



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 : 16486

To cite this version :

Aggouni, Charlotte. *Étude de la qualité immunologique et énergétique du colostrum de la chienne : impact sur la santé du chiot*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2016, 93 p.

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

ETUDE DE LA QUALITÉ IMMUNOLOGIQUE ET ÉNERGÉTIQUE DU COLOSTRUM DE LA CHIENNE : IMPACT SUR LA SANTÉ 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

AGGOUNI Charlotte
Née, le 23 avril 1991 à LANGRES (52)

Directeur de thèse : Mme Sylvie CHASTANT- MAILLARD

JURY

PRESIDENT :
M. Jean-Pierre OLIVES

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
Mme Sylvie CHASTANT- MAILLARD
Mme Agnès WARET-SZKUTA

Professeure à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeure à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :
Mme MILA Hanna

Maître de Conférences à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Répartition des Enseignants-Chercheurs par Département.

Mise à jour : 06/09/2016

DIRECTRICE : ISABELLE CHMITELIN

ELEVAGE ET PRODUITS/SANTÉ PUBLIQUE VÉTÉRINAIRE	SCIENCES BIOLOGIQUES ET FONCTIONNELLES	SCIENCES CLINIQUES DES ANIMAUX DE COMPAGNIE, DE SPORT ET DE LOISIRS
<p>Responsable : M. SANS</p> <p><u>ALIMENTATION ANIMALE :</u> M. ENJALBERT Francis, PR Mme PRIYMENKO Nathalie, MC Mme MEYNADIER Annabelle, MC</p> <p><u>EPIDEMIOLOGIE :</u> Mathilde PAUL, MC</p> <p><u>MALADIES REGLEMENTEES-ZOONOSES-MEDECINE PREVENTIVE DES CARNIVORES DOMESTIQUES-DROIT VETERINAIRE :</u> M. PICAUVET Dominique, PR</p> <p><u>PARASITOLOGIE-ZOOLOGIE :</u> M. FRANC Michel, PR M. JACQUIET Philippe, PR M. LIENARD Emmanuel, MC Mme BOUHSIRA Emilie, MC</p> <p><u>HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS :</u> M. BRUGERE Hubert, PR M. BAILLY Jean-Denis, PR Mme BIBBAL Delphine, MC Mme COSTES Laura, AERC Mme DAVID Laure, MCC</p> <p><u>PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION :</u> M. BERTHELOT Xavier, PR M. BERGONIER Dominique, MC Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, PR Mme HAGEN-PICARD Nicole, PR M. NOUVEL Laurent-Xavier, MC Mme MILA Hanna, MC</p> <p><u>PATHOLOGIE DES RUMINANTS :</u> M. SCHELCHER François, PR M. FOUCRAS Gilles, PR M. CORBIERE Fabien, MC M. MAILLARD Renaud, MC M. MEYER Gilles, PR</p> <p><u>PRODUCTION ET PATHOLOGIE AVIAIRE ET PORCINE :</u> Mme WARET-SZKUTA Agnès, MC M. JOUGLAR Jean-Yves, MC M. GUERIN Jean-Luc, PR M. LE LOC'H Guillaume, MC</p> <p><u>PRODUCTIONS ANIMALES AMELIORATION GENETIQUE ECONOMIE :</u> M. DUCOS Alain, PR M. SANS Pierre, PR M. RABOISSON Didier, MC</p>	<p>Responsable : Mme GAYRARD</p> <p><u>ANATOMIE :</u> M. MOGICATO Giovanni, MC M. LIGNEREUX Yves, PR Mme DEVIERS Alexandra, MC</p> <p><u>ANATOMIE PATHOLOGIQUE - HISTOLOGIE :</u> M. DELVERDIER Maxence, PR Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, MC Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, PR Mme LACROUX Caroline, PR</p> <p><u>BIOLOGIE MOLECULAIRE :</u> Mme BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle, MC</p> <p><u>MICROBIOLOGIE – IMMUNOLOGIE - MALADIES INFECTIEUSES :</u> M. MILON Alain, PR M. BERTAGNOLI Stéphane, PR M. VOLMER Romain, MC Mme BOULLIER Séverine, MC Mme DANIELS Héléne, MC</p> <p><u>BIOSTATISTIQUES :</u> M. CONCORDET Didier, PR M. LYAZRHI Faouzi, MC</p> <p><u>PHARMACIE-TOXICOLOGIE :</u> M. PETIT Claude, PR Mme CLAUW Martine, PR M. GUERRE Philippe, PR M. JAEG Philippe, MC</p> <p><u>PHYSIOLOGIE –PHARMACOLOGIE THERAPEUTIQUE :</u> M. BOUSQUET-MELOU Alain, PR Mme GAYRARD-TROY Véronique, PR Mme FERRAN Aude, MC M. LEFEBVRE Hervé, PR</p> <p><u>BIOCHIMIE :</u> Mme BENNIS-BRET Lydie, MC</p> <p><u>ANGLAIS :</u> M. SEVERAC Benoît, PLPA Mme MICHAUD Françoise, PCEA</p>	<p>Responsable : Mme CADIERGUES</p> <p><u>ANESTHESIOLOGIE</u> M. VERWAERDE Patrick, MC</p> <p><u>CHIRURGIE :</u> M. AUTEFAGE André, PR M. ASIMUS Erik, MC M. MATHON Didier, MC Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, MC Mme PALIERNE Sophie, MC</p> <p><u>MEDECINE INTERNE :</u> Mme DIQUELOU Armelle, MC M. DOSSIN Olivier, MC Mme LAVOUE Rachel, MC Mme GAILLARD-THOMAS Elodie, MCC</p> <p><u>OPHTALMOLOGIE :</u> M. DOUET Jean-Yves, MC</p> <p><u>DERMATOLOGIE :</u> Mme CADIERGUES Marie-Christine, PR</p> <p><u>IMAGERIE MEDICALE</u> M. CONCHOU Fabrice, MC</p> <p><u>BIOLOGIE MOLECULAIRE :</u> Mme TRUMEL Catherine, PR</p> <p><u>PATHOLOGIE DES EQUIDES :</u> M. CUEVAS RAMOS Gabriel, MC Mme PRADIER Sophie, MC Mme LALLEMAND Elodie, AERC</p>

REMERCIEMENTS

AUX MEMBRES DU JURY

A Monsieur le Professeur Jean-Pierre OLIVES

Professeur des Universités,
Praticien hospitalier, Pédiatrie, Gastroentérologie, Nutrition,

Qui nous a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse,
En témoignage de mon profond respect

A Madame le Docteur Sylvie CHASTANT- MAILLARD

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE,
Pathologie de la reproduction,

Qui m'a confié ce sujet et guidée dans l'élaboration de ce travail
Pour sa gentillesse, pour sa disponibilité et sa rapidité.
Remerciements très chaleureux.

A Madame le Docteur Agnès WARET-SZKUTA

Maitre de conférences à L'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE,
Production et pathologie porcine,

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

A Madame le Docteur Hanna MILA

Maitre de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE,
Pathologie de la reproduction,

Qui m'a tant aidée tout au long de ce travail,
Pour son aide précieuse, sa gentillesse, sa patience,
Pour sa bonne humeur à toute épreuve,
Sincères remerciements

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX	9
LISTE DES FIGURES	10
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	13
1 LA MORTALITE DES CHIOTS	13
1-1 Taux de mortalité chez les chiots entre 0 et 2 mois.....	13
1-2 Répartition de la mortalité en fonction de l'âge.....	13
1-3 Causes de mortalité néonatale	14
2 L'IMMUNITE DU CHIOT DANS SA PREMIERE SEMAINE DE VIE.....	16
2-1 Transfert prénatal d'immunité	16
2-2 Transfert d'immunité postnatal	18
3 ROLES ET COMPOSITION DU COLOSTRUM	19
3-1 Immunité humorale systémique.....	19
3-2 Immunité humorale locale et immunité cellulaire	20
3-3 Nutrition du chiot.....	21
3-4 Maturation du tube digestif	22
4 LES CONDITIONS D'UNE PRISE COLOSTRALE EFFICACE	22
4-1 Fermeture de la barrière intestinale.....	22
4-2 Quantité et qualité du colostrum	24
4-2-1 Couvrir les besoins immunitaires.....	24
4-2-2 Couvrir les besoins énergétiques	26
ETUDE EXPERIMENTALE.....	28
1 MATERIEL ET METHODE.....	28
1-1 Population	28
1-2 Prélèvements.....	29
1-3 Analyse des prélèvements	31
1-3-1 Dosage des IgG dans le sérum des chiots	31
1-3-2 Dosage des IgG dans le colostrum.....	37
1-3-3 Dosage des nutriments dans le colostrum.....	37
1-4 Analyse statistique.....	38

2	RESULTATS	40
2-1	Qualité immunologique du colostrum	40
2-1-1	Description.....	40
2-1-2	Facteurs influençant la qualité immunologique du colostrum	44
2-1-3	Relation entre qualité immunologique du colostrum et santé du chiot..	45
2-2	Qualité énergétique du colostrum.....	47
2-2-1	Description.....	47
2-2-2	Facteurs influençant la qualité énergétique du colostrum.....	53
2-2-3	Relation entre qualité énergétique du colostrum et sante du chiot	54
2-3	Relation entre la qualité immunologique et la qualité énergétique du colostrum	57
2-3-1	Relation entre la concentration en IgG et la teneur en énergie du colostrum	57
2-3-2	Influence de la qualité du colostrum sur la santé globale du chiot.....	58
3	DISCUSSION	62
3-1	Limites de l'étude.....	62
3-1-1	Population étudiée.....	62
3-1-2	Délai de prélèvement du colostrum	63
3-1-3	Données manquantes	63
3-2	Résultats	64
3-2-1	Composition du colostrum	64
3-2-2	Facteurs influençant la qualité du colostrum	65
3-2-3	Lien entre la qualité du colostrum et la santé du chiot.....	68
3-3	Perspectives	72
	CONCLUSION	75
	BIBLIOGRAPHIE	77
	ANNEXES	81

