responsables du syndrome du lait "toxique", bien que pour l'instant aucun lien n'ait été établi.

Les staphylocoques sont les germes majoritairement retrouvés lors de mammite chez la chienne, aussi bien dans les mammites cliniques que dans les cas de mammites subcliniques. Les leucocytes, principalement les macrophages et les neutrophiles, sont les principales cellules recrutées pour protéger les glandes mammaires des infections. Par conséquent, nous avons étudié l'inflammation mammaire chez la chienne à partir du nombre de leucocytes présents dans le lait des chiennes en lactation, de façon à évaluer les répercussions des mammites, notamment des mammites subcliniques, sur la santé des chiots pendant la période néonatale. Pour cela, nous nous sommes principalement intéressés à la mortalité néonatale ainsi qu'à la croissance des chiots à travers l'étude de leur gain moyen quotidien.

## Deuxième partie : Etude expérimentale

### 1. Matériel et méthodes

Les prélèvements ont été réalisés dans un élevage canin multiracial de grande taille, hébergeant environ 300 chiennes d'une vingtaine de races.

Ils ont été effectués entre le 13 octobre et le 18 décembre 2014.

#### 1.1 Population

##### 1.1.1 Les mères

50 mères au 3<sup>ème</sup> jour post-partum ont été incluses, le jour de la naissance du premier chiot correspondant au jour 0.

Les chiennes ont été réparties en trois groupes suivant leur format racial : petit (< 10kg), moyen (entre 10 et 25kg), grand (> 25kg) (Tableau 4).

**Tableau 4 : Répartition des chiennes selon leur format racial**

Format racial	Races de l'élevage incluses	Nombre de chiennes	Total
Petit	Bichon frisé	4	24
	Bichon maltais	4	
	Jack Russel	3	
	Lhasa apso	1	
	Scottish terrier	2	
	Shih tzu	1	
	Spitz	2	
	West Highland White Terrier	3	
	Yorkshire terrier	4	
Moyen	Cocker anglais	8	8
Grand	Berger allemand	2	18
	Berger australien	1	
	Bouvier bernois	1	
	Boxer	2	
	Golden retriever	4	
	Labrador retriever	8	

A chaque chienne et sa portée, nous avons attribué un nombre en commençant par le nombre "1" et en incrémentant d'une unité pour chaque chienne dans l'ordre chronologique de la mise-bas.

Les chiennes sont logées dans un bâtiment de maternité à partir de la semaine voire de la quinzaine précédant la date de mise-bas prévue, jusqu'au sevrage, vers huit semaines après la mise-bas. Les chiennes sont toutes intégralement tondues avant leur entrée dans le bâtiment de maternité. Une fois à l'intérieur de ce bâtiment, elles sont hébergées dans des cases individuelles. Ces dernières sont en béton et le sol est recouvert de copeaux. Un nettoyage avec de l'eau de Javel concentrée est réalisé tous les matins dans toutes les cases. Des nouveaux copeaux sont alors remis tous les jours. Entre chaque mise-bas, un nettoyage et une désinfection totale des cases sont réalisés. Un nettoyage avec de l'eau chaude à haute pression précède la désinfection avec un fongicide, bactéricide et virucide, suivie d'un rinçage à l'eau chaude sous haute pression. Un vide sanitaire de 2 à 14 jours est ensuite respecté avant l'arrivée d'une nouvelle mère gestante.

En outre, la circulation au sein du bâtiment se fait avec des bottes désinfectées à l'eau de Javel pendant minimum 12 heures et qui ensuite ne sont jamais sorties de ce bâtiment. De plus elles sont mises à tremper, toutes les nuits, dans de l'eau de Javel.

### *1.1.2 Les chiots*

310 chiots sont nés pendant la période de l'étude. La médiane de la taille des portées est de 6. Le premier quartile correspond à 5 chiots par portée et le troisième quartile à 7,75 chiots. La portée la plus petite était composée de 2 chiots et la plus grande comptait 13 chiots.

Les chiots de chaque chienne ont été suivis pendant la période néonatale, à savoir du jour de la naissance au 21<sup>ème</sup> jour post-partum. Les chiots sont identifiés à l'aide de colliers de couleur, en laine. Ils restent avec leur mère de la naissance jusqu'au sevrage (vers l'âge de 2 mois).

## *1.2 Prélèvements*

### *1.2.1 Echantillons de lait*

Au 3<sup>ème</sup> jour post-partum, du lait est prélevé sur chaque mamelle des chiennes, dans les minutes suivant l'administration de 1 à 3 UI d'ocytocine (Ocytovem<sup>®</sup>, CEVA, Libourne, France) à la mère par voie intra-musculaire. Les mamelles sont désinfectées avec une compresse imbibée de chlorhexidine (Hibiscrub<sup>®</sup>, Molnlycke Health Care, Wasquehal, France) ; une compresse différente est utilisée pour chaque chaîne mammaire. Enfin, les mamelles sont séchées avec une feuille de papier essuie-tout.

Au maximum, 2mL de lait sont prélevés par mamelle. Chaque mamelle est collectée individuellement dans un tube plastique. Les frottis sont ensuite réalisés. Pour cela, 25µL de lait sont déposés à l'extrémité d'une lame en verre. A l'aide d'une lame rodée, la goutte est étalée. L'objectif est de transformer une masse multicellulaire en une couche monocellulaire (Vasiu et al 2015). Les mamelles sont identifiées conformément à la figure 1. Ainsi les mamelles thoraciques antérieures sont dénommées M1, les thoraciques postérieures M2, les abdominales antérieures M3, les abdominales postérieures M4 et les mamelles inguinales M5.

Un second frottis après centrifugation est réalisé dans les 12 heures qui suivent le prélèvement. Jusqu'à la centrifugation, les prélèvements sont placés à +4°C. Le lait est centrifugé à 3 000g pendant 5 minutes. Suite à la centrifugation, trois couches distinctes apparaissent : un culot au fond du tube, surmonté d'une couche liquide, enfin la couche lipidique sous forme d'émulsion. A l'aide d'une pipette, une partie de la couche lipidique (couche la plus superficielle) est retirée pour créer un accès direct aux couches inférieures et ainsi diminuer le nombre de globules lipidiques prélevés. Le culot est alors remis en suspension et 25µL sont prélevés et déposés sur une lame pour ensuite être étalés comme expliqué ci-dessus.

Les lames sont toutes identifiées avec un code spécifique comportant le numéro de la chienne, le numéro de la mamelle ainsi que sa latéralisation ; la lettre « c » est ajoutée à la suite lorsque l'étalement correspond à du lait centrifugé. Ainsi par exemple, 12M1D correspond à du lait issu de la 1<sup>ère</sup> mamelle à droite de la chienne numéro 12. De même, 20M4Gc correspond à l'étalement du lait obtenu à la 4<sup>ème</sup> mamelle à gauche de la chienne numéro 20 après centrifugation.

Dans la suite de l'étude, nous utiliserons ce format de notation pour parler des mamelles, notamment dans les graphiques. Ainsi, la première mamelle gauche sera mentionnée sous la forme "M1G".

### 1.2.2 *Pesée des chiots*

Les chiots de chaque portée sont pesés à la naissance puis au 7<sup>ème</sup> jour post-partum. La balance électronique Ohaus EB15 (Ohaus Corporation, Parsippany, New Jersey, USA), d'une précision de 0,5g est utilisée tout au long de l'expérience. Elle est étalonnée au début de chaque série de mesure avec un poids standard de 1kg.

Pour chaque chiot, le gain moyen quotidien (GMQ) a été calculé en pourcentage du poids de naissance (%GMQ) :

$$\%GMQ_{J0-J2} = \frac{\text{poids chiot J2} - \text{poids chiot J0}}{2 * \text{poids chiot J0}}$$

$$\%GMQ_{J0-J7} = \frac{\text{poids chiot J7} - \text{poids chiot J0}}{7 * \text{poids chiot J0}}$$

Le %GMQ moyen par portée a été calculé en effectuant la moyenne du %GMQ des chiots de la portée.

### 1.2.3 *Mortalité des chiots*

Tous les mort-nés sont répertoriés et notés sur la fiche de la portée. Par ailleurs, toutes les portées sont observées chaque jour, depuis leur naissance jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour post-partum. Lorsqu'un chiot décède, la date du décès est reportée sur sa fiche de suivi.

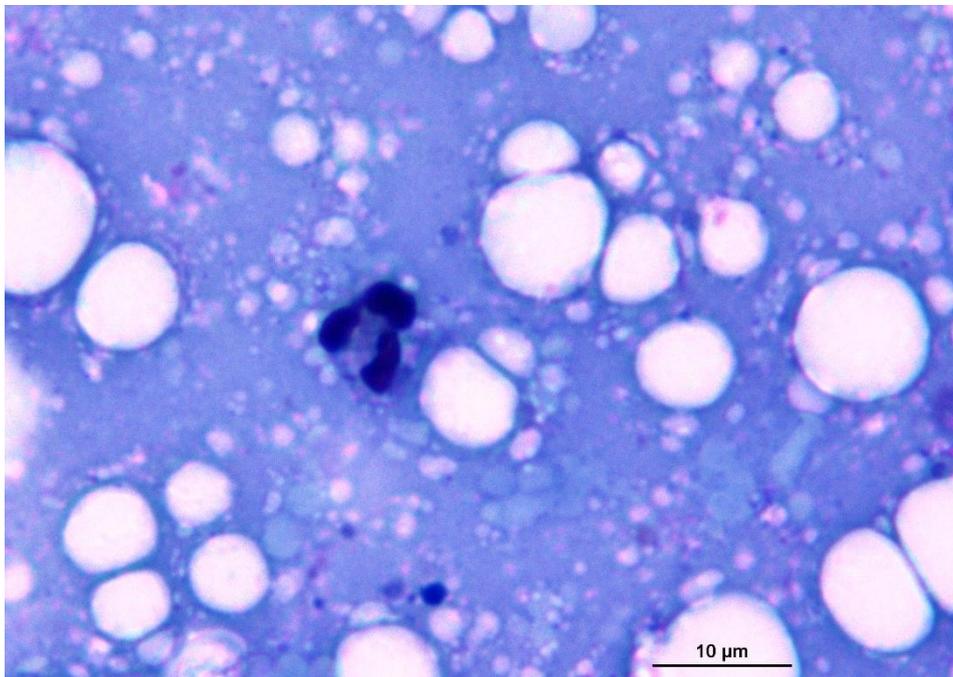
Pour chaque décès, hormis la mortinatalité, une autopsie est réalisée et les conclusions sont notées sur la fiche de suivi du chiot concerné.

### 1.3 Comptage des neutrophiles

Les lames ont toutes été colorées au May-Grünwald-Giemsa® (MGG) par un automate de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse (modèle Aerospray®, Wescor, Kitvia, Labarthe Inard, France) puis montées.

Chaque lame est regardée au microscope optique. Un balayage complet de la lame est réalisé à faible grossissement (X100) afin d'avoir un premier aperçu de l'hétérogénéité de l'étalement et par conséquent mettre en évidence d'éventuels amas cellulaires. L'observation est ensuite effectuée à l'immersion, au grossissement X1000 ; le condenseur du microscope est placé le plus haut possible et le diaphragme ouvert au maximum. Les neutrophiles sont dénombrés sur 20 champs différents, entièrement colorés, répartis sur l'ensemble de la lame.

Les neutrophiles sont caractérisés par un noyau multilobé (Figure 3). La coloration est plutôt bleutée, cependant sur certaines lames ils apparaissent avec une coloration plus rosée.



**Figure 3 : Neutrophile sur un frottis de lait non centrifugé au grossissement X 1000 (34M4G)**

### 1.4 Statistiques

Les médianes sont indiquées sous la forme médiane  $\pm$  interquartile rate ([premier quartile ; troisième quartile]).

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Tanagra® Freeware (Tanagra 1.4.50, Lyon, France).

Le test de Shapiro-Wilk a été utilisé pour évaluer la normalité des résultats. Le comptage des neutrophiles ne suit pas une distribution normale. Les analyses univariées concernant cette variable ont alors été analysées avec les tests du Chi<sup>2</sup> et de Kruskal-Wallis. La corrélation entre

deux variables continues (entre le comptage neutrophilique avant et après centrifugation par exemple) a été évaluée avec le test de Spearman.

Le gain moyen quotidien (GMQ) suit une distribution normale. L'analyse univariée a dans ce cas été réalisée par le t-test.

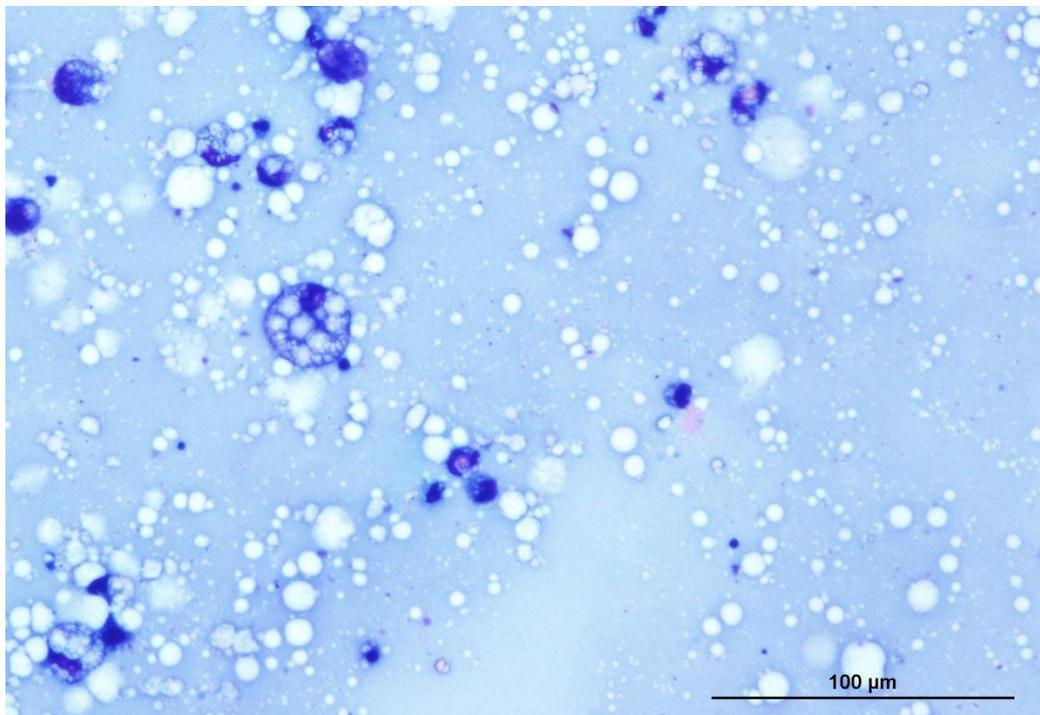
## 2. Résultats

### 2.1 Etude de la méthode de préparation des frottis

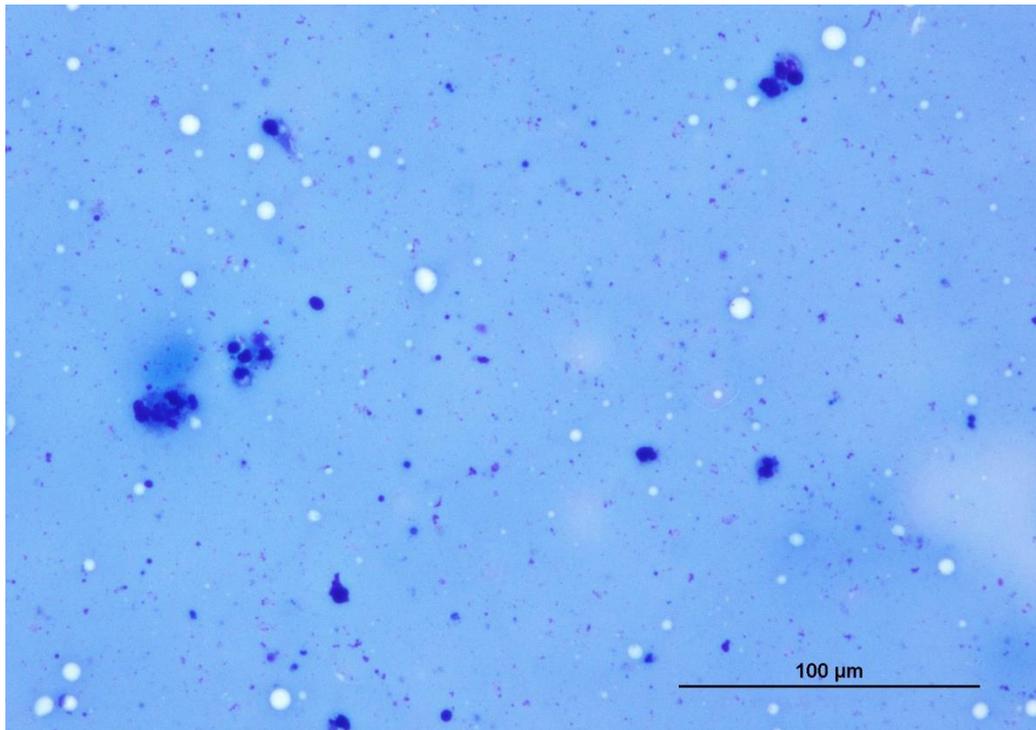
Nous avons constaté après étalement et coloration du lait des premières chiennes, que des globules lipidiques sont présents en grand nombre et occupent une part importante de la lame. Nous avons alors choisi de centrifuger les prélèvements pour séparer les principaux composants du lait et ainsi ne recueillir que la fraction contenant les cellules. Afin d'évaluer l'intérêt de la centrifugation, nous avons réalisé deux types d'étalement. Le premier étalement correspond à du lait total, alors que le deuxième provient uniquement du culot obtenu après centrifugation.