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Répartition du taux de mortalité selon l'âge rapporté dans la littérature	14
Tableau 2 : Composition du colostrum en IgG, IgA et IgM, 24 heures post mise-bas, synthèse bibliographique	19
Tableau 3 : Composition du colostrum 24h après la mise-bas, synthèse bibliographique	21
Tableau 4 : Composition en minéraux du colostrum 24h après la mise-bas, d'après Adkins et al.(2001).....	21
Tableau 5 : Classification des races incluses dans l'étude en format racial selon leur poids à l'âge adulte.....	28
Tableau 6 : Effectif de chiennes incluses dans l'étude de la qualité immunologique du colostrum en fonction de la race et du format racial.	40
Tableau 7 : Effectif des chiots inclus dans l'étude de la qualité immunologique du colostrum en fonction de la race et du format racial	43
Tableau 8 : Effectif de chiennes incluses dans l'étude de la qualité énergétique du colostrum en fonction de la race et du format racial	47
Tableau 9 : Effectif des chiots inclus dans l'étude de la qualité énergétique du colostrum en fonction de la race et du format racial	50
Tableau 10 : Relation entre la concentration en IgG du colostrum et la concentration en IgG sérique du veau à J2 (Jaster et al. 2005).....	69

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Définition de la mortalité en fonction de l'âge chez le chiot.....	14
Figure 2 : Causes de mortalité néonatale d'après Nielen et al.(1998)	15
Figure 3 : Les différents types de placenta (Thibault et al. 2001)	17
Figure 4 : Cinétique de survie des chiots avec une concentration en IgG à 2 jours d'âge au-dessus et en dessous du seuil critique (230 mg/dl) d'après Mila et al. (2014)	25
Figure 5 : Protocole des prélèvements réalisés pour chaque portée	29
Figure 6 : Prélèvement du colostrum	29
Figure 7 : Prise de sang à la veine jugulaire sur un chiot	30
Figure 8 : Pesée des chiots	30
Figure 9 : Mesure de la glycémie sur un chiot	31
Figure 10 : Principe de l'ELISA « en sandwich »	32
Figure 11 : Répartition des échantillons et du standard sur la plaque ELISA	34
Figure 12 : Plaque ELISA après révélation	35
Figure 13 : Exemple de courbe de densité optique en fonction de la concentration et l'équation obtenue avec le logiciel Softmax.....	36
Figure 14 : Répartition de l'âge des chiennes de la population dans l'étude de la qualité immunologique du colostrum, pourcentage de chienne par tranche d'âge (n=135).....	41
Figure 15 : Concentration en IgG du colostrum par chienne n= 139 (moyenne de toutes les mamelles).....	42
Figure 16 : Répartition de la taille des portées (n=139 portées, 787 chiots nés totaux)	43
Figure 17 : Concentration sérique en IgG à J2 (n=657).....	44
Figure 18 : Moyenne des IgG sériques des chiots à J2 en fonction de la concentration en IgG du colostrum de leur mère.....	45
Figure 19 : Répartition de l'âge des chiennes de la population dans l'étude de la qualité énergétique du colostrum, pourcentage de chiennes par tranche d'âge (n=56)	48
Figure 20 : Concentration en énergie du colostrum par chienne (n= 59) (moyenne de toutes les mamelles).....	49
Figure 21 : Répartition de la taille des portées (n=59 portées, ,328 chiots nés)	50

Figure 22 : Glycémie à J1 (n=297).....	51
Figure 23 : Distribution des taux de croissance entre J0 et J2 (n=292)	52
Figure 24 : Corrélation entre le taux de croissance entre J0 et J2 et la glycémie à J1 (n=292).....	52
Figure 25 : Influence de la parité de la chienne, de son format racial et de son âge sur la valeur énergétique du colostrum produit (en mg/dl) (n=59)	53
Figure 26 : Glycémie à J1 des chiots en fonction de la valeur énergétique du colostrum de leur mère	54
Figure 27 : Pourcentage de chiots ayant une glycémie inférieure à 92 mg/dl en fonction de la valeur énergétique du colostrum de leur mère	55
Figure 28 : Taux de croissance entre J0 et J2 des chiots en fonction de la valeur énergétique du colostrum de leur mère	55
Figure 29 : Pourcentage de chiots ayant un taux de croissance entre J0 et J2 inférieur à -4% en fonction de la valeur énergétique du colostrum de leur mère	56
Figure 30 : Corrélation entre la concentration en IgG du colostrum et sa valeur énergétique (n=58)	57
Figure 31 : Relation entre la concentration en IgG du colostrum et sa valeur énergétique (qualitative) (n=58).....	58
Figure 32 : Association des facteurs de risque de mortalité néonatale (n=284)	59
Figure 33 : Prévalence des facteurs de risque de mortalité néonatale en fonction de la qualité énergétique du colostrum (n=284)	60
Figure 34 : Prévalence des facteurs de risque de mortalité néonatale en fonction de la qualité immunologique du colostrum (n=284)	61

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1 LA MORTALITE DES CHIOTS

1-1 TAUX DE MORTALITE CHEZ LES CHIOTS ENTRE 0 ET 2 MOIS

Dans les filières de production d'animaux de rente, le taux de mortalité avant le sevrage est une donnée très étudiée car il représente des pertes économiques importantes. En effet, par exemple en filière bovine, le taux de mortalité des veaux avant le sevrage est en moyenne de 10% (Jegou et al 2006). Les éleveurs portent une attention particulière à ce taux et essaient toujours au maximum de le réduire.

En se penchant sur les données disponibles pour l'élevage canin, il ressort que très peu d'études s'intéressent à ce sujet. Cependant la mortalité des chiots avant le sevrage représente pour l'éleveur un enjeu économique de taille. En effet les études existantes révèlent que le taux de mortalité des chiots dans les deux premiers mois de vie est considérable. Différentes études ont été menées à travers le monde : d'abord aux Etats-Unis en 1977 sur 2872 chiots, le taux de mortalité était de 17,4% (Potkay et Bacher 1977), puis aux Pays-Bas en 1998 sur 2629 chiots révélant un taux de mortalité de 21,7% (Nielen et al 1998). En 2001 en Australie une étude portant sur 2574 chiots a observé un taux de mortalité de 20,2% (Gill 2001) et enfin en France en 2013 un taux de mortalité de 22,8% a été rapporté sur un nombre total de 2288 chiots nés (Belin 2013).

En conclusion en élevage canin, environ 20% des chiots nés meurent avant d'atteindre l'âge de 2 mois. Il semble donc indispensable de s'intéresser de plus près à la mortalité des chiots afin d'essayer de la réduire.

1-2 REPARTITION DE LA MORTALITE EN FONCTION DE L'AGE

Le taux de mortalité des chiots avant le sevrage est d'environ 20%, cependant la répartition des cas de mortalité n'est pas homogène tout au long des deux premiers mois de vie.

La figure 1 présente la dénomination des cas de mortalité selon le moment où celle-ci survient :

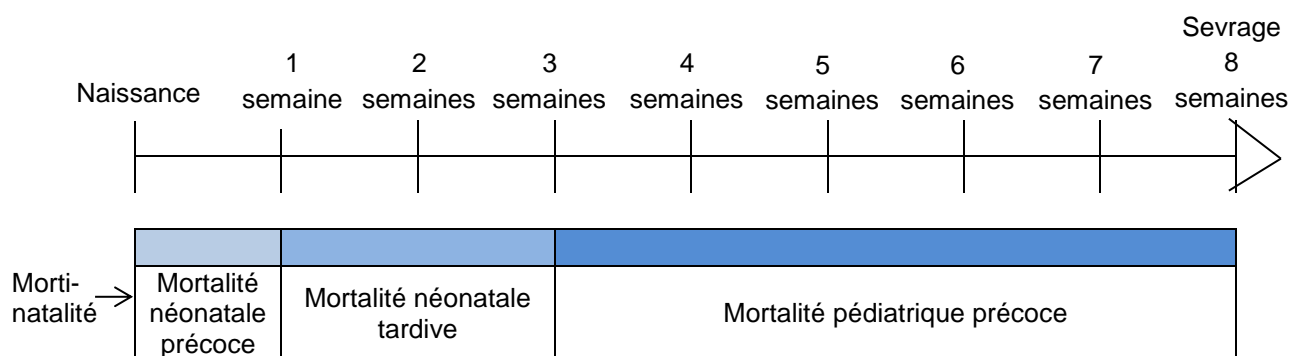


Figure 1 – Définition de la mortalité en fonction de l'âge chez le chiot

La mortinatalité représente en moyenne 30,3% des chiots mourant entre la naissance et le sevrage (Tableau 1). Parmi les chiots nés vivants mourant avant le sevrage, plus de 50% meurent avant l'âge de 21 jours (mortalité néonatale). On note que parmi les chiots morts durant la période néonatale, 70% sont morts avant J7 (sans compter les mort-nés). Les mortalités périnatales (chiots mort-nés et mortalité néonatale précoce) sont donc les plus fréquentes, représentant en moyenne 80% des cas. Les mortalités pédiatriques précoces sont quant à elles bien plus rares et leur impact beaucoup moins important.