#### 2.1.1 Influence de la centrifugation

L'intérêt de la centrifugation a été évalué sur 31 chiennes et un total de 256 mamelles. Les Figure 4 et 5 sont des photos du frottis de lait de la même chienne avant et après centrifugation. Les globules lipidiques (vacuoles optiquement vides) sont en nombre nettement inférieur après centrifugation.



**Figure 4 : Frottis de lait non centrifugé (lait total) de la chienne 32, mamelle M2G (grossissement X 200)**



*Figure 5 : Frottis de lait centrifugé de la chienne 32, mamelle M2G (grossissement X 200)*

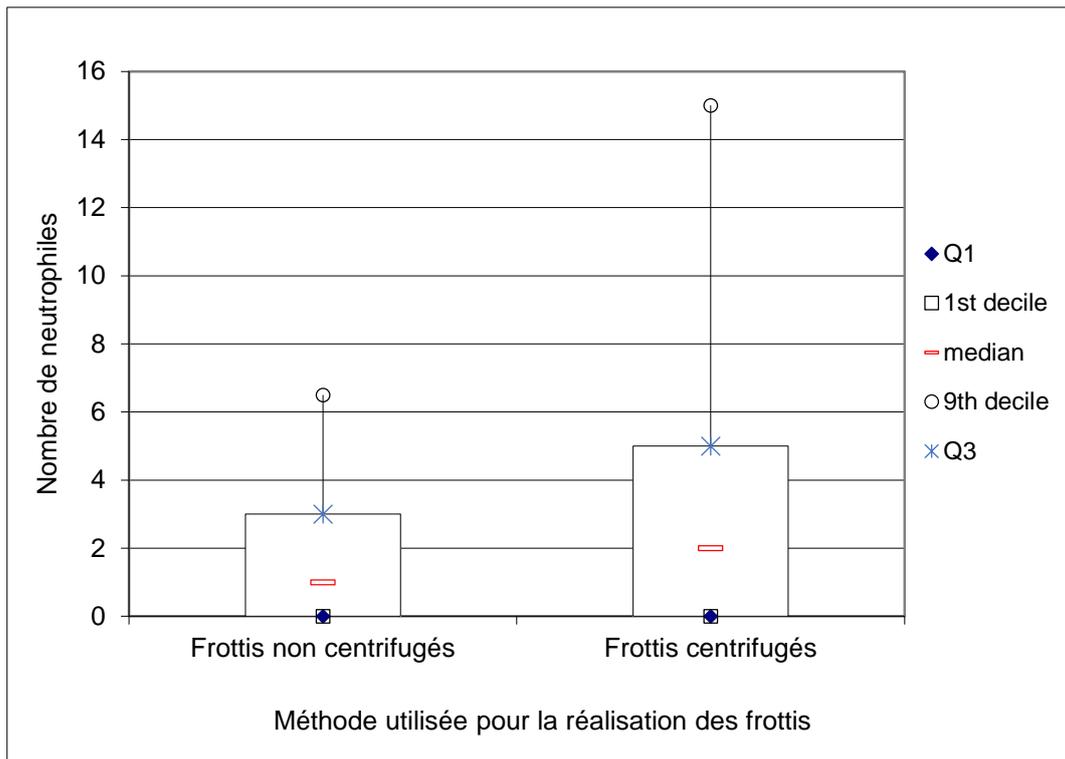
Sur le lait total, la médiane du nombre de neutrophiles (NN) est de  $1 \pm [0 ; 3]$  neutrophiles pour 20 champs. Le minimum est de 0 et la valeur maximale de 30.

Les mêmes prélèvements sont ensuite centrifugés et le comptage est effectué sur les lames obtenues après étalement du culot. Dans ce cas, la médiane est de  $2 \pm [0 ; 5]$  neutrophiles pour 20 champs, avec un minimum de 0 et un maximum de 51 (Figure 6).

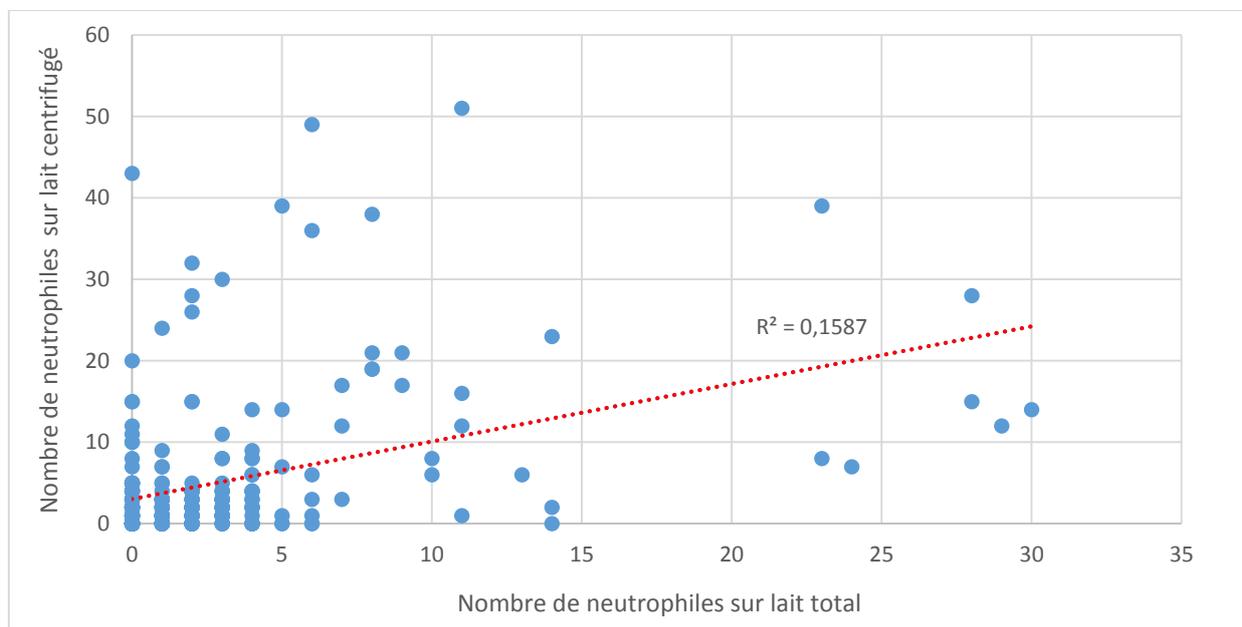
Le coefficient de variation (CV) a été calculé pour chaque mamelle entre la valeur obtenue avec et la valeur obtenue sans centrifugation. Le CV global, à savoir la moyenne des CV, est de 76%. Par conséquent, le NN varie fortement entre les lames centrifugées et les lames non centrifugées. Le CV a également été calculé pour les frottis non centrifugés d'une part et pour les frottis centrifugés d'autre part. Pour les frottis non centrifugés le CV vaut 170% et 172% pour les frottis centrifugés.

Pour chaque prélèvement de lait, nous avons calculé la différence entre le nombre de neutrophiles comptés sur les lames obtenues après centrifugation du lait et celles issues du même lait avant la centrifugation. La médiane de cette différence est de  $0 \pm [-1 ; 3]$  avec une variation de -17 à + 43 neutrophiles. 45,7% (117 sur 256) des frottis centrifugés ont un nombre plus élevé de neutrophiles que les frottis non centrifugés. Le NN est identique avec et sans centrifugation sur 23,4% (60 sur 256) des frottis. 30,9% (79 sur 256) des frottis ont un NN plus élevé sur lait total que sur lait centrifugé.

Les comptages des granulocytes neutrophiliques par les deux méthodes sont corrélés ( $p < 0,001$ ), mais la corrélation est très faible ( $R = 0,39$ , Figure 7).



**Figure 6 : Répartition du nombre de neutrophiles (NN) sur les frottis non centrifugés et centrifugés (N = 256)**



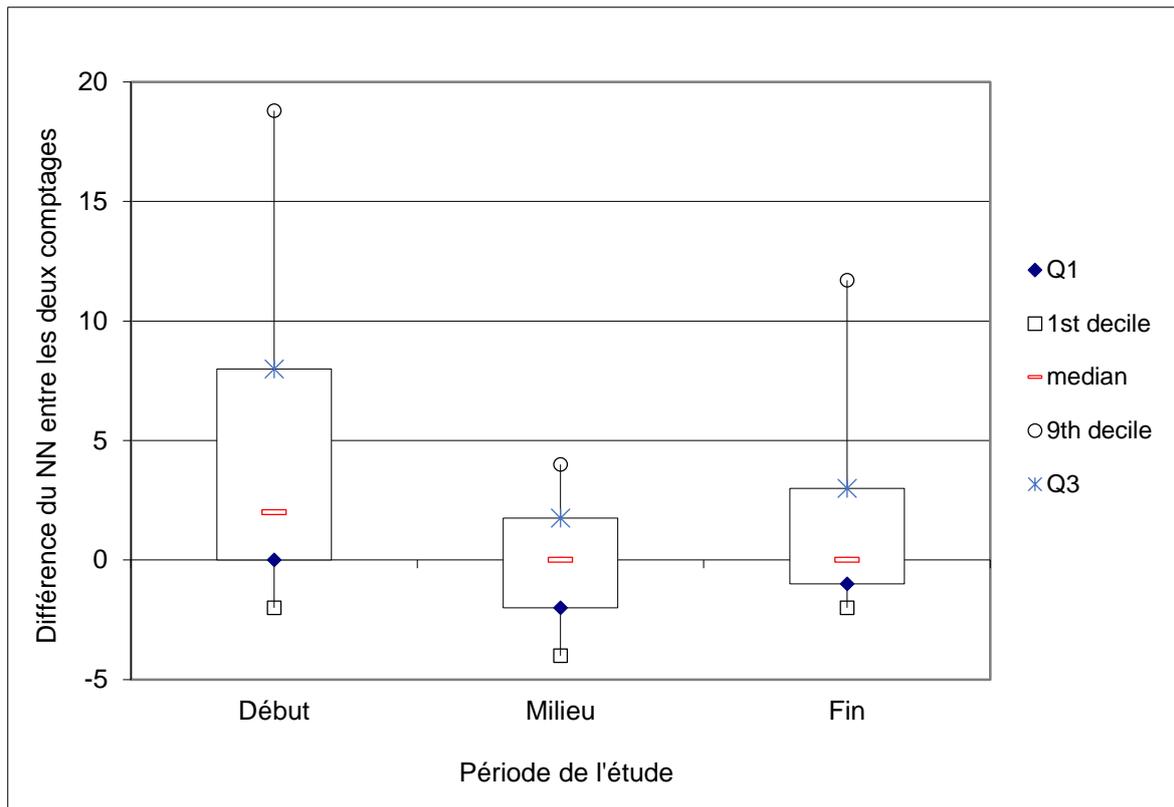
$n = 256 ; R = 0,39 ; p < 0,001$

**Figure 7 : Corrélation entre le nombre de neutrophiles (NN) comptés sur lait après centrifugation et sur lait total**

### 2.1.2 Influence de la préparation des frottis

Durant toute la période de l'étude, plusieurs personnes se sont relayées. Ainsi, les frottis n'ont pas tous été réalisés par les mêmes personnes. En séparant les données suivant les trois périodes principales où le changement d'équipe a été le plus important, nous remarquons que la différence entre le NN compté sur lait avant et après centrifugation varie (Figure 8).

La variation observée entre chaque période est significative ( $p < 0,01$ ) d'après le test de Kruskal-Wallis.



**Figure 8 : Répartition de la différence entre les deux comptages (NN sur lait centrifugé – NN sur lait total) en fonction de la période de l'étude**

### 2.2 Inflammation mammaire

L'inflammation mammaire et ses conséquences ont été étudiées sur frottis de lait total.

Les frottis de lait ont été réalisés sur 50 chiennes. Toutes les mamelles des chiennes ne produisent pas toujours du lait. Finalement, les frottis de lait ont pu être réalisés sur un total de 422 mamelles, soit 8,4 mamelles en moyenne par chienne. Les mamelles M1 produisent moins souvent du lait que les autres mamelles. En effet, sur les 50 chiennes étudiées, nous avons pu récupérer suffisamment de lait sur la première mamelle, aussi bien droite que gauche, pour seulement une trentaine de chiennes, alors que pour les mamelles suivantes, nous avons eu du lait sur au moins 43 chiennes quel que soit la mamelle (Tableau 5).

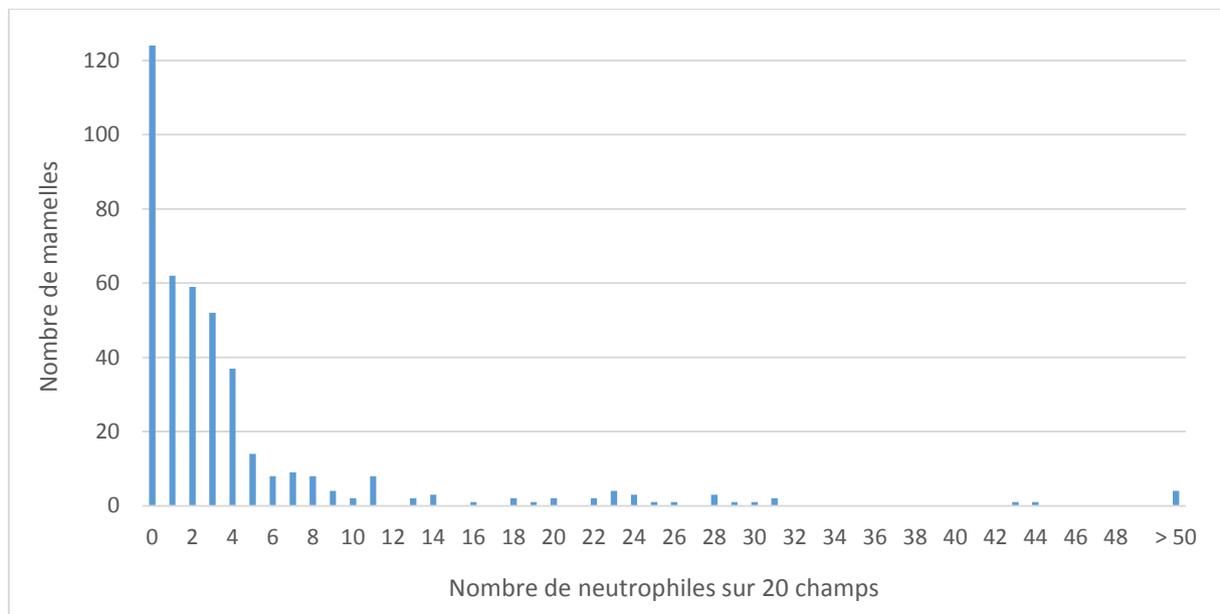
**Tableau 5 : Répartition des mamelles productrices de lait (pour 50 chiennes étudiées)**

	<b>Droite</b>	<b>Gauche</b>	<b>Total</b>
<b>M1</b>	31	33	64
<b>M2</b>	44	47	91
<b>M3</b>	43	48	91
<b>M4</b>	46	44	90
<b>M5</b>	43	43	86
<b>Total</b>	207	215	422

### 2.2.1 Niveau inflammatoire des mamelles

La médiane du NN par mamelle est de  $2 \pm [0 ; 4]$ . Le nombre minimum de neutrophiles comptés sur 20 champs est de 0, au maximum, nous en avons dénombré 261.