Tableau 1 – Répartition du taux de mortalité selon l'âge rapporté dans la littérature

	Nombre de chiots	Taux de mortalité totale (0-2 mois)**	Pourcentage de chiots mort-nés*	Pourcentage de chiots morts entre J1 et J7*	Pourcentage de chiots morts entre J1 et J21*
Potkay et Bacher, 1977	2872	18,2% (524/2872)	12,0% (63/524)	53,2% (279/524)	62,5% (328/524)
Nielen et al, 1998	2527	18,6% (469/2527)	31,3% (147/469)	48,4% (199/469)	57,3% (269/469)
Gill, 2001	2574	20,2% (519/2574)	34,7% (180/519)	48,5% (252/519)	65,3% (339/519)
Belin, 2013	2288	22,9% (524/2288)	43,1% (226/524)	38,5% (202/524)	39,7% (208/293)
Moyenne		20,0%	30,3%	47,1%	56,2%

* en pourcentage de tous les chiots morts entre 0 et 2 mois (y compris la mortinatalité)

** en pourcentage de tous les chiots nés

1-3 CAUSES DE MORTALITE NEONATALE

Une mise-bas difficile est le premier facteur à l'origine de mortalité périnatale. En effet lors de dystocie, la probabilité de mettre au monde des chiots mort-nés est fortement augmentée. De plus, une partie des chiots qui naissent sont en hypoxie à

la suite de la souffrance occasionnée par une mise bas compliquée (Münnich et Küchenmeister 2014). Dans 90% des cas, si l'hypoxie lors de la parturition a été très importante, le chiot meurt dans les 2 jours qui suivent (Münnich et Küchenmeister 2014). Viennent ensuite les causes infectieuses, non infectieuses et congénitales (Figure 2).

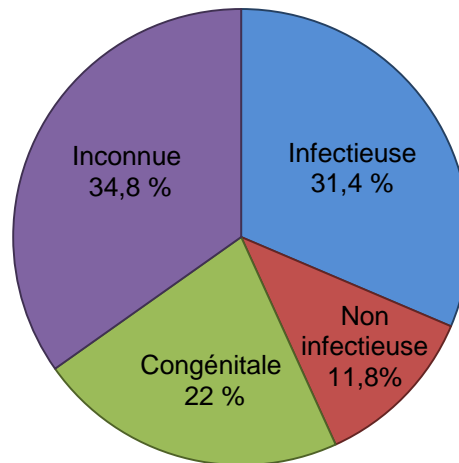


Figure 2 – Causes de mortalité néonatale d'après Nielen et al. (1998) (n= 322 chiots, ne sont pas pris en compte les chiots mort-nés ou euthanasiés car ils étaient blancs)

Lorsque les chiots naissent vivants, la cause la plus fréquente de mortalité néonatale est une maladie infectieuse (Figure 2). Durant ses 10 premiers jours de vie, le système immunitaire du chiot n'est pas encore compétent ce qui le prédispose aux infections bactériennes et virales (Davidson 2003). Les infections bactériennes sont impliquées dans la majorité des cas et les agents les plus souvent isolés sont *E. Coli*, *Streptococcus sp.* et *Staphylococcus sp.* Les infections virales sont également possibles notamment par des virus tels que les herpesvirus, rotavirus ou encore le virus minute (parvovirus de type 1). Enfin dans de plus rares cas, des infections parasitaires (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*) peuvent être mises en cause (Davidson 2003) .

Les facteurs non-infectieux sont moins souvent impliqués dans la mort directe du chiot. Cependant, ils augmentent considérablement le risque de maladies infectieuses. Ainsi l'hypoxie induite lors de mise-bas difficile, si elle ne tue pas le chiot, diminue le rythme cardiaque et favorise la translocation bactérienne en ralentissant la motricité intestinale. De même, l'hypothermie est une cause importante de mortalité. Le chiot est incapable de réguler sa température avant l'âge de 6 jours : s'il se trouve dans un milieu trop froid ou isolé de sa mère, il peut rapidement être en hypothermie. Il en résulte dans ce cas également une baisse du

rythme cardiaque, une diminution de la prise de colostrum et une diminution de la mobilité intestinale favorisant le risque de translocation bactérienne (Münnich et Küchenmeister 2014). L'hypoglycémie est également un facteur de risque. En effet, le foie du nouveau-né est immature et ne peut pas correctement stocker ou libérer le glucose. La seule source d'énergie pour le chiot dans les premiers jours est la prise colostrale, un jeûne prolongé entraîne donc aussitôt une hypoglycémie (Davidson 2003). Enfin la déshydratation est également souvent mise en cause. Le chiot y est prédisposé car ses reins ne sont pas encore complètement fonctionnels et il a une surface corporelle élevée par rapport à son poids. La déshydratation peut être induite par une diarrhée importante ou une prise de colostrum ou de lait insuffisante (Münnich et Küchenmeister 2014). L'hypoxie, l'hypothermie, l'hypoglycémie et la déshydratation sont donc des facteurs qui peuvent entraîner par leur action propre la mort du chiot mais surtout le prédisposer à une infection bactérienne ou virale.

Enfin, les anomalies congénitales (fente palatine, *spina bifida*, anasarque) sont impliquées dans un nombre non négligeable de décès de chiots.

Un chiot sur 5 meurt donc avant d'atteindre le sevrage. La première cause de mortalité chez les chiots de moins de 7 jours sont les infections surtout bactériennes. Cette sensibilité aux infections du chiot nouveau-né est due au fait que l'immunité du chiot n'est pas encore optimale.

2 L'IMMUNITE DU CHIOT DANS SA PREMIERE SEMAINE DE VIE

Chez les mammifères, avant que le système immunitaire du jeune ne soit totalement compétent, les nouveau-nés sont protégés par les anticorps que leur a transmis leur mère : il s'agit d'un transfert d'immunité passive. Il existe trois grands mécanismes permettant ce transfert : via le sac vitellin, via le placenta et/ ou via le colostrum (Stoffel et al. 2000).

2-1 TRANSFERT PRENATAL D'IMMUNITE

Les lagomorphes et les rongeurs possèdent un sac vitellin à partir duquel se fait le transfert d'immunité. Ainsi grâce à ce sac vitellin, les lagomorphes à la naissance possèdent une concentration sérique en immunoglobulines identique à

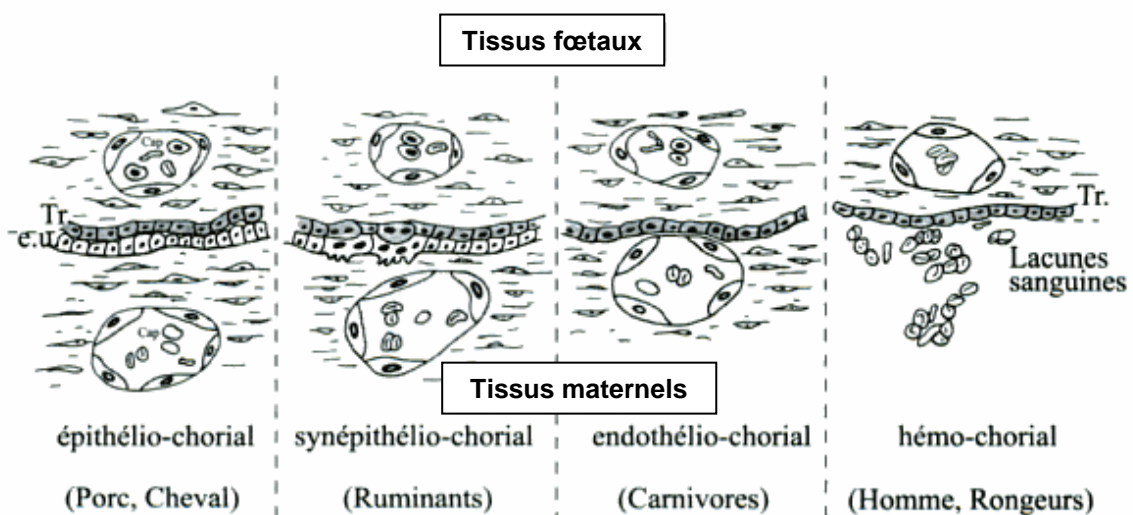
celle de leur mère (Martinet et al. 1993). Le chien possède un sac vitellin mais celui-ci n'est que temporaire et ne permet donc pas d'assurer le transfert d'immunité (Guillomot 2001).

Le transfert d'immunité peut également se faire via le placenta. Selon les espèces de mammifères, il existe 4 types de placentation permettant un transfert plus ou moins efficace (Figure 3).

Les primates, dont l'homme, naissent avec un taux d'immunoglobulines circulantes identique à celui de leur mère (Martinet et al. 1993). Chez ces espèces, le transfert d'anticorps se fait très bien via le placenta de structure hémochoriale : seulement 3 couches séparent le sang maternel du sang fœtal, ainsi le transfert d'IgG est facilité.

A l'inverse, les ruminants, les porcs ou encore les chevaux naissent totalement dépourvus d'anticorps. Leurs placentations sont de type épithélio-chorial (ou synépithélio-chorial pour les ruminants) : 6 couches de cellules (5 chez les ruminants) séparent le sang maternel du sang fœtal, ce qui empêche tout transfert d'anticorps.

Le chien se trouve dans une situation intermédiaire avec un placenta de type endothélio-chorial (4 couches) qui laisse passer de très faibles quantités d'immunoglobulines (Guillomot 2001). Le chiot naît donc quasi agammaglobulinémique, ce qui signifie que le transfert d'immunité prénatal transplacentaire est très faible (Bouchard et al. 1992).



Tr : trophoblaste, e u : épithélium utérin, Cap : capillaires sanguins.