29,4% des mamelles produisent du lait sans neutrophile, et pour 79,1% d'entre elles le NN est inférieur à 5 neutrophiles sur 20 champs (Figure 9).



**Figure 9 : Distribution du nombre de neutrophiles comptés sur les frottis de lait (N = 422)**

La première mamelle droite a la médiane la plus faible avec  $1 \pm [0 ; 2,5]$  neutrophiles pour 20 champs. La médiane la plus élevée est celle de la dernière mamelle à gauche avec  $3 \pm [0,5 ; 6]$  neutrophiles pour 20 champs (Figure 10).

Le NN ne varie pas significativement entre les différentes mamelles ( $p=0,31$ ), d'après le test de Kruskal-Wallis.

Pour chaque chienne, nous avons additionné le NN compté pour les deux mamelles de chaque paire, que nous avons ensuite divisé par deux, de sorte à avoir la moyenne du NN pour chaque paire de mamelle de chaque chienne. Quelle que soit la paire de mamelle considérée, la

médiane est comprise entre 2 et 2,5 neutrophiles en moyenne par paire avec un premier quartile variant entre 0,5 et 1 ; le troisième quartile est compris entre 3,5 et 4,75 (Figure 11).

Le NN ne varie pas significativement entre chaque paire de mamelle ( $p=0,73$ ), d'après le test de Kruskal-Wallis.

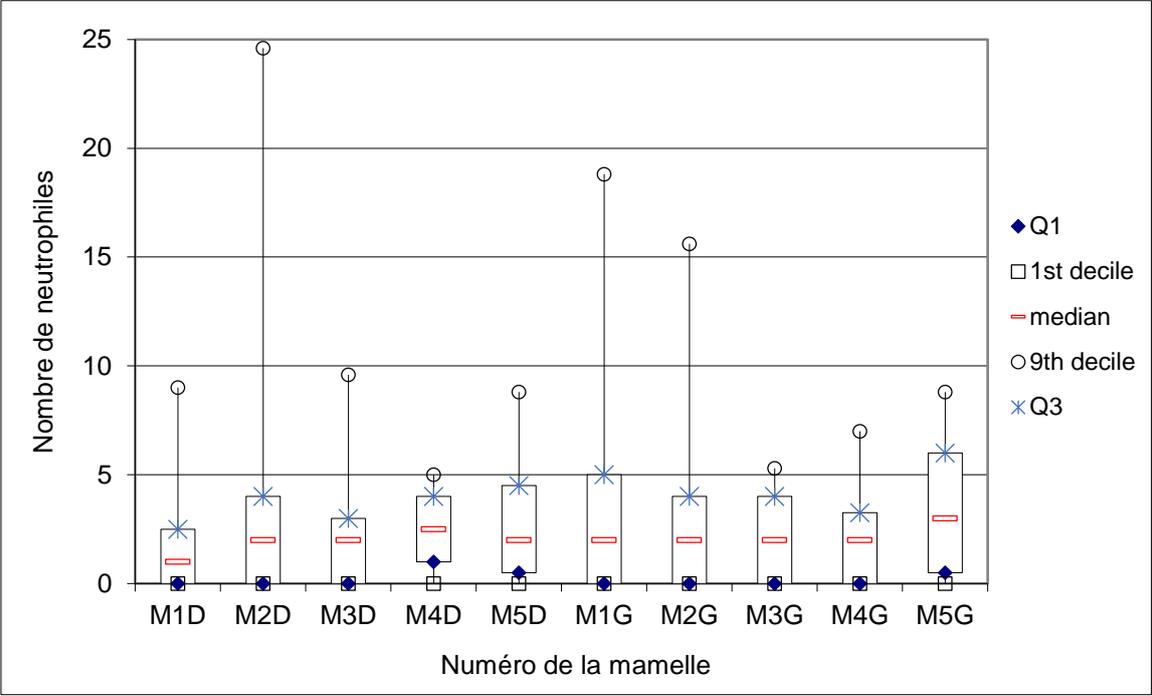


Figure 10 : Nombre de neutrophiles en fonction de la mamelle

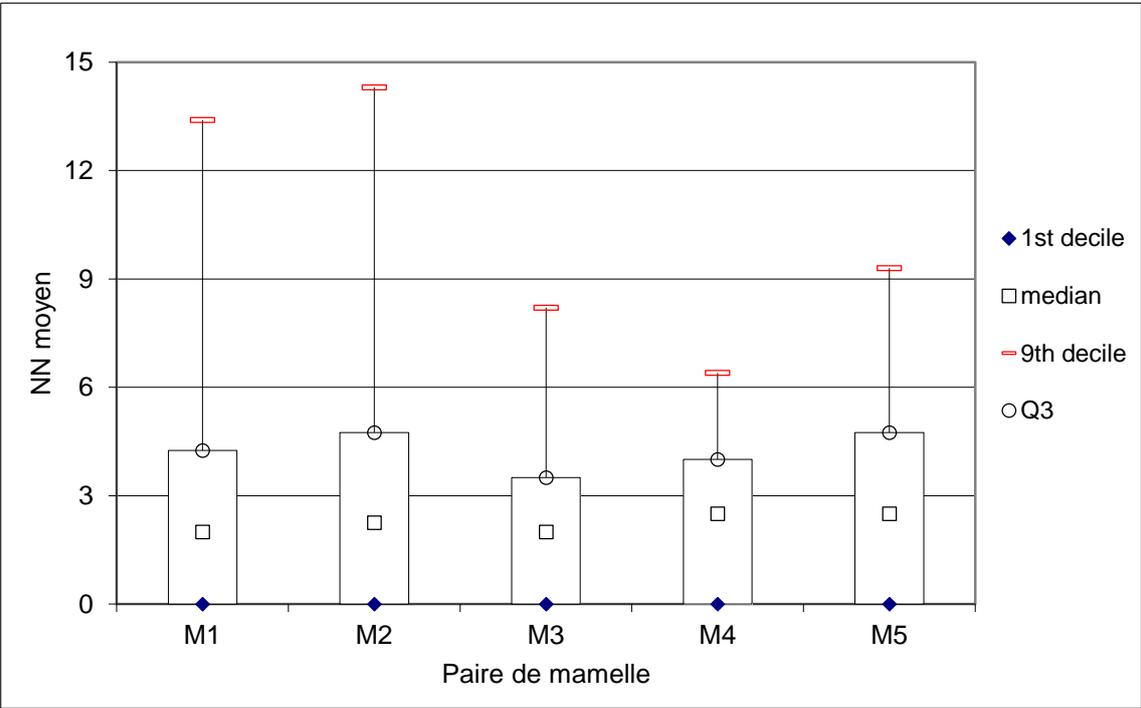
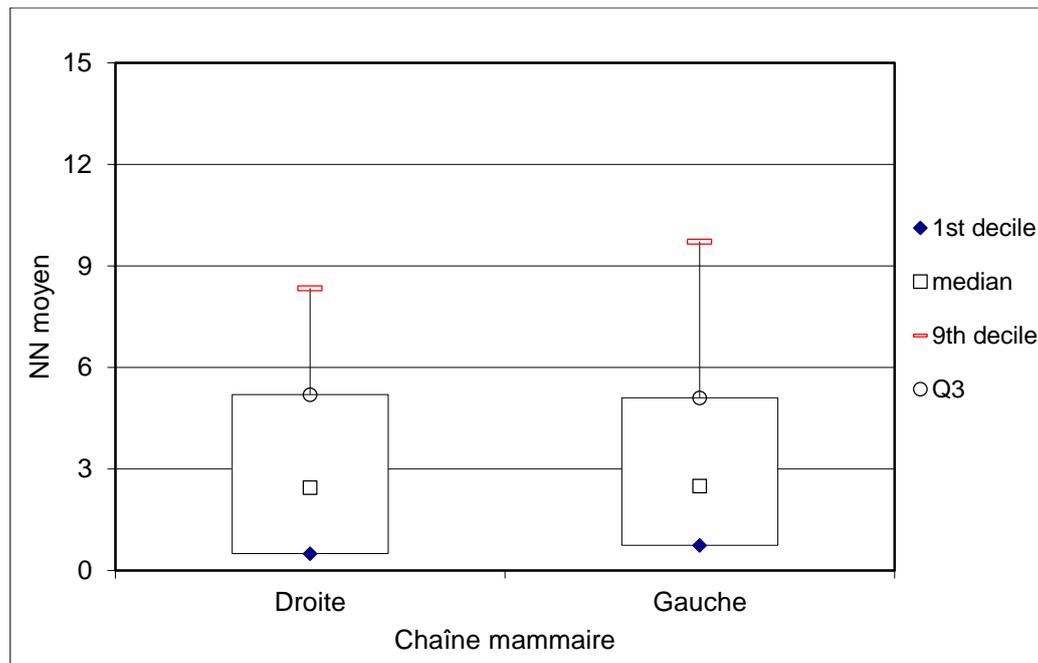


Figure 11 : Nombre de neutrophiles (NN) moyen par paire de mamelle

Pour chaque chienne nous avons ensuite calculé la moyenne du NN pour chaque chaîne mammaire. La médiane est de  $2,45 \pm [1,3 ; 5,2]$  pour la chaîne mammaire droite et de  $2,5 \pm [1,6 ; 5,1]$  pour la chaîne gauche. La moyenne minimale est de 0 aussi bien du côté droit que du gauche et la moyenne maximale concerne la chaîne mammaire droite avec 92,2 neutrophiles contre 50,6 neutrophiles au maximum pour la chaîne gauche (Figure 12).

La différence entre les deux chaînes mammaires n'est pas significative d'après le test de Kruskal-Wallis ( $p=0,7$ ).



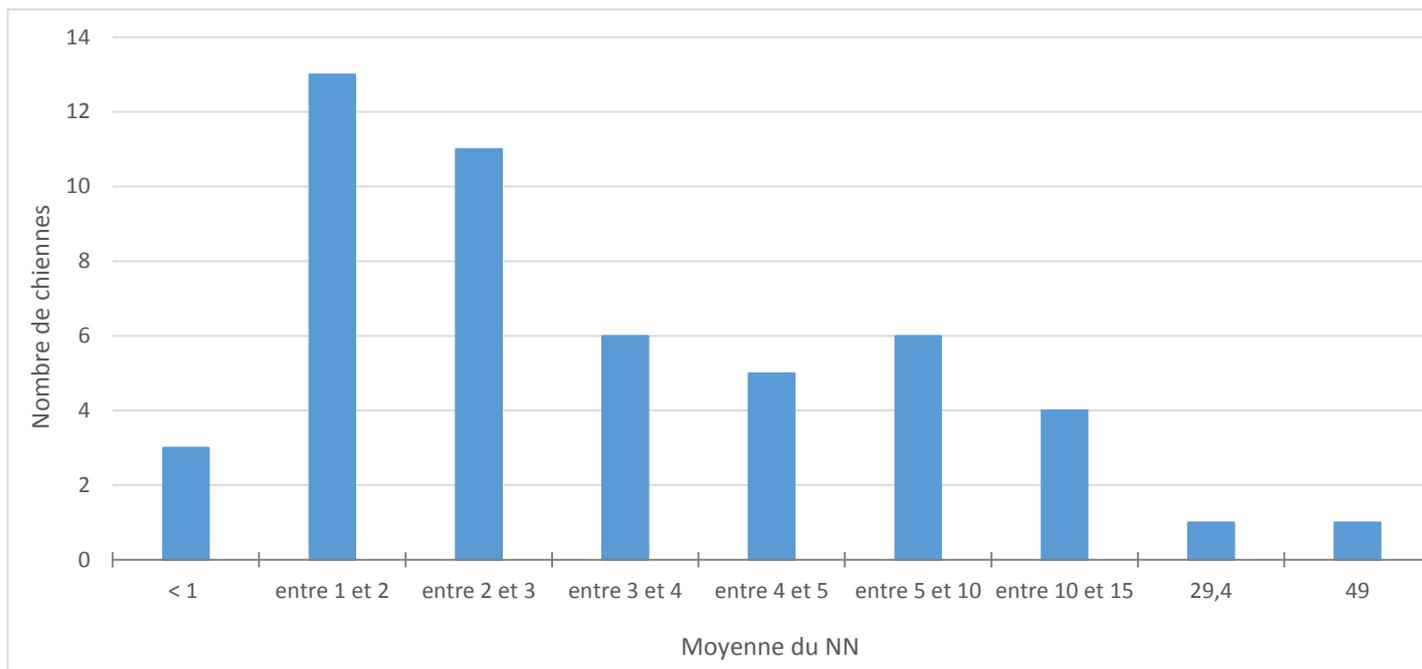
**Figure 12 : Nombre de neutrophiles (NN) moyen par chaîne mammaire**

### 2.2.2 Niveau inflammatoire moyen par chienne

Pour chaque chienne, nous avons additionné le NN obtenu pour chaque mamelle ; nous avons ensuite divisé cette somme par le nombre total de mamelles productrices. Ainsi nous avons obtenu la moyenne du NN pour chaque chienne.

Pour chaque chienne, nous avons également reporté le nombre maximal de neutrophiles parmi toutes ses mamelles.

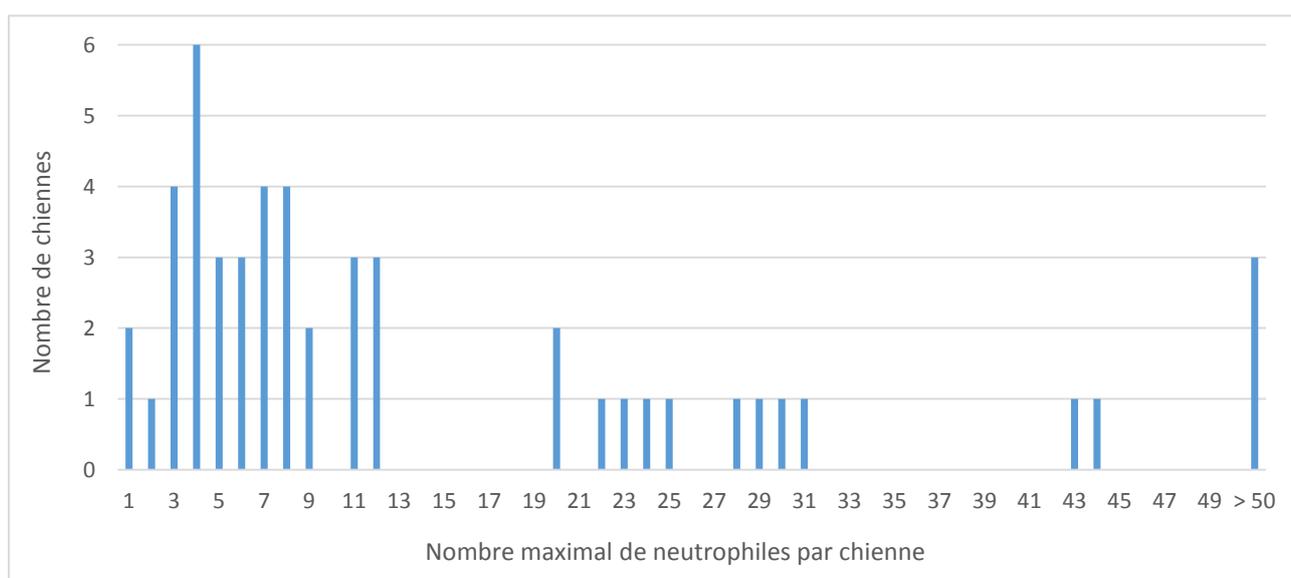
Parmi les chiennes étudiées, la médiane correspondant au nombre moyen de neutrophiles par individu est de  $2,7 \pm [1,6 ; 4,7]$  pour 20 champs. La moyenne minimale est de 0,1 neutrophiles pour 20 champs et au maximum elle est de 49. La moyenne du nombre de neutrophiles varie peu selon la chienne (Figure 13).