Figure 3– Les différents types de placenta (Guillomot 2001)

En définitive, chez le chien, le placenta endothélio-chorial permet le transfert de seulement 5% à 10% des anticorps maternels circulants du chiot à l'âge de 2 jours (Chappuis 1998 ; Dall'Ara et al. 2015).

2-2 TRANSFERT D'IMMUNITE POSTNATAL

Le placenta du chien ne permet pas le passage d'anticorps en grande quantité. De ce fait le transfert d'immunité dans cette espèce est assuré par la prise colostrale (Chappuis 1998). L'immunité du chiot durant ses premières semaines de vie est assurée par les anticorps maternels apportés par le colostrum jusqu'à ce que le chiot commence à produire ses propres anticorps (à partir de 4 semaines) (Tizard 2013).

Durant les dernières semaines de gestation, les immunoglobulines G (IgG) contenues dans le sérum de la mère vont être sécrétées dans la lumière des acini mammaires. Cette sécrétion se fait à la fois par voie transcellulaire grâce à des récepteurs spécifiques (appelés FcRn) (Kacs Kovics 2004) et par voie paracellulaire (Klopfenstein 2002), cette dernière étant une voie de sécrétion spécifique de la phase colostrale. Au moment de la mise-bas, la chienne produit alors un colostrum avec une concentration en IgG égale à environ 160% (voire 300% selon les auteurs) de la concentration en IgG de son sérum (Ricks et al. 1970 ; Heddle et Rowley 1975). La fermeture de jonctions serrées entre les cellules épithéliales mammaires est un évènement majeur déterminant le passage de la phase colostrale à la phase lactée (Neville et al. 2001). Une fois les jonctions serrées fermées, le passage des IgG n'est plus permis. Cet évènement se produit dans les 24 heures post mise-bas et est sous contrôle hormonal. En effet, la progestérone, qui avant la mise-bas empêchait la fermeture des jonctions, chute (Neville et al. 2001). A l'inverse, il y a une forte production de cortisol et de prolactine qui stimulent la formation de jonctions serrées (Nguyen 2001).

Dans les heures qui suivent sa naissance, le chiot commence à téter et ingère le colostrum. A cet âge, les enzymes protéolytiques du tube digestif sont peu actives et de plus le colostrum contient un inhibiteur de la trypsine, ces deux facteurs limitant la destruction des IgG. Elles sont alors absorbées par pinocytose par les entérocytes puis rejoignent la lymphe et enfin la circulation sanguine systémique via le canal thoracique (Chappuis 1998). Les récepteurs spécifiques des IgG (les récepteurs

FcRn) sont également présents sur les cellules intestinales et facilitent l'absorption de ces immunoglobulines (Tizard 2013).

3 ROLES ET COMPOSITION DU COLOSTRUM

3-1 IMMUNITE HUMORALE SYSTEMIQUE

L'un des rôles majeurs du colostrum est, comme évoqué précédemment, de permettre au chiot d'acquérir une immunité humorale systémique. Le colostrum contient en effet entre 80 et 143 g/l de protéines dont 20 à 37% sont des immunoglobulines (Adkins et al. 2001; Schäfer-Somi et al 2005).

Parmi les différentes classes d'immunoglobulines, les IgA et les IgM sont surtout impliquées dans l'immunité locale alors que les IgG assurent l'immunité systémique.

Le premier jour, les IgG sont la classe d'immunoglobuline la plus représentée, (environ 70-80% des immunoglobulines totales) puis la proportion d'IgG diminue pour ne représenter plus que 40% des immunoglobulines totales au troisième jour (Hedde et Rowley 1975). Selon les auteurs, la concentration en IgG du colostrum varie entre 15 et 30 g/l, les différences observées entre les études étant probablement dues au faible nombre d'animaux impliqués dans chaque étude (Tableau 2).

Les IgG présentes dans le colostrum sont le résultat de l'exposition de la mère aux agents pathogènes. Le nouveau-né est donc protégé contre les agents pathogènes de l'environnement et ceux contre lesquels la mère est vaccinée (Tizard 2013).

Tableau 2 – Composition du colostrum en IgG, IgA et IgM 24 heures post mise bas, synthèse bibliographique

		Norcross (1982)	Schäfer-Somi et al. (2005)	Bertieri (2012)
Nombre de chiennes (race)		ND*	6 (Rottweiler)	10 (Beagle)
Concentration en Ig (g/l)	IgG	14,5	19,3	26,5
	IgA	3,3	9,9	17,7
	IgM	2,2	0,6	0,6
	Ig Total	20,0	29,8	44,9
Proportion (%)	IgG	73,0	65,0	59,1
	IgA	16,0	33,0	39,5
	IgM	11,0	2,0	1,4

*ND : données non disponibles

3-2 IMMUNITE HUMORALE LOCALE ET IMMUNITE CELLULAIRE

Les IgA, et dans une moindre mesure les IgM, ne sont pas toutes absorbées pendant les premières heures de vie, une partie reste alors dans la lumière intestinale. Elles vont apporter aux nouveau-nés une protection locale contre les agents pathogènes présents dans le tube digestif. Cette action est d'autant plus forte que la concentration en IgA dans le colostrum de la chienne est égale à 500% de la concentration dans le sérum de celle-ci (Heddle et Rowley 1975). De plus, à l'inverse des IgG, la proportion d'IgA dans le colostrum augmente au cours du temps (20% des immunoglobulines totales à J1 contre 50% à J3) (Heddle et Rowley 1975). Les IgA présentes dans le colostrum proviennent à la fois d'un transport depuis le sérum de la mère mais également d'une sécrétion locale par les plasmocytes infiltrés dans le tissu mammaire (Tizard 2013). Les IgA sont résistantes aux protéases contenues dans l'intestin (qui détruisent les IgG et les IgM) et permettent ainsi une défense primaire contre les infections locales (Chappuis 1998 ; Tizard 2013).

De plus, le colostrum contient également une quantité importante de cellules immunitaires notamment des lymphocytes, des polynucléaires neutrophiles ou encore des macrophages. Bien que leurs rôles ne soient pas encore clairement définis, il semblerait que les lymphocytes apportent au nouveau-né une protection locale face aux infections intestinales en survivant plusieurs heures dans l'intestin du jeune. De plus ils pourraient pénétrer dans l'épithélium des plaques de Peyer pour arriver aux nœuds lymphatiques mésentériques puis rejoindre la circulation systémique. Ainsi ils permettraient un transfert de l'immunité à médiation cellulaire de la mère au chiot (Tizard 2013).

3-3 NUTRITION DU CHIOT

Outre le transfert de l'immunité, un des rôles essentiels du colostrum est l'apport de nutriments et d'énergie au chiot.

Le colostrum a une valeur énergétique élevée pouvant atteindre 1800 kcal/l contre 1440 kcal/l pour le lait à 14 jours de lactation (Adkins et al. 2001, Tableau 3). Il apporte au chiot de l'énergie pour le fonctionnement basal de son organisme et sa croissance précoce. Cet apport énergétique est d'autant plus important que le chiot à la naissance n'a que très peu de réserves en tissus adipeux et que son foie n'est pas

encore efficace pour assurer la glycogénolyse (Davidson 2003). L'énergie apportée par le colostrum est due pour 52% à sa teneur en protéines et pour 40% à sa teneur en lipides (Chastant-Maillard et Mila 2016). De plus le colostrum est également la source de glucose pour le chiot avec des teneurs en lactose allant de 16,6 à 22,6 g/l. Ainsi une buvée régulière limite le risque d'hypoglycémie du chiot. Il va de soi que la tétée limite également la déshydratation du nouveau-né avec une humidité de 88% pour le colostrum (Adkins et al 2001).

Tableau 3 – Composition du colostrum 24h après la mise-bas, synthèse bibliographique

	Adkins et al. (2001)	Coinus (2014)
Nombre de chiens	10	21
Protéines (g/l)	143,0	118,0
Lactose (g/l)	16,6	22,6
Lipides (g/l)	132,2	58,0
Energie brute (kcal/l)	1831,0	1388,0

Enfin le colostrum apporte l'essentiel des minéraux nécessaires au bon développement du chiot (calcium, phosphore, cuivre, fer, zinc, magnésium, manganèse) (Tableau 4) ainsi que des facteurs de croissance et des vitamines (A, B1, B2, C).

Tableau 4 – Composition en minéraux du colostrum 24h après la mise-bas, d'après Adkins et al. (2001)

	Adkins et al. (2001)
Calcium (mg/l)	1363,0
Phosphore (mg/l)	935,0
Magnésium (mg/l)	128,5
Fer (mg/l)	3,7
Cuivre (mg/l)	1,3
Zinc (mg/l)	5,0

3-4 MATURATION DU TUBE DIGESTIF

Le colostrum contient des facteurs de croissance qui favorisent la mise en place de l'équipement enzymatique du tube digestif et qui aident également au développement de la muqueuse (Buddington 1998). Le colostrum permet un développement important du tube digestif en 24 heures ; en l'absence de colostrum cette maturation met 5 jours (Grandjean et al. 1989). De plus, la prise colostrale permet la formation de la flore digestive par l'apport de bactéries commensales et la présence d'oligosaccharides, d'enzymes et de lactoferrine empêchant le développement de bactéries pathogènes (Buddington et Lepine 2000).

4 LES CONDITIONS D'UNE PRISE COLOSTRALE EFFICACE

Pour que le colostrum remplisse au mieux tous ses rôles, notamment le transfert d'immunité, il a été montré dans de nombreuses espèces que la prise colostrale doit suivre trois principes fondamentaux, résumés dans la règle des 3Q : Quick, Quantity et Quality (rapidité, quantité, qualité).