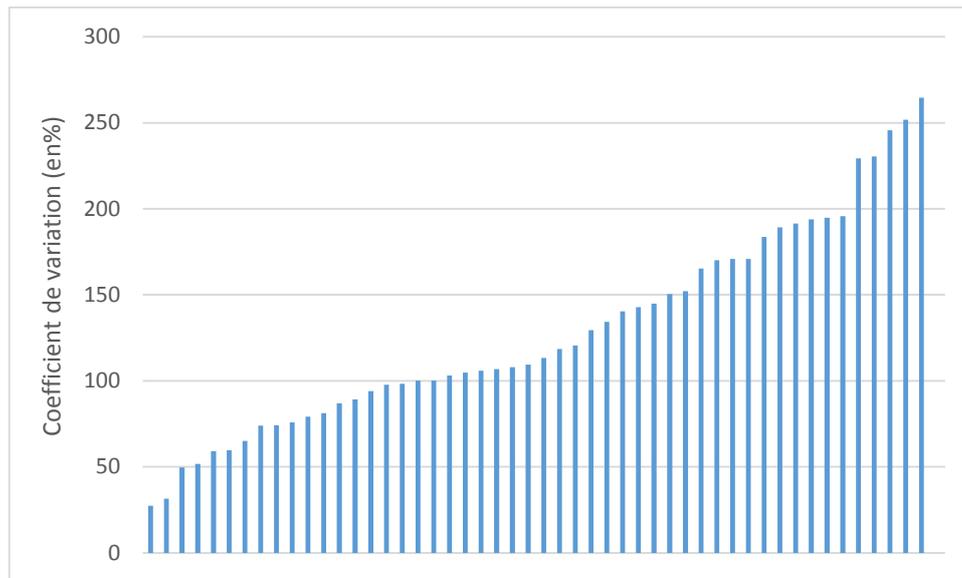
**Figure 13 : Distribution du nombre moyen de neutrophiles par chienne (N = 50)**

Le nombre maximal de neutrophiles par chienne est de  $8 \pm [4,3 ; 21,5]$  pour 20 champs. Une chienne n'avait aucun neutrophile sur les prélèvements de toutes ses mamelles, sauf pour 1 mamelle où nous avons compté seulement 1 neutrophile sur 20 champs. Le maximum de neutrophiles comptés sur 20 champs est de 261 (Figure 14).

La variabilité de l'inflammation entre les mamelles d'une même chienne est évaluée à partir du calcul du coefficient de variation (CV) pour chaque chienne. La médiane du CV par chienne est de  $111\% \pm [88 ; 171]$  avec un minimum de 27% et un maximum de 265% (Figure 15).



**Figure 14 : Distribution du nombre maximal de neutrophiles par chienne (N = 50)**



**Figure 15 : Coefficient de variation du NN entre les mamelles par chienne (N = 50)**

### 2.3 Inflammation pathologique (mammite)

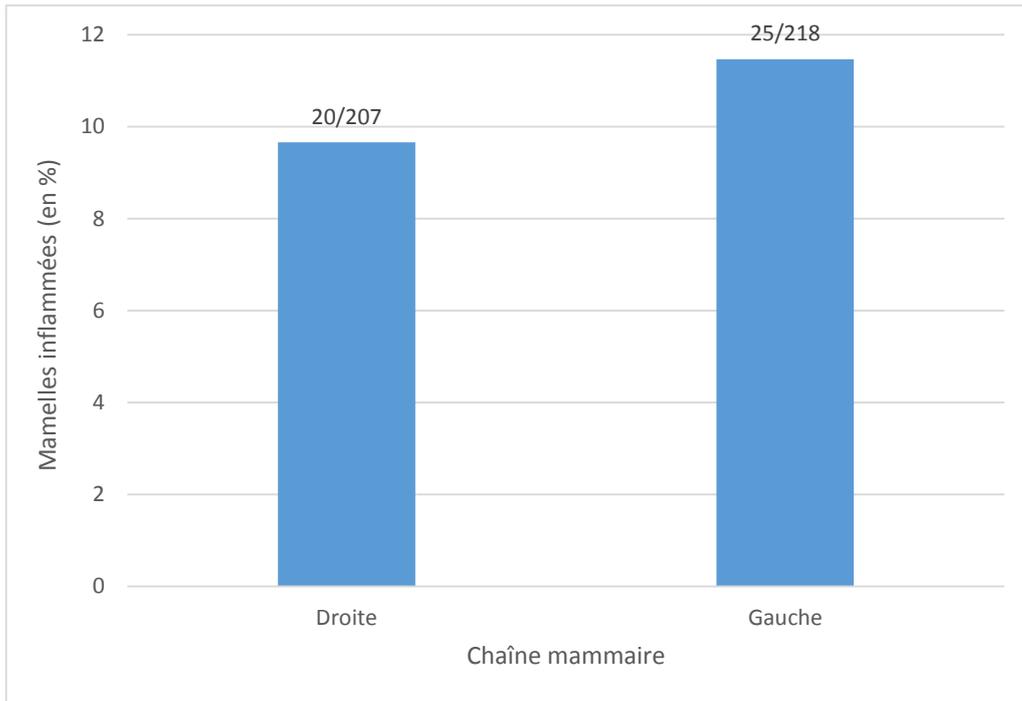
Dans la littérature vétérinaire, aucune donnée ne nous indique le nombre de neutrophiles limite à partir duquel le tissu mammaire est inflammé de façon pathologique. Par conséquent, nous avons fixé le seuil limite à la valeur du 9<sup>ème</sup> décile, de façon à ce que 10% des mamelles soient considérées comme inflammées. Ainsi, le 9<sup>ème</sup> quartile étant de 10,9 neutrophiles pour 20 champs, nous considèrerons que la mamelle est inflammée au-delà de 10 neutrophiles pour 20 champs.

#### 2.3.1 Localisation des mamelles inflammées

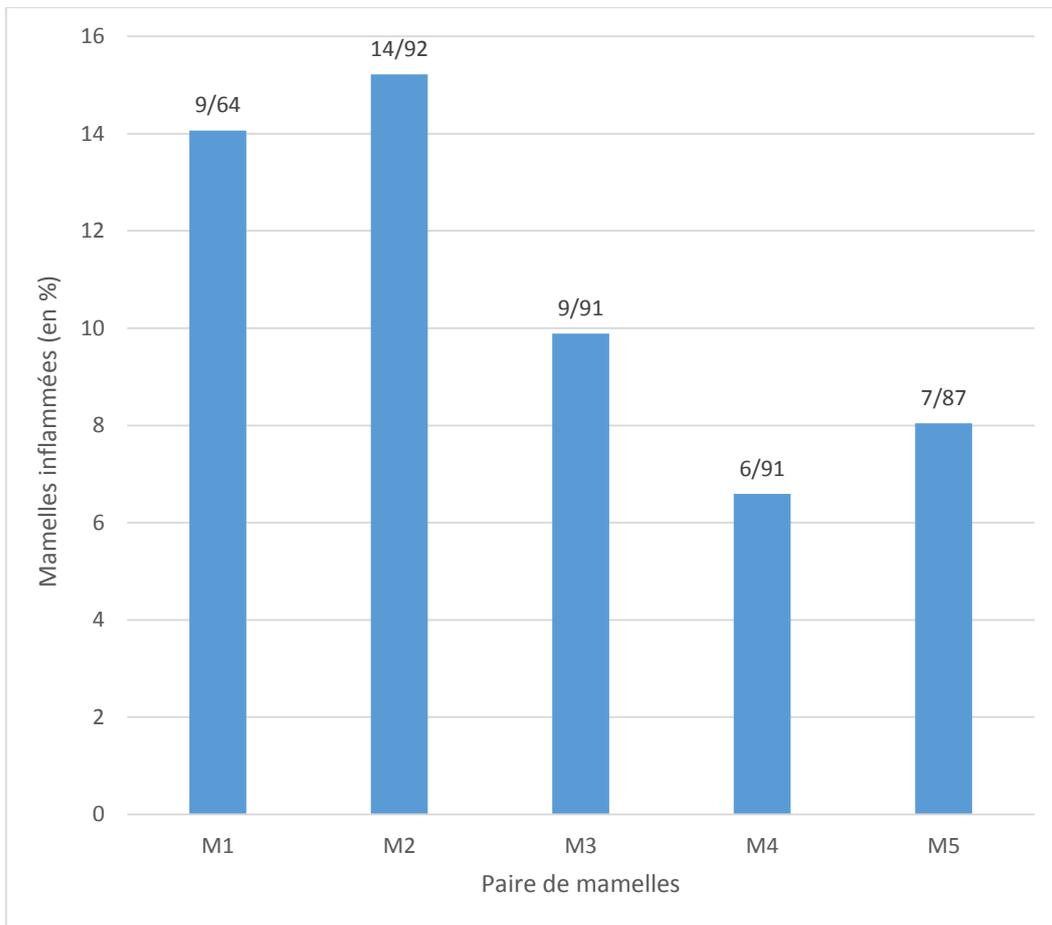
Sur les 422 mamelles produisant du lait, 45 mamelles sont considérées comme inflammées.

11,5% des mamelles gauches sont inflammées contre 9,7% des mamelles droites. Les paires M1 et M2 sont inflammées dans plus de 14% des cas, alors que les paires M3, M4 et M5 sont inflammées chez moins d'une chienne sur dix. Les mamelles M2 sont inflammées dans plus de 14% des cas, aussi bien à droite qu'à gauche. Dans notre étude, la mamelle la plus souvent inflammée est la première mamelle gauche (M1G) ; elle est dans un état inflammatoire pour plus de 18% des chiennes (Figure 16 à 18).

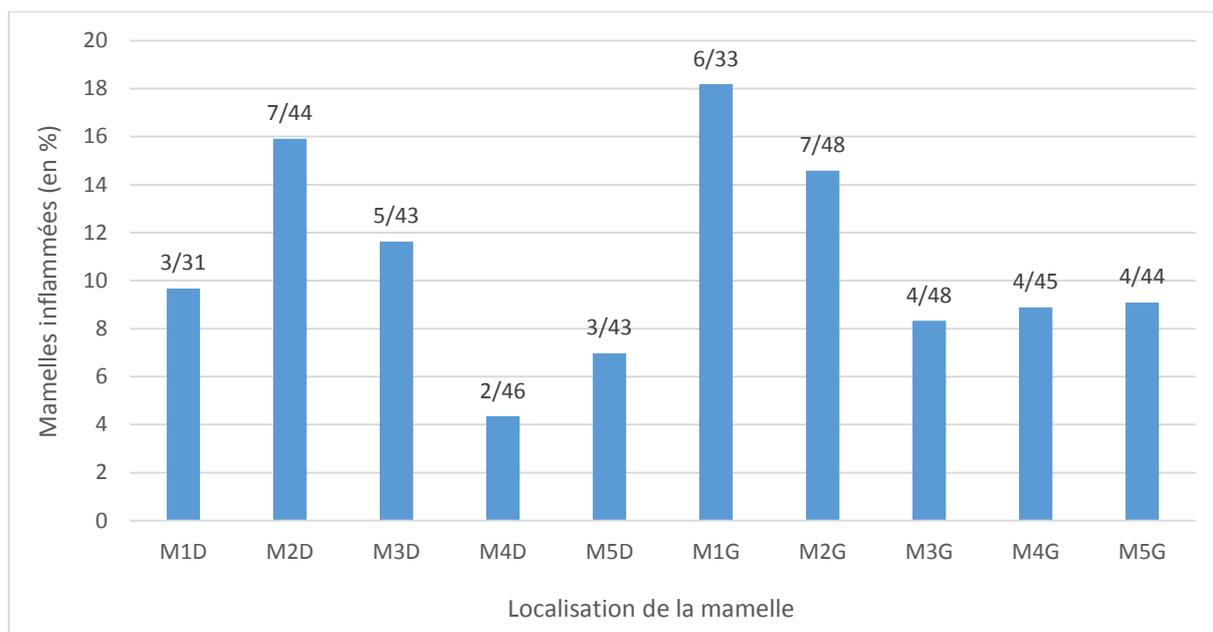
Aucune différence significative n'a été mise en évidence d'après le test de Kruskal-Wallis ni entre la chaîne mammaire droite et gauche ( $p=0,7$ ), ni en fonction de la paire de mamelle ( $p=0,7$ ), ni entre les numéros de mamelle ( $p = 0,3$ ).



**Figure 16 : Répartition de l'inflammation suivant la chaîne mammaire**



**Figure 17 : Répartition de l'inflammation suivant la paire de mamelle**



**Figure 18 : Répartition de l'inflammation suivant le numéro de la mamelle**

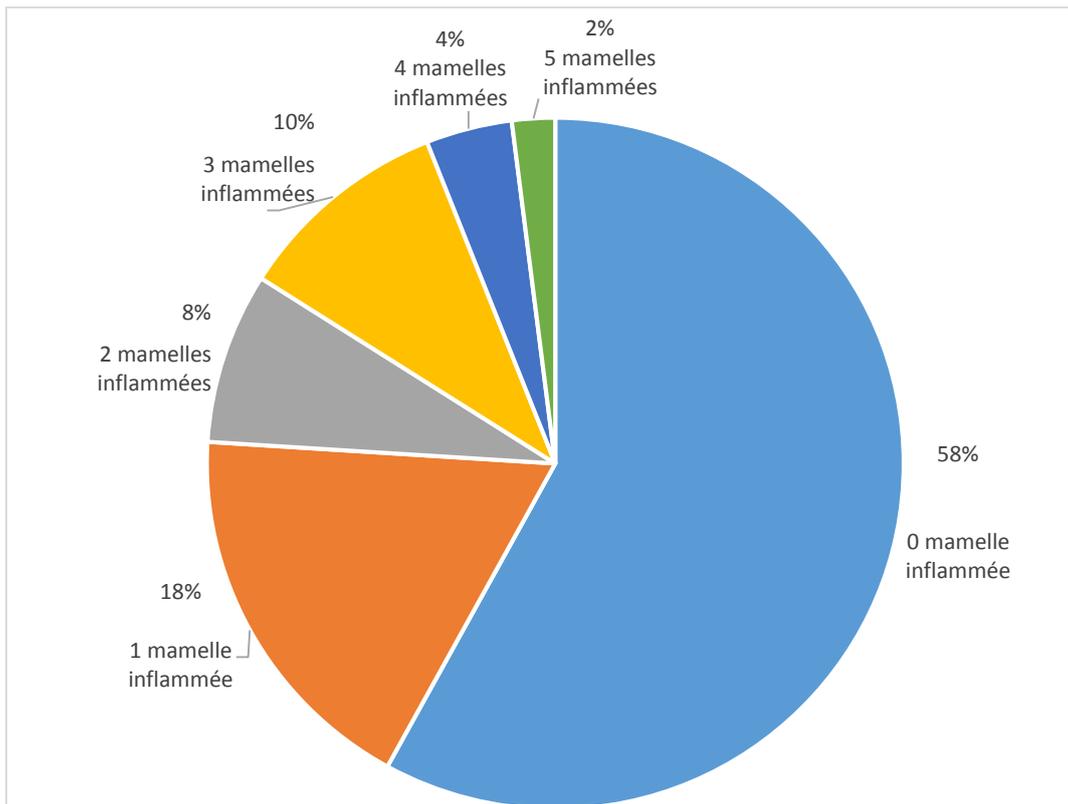
### 2.3.2 Inflammation mammaire suivant la chienne

Parmi les 50 chiennes de l'étude, 6 ont une moyenne de neutrophiles supérieure au seuil inflammatoire de 10 neutrophiles pour 20 champs, soit 12% des chiennes.

58% des chiennes n'ont aucune mamelle inflammée. Moins d'une chienne sur quatre a plus de deux mamelles inflammées (Figure 19).