4-1 FERMETURE DE LA BARRIERE INTESTINALE

Pour que la prise colostrale soit efficace, il est impératif que le chiot absorbe le maximum d'anticorps maternels dans ses premières heures de vie, avant la fermeture de sa barrière intestinale.

La fermeture de la barrière intestinale est une notion définie depuis longtemps chez les porcs et chez les bovins. L'épithélium intestinal du nouveau-né est capable d'absorber des macromolécules seulement pendant quelques heures. Ensuite, les macromolécules, et donc les IgG, ne peuvent plus être absorbées et transférées vers le sang : c'est la fermeture de la barrière intestinale. Chez les animaux d'élevage, ayant une forte importance économique, cela fait plus de 50 ans pour les porcs et 30 ans pour les bovins que le moment de la fermeture de la barrière intestinale est connu. Chez le porcelet, une étude montre que 23 heures après le premier repas, la perméabilité aux IgG n'est plus que de 27% de sa valeur initiale (Le Dividich et al.

2005). Quant à la fermeture complète de la barrière intestinale, elle se produit aux alentours de 24 à 36 heures de vie selon les auteurs (Lecce et Morgan 1962). Chez le veau, on note une diminution de moitié de l'absorption des IgG (par rapport au taux d'absorption observé directement après la naissance) à 12 heures d'âge (Stott et al. 1979) et une fermeture complète de la barrière aux alentours de 24 heures d'âge (avec une variation individuelle importante) (Maillard et Guin 2013).

Ce phénomène est également présent dans l'espèce canine et il n'a été montré que récemment que le délai de fermeture chez le chiot est beaucoup plus court que chez les autres espèces. Le pourcentage d'absorption des IgG tout de suite après la naissance est d'environ 40%. Si le colostrum est ingéré 4 heures après la naissance, le taux d'absorption des IgG diminue de moitié et n'est plus que de 20%. Après 12 heures d'âge, la barrière intestinale devient quasi imperméable aux IgG (plus que 10%) et elle devient totalement imperméable après 16 heures (Chastant-Maillard et al. 2012).

Les mécanismes exacts impliqués dans les modifications de perméabilité ne sont pas clairement définis. Un épuisement des capacités de pinocytose des entérocytes, un remplacement des cellules épithéliales initiales par des cellules épithéliales matures, le développement d'enzymes et de bactéries et le développement des villosités intestinales seraient à l'origine de la fermeture de la barrière intestinale sous l'action d'hormones (insuline, corticoïdes, thyroxine) contenues dans le colostrum (Levieux 1984).

Pour un transfert d'immunité efficace, il est donc indispensable que le colostrum soit ingéré rapidement après la naissance du chiot, dans l'idéal dans les 4 premières heures de vie. Si le chiot ne reçoit pas de colostrum dans les 12 à 16 premières heures de vie, il se retrouvera en situation de déficit de transfert de l'immunité. Outre la fermeture de la barrière intestinale, la chute rapide de la concentration en IgG dans les premières heures post-partum explique aussi l'importance d'une prise colostrale précoce (Albaret et al. 2016)

4-2 QUANTITE ET QUALITE DU COLOSTRUM

La quantité et la qualité du colostrum ingéré sont deux notions étroitement liées. En effet plus le colostrum sera de bonne qualité, moins le chiot aura besoin d'en boire en grande quantité pour acquérir la même quantité de nutriments. La quantité de colostrum bue, combinée à la qualité de celui-ci doit permettre au chiot de couvrir ses besoins, en particulier immunitaires et énergétiques.

La quantité de colostrum bue est une valeur qui ne peut pas être augmentée indéfiniment pour compenser un éventuel manque de qualité. En effet la capacité d'ingestion du chiot est limitée. Tout d'abord le contenu stomacal d'un chiot à la naissance est de 8 à 10 ml pour un chiot de 200 g et la vidange de l'estomac va durer 3 à 4 heures (Bannery 1986). Enfin la quantité de colostrum produit par la mère n'est pas infinie et il est important que le chiot ait reçu le plus d'IgG possible dans ses douze premières heures de vie. Il est donc indispensable que le colostrum administré au chiot soit de bonne qualité pour qu'il ait à le boire dans des quantités raisonnables. La qualité du colostrum est le plus souvent définie par sa teneur en IgG. Il semble important de rajouter dans la définition de la qualité du colostrum sa valeur énergétique qui joue un rôle non négligeable dans la survie des chiots.

4-2-1 COUVRIR LES BESOINS IMMUNITAIRES

Le besoin immunitaire a d'abord été défini chez les animaux de production tels que les bovins, les porcs ou encore les chevaux. Une concentration supérieure à 10 g/l d'IgG dans le sérum du veau après la prise colostrale permet de diminuer de manière significative le risque de mortalité néonatale (Mangin 2002). Cette concentration sérique minimale en IgG est de 15 g/l chez le porcelet (Le Dividich et al. 2005) et de seulement 4 à 8 g/l selon les études chez le poulain (Erhard et al. 2001 ; Benamou-Smith A 2013).

Ce seuil a été déterminé chez le chiot à 2,3 g/l. En effet, si après la prise colostrale le chiot a une concentration en IgG sérique inférieure à 2,3 g/l le risque de mortalité néonatale pour ce chiot est fortement augmenté (Mila et al. 2014 ; Figure 4). Cette valeur définit donc le déficit de transfert de l'immunité dans cette espèce.

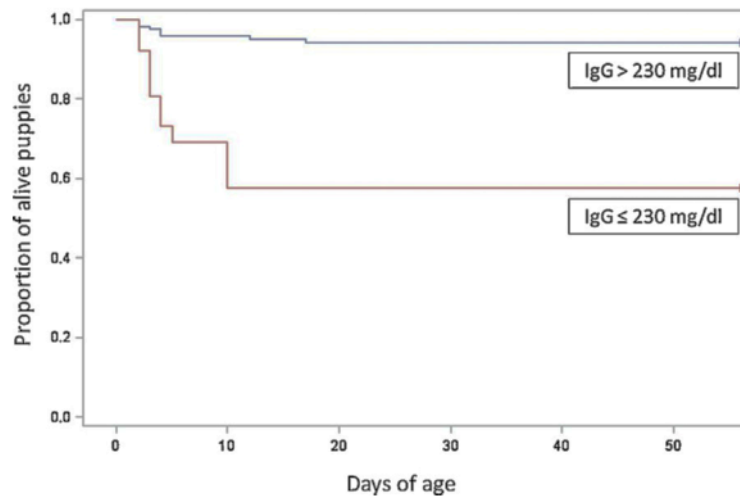


Figure 4– Cinétique de survie des chiots avec une concentration en IgG à 2 jours d'âge au-dessus et en dessous du seuil critique (230 mg/dl) (n=149) d'après Mila et al. (2014)

La quantité de colostrum bue en fonction de la concentration en IgG de celui-ci et du délai écoulé depuis la naissance doit permettre de dépasser ce seuil de 2,3 g/l d'IgG dans le sérum du chiot.

Ainsi dans l'espèce bovine, il a été défini un seuil minimum d'IgG dans le colostrum permettant un transfert d'immunité suffisant. Si le colostrum contient moins de 50g/l d'IgG, il est alors considéré de qualité insuffisante et il est recommandé de ne pas le distribuer au veau (Chigerwe et al. 2008). Il est préférable de le remplacer par un colostrum de substitution plus riche en IgG. Chez les chevaux, ce seuil est légèrement plus élevé et se trouve à 60 g/l (Benamou-Smith 2013).

Dans l'espèce canine, la concentration colostrale en IgG est très variable d'un individu à l'autre. Dans une étude menée dans un même élevage, sur une population de 44 chiennes, la concentration en IgG dans le colostrum de chaque chienne varie entre 8,0 et 41,7 g/l. L'âge de la mère, la taille de la portée ou le format racial ne semble avoir aucune influence sur la qualité du colostrum. De plus, il existe également des variations intra-individuelles : la qualité du colostrum varie entre les paires de mamelles chez un même individu (le coefficient de variation intra-mamelles est de $42,0 \pm 32,1\%$) (Mila et al 2015a). Malgré une forte variation de la qualité immunologique du colostrum, le seuil minimum d'IgG dans le colostrum permettant de diminuer le risque de déficit de transfert de l'immunité chez le chiot reste inconnu à ce jour.

Le but de notre étude va être dans un premier temps de déterminer, s'il existe, le seuil minimum d'IgG qui caractérise un colostrum de bonne qualité chez la chienne : c'est-à-dire une concentration en IgG dans le colostrum au-dessus de laquelle la mortalité des chiots est significativement diminuée. De plus, nous chercherons à savoir quels sont les facteurs qui influencent la production d'un colostrum de bonne qualité immunologique.

4-2-2 COUVRIR LES BESOINS ENERGETIQUES

Le besoin énergétique du chiot à la naissance est de 250 kcal/kg/j et le besoin hydrique est de 130 à 200 ml/kg/j (Hand et al. 2010).

Chez le chiot, la prise de poids dans les premiers jours de vie est le reflet de la prise colostrale et il apparaît que la mortalité est associée à cette prise de poids. En effet, si le chiot entre 0 et 2 jours perd 4% ou plus de son poids de naissance, le risque de mortalité néonatale est significativement augmenté (Mila et al. 2015b). De plus une glycémie, à 24 heures de vie, égale ou inférieure à 92 mg/dl est également associée à un risque de mortalité néonatale plus élevé (Mila et al. 2015c).