Une chienne a 5 mamelles inflammées, ce qui est le maximum dans notre étude. Or cette chienne possède 10 mamelles productrices. Ainsi, 50% de ses mamelles sont inflammées. Une deuxième chienne a également 50% de ses mamelles inflammées ; parmi ses 8 mamelles productrices, 4 ont au moins 10 neutrophiles sur 20 champs. Aucune chienne n'a plus de 50% de ses mamelles productrices de lait inflammées. La médiane du pourcentage de mamelles inflammées par chienne est de 0% ± [0 ; 18,6].

4 chiennes ont 2 mamelles inflammées. Pour ces chiennes, l'inflammation n'atteint jamais des mamelles adjacentes. En revanche, pour les chiennes ayant au moins 3 mamelles inflammées (8 chiennes), l'inflammation concerne au moins deux mamelles adjacentes pour 3 chiennes sur 4 ; une mamelle appartenant à une chaîne, l'autre étant sur la chaîne controlatérale, à la même position.



**Figure 19 : Répartition des chiennes en fonction du nombre de mamelles inflammées (N = 50 chiennes)**

## 2.4 Mortalité des chiots

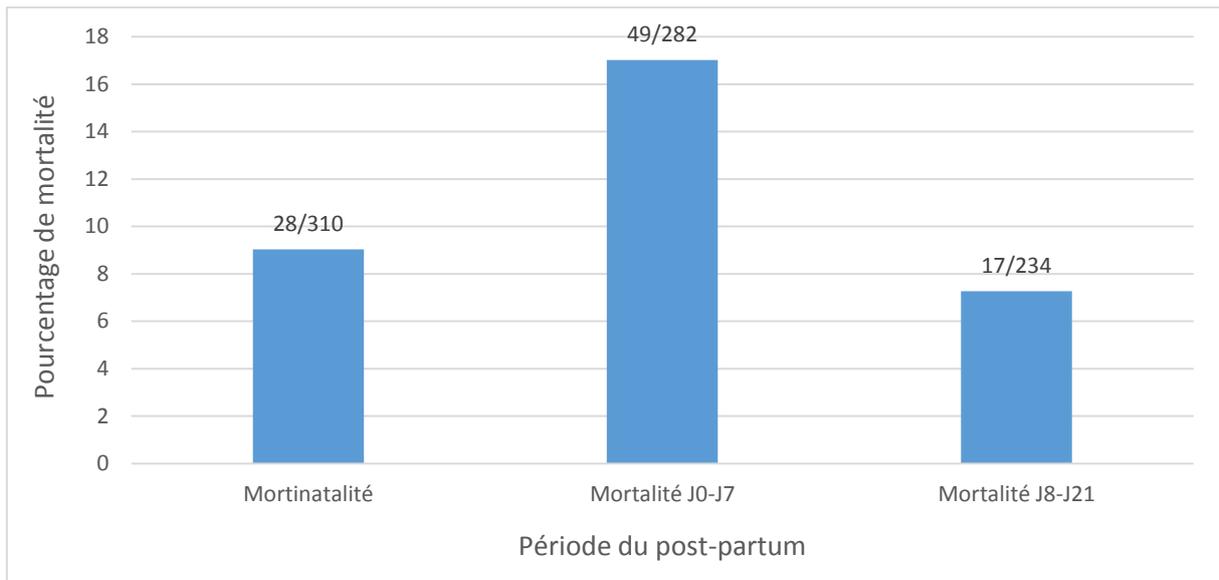
### 2.4.1 Description des résultats

Les 50 portées incluses dans l'étude représentaient 310 chiots nés. 93 décès ont été recensés avant le 21<sup>ème</sup> jour post-partum (J21 inclus), soit 30% des chiots. Parmi eux, 28 étaient mort-nés, ce qui représente une mortinatalité de 9,0%.

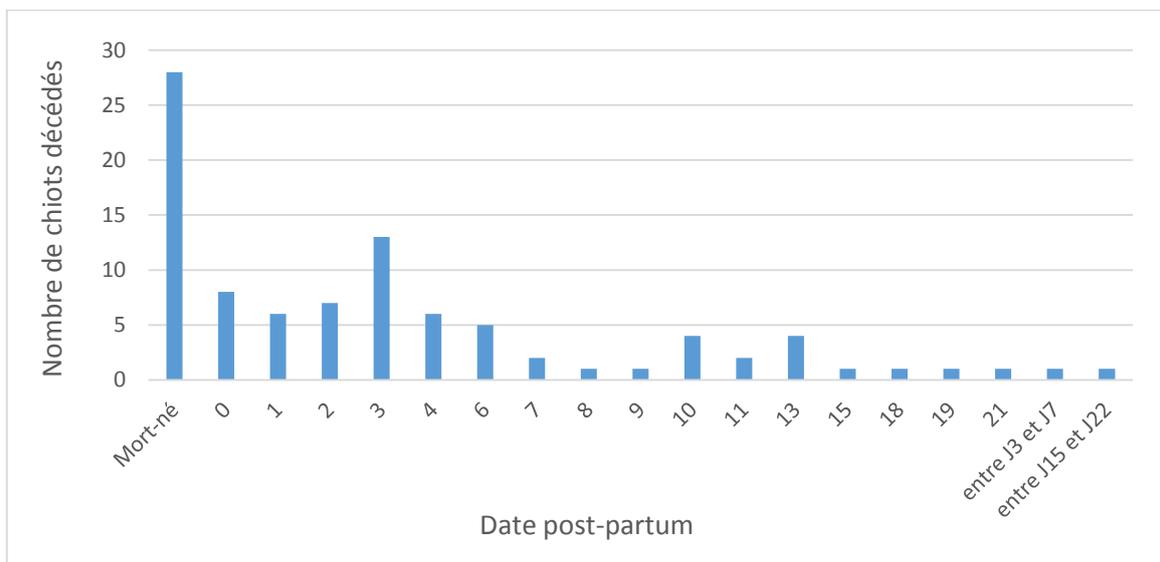
La mortalité néonatale précoce, à savoir le pourcentage de chiots nés vivants qui sont morts entre le jour de la naissance et le 7<sup>ème</sup> jour post-partum, est de 17,4 %. La mortalité néonatale tardive (chiots morts entre le 8<sup>ème</sup> et le 21<sup>ème</sup> jour post-partum) est de 7,3% (Figure 20). Ainsi, 81,9% de la mortalité jusqu'à la troisième semaine de vie se produisent à la naissance ou durant la première semaine de vie.

21 chiots sont décédés entre le jour de la naissance et le 2<sup>ème</sup> jour post-partum, ce qui représente 7,4% des chiots nés vivants.

Au 3<sup>ème</sup> jour post-partum, 261 chiots sont vivants. Parmi eux, 27 sont décédés avant le 8<sup>ème</sup> jour post-partum, soit 10,3% des chiots vivants au 3<sup>ème</sup> jour post-partum (Figure 21).



**Figure 20 : Taux de mortalité selon la période (N = 310 chiots nés dans 50 portées)**



**Figure 21 : Distribution de la mortalité en fonction de l'âge du chiot (N = 93 chiots)**

## 2.4.2 Influence de l'inflammation mammaire sur la mortalité néonatale

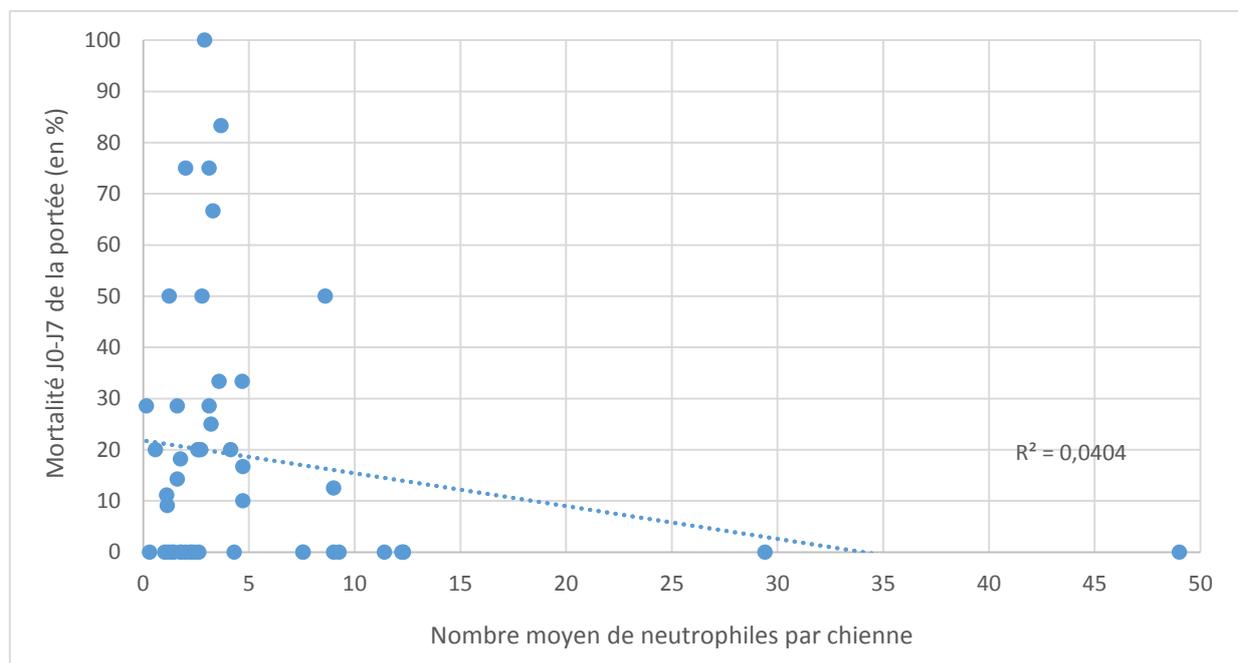
### 2.4.2.1. Mortalité entre le 3<sup>ème</sup> et le 7<sup>ème</sup> jour post-partum

Nous avons étudié les répercussions de l'inflammation mammaire sur la mortalité néonatale. Pour cela, nous avons classé les portées en deux catégories, d'une part les portées issues d'une mère avec au moins 1 mamelle inflammée, d'autre part les portées dont la mère n'a aucune mamelle inflammée. Pour chaque catégorie, nous avons ensuite distingué les portées dont au moins un chiot est mort entre J3 et J7, des portées sans aucun cas de mortalité entre J3 et J7.

La présence d'au moins une mamelle inflammée chez la mère tend à augmenter le risque qu'un chiot meure dans la portée entre J3 et J7 ( $p=0,059$ ). En effet, sur les 21 chiennes ayant au moins une mamelle inflammée, 13 ont eu au moins un chiot décédé entre le 3<sup>ème</sup> et le 7<sup>ème</sup> jour post-partum soit 61,9% des chiennes. Sur les 29 chiennes n'ayant aucune mamelle inflammée, seules 9 ont eu au moins un décès pour la même période néonatale, soit 31% des chiennes.

Nous avons également étudié la relation entre le nombre moyen de neutrophiles par chienne et le pourcentage de mortalité dans leur portée entre la naissance et J7.

Le pourcentage de mortalité entre la naissance et J7 n'est pas corrélé avec la moyenne du NN par chienne ( $p = 0,6$  ; Figure 22).



$$n = 50 ; R = -0,078 ; p = 0,59$$

**Figure 22 : Corrélation entre le nombre moyen de neutrophiles par chienne et le pourcentage de mortalité dans leur portée entre la naissance et J7**

#### 2.4.2.2. Mortalité entre la naissance et le 2<sup>ème</sup> jour post-partum

Nous étudions le lien entre la mortalité de la naissance au 2<sup>ème</sup> jour post-partum et l'inflammation mammaire au 3<sup>ème</sup> jour post-partum. Comme précédemment, nous distinguons les portées dont la mère n'a aucune mamelle inflammée des autres portées. Pour la mortalité, nous considérons d'une part les portées avec au moins un chiot mort entre la naissance et J2, d'autre part les portées sans mortalité entre la naissance et J2.

Le pourcentage de portées ayant subi de la mortalité entre la naissance et le 2<sup>ème</sup> jour post-partum est de 31% (9 portées sur 29) pour les mères n'ayant pas de mamelle inflammée. Parmi les portées issues d'une mère avec au moins une mamelle inflammée, 4 sur 21 ont au moins un chiot mort entre la naissance et J2, soit 19% des portées. Le test du Chi<sup>2</sup> donne une p-value de 0,5 ; la différence n'est donc pas significative.

## 2.5 Gain moyen quotidien (GMQ)

### 2.5.1 GMQ de J0 à J7

#### 2.5.1.1. Description des résultats

Le GMQ entre la naissance et le 7<sup>ème</sup> jour post-partum a été mesuré sur 47 portées. En effet, dans cette étude une portée a présenté 100% de mortalité avant le 7<sup>ème</sup> jour post-partum. Par ailleurs, deux mères ont mis-bas durant la dernière semaine où nous réalisons l'étude. Nous n'avons donc pas pu peser les chiots de ces deux portées au 7<sup>ème</sup> jour post-partum.

Les chiennes étudiées n'étant pas toutes de la même race, nous avons calculé le GMQ en pourcentage du poids de naissance (%GMQ).

Entre J0 et J7, le %GMQ moyen par portée est de 47,1% ± [25,5 ; 66,9]. Le minimum est de -18,3%. Au maximum, le GMQ moyen est de 115,3% pour la portée.

Quand nous étudions les résultats par chiot, donc indépendamment de la mère, nous obtenons des résultats similaires. La médiane est de 49,6% ± [26,7 ; 68,6], le minimum de -28,8% et le maximum de 123,7% (Figure 23).

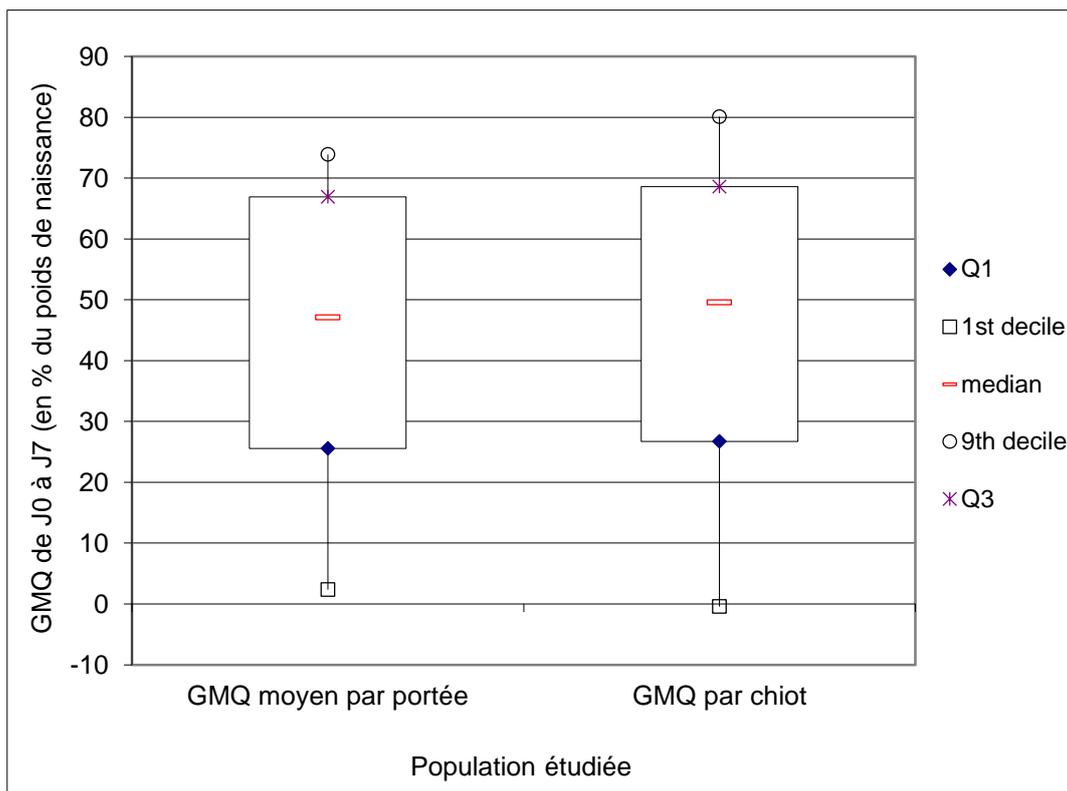


Figure 23 : GMQ de J0 à J7 en pourcentage du poids de naissance (47 portées ; 228 chiots)

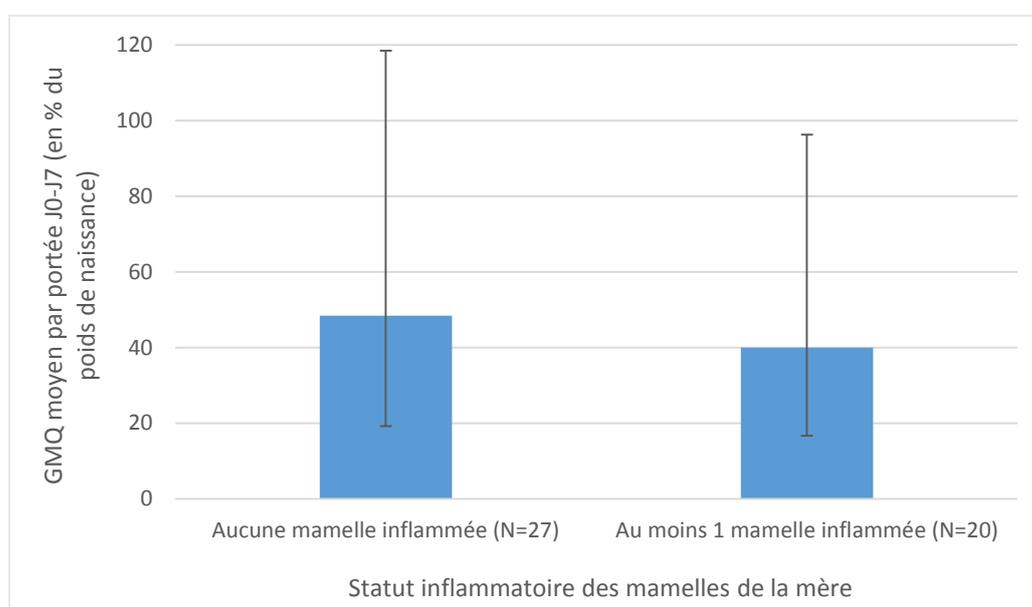
### 2.5.1.2. Influence de l'inflammation mammaire sur le GMQ pendant la première semaine de vie

Nous avons classé les portées en deux catégories : d'une part celles issues d'une mère n'ayant aucune mamelle inflammée et d'autre part les portées dont la mère a au moins une mamelle inflammée.