Chez le porcelet, il a été montré que pour atteindre une quantité suffisante d'IgG dans le sérum (soit 15g/l), il fallait que le nouveau-né ingère 70g de colostrum de bonne qualité immunologique (Le Dividich et al. 2005). Cependant cette quantité correspond à un gain de poids négatif, ce qui est un facteur de risque de mortalité chez le porcelet. En d'autres termes, l'acquisition d'une immunité passive satisfaisante n'est pas suffisante car elle ne permet pas de couvrir les besoins énergétiques du porcelet (Le Dividich et al. 2005). Selon cette étude il semblerait que le facteur limitant ne soit pas de couvrir les besoins immunologiques mais bien de couvrir les besoins énergétiques du porcelet.

Dans l'espèce canine, il existe une variabilité de la qualité énergétique du colostrum entre les individus. Sur un échantillon de 21 chiennes, la valeur énergétique du colostrum allait de 0,88 kcal/g à 1,84 kcal/g. Cette variabilité, est beaucoup moins marquée que la variabilité de la teneur en IgG. Une fois de plus, ni l'âge de la mère, ni la taille de la portée, ni le format de la race n'ont montré d'influence sur la valeur énergétique du colostrum. La variation entre les différentes mamelles d'une même chienne est également beaucoup moins importante avec un

coefficient de variation intra-mamelles de 7,6%, contre 27,9% pour les IgG sur les mêmes échantillons (Coinus 2014).

Le but de notre étude va être dans un second temps de déterminer, s'il existe, le seuil de valeur énergétique minimum qui détermine un colostrum de bonne qualité énergétique : c'est-à-dire la concentration énergétique minimale nécessaire dans le colostrum pour diminuer de manière significative la mortalité des chiots. Nous nous intéresserons également aux facteurs qui influencent la qualité énergétique du colostrum.

Enfin nous rechercherons, s'il existe, un lien entre la qualité immunologique et la qualité énergétique du colostrum et lequel de ces deux facteurs est le plus déterminant quant à la survie du chiot.

ETUDE EXPERIMENTALE

1 MATERIEL ET METHODE

1-1 POPULATION

L'étude a été menée au sein d'un élevage canin multiracial. Pour étudier l'importance de la qualité immunologique du colostrum, toutes les mères ayant mis bas et tous les chiots nés entre septembre et décembre 2012, août et décembre 2013 et octobre et décembre 2014 ont été inclus dans l'étude. A posteriori, ont été exclues de l'étude toutes les mères (et leurs chiots) pour lesquelles nous n'avions pas réussi à récolter de colostrum. De même ont été exclus de l'étude tous les chiots morts pour une raison traumatique (écrasement par la mère, cannibalisme...). Concernant l'étude de la qualité énergétique du colostrum, ont été inclus toutes les mères et tous les chiots nés entre août et décembre 2013, avec ensuite les mêmes critères d'exclusion que ceux précédemment cités.

De nombreuses races de chiens sont présentes dans cet élevage, nous avons décidé de les regrouper par format (Tableau 5). Ainsi trois populations ont été établies : Petit (S=small), Moyen (M=medium) et Grand (L=large) en fonction du poids adulte moyen de la race.

Tableau 5 – Classification des races incluses dans l'étude par format racial selon leur poids à l'âge adulte.

Format racial	Petit <15 kg	Moyen 15-25 kg	Grand >25 kg
Races	- Bichon Frisé - Bichon Maltais - Jack Russell Terrier - Lhasa apso - Spitz - Caniche - Shih Tzu - Scottish Terrier - West Highland White Terrier - Yorkshire Terrier	- Cocker Spaniel - Berger Australien	- Boxer - Labrador - Berger Allemand - Golden Retriever

De plus les chiennes ont été regroupées en catégories en fonction de leur âge : les chiennes de moins de 3 ans sont dites jeunes, les chiennes entre 3 et 6 ans sont adultes et les chiennes de plus de 6 ans sont considérées comme âgées.

Enfin les chiennes dont la première portée était la portée incluse dans l'étude ont été définies comme primipares, les autres étaient multipares.

1-2 PRELEVEMENTS

Durant toute la période d'étude, différents prélèvements ont été réalisés sur les chiennes (prélèvement de colostrum) et les chiots (pesée, prise de sang, mesure de la glycémie, relevé de la mortalité) (Figure 5).

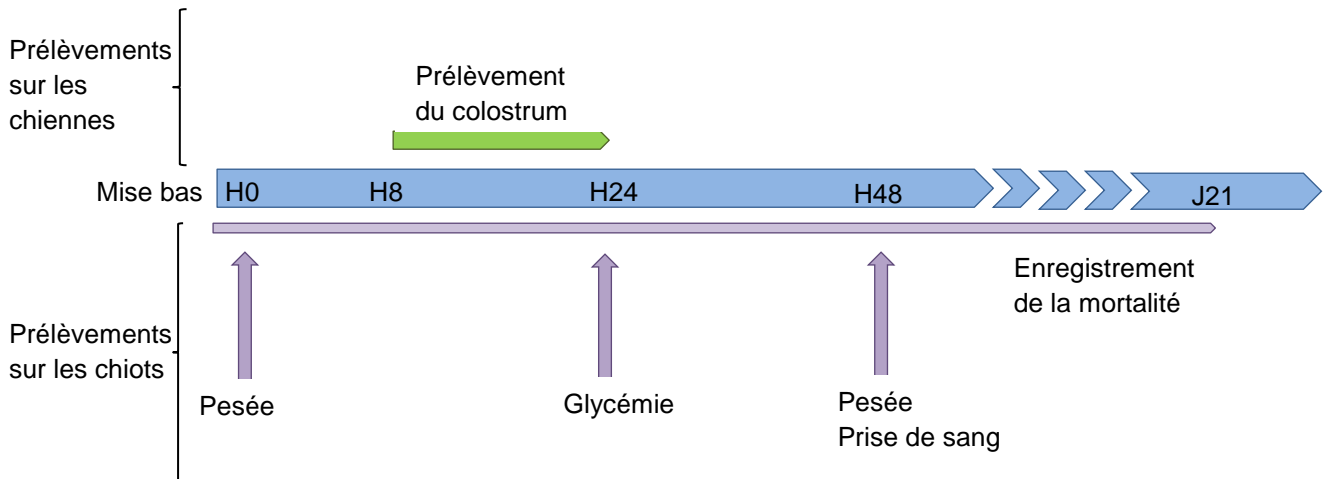


Figure 5 – Protocole des prélèvements réalisés pour chaque portée

- **PRELEVEMENT DU COLOSTRUM**

La traite des chiennes a été réalisée à la main entre 8 heures et 24 heures post mise-bas pour obtenir du colostrum. Pour faciliter l'opération, 1 à 3 UI d'ocytocine (Ocytovem®, CEVA, Libourne, France) ont été injectés par voie sous-cutanée avant de réaliser le prélèvement. Les chiots n'ont pas été séparés de la mère pendant l'étude (Figure 6). Le colostrum de chaque paire de mamelles a été récupéré individuellement dans un tube Eppendorf puis conservé au congélateur à -20°C.

*Figure 6 –
Prélèvement du
colostrum*



- **PRISE DE SANG SUR LES CHIOTS**

Les prises de sang sont réalisées sur tous les chiots à J2, par une ponction de la veine jugulaire à l'aide d'une aiguille de 23G montée sur une seringue de 2 ml (Figure 7). Environ 1 ml de sang est prélevé puis versé dans un tube sec. Le sang est ensuite centrifugé, le sérum est récupéré puis congelé à -20°C.

Figure 7- Prise de sang à la veine jugulaire sur un chiot



- **PESEE DES CHIOTS**

Les chiots ont été pesés à la naissance puis à J2. La pesée était standardisée par l'utilisation d'une balance précise au gramme (Fisher Scientific International Inc., Hampton, USA ; Figure 8). Un étalonnage à l'aide d'un poids standard était réalisé avant chaque manipulation.

Le gain de poids entre 0 et 2 jours a ensuite été calculé de la manière suivante :

$$\text{Gain de poids (\%)} : (\text{poids à J2} - \text{poids de naissance}) / \text{poids de naissance} \times 100$$

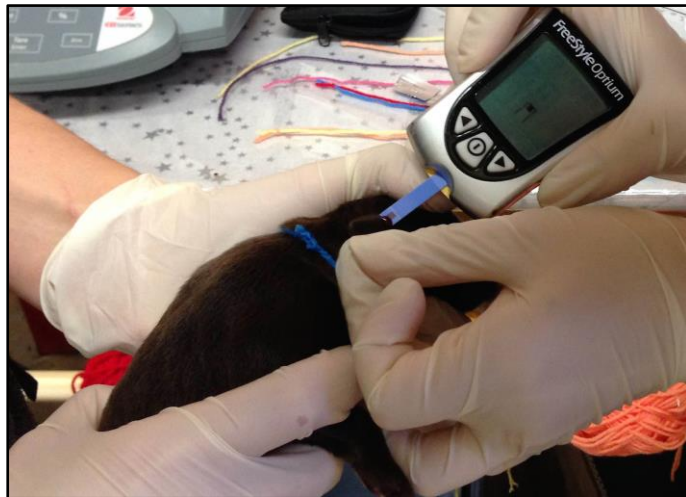
Figure 8- Pesée des chiots



- **MESURE DE LA GLYCEMIE SUR LES CHIOTS**

La glycémie de chaque chiot a été mesurée à l'âge de 24 heures. Pour cela une goutte de sang est prélevée en réalisant une ponction sur le bord ventral latéral de l'oreille à l'aide d'une aiguille de 25G (Figure 9). Un glucomètre (Free Style Optium, Abbott, Illinois, USA) nous indique la glycémie du chiot. Le coefficient de variation de cet appareil est de 2,6 à 3,2% et il ne peut pas mesurer des glycémies inférieures à 20 mg/dl ou supérieures à 500mg/dl. Ainsi dans notre étude, les chiots ayant présenté une glycémie indétectable par l'appareil ont été considérés comme ayant une glycémie à 20 mg/dl.

Figure 9- Mesure de la glycémie sur un chiot



- **RELEVÉ DE LA MORTALITÉ**

Les chiots ont été suivis pendant leurs 3 premières semaines de vie. Si un chiot mourait pendant cette période, la date de sa mort était enregistrée.

1-3 ANALYSE DES PRÉLEVEMENTS

1-3-1 DOSAGE DES IgG DANS LE SERUM DES CHIOTS

Les dosages des IgG ont été réalisés au sein de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse.

PRINCIPE :

La technique utilisée pour doser les IgG dans le sérum des chiots est la technique ELISA dite «en sandwich» (Figure 10).

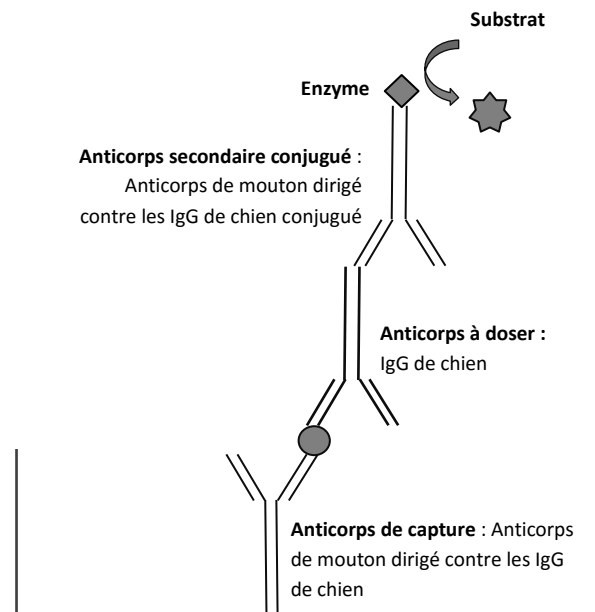


Figure 10– Principe de l'ELISA « en sandwich »

Pour ce test nous tapissons les puits des microplaques d'anticorps de capture, qui sont ici des anticorps de mouton anti-IgG de chien. Après lavage, les sérums à tester contenant les IgG de chien sont déposés dans les puits. Ils vont se lier spécifiquement à l'anticorps de capture. Ensuite, toujours après lavage, un second anticorps de mouton couplé à une enzyme de révélation (ici l'enzyme est l'HRP : horse radish peroxydase) est ajouté dans les puits. Ce second anticorps se lie de manière spécifique aux IgG de chien. Les anticorps de révélation non fixés sont éliminés par lavage. Enfin l'ajout d'un substrat, le TMB (substrat de la peroxydase), permet de faire réagir l'enzyme, libérant un métabolite bleu.

Enfin la réaction est quantifiée par colorimétrie à l'aide d'un spectrophotomètre. Une courbe étalon est réalisée avec des solutions dont la concentration en IgG est connue.

PROTOCOLE :

Le kit utilisé est le « Dog IgG ELISA Quantification Set » (Référence n° E40-118, Bethyl Lab, Montgomery, USA).

▪ **Etape 1 : Coating de la plaque**

100µl d'anticorps polyclonaux purifiés de mouton anti-IgG de chien (référence Bethyl® A40-118A) sont dilués dans 10 ml de solution de carbonate-bicarbonate à 0,05M pH 9,6 (référence Bethyl® C3041). On obtient alors une concentration de 0,01mg/ml d'anticorps de mouton.

Un volume de 100µl de cette solution est distribué dans chaque puits. On laisse incuber 1 heure à une température de 20-25°C.

▪ **Etape 2 : Lavage**

On vide la plaque. On remplit chaque puits à l'aide d'une pissette contenant une solution de PBS-Tween 20 à 0,05% pH 8 (référence Bethyl® T9039).

On réalise cette opération 5 fois puis on tapote la plaque sur du papier absorbant pour éliminer les gouttes restantes.

▪ **Etape 3 : Saturation**

On sature la plaque avec 200µl par puits de PBS-BSA 1% pH 8 (référence Bethyl® T6789).

On laisse incuber 30 minutes à une température de 20-25°C.

▪ **Etape 4 : Lavage**

On réalise la même procédure que pour l'étape 2.

▪ **Etape 5 : Dépôt des échantillons**

On réalise au préalable une dilution à 1/50000 des échantillons dans une solution de PSA-BSA 1% à 0,05% de Tween 20.

De même on réalise les dilutions du sérum étalon. La concentration initiale de ce sérum standard est de 31 g/l, on crée une gamme de concentration allant de 500 ng/ml à 7,8 ng/ml.

Les différentes concentrations du standard et les échantillons sont ensuite déposés dans les puits (100µl par puits) (Figure 11). Chaque échantillon est testé 2 fois pour s'assurer de la répétabilité du test.

On laisse incuber 1 heure à une température de 20-25°C

A	Ech. 1	Ech. 1	Ech. 9	Ech. 9	Ech. 17	Ech. 17	Ech. 25	Ech. 25	Ech. 33	Ech. 33	Ech. 41	Stand. 500 ng/mL
B	Ech. 2	Ech. 2	Ech. 10	Ech. 10	Ech. 18	Ech. 18	Ech. 26	Ech. 26	Ech. 34	Ech. 34	Ech. 41	Stand. 250 ng/mL
C	Ech. 3	Ech. 3	Ech. 11	Ech. 11	Ech. 19	Ech. 19	Ech. 27	Ech. 27	Ech. 35	Ech. 35	Ech. 42	Stand. 125 ng/mL
D	Ech. 4	Ech. 4	Ech. 12	Ech. 12	Ech. 20	Ech. 20	Ech. 28	Ech. 28	Ech. 36	Ech. 36	Ech. 42	Stand. 62.5 ng/mL
E	Ech. 5	Ech. 5	Ech. 13	Ech. 13	Ech. 21	Ech. 21	Ech. 29	Ech. 29	Ech. 37	Ech. 37	Ech. 43	Stand. 31.25 ng/mL
F	Ech. 6	Ech. 6	Ech. 14	Ech. 14	Ech. 22	Ech. 22	Ech. 30	Ech. 30	Ech. 38	Ech. 38	Ech. 43	Stand. 15.6 ng/mL
G	Ech. 7	Ech. 7	Ech. 15	Ech. 15	Ech. 23	Ech. 23	Ech. 31	Ech. 31	Ech. 39	Ech. 39	Ech. 44	Stand. 7.8 ng/mL
H	Ech. 8	Ech. 8	Ech. 16	Ech. 16	Ech. 24	Ech. 24	Ech. 32	Ech. 32	Ech. 40	Ech. 40	Ech. 44	Blank
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Figure 11– Répartition des échantillons et du standard sur la plaque ELISA

- **Etape 6 : Lavage**

On réalise la même procédure que pour l'étape 2.

- **Etape 7 : Anticorps de révélation**

Les anticorps monoclonaux de révélation couplés à l'HRP (référence Bethyl® A40-118P) sont dilués dans la même solution ayant servi à la dilution des échantillons (PSA-BSA 1% à 0,05% de Tween 20) dans le but d'obtenir une concentration de 20 ng/ml. Ensuite 100µl de cette solution sont déposés dans chaque puits et on laisse incuber 1 heure à une température de 20-25°C.

- **Etape 8 : Lavage**

On réalise la même procédure que pour l'étape 2.

- **Etape 9 : Révélation**

On dépose 100µl par puits de TMB (substrat de la peroxydase, référence Bethyl® 080831).

On laisse incuber 15 minutes dans le noir à une température de 20-25°C (Figure 12).

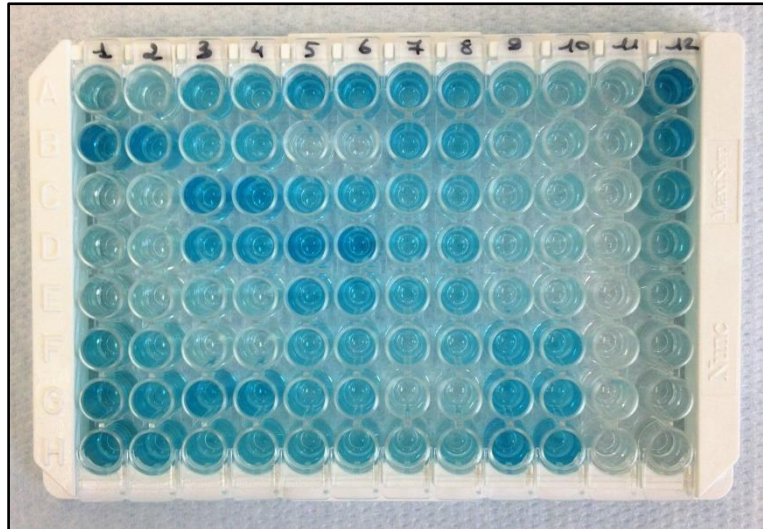


Figure 12 : Plaque ELISA après révélation

- **Etape 10 : Arrêt de la révélation**

On dépose 100µl par puits d'acide sulfurique (référence KPL® 50-85-04) afin de stopper la réaction.

- **Etape 11 : Lecture**

La lecture de l'absorbance se fait à l'aide d'un spectrophotomètre (VersaMax™ ELISA Microplate Reader, Molecular devices, Sunnyvale, USA) avec un laser émettant une longueur d'onde de 450 nm.

Le logiciel Softmax (Molecular Devices Corporation, Sunnyvale, California, USA) nous permet d'obtenir à partir du standard une courbe de la densité optique en fonction de la concentration ainsi que l'équation de cette courbe (Figure 13). De cette manière nous pouvons obtenir la concentration en IgG de chaque échantillon en fonction de sa densité optique.