Le %GMQ moyen de J0 à J7 dans les portées ayant une mère avec aucune mamelle inflammée est de  $48,4\% \pm [29,2 ; 70,1]$ . Le minimum est de  $-18,3\%$  et le maximum atteint  $115,4\%$ .

Pour les portées issues d'une mère avec au moins une mamelle inflammée, le GMQ moyen pour la même période est de  $40,0\% \pm [23,3 ; 56,3]$ . Le minimum est de  $-8,3\%$  et le maximum de  $99,9\%$  (Figure 24).

Le t-test donne une p-value de 0,4 ; la différence observée entre les deux groupes de portées n'est donc pas significative.



**Figure 24 : GMQ moyen en pourcentage du poids de naissance, entre J0 et J7, suivant l'inflammation mammaire de la mère (47 portées; 228 chiots)**

### 2.5.2 GMQ pathologique de J0 à J2

#### 2.5.2.1. Description des résultats

L'étude de Mila et al (2015) montre que les chiots présentant un GMQ inférieur à  $-4\%$  entre la naissance et le 2<sup>ème</sup> jour post-partum ont un risque de mort plus élevé avant 21 jours de vie. Nous avons étudié si le fait d'avoir au moins un chiot avec un GMQ pathologique, autrement dit inférieur à  $-4\%$  avait un lien avec l'inflammation mammaire au 3<sup>ème</sup> jour post-partum.

Parmi les 282 chiots vivants à la naissance, 34 ont un GMQ inférieur à  $-4\%$  entre la naissance et le 2<sup>ème</sup> jour post-partum, soit  $12,1\%$  des chiots. 16 portées ont au moins un chiot avec un GMQ pathologique entre J0 et J2, soit  $32\%$ . Dans une portée, 4 chiots sont atteints, sur les 8 chiots de la portée.

#### 2.5.2.2. Inflammation mammaire et GMQ pathologique de J0 à J2

Dans notre étude, 42,9% des chiennes ayant au moins une mamelle inflammée (21 chiennes) ont au minimum un chiot avec un GMQ pathologique, alors que seulement 24,1% des chiennes n'ayant pas d'inflammation mammaire (29 chiennes) ont au moins un chiot avec un GMQ<4%.

Cependant, cette différence n'est pas significative d'après le test du Chi<sup>2</sup> (p-value = 0,27).

## Troisième partie : Discussion

L'objectif de cette étude est de tester une méthode simple et efficace pour mettre en évidence les mammites subcliniques chez la chienne et évaluer les répercussions de cette inflammation mammaire sur la mortalité et le GMQ néonataux. La littérature vétérinaire étant très restreinte sur ce sujet, il nous a fallu choisir comment réaliser cette méthode.

### 1. Limites de l'étude

#### 1.1 La population

L'étude a été menée uniquement sur des chiennes provenant d'un même élevage, donc soumises aux mêmes conditions environnementales. Or les germes responsables de mammites chez la chienne sont majoritairement d'origine environnementale (Fontaine et al 2007). Il n'est par conséquent pas possible d'extrapoler les résultats de notre étude concernant la prévalence des mammites chez les chiennes en post-partum à l'ensemble des chiennes en post-partum.

Chez les bovins, le nombre de leucocytes dans le lait est affecté par l'âge de la femelle et le nombre de lactations (Plastridge 1958, Harmon 1994). En outre, plusieurs autres facteurs agissent sur la quantité de cellules dans leur lait, comme la saison : une augmentation du nombre de cellules dans le lait est en effet rapportée en été. Le stress est également associé à une augmentation du nombre de cellules dans le lait. Des variations nyctémérales et des variations d'un jour sur l'autre sont aussi présentes sur un même individu, entre les différentes mamelles (Dohoo et Meek 1982). Cependant, chez les vaches ayant des mamelles non infectées, le stade de lactation, l'âge, la saison et les facteurs de stress influencent peu le nombre total de cellules dans le lait. Par conséquent, hormis les variations nyctémérales, peu de facteurs autres que l'infection modifient de façon significative la quantité de cellules dans le lait (Harmon 1994). Chez la chienne, aucune étude n'a été réalisée pour évaluer quels facteurs engendrent une variation de la quantité de cellules dans le lait. Il serait donc intéressant de mener une telle étude pour déterminer pour quels facteurs la variation est significative. Ceci nous permettrait d'évaluer en quelle proportion notre étude est biaisée par ces facteurs de variation. En effet, nous n'avons par exemple pas tenu compte de la parité des chiennes. De même, la taille de la portée n'a pas été prise en compte dans notre étude. Les prélèvements n'étaient pas non plus réalisés à la même heure suivant la chienne.

#### 1.2 Les prélèvements

Il a été prouvé chez les bovins que le nombre de cellules dans le lait varie en fonction de la période du post-partum avec notamment une forte augmentation de leur nombre après le vêlage, pendant 5 à 15 jours (Dohoo et Meek 1982). La proportion de chaque type de leucocytes varie elle aussi au cours de la lactation avec notamment une diminution du pourcentage de lymphocytes et une augmentation du pourcentage de neutrophiles au cours du temps (Figure 25).

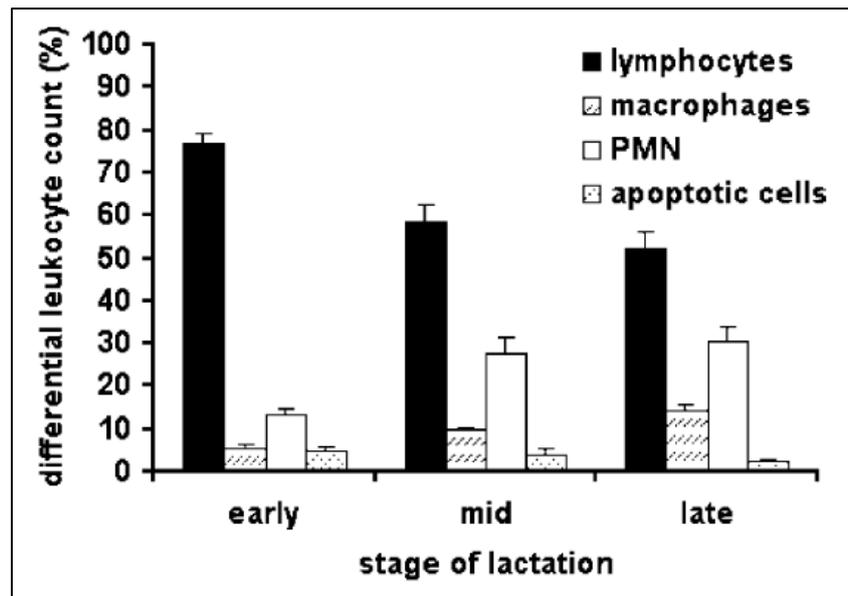


Figure 25 : Proportion des leucocytes en fonction du stade de lactation chez la vache (Dosogne et al 2003)

Néanmoins, nous avons prélevé le lait seulement au 3<sup>ème</sup> jour post-partum donc à la fin de la phase colostrale. En effet, le colostrum étant richement cellulaire, la définition d'une mammites sur la seule base du nombre de cellules inflammatoires aurait été difficile.

En outre, chez la chienne le nombre total de cellules varie fortement d'un individu à l'autre, mais lors de mammites leur nombre subit toujours une augmentation (Ververidis et al 2007, Sangha et al 2011). Il faudrait alors réaliser une étude préliminaire chez la chienne pour connaître la cinétique des leucocytes dans le lait en post-partum. Pour cela, il faudrait comparer la quantité de neutrophiles, voire même la proportion de chaque type de leucocytes, chez une même chienne sur des prélèvements de lait réalisés à différents jours de lactation. Cela nous permettrait également d'obtenir des valeurs de référence chez la chienne. Ensuite, nous pourrions tenter de mettre en évidence une période critique pour les chiennes, autrement dit une période du post-partum pendant laquelle le nombre de mammites subcliniques est plus fréquent, ce qui permettrait aux éleveurs de savoir à quel moment il faut nécessairement réaliser des prélèvements pour détecter la majorité des mammites subcliniques. Dans notre étude, nous avons restreint les prélèvements au 3<sup>ème</sup> jour post-partum pour évaluer les répercussions des mammites subcliniques sur la croissance et la survie des chiots. En effet, la croissance précoce influe sur la survie des chiots.

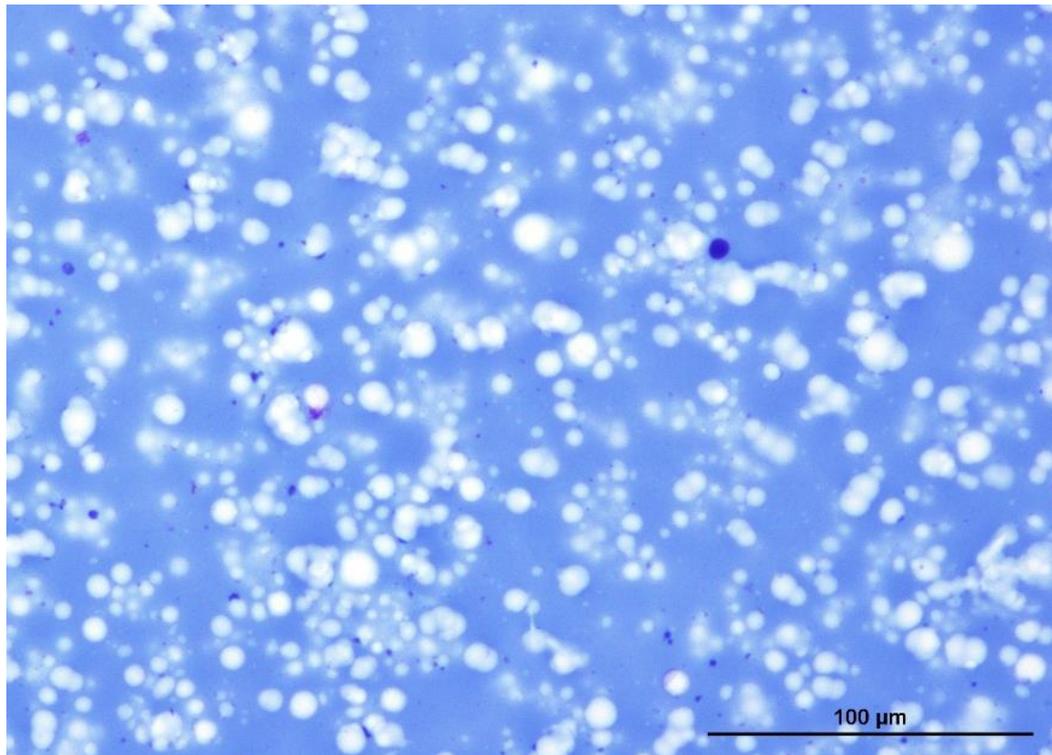
### 1.3 Les frottis de lait

La coloration des lames n'a pas eu lieu le même jour pour toutes les lames. En effet, un envoi des lames était effectué chaque semaine ; la coloration était donc réalisée au fur et à mesure. Si nous attendions plus de 15 jours pour la réaliser, nous risquions de perdre des informations, l'étalement ne restant stable qu'après coloration. Bien qu'étant réalisée avec le même appareil, la coloration n'apparaît pas de la même façon sur toutes les lames. Nous pouvons donc nous demander si cela est dû au lait en lui-même ou alors au délai entre l'étalement et la coloration. En effet, certaines lames ont un fond plus bleu, tandis que d'autres ont une trame plus rosée. Par conséquent, les neutrophiles n'étaient pas colorés de la même façon sur

toutes les lames ; la couleur pouvait induire en erreur et n'était donc pas un critère fiable à lui seul pour pouvoir identifier les neutrophiles. De plus, l'étalement sur certaines lames a été en partie altéré par des mouches (qui ont ingéré le lait étalé au cours du séchage).

#### 1.4 La centrifugation

Les résultats de cette étude montrent une faible corrélation entre le nombre de neutrophiles comptés sur les étalements de lait total et les étalements correspondants, issus de lait centrifugé. Par ailleurs, la variation est très élevée entre les comptages effectués sur les deux types d'étalements et en général (46% des frottis) le nombre le plus élevé de neutrophiles est obtenu sur les frottis provenant de lait centrifugé. Le lait de la chienne est très riche en globules lipidiques. Le taux lipidique est maximal au 2<sup>ème</sup> jour post-partum, où il atteint 5,2%, et diminue ensuite progressivement jusqu'au sevrage pour atteindre 2,7% (Bebiak et al 1987). Ainsi, la matière grasse représente 41% de la matière sèche du lait (Greco 2014). En comparaison, chez la truie ainsi que chez la vache, la matière grasse représente environ 30% de la matière sèche du lait (Hughes et Hart 1935). Par conséquent, sur un étalement après coloration au May-Grünwald-Giemsa®, de nombreuses vacuoles optiquement vides sont observables. Ces vacuoles, très nombreuses, gênent le dénombrement des neutrophiles. La centrifugation, en séparant la composante lipidique de la composante cellulaire, a pour objectif de limiter le nombre de ces globules lipidiques facilitant ainsi la lecture des lames et donc le comptage des neutrophiles. Cependant, sur certaines lames centrifugées, la quantité de globules lipidiques était très proche de celle contenue sur les lames non centrifugées (comme par exemple sur la lame de la Figure 26). Ceci peut s'expliquer par le fait que la couche lipidique soit la couche la plus superficielle après centrifugation. Par conséquent, pour accéder au culot, il faut d'abord passer cette couche lipidique. Le pertuis au sein de cette couche était réalisé avec l'embout de la pipette, il est donc possible que l'extrémité de l'embout contienne parfois un peu de lipides. De plus, en étudiant les variations entre les comptages réalisés sur les deux types de prélèvements en fonction de la période de l'étude, donc en distinguant les périodes pendant lesquelles des opérateurs différents étaient présents, nous remarquons que la différence entre le comptage réalisé sur lait centrifugé et sur lait total varie de façon significative suivant la période de l'étude et donc suivant les opérateurs. Ceci montre l'implication de la technique dans le comptage des neutrophiles, sur les étalements de lait centrifugé. Suivant les opérateurs, le culot a pu ne pas suffisamment avoir été remis en suspension avant le prélèvement, entraînant une sous-estimation du nombre de neutrophiles. Le culot a tendance en effet à se coller au plastique ; des tubes en verre auraient été préférables.



*Figure 26 : Frottis de lait après centrifugation de la chienne 30, mamelle M2G (grossissement X200)*

## 2. L'inflammation mammaire au 3<sup>ème</sup> jour post-partum

Dans notre étude, environ 10% des mamelles prélevées ont plus de 10 neutrophiles sur 20 champs. Nous avons donc fixé le seuil de l'inflammation à 10 neutrophiles sur 20 champs.

Le nombre de neutrophiles est très variable d'une chienne à l'autre et d'une glande mammaire à l'autre au sein d'une même chienne. Par conséquent, il est important de considérer chaque mamelle séparément et de s'intéresser au nombre de mamelles inflammées par chienne. En effet, en réalisant une moyenne de neutrophiles par chienne nous diluons très fortement les valeurs les plus élevées et perdons ainsi de l'information.

58% des chiennes n'ont aucune mamelle inflammée et moins d'une chienne sur quatre présente plus de deux mamelles inflammées. Aucune chienne de l'étude ne possédait une inflammation sur la totalité de ses mamelles productrices. De plus, lors d'atteinte de deux mamelles sur une même chienne, les mamelles concernées ne présentent pas de proximité. Ces résultats sont contraires à ceux obtenus par Ververidis et al (2007), qui ont montré une augmentation du nombre de leucocytes dans les mamelles adjacentes aux mamelles infectées.

Par ailleurs, aucune mamelle ou paire de mamelle ne semble plus souvent atteinte que les autres ; l'inflammation touche aussi bien les mamelles de la chaîne droite que celles de la chaîne gauche, de même les premières mamelles sont autant touchées que les mamelles les plus caudales.

Dans notre étude, nous nous sommes seulement intéressés au nombre de neutrophiles dans chaque mamelle sans considérer leur proportion par rapport aux autres cellules blanches présentes. Or comme nous l'avons vu dans la partie bibliographique, la proportion des différents leucocytes, notamment des macrophages et des neutrophiles, varie suivant le statut infectieux du lait des chiennes (Morrow 1986). Sur les frottis, nous avons observé des cellules que nous n'avons pas réussi à identifier. Or les macrophages ont un aspect variable suivant la quantité de globules lipidiques phagocytés ; leur distinction avec les cellules non identifiées n'est donc pas toujours évidente. Nous avons alors préféré nous restreindre uniquement au comptage du nombre de neutrophiles.

### 3. Mammite et composition du lait

Nous émettons l'hypothèse que la composition du lait issu de mamelles inflammées est modifiée, ce qui aurait des répercussions sur la santé du chiot, notamment en diminuant son GMQ et en augmentant ainsi le risque de décès. En effet, des études sur la composition du lait chez la vache ont révélé une modification de sa composition lors de mammite (Tableau 6). La présence d'une mammite subclinique entraîne une diminution de la quantité de matière grasse et de lactose, tandis que la quantité de sodium, de chlorures et d'acides gras libres augmente (Dohoo et Meek 1982). La diminution de la quantité de matière grasse est due à une diminution de la synthèse et de la capacité sécrétoire de la glande mammaire (Le Maréchal 2011). Par ailleurs, lors d'inflammation mammaire, le profil protéique est modifié avec une diminution des protéines du lait, comme la caséine, et une augmentation des protéines inflammatoires. Au final, la quantité de protéines totales augmente en réponse à l'inflammation et à la réponse immunitaire. Une partie des protéines inflammatoires, notamment les protéases, est produite par les cellules somatiques, une autre partie de l'augmentation protéique (les immunoglobulines) est due à une augmentation du flux sanguin et de la perméabilité lors de mammite (Ogola et al 2007). Ces changements permettent une meilleure défense de la glande mammaire contre les agents pathogènes. Par exemple, les immunoglobulines G (IgG) qui interviennent pour l'opsonisation, sont en concentration plus importante lors de mammite. L'activité protéolytique du lait est également augmentée, ce qui altère la fabrication de fromage, d'où les restrictions imposées aux éleveurs par rapport au nombre total de cellules dans le lait (Seegers et al 2003).

Il serait intéressant en comparaison, d'étudier la composition du lait des chiennes atteintes de mammite.

**Tableau 6 : Modifications de la composition du lait chez les vaches présentant une augmentation du nombre total de cellules dans leur lait (Harmon 1994)**

SNF = solids nonfat (solides non gras) ; SCC = somatic cell count (cellules somatiques)

Constituent	Normal milk	Milk with high SCC	Percentage of normal
		(%)	
SNF	8.9	8.8	99
Fat	3.5	3.2	91
Lactose	4.9	4.4	90
Total protein	3.61	3.56	99
Total casein	2.8	2.3	82
Whey protein	.8	1.3	162
Serum albumin	.02	.07	350
Lactoferrin	.02	.10	500
Immunoglobulins	.10	.60	600
Sodium	.057	.105	184
Chloride	.091	.147	161
Potassium	.173	.157	91
Calcium	.12	.04	33

#### 4. La mortalité

Lors de mammite, les chiots ingèrent des germes, ce qui peut entraîner une altération de leur état général voire aboutir à leur décès. En effet, pendant les premières semaines de vie les chiots ont un système immunitaire compétent mais naïf. Ils ne sont donc pas capables de se protéger efficacement contre les agents pathogènes. Nous pouvons donc penser que la présence d'une mammite chez la mère peut être responsable d'une augmentation de la mortalité néonatale. A l'inverse, les données chez la vache montrent une augmentation de la quantité d'immunoglobulines lors de mammite. Nous pourrions alors aussi émettre l'hypothèse que ces immunoglobulines suffisent à protéger les chiots contre les germes ingérés lors de mammite chez leur mère et que la mortalité néonatale ne soit donc pas augmentée lors de mammite.

##### 4.1 Mortalité néonatale

Dans cette étude, nous avons recensé la mortalité jusqu'à la troisième semaine d'âge. Cependant, la majorité de la mortalité rapportée a lieu à la naissance et pendant la première semaine de vie. Un pic de mortalité est présent au 3<sup>ème</sup> jour post-partum dans notre étude, donc durant la première semaine de vie. Plusieurs études ont été faites sur la mortalité périnatale chez les chiens (Tableau 7). La mortalité calculée dans notre étude correspond aux valeurs hautes de la littérature pour les différentes périodes néonatales.

**Tableau 7 : Mortalité néonatale (en %) selon les études**

(Le taux de mortalité de J0 à J7, tout comme celle de J0 à J21, est calculé par rapport au nombre de chiots vivants à la naissance)

	Mortinatalité	Mortalité J0-J7	Mortalité J0-J21
<b>Notre étude</b>	<b>9,0</b>	<b>17,4</b>	<b>23,4</b>
Indrebø et al (2007)	10,9	4,9	5,9
Tønnessen et al (2012)	4,3	3,7	
Bowden et al (1963)	7		23,9
Van der Beek et al (1999)	5,5	16,3	
Hopper et al (2004)		15	
Potkay et Bacher (1977)	6,3	8,5	
Gill (2001)	7,1	11,3	
Nielen et al (1998)	6,2	10,8	13,4
Belin (2013)	10	6,9	9,9

Cependant, la race est le principal facteur à l'origine d'une variation de la mortalité périnatale (Tønnessen et al 2012). Par exemple, la mortalité périnatale la plus élevée concerne le Dogue de Bordeaux (24,6%), suivi du Dalmatien (17,9%) et du Rhodesian Ridgeback (17%). Le Dogue de Bordeaux possède également la mortinatalité la plus élevée (14,2%), suivi du Saint-Bernard (12,3%) et du Chow Chow (12,1%). La mortalité néonatale précoce est la plus élevée pour le Rhodesian Ridgeback (11,6%), suivi du Dogue de Bordeaux (10,4%) et du Dalmatien (8,8%). Or notre étude a été menée dans un élevage multi-race, dans lequel une vingtaine de races différentes sont présentes. La mortalité obtenue dans notre étude est en partie biaisée par le facteur race. Cependant, la population étudiée était trop faible pour pouvoir établir la prévalence de la mammite et celle de la mortalité en fonction de la race. En effet, pour 2 races, 8 chiennes étaient présentes, mais pour toutes les autres races de l'étude, 4 chiennes au maximum en faisaient partie.

#### 4.2 Répercussions des mammites sur la mortalité néonatale

Les causes de mortalité néonatale sont nombreuses. 75% des décès en période néonatale précoce (première semaine de vie) sont dus à des causes non-infectieuses, probablement à des causes utérines survenues avant ou pendant la mise-bas (Potkay et Bacher 1977). Ces chiots présentent le plus souvent ce qui est nommé le "fading puppy syndrom" (syndrome de dépérissement du chiot), correspondant à une altération de l'état général de l'animal, alors qu'il est né en bon état général (Ranjan 2010).

Les maladies infectieuses, notamment bactériennes, sont la deuxième cause de mortalité néonatale (Münnich 2008). Lors d'infection bactérienne chez les chiots, les germes communément présents sont *Escherichia Coli*, *Klebsiella*, *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Proteus* ou *Enterobacter sp* (Münnich 2008). Or lors de mammite chez la chienne, les germes couramment impliqués sont identiques, hormis *Proteus*, les entérobactéries et *Klebsiella*. L'étude de Schäfer-Somi et al (2003) indique que les staphylocoques, notamment

*Staphylococcus intermedius* est rarement la cause de septicémie chez le chiot, tandis qu'il est souvent retrouvé dans les prélèvements de lait. Cette étude suggère alors que les bactéries retrouvées dans le lait soient à l'origine d'une dépression du système immunitaire permettant alors le développement de bactéries opportunistes. Par conséquent, les mammites pourraient engendrer, indirectement, une mortalité néonatale. Ceci serait cohérent avec nos résultats. En effet, dans notre étude la mortalité pendant la première semaine de vie a tendance à être corrélée à l'inflammation mammaire des mères. Les portées issues d'une mère ayant au moins une mamelle inflammée sont plus sujettes à présenter de la mortalité.

Une autre hypothèse consiste à penser que le lait produit lors d'inflammation mammaire est de moins bonne qualité nutritionnelle et/ou immunologique, ce qui de façon indirecte affaiblit les chiots en ne leur apportant pas tous les nutriments dont ils ont besoin. Ainsi, le décès des chiots serait dû à un apport nutritionnel déficient et non pas à une infection (comme détaillé dans la partie 3). De même, il serait intéressant d'étudier l'impact d'une inflammation mammaire sur la quantité de lait excrété. La diminution de la production laitière chez les vaches souffrant d'une mammite clinique reste néanmoins très modérée : entre 2% et 5% (Seegers et al 2003). De plus, lorsqu'une vache a présenté une mammite clinique, sa production de lait sera diminuée tout au long de la lactation, même après guérison de la mammite (Le Maréchal 2011). Ainsi, la mortalité dans le cas de mammite chez la chienne pourrait aussi être la conséquence d'une diminution de la production lactée.

## 5. Le Gain Moyen Quotidien (GMQ)

Peu de données existent sur le GMQ des chiots pendant la période néonatale.

Dans notre étude, nous n'avons pas étudié le GMQ en fonction du format racial. Néanmoins, pendant les deux premiers mois de vie, le GMQ relatif (rapporté au poids de naissance) est linéaire et ne varie pas suivant le format racial des chiots (Belin 2013).

### 5.1 GMQ de J3 à J7 et l'inflammation mammaire

Le tableau 6 montre les modifications de la composition du lait chez les vaches atteintes de mammite : la concentration de matière grasse et de lactose diminuent lors d'inflammation mammaire.

Cependant, nous n'avons pas mis en évidence de différence significative de GMQ entre les portées dont la mère a au moins une mamelle inflammée et celles ayant une mère sans inflammation mammaire. La valeur énergétique du lait ne doit alors pas être modifiée de façon significative lors de mammite chez la chienne. Une autre hypothèse consiste à penser que les chiots ne sont pas fidèles à une seule mamelle, qu'ils têtent plusieurs mamelles ; le nombre de mamelles atteintes par chienne étant faible d'après notre étude, l'altération de la qualité nutritionnelle du lait mammitieux aurait alors une influence limitée sur la croissance des chiots. De même, aucune étude ne met en évidence une modification de l'appétence du lait lors de mammite. Nous pourrions donc penser que les chiots préfèrent le lait issu de mamelles saines, ce qui par ailleurs accentuerait l'inflammation (en augmentant la galactostase).

## 5.2 GMQ pathologique de J0 à J2

30% des chiots perdent du poids pendant les premières 24h, 20% pendant les premières 48h (Belin 2013). Cependant, les chiots présentant un GMQ inférieur à -4 % (GMQ pathologique) durant les deux premiers jours de vie ont un risque plus élevé de décéder pendant la période néonatale (Mila et al 2015). La perte de poids de ces chiots s'accompagne très probablement d'une diminution de la tétée. Or la galactostase est aussi bien un facteur aggravant qu'un facteur prédisposant des mammites chez la chienne. Ainsi, nous supposons que dans les portées où au moins un chiot présentait un GMQ qualifié de pathologique entre J0 et J2, le risque de développer une inflammation mammaire à J3 est plus élevé chez la mère, notamment du fait de la diminution de la tétée. Cependant, notre étude n'a pas montré de différence significative entre les portées ayant au moins un chiot avec un GMQ pathologique et les autres portées.

## 6. Perspectives, méthodes diagnostiques issues de l'élevage bovin

L'utilisation de frottis pour évaluer l'inflammation mammaire chez la chienne nécessite de l'expérience pour la lecture des frottis. En effet, les neutrophiles présents dans le lait ne sont pas toujours aussi facilement reconnaissables que sur les frottis sanguins. De plus, pour avoir une bonne idée de l'inflammation mammaire, nous avons vu qu'il faut étudier la proportion des différents leucocytes (Tableau 3), notamment des neutrophiles et des macrophages, ce qui complique davantage la lecture des frottis et qui augmente le temps de lecture des frottis. Par conséquent, il serait intéressant de bénéficier de méthodes complémentaires afin de confirmer la suspicion de mammite.

En bovine, la détection des mammites constitue un enjeu de taille, notamment pour des raisons économiques. Plusieurs techniques ont déjà été mises au point dans le but de détecter les mammites de façon simple et efficace. Le California Mastitis Test (CMT) dont le principe consiste à utiliser un détergent pour détruire les membranes des cellules est certes rapidement réalisable et peu cher, néanmoins son interprétation reste subjective et sa sensibilité est faible. D'autres méthodes plus fiables sont disponibles, comme un comptage cellulaire grâce au Delaval Cell Counter, qui repose sur le principe de la fluorescence optique ; mais cette méthode représente un coût à forte échelle donc peu applicable en reproduction canine. Par conséquent, la recherche de nouvelles techniques est un défi. Une électrophorèse des protéines a permis de mettre en évidence un profil protéique différent dans le lait des vaches atteintes de mammite et celui excrété par les vaches saines. En effet, certaines protéines sont surexprimées alors que d'autres voient leur régulation diminuer lors de mammite. Ces nouveaux biomarqueurs de mammite chez la vache peuvent alors être utilisés dans le but d'établir de nouvelles méthodes diagnostiques. Il existe des tests ELISA permettant de détecter des biomarqueurs de l'inflammation dans le lait des vaches pour différents stades de mammite subclinique. Cependant, ces techniques sont récentes et les études à ce sujet sont encore peu nombreuses, ce qui explique leur faible utilisation pour le moment (Viguié et al 2009).

## Conclusion

Notre étude a permis de mettre en évidence une variabilité très importante du nombre de neutrophiles présents dans le lait des chiennes au 3<sup>ème</sup> jour post-partum. Cette forte variabilité est présente dans l'ensemble de la population mais également au sein d'une même chienne, entre ses différentes mamelles. 58% des chiennes n'ont aucune mamelle inflammée. Lors d'inflammation, dans la majorité des cas seule une mamelle est atteinte.