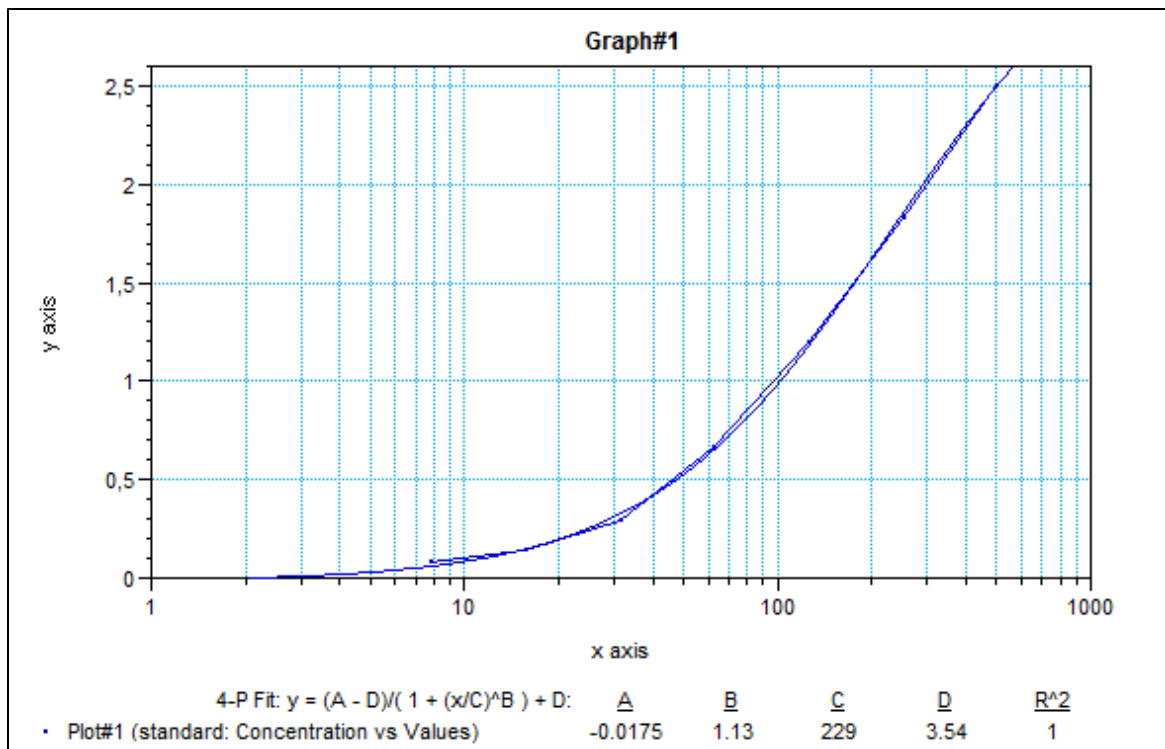


Figure 13– Exemple de courbe de densité optique en fonction de la concentration et l'équation obtenue avec le logiciel Softmax

Si une densité optique obtenue pour les échantillons se trouve au-dessus de la densité optique maximale dans le standard, alors cet échantillon est dosé une seconde fois en le diluant à 1/100000. De même, si une densité optique obtenue pour les échantillons se trouve en-dessous de la densité optique minimale dans le standard, alors cet échantillon est dosé en le diluant cette fois à 1/25000 voire 1/10000. Enfin si les deux concentrations obtenues pour un même échantillon diffèrent de plus de 15%, cet échantillon est dosé une nouvelle fois à la même concentration.

Les dosages ont été réalisés sur plusieurs jours incluant différentes plaques. Le coefficient de variation intraplaque (moyenne des différents coefficients de variation d'une même plaque) et le coefficient de variation interplaque (moyenne des coefficients de variation du standard des différentes plaques utilisées) ont été calculés afin de s'assurer de la répétabilité de la méthode. Le coefficient de variation intraplaque était de 8,9% et le coefficient de variation interplaque était de 10,2%.

1-3-2 DOSAGE DES IGG DANS LE COLOSTRUM

Les dosages des IgG dans le colostrum ont été réalisés à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Les échantillons récoltés pour toutes les mamelles d'une même chienne ont été réunis dans un seul tube (50 µl de chaque échantillon individuel). Le colostrum a été centrifugé 30 minutes à 2000G à 4°C. Plusieurs phases sont alors mises en évidence. Le surnageant a été récupéré puis dilué à 1/400000. Le reste du dosage est réalisé exactement selon le même protocole que celui utilisé pour le dosage des IgG sériques des chiots.

Le coefficient de variation intraplaque était de 4,7% et le coefficient de variation interplaque était de 4,3%.

1-3-3 DOSAGE DES NUTRIMENTS DANS LE COLOSTRUM

Pour calculer la valeur énergétique du colostrum les taux de protéines, glucides et lipides ont été déterminés. Les dosages de ces différents nutriments ont été réalisés par le Département de nutrition du Smithsonian Institute de Washington.

Le taux de protéines est déterminé à partir du taux d'azote total. L'analyse des gaz de combustion à 950°C de l'échantillon séché permet de doser l'azote total. On multiplie ensuite l'azote total par 6,38 et on obtient le taux de protéines brutes en pourcentage (en gramme pour 100ml de colostrum).

Le taux de glucides est obtenu par colorimétrie. La méthode utilisée est la méthode au phénol sulfurique, avec une absorbance de 450nm. Une gamme étalon de monohydrate de lactose dont la teneur est connue permet de déterminer la teneur en pourcentage de notre échantillon.

Pour doser les lipides, les globules gras du colostrum sont d'abord détruits par de l'hydroxyde d'ammonium et de l'éthanol. Ensuite les lipides sont extraits avec de l'éther diéthylique et de l'éther de pétrole. Les lipides extraits sont pesés et on obtient le taux de lipides en pourcentage.

La valeur énergétique peut alors être calculée grâce à l'équation suivante :

$$\text{Valeur énergétique (kcal/g)} = [5,86 \times \text{protéines (\%)} + 3,95 \times \text{glucides (\%)} + 9,11 \times \text{lipides (\%)}] / 100$$

Les techniques utilisées sont présentées plus en détails par Petzinger et al. (2014).

1-4 ANALYSE STATISTIQUE

Les valeurs sont indiquées sous la forme moyenne \pm écart type.

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Tanagra® (Tanagra 1.4, Lyon, France).

Pour tester la normalité de chacun des paramètres, nous avons utilisé le test de Shapiro-Wilk. Les tests paramétriques ont été réalisés grâce au test T ou au test ANOVA et les tests non paramétriques avec le test Kruskal Wallis et Mann Whitney.

La corrélation entre les différents paramètres a été testée avec le test rho de Spearman et le coefficient de corrélation de Pearson.

Les tests Khi 2 ont été réalisés sur le site internet BIOSTAT TGV <http://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/>.

Nous avons considéré deux valeurs significativement différentes si $p < 0,05$.

Si nous comparons plus de 2 groupes entre eux alors nous appliquons la correction de Bonferroni et nous considérons la différence comme significative si $p < 0,05/\text{nombre de tests réalisés}$.

Pour évaluer l'influence des caractéristiques intrinsèques de la chienne (âge, race, parité), nous avons regardé l'effet de ces différents paramètres sur la concentration en IgG (en g/l) et la teneur en énergie (en kcal/g) du colostrum qu'elle produit.

Pour évaluer l'impact de la qualité du colostrum sur la santé du chiot, les colostrums ont été répartis en catégories : des catégories de colostrum ont été réalisées artificiellement en fonction de leur qualité immunologique. Les colostrums de mauvaise qualité (noté MQ) ont été définis comme les 25% des colostrums ayant la teneur en IgG la plus faible. De même, le groupe des colostrums de très bonne qualité (noté TBQ) a été composé des 25% des colostrums ayant la plus haute teneur en IgG. Enfin les colostrums de bonne qualité (noté BQ) ont été définis comme les 50% des colostrums restants. Selon le même principe que celui précédemment cité nous avons défini des colostrums de mauvaise, bonne et très bonne qualité énergétique.

Pour évaluer le lien entre la qualité immunologique du colostrum et la santé du chiot, nous avons cherché s'il existe un lien entre la concentration en IgG dans le

colostrum de la mère réparti en catégories et la concentration sanguine en IgG du chiot à J2 et/ou avec la mortalité du chiot.

Pour évaluer le lien entre la qualité énergétique du colostrum et la santé du chiot, nous avons cherché s'il existe un lien entre la valeur énergétique du colostrum de la mère réparti en catégories et la glycémie à J1 du chiot et/ou le taux de croissance entre J0 et J2 du chiot et/ou la mortalité du chiot.

Pour mettre en relation la qualité énergétique et immunologique du colostrum, nous avons cherché s'il existe une corrélation linéaire entre ces deux paramètres et quelle était la concentration en IgG pour les colostrums de différentes qualités énergétiques. Enfin pour regarder l'impact sur les chiots, nous avons cherché s'il existe un lien entre la concentration en IgG sériques des chiots et la croissance de ceux-ci et ensuite s'il existe un lien entre la qualité énergétique du colostrum et la santé globale du chiot (concentration sérique en IgG et croissance). Nous avons fait de même pour la qualité immunologique.

2 RESULTATS

Notre étude a été menée sur deux populations de chiens différentes, nous présenterons donc les deux études de manière séparée. D'abord nous nous intéresserons à l'étude visant à définir la qualité immunologique du colostrum, ensuite nous nous pencherons sur l'aspect énergétique de la qualité du colostrum et enfin nous regarderons s'il existe une relation entre les deux (sur une population de chiens pour lesquels