L'inflammation mammaire altère la santé du chiot. En effet, la mortalité néonatale a tendance à être augmentée lors de mammite chez la mère. En outre, aucun lien avec la croissance des chiots n'a été établi.

Nous pouvons alors nous demander si pour la tétée les chiots ont un comportement similaire aux porcelets, à savoir être fidèle à la même mamelle pendant toute la durée de la lactation. La composition du lait est modifiée lors de mammite, il est alors envisageable de penser que ses qualités organoleptiques soient altérées aboutissant à un refus de ce lait de la part des chiots.

## Bibliographie

- BASTAN A., FMDIK M., ERUNAL N., ASIAN S., KILIÇOĞLU Ç. (1998). The use of cabergoline for treatment of pseudopregnancy in dogs with the purpose of suppressing lactation. *Reproduction in Domestic Animals*, Vol. 33, n° 2, pp. 49–53.
- BEBIAK D. M., LAWLER D. F. et REUTZEL L. F. (1987). Nutrition and management of the dog. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, Vol. 17, n° 3, pp. 505-533.
- BELIN M. (2013). *Croissance et mortalité du chiot en élevage*. Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 80p.
- BIDDLE D., MACINTIRE D. K. (2000). Obstetrical emergencies. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, Vol. 15, n° 2, pp. 88-93.
- BOWDEN R. S. T., HOGDMAN S. F. T., HIME J. M. (1963). Neo-natal mortality in dogs. *Proceedings of the 17th World Veterinary Congress*, 14-21 August 1963, Hannover, Germany, pp. 1009–1013.
- BURKE T. J. (1986). *Small animal reproduction and infertility : a clinical approach to diagnosis and treatment*. Philadelphia : Lea & Febiger, 408p., ISBN 0-8121-1042-0. SF992.U75 S63 1986
- BURVENICH C., PAAPE M.J., HILL A.W., GUIDRY A.J., MILLER R.H., HEYNEMAN R., KREMER W.D.J. et BRAND A. (1994). Role of the neutrophil leucocyte in the local and systemic reactions during experimentally induced *E.coli* mastitis in cows immediately after calving. *Veterinary Quarterly*, Vol. 16, n° 1, pp. 45-50.
- LE MARÉCHAL C., THIERY R., VAUTOR E., LE LOIR Y. (2011). Mastitis Impact on Technological Properties of Milk and Quality of Milk Products - A Review. *Dairy Science and Technology*, Vol. 91, n° 3, pp. 247-282.
- DE GRAEF E. M., DECOSTERE A., DEVRIESE L. A., HAESBROUCK F. (2004). Antibiotic resistance among fecal indicator bacteria from healthy individually owned and kennel dogs. *Microbial Drug Resistance*, Vol. 10, n° 1, pp. 65–69.
- DOHOO I. R., MEEK A. H. (1982). Somatic cell counts in bovine milk. *Canadian Veterinary Journal*, Vol. 23, n° 4, pp. 119-125.
- DOSOGNE H., VANGROENWEGHE F., MEHRZAD J., MASSART-LEEN A. M., BURVENICH C. (2003). Differential leukocyte count method for bovine low somatic cell count milk. *Journal of Dairy Science*, Vol. 86, n° 3, pp. 828–834.
- DOZSA L., PAAL S. (1950). Treatment with syntestrin of undesirable lactation occurring in pseudo-pregnancy or in the normal puerperium of the bitch. *Schweizer Archiv Für Tierheilkunde*, Vol. 92, n° 9, pp. 581-589.
- DZIECIOŁ M., STEFANIAK T., TWARDON´ J., KOZDROWSKI R. (2006). Chosen parameters of the milk and blood of bitches with healthy mammary glands and those suffering from mastitis. *Medycyna Weterynaryjna*, Vol. 62, n° 1, pp. 59-61.
- FONTAINE E., TANNEUR M.-L., JOSIEN A. (2007). Mammite gangréneuse chez la chienne reproductrice. *Point vétérinaire*, Vol. 38, n° 276, pp. 25-29.

FONTBONNE A., LÉVY X., FONTAINE E., GILSON C. (2007). *Guide pratique de reproduction clinique canine et féline*. Paris : Med'com. ISBN 978-2-35403-000-1, pp.72-73.

GILLM. A. (2001). Perinatal and late neonatal mortality in the dog. Thèse de doctorat d'université, University of Sydney, Sydney, NSW, Australie, 190p.

GRECO D. S. (2014). Pediatric Nutrition. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, Vol. 44, n° 2, pp. 265-273.

HARMON R. J. (1994). Symposium: mastitis and genetic evaluation for somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, Vol. 77, n° 7, pp. 2103–2111.

HASEGAWA T., FUJII M., FUKADA T., TSUJI C., FUJITA T., GOTO Y., SHINJO T., OGAWA H. (1993). Platelet abnormalities in a dog suffering from gangrenous mastitis by *Staphylococcus aureus* infection. *The Journal of veterinary medical science/the Japanese Society of Veterinary Science*, Vol. 55, n° 1, pp. 169–171.

HOPPER B. J., RICHARDSON J. L., LESTER N. V. (2004). Spontaneous antenatal resolution of canine hydrops fetalis diagnosed by ultrasound. *Journal of Small Animal Practice*, Vol. 45, n° 1, pp. 2–8.

HUGHES E. H., HART H.G. (1935). Production and composition of sow's milk. *Journal of Nutrition*, Vol. 9, n° 3, pp. 311–322.

INDREBØ A., TRANGERUD C., MOE L. (2007). Canine neonatal mortality in four large breeds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, Vol. 49, n° Suppl 1, pp. S2-S2.

JOHNSTON S. D., ROOT KUSTRITZ M. V., OLSON P. N. S. (2001). *Canine and Feline Theriogenology*. Philadelphia : Saunders, 592p., ISBN 978-0-7216-5607-6.

JUNG C., WEHREND A., KONIG A., BOSTEDT H. (2002). Investigations about the incidence, differentiation and microbiology of canine mastitis. *Praktische Tierarzt-Hannover-*, Vol. 83, n° 6, pp. 508–511.

KOSS L. G., MELAMED M. R. (2006). *Koss' Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases*. Fifth edition, Vol. 2, Philadelphia, PA : Lippincott Williams & Wilkins, 1752p., ISBN 978-0-7817-1928-5.

KUHN G., POHL S., HINGST V. (1991). Elevation of the bacteriological content of milk of clinically unaffected lactating bitches of a canine research stock. *Berliner Und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, Vol. 104, n° 4, pp. 130-133.

LOPATE C. (2012). *Management of pregnant and neonatal dogs, cats, and exotic pets*. Ames : Wiley-Blackwell, 323p. ISBN 978-0-8138-0793-5.

MEHRZAD J., DUCHATEAU L., BURVENICH C. (2004). Viability of milk neutrophils and severity of bovine coliform mastitis. *Journal of Dairy Science*, Vol. 87, n° 12, pp. 4150–4162.

MILA H., GRELLET A., FEUGIER A., CHASTANT-MAILLARD S. (2015). Differential impact of birth weight and early growth on neonatal mortality in puppies. *Journal of Animal Science*. Vol. 93, n° 9, pp. 4436-4442.

MILANI C., CORRÒ M., DRIGO M., ROTA A. (2012). Antimicrobial resistance in bacteria from breeding dogs housed in kennels with differing neonatal mortality and use of antibiotics. *Theriogenology*. Vol. 78, n° 6, pp. 1321-1328.

- MORROW, D. A. (1986). *Current Therapy in Theriogenology: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Reproductive Diseases in Small and Large Animals*, Vol. 2, Philadelphia : Saunders, 1143p., ISBN 978-0-7216-6580-1.
- MPHANDE A. N. G., KILLOWE C., PHALIRA S., JONES H. W., HARRISON W. J. (2007). Effects of honey and sugar dressings on wound healing. *Journal of Wound Care*, Vol. 16, n° 7, pp. 317-319.
- MÜNNICH A., LÜBKE-BECKER A. (2004). Escherichia coli infections in newborn puppies—clinical and epidemiological investigations. *Theriogenology*, Vol. 62, n° 3-4, pp. 562-575.
- MÜNNICH A. (2008). The pathological newborn in small animals: the neonate is not a small adult. *Veterinary Research Communications*, Vol. 32, n° S1, pp. 81-85.
- NELSON R. W., COUTO C. G. (2014). *Small animal internal medicine*. Fifth edition. St. Louis : Elsevier/Mosby, 1473p., ISBN: 978-0-323-08682-0.
- NIELEN A. L., VAN DER GAAG I., KNOL B. W., SCHUKKEN Y. H. (1998). Investigation of mortality and pathological changes in a 14-month birth cohort of boxer puppies. *The Veterinary Record*, Vol. 142, n° 22, pp. 602-606.
- OGOLA H., SHITANDI A., NANUA J. (2007). Effect of mastitis on raw milk compositional quality. *Journal of Veterinary Science*, Vol. 8, n° 3, pp. 237-242.
- ORFANOU D. C., VERVERIDIS H. N., BOSCO C. M., FTHENAKIS G.C. (2010). Post-partum pathological conditions in the bitch - Part I. *The European Journal of Companion Animal Practice*, Vol. 20, pp. p21-29.
- PAAPE M. J., BANNERMAN D. D., ZHAO X., LEE J.-W. (2003). The bovine neutrophil: Structure and function in blood and milk. *Veterinary Research*, Vol. 34, n° 5, pp. 597–627.
- PAAPE M., MEHRZAD J., ZHAO X., DETILLEUX J., BURVENICH C. (2002). Defense of the bovine mammary gland by polymorphonuclear neutrophil leukocytes. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, Vol. 7, n° 2, pp. 109–121.
- PLASTRIDGE W.N. (1958). Bovine mastitis, a review. *Journal of Dairy Science*, Vol. 41, Issue 9, pp. 1141-1181
- PLUMB D. C. (2011). *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. 7th Edition. Ames : Wiley-Blackwell, 1567p., ISBN 978-0-470-95964-0.
- POTKAY S., BACHER J. D. (1977). Morbidity and mortality in a closed foxhound breeding colony. *Laboratory Animal Science*, Vol. 27, n° 1, pp. 78-84.
- RANJAN A. (2010). Fading puppy syndrome : an overview. *Veterinary Practitioner*, Vol. 11, no 2, p171-173
- ROOT KUSTRITZ M. V. (2010). *Clinical canine and feline reproduction: evidence-based answers*. Ames, Iowa : Wiley-Blackwell. ISBN 978-0-8138-1584-8.
- ROTA A., CORRÒ M., DRIGO I., BORTOLAMI A., BÖRJESSON S. (2015). Isolation of coagulase-positive staphylococci from bitches' colostrum and milk and genetic typing of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* strains. *BMC veterinary research*, Vol. 11, pp. 160-166.

- SANGHA S., SINGH A., SOOD N. K., GUPTA K. (2011). Specificity and sensitivity of cytological techniques for rapid diagnosis of neoplastic and non-neoplastic lesions of canine mammary gland. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, Vol. 4, n° 1, pp. 13–22.
- SCHÄFER-SOMI S., SPERGSEER J., BREITENFELLNER J., AURICH J. E. (2003). Bacteriological status of canine milk and septicaemia in neonatal puppies—a retrospective study. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, Vol. 50, n° 7, pp. 343-346.
- SEEGERS H., FOURICHON C., BEAUDEAU F. (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Veterinary Research*, Vol. 34, n° 5, pp. 475–491.
- SEGALINI V. (2008). Les caractéristiques du lait chez le chien et le chat. *Le Point Vétérinaire*, Vol. 39, n°291, pp. 29-32.
- SMITH F. O. (1986). Postpartum diseases. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, Vol. 16, n° 3, pp. 521-524.
- SORENMO K. U., RASOTTO R., ZAPPULLI V., GOLDSCHMIDT M. H. (2011). Development, Anatomy, Histology, Lymphatic Drainage, Clinical Features, and Cell Differentiation Markers of Canine Mammary Gland Neoplasms. *Veterinary Pathology Online*, Vol. 48, n° 1, pp. 85-97.
- TØNNESSEN R., BORGE K. S., NØDTVEDT A., INDREBØ A. (2012). Canine perinatal mortality: A cohort study of 224 breeds. *Theriogenology*, Vol. 77, n° 9, pp. 1788-1801.
- TRAAS A M. (2008). Mastitis and common mammary disorders of the bitch. *Proceedings of the Canine Breeder Symposium*, 16 August 2008, Saint Louis, Missouri, pp. 16-22.
- TRASCH K., WEHREND A., BOSTEDT H. (2007). Ultrasonographic description of canine mastitis. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, Vol. 48, n° 6, pp. 580-584.
- 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. *American Journal of Veterinary Research*, Vol. 60, n° 9, pp. 1106–1110.
- VASIU I., SPÎNU M., NICULAE M., POP R. A., BALACI I., BRUDAȘCĂ F. G. (2015). Laboratory Methods Used for Early Diagnosis in Bitch Mastitis. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca*, Vol. 72, n° 1, pp. 1-8.
- VERVERIDIS H. N., MAVROGIANNI V. S., FRAGKOU I. A., ORFANOY D. C., GOUGOULIS D. A., TZIVARA A., GOULETSOU P. G., ATHANASIOU L., BOSCOY C. M., FTHENAKIS G. C. (2007). Experimental staphylococcal mastitis in bitches: clinical, bacteriological, cytological, haematological and pathological features. *Veterinary Microbiology*, Vol. 124, n° 1, pp. 95–106.
- VIGUIER C., ARORA S., GILMARTIN N., WELBECK K., O’KENNEDY R. (2009). Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends in Biotechnology*, Vol. 27, n° 8, pp. 486-493.
- WALSER K., HENSCHLICHEN O. (1983). Contribution to the etiology of acute mastitis in the bitch. *Berliner Und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, Vol. 96, n° 6, pp. 195-197.
- WILSON C. R. (2013). Feline gangrenous mastitis. *Canadian Veterinary Journal*. Vol. 54, n° 3, pp. 292-294.

## **RELATION ENTRE L'INFLAMMATION MAMMAIRE CHEZ LA CHIENNE EN POST-PARTUM ET LA SANTE DU CHIOT**

ERBACHER Anne-Laure, Sophie

### Résumé :

L'inflammation mammaire post-partum chez la chienne est une pathologie peu documentée par laquelle seules les formes cliniques sont prises en compte. Cette étude, menée sur 50 chiennes et 422 prélèvements de lait au 3<sup>ème</sup> jour du post-partum, vise à évaluer les formes subcliniques d'inflammation par comptage des neutrophiles présents sur des frottis de lait. Moins d'une chienne sur quatre possède plus de deux mamelles enflammées. Deux tiers des portées issues d'une mère ayant au moins une mamelle enflammée ont au moins un chiot décédé pendant la première semaine de vie, contre un tiers des portées issues d'une mère sans mammite. Cependant, aucun lien avec le gain moyen quotidien des chiots n'a été mis en évidence. Une meilleure connaissance du comportement de tétée des chiots permettrait de mieux évaluer les conséquences de l'inflammation mammaire sur les jeunes.

### Mots-clés :

Chienne, chiot, neutrophiles, mamelle, mammite, frottis de lait, mortalité, croissance.

## **RELATIONSHIP BETWEEN MAMMARY INFLAMMATION OF BITCHES DURING THE POSTPARTUM AND THE PUPPY'S HEALTH**

ERBACHER Anne-Laure, Sophie

### Summary :

Postpartum inflammation of the mammary glands in dog is a poorly documented pathology in which only the clinical forms are included. This study, conducted on 50 dogs and 422 milk samples in the third day postpartum, aims to estimate the subclinical forms of inflammation by counting neutrophils on milk smears. Less of a bitch in four has more than two inflamed mammary glands. Two thirds of litters from a mother with at least one inflamed mammary gland have at least one puppy died during the first week of life, only one third of litters from a mother without mammary inflammation is concerned by neonatal mortality. However no link with puppies' growth was highlighted. A better knowledge of the behavior of suckling pups would better assess the impact of mammary inflammation on puppies.

### Keywords :

Bitche, puppie, neutrophils, mammary glands, mammary inflammation, milk's smears, mortality rate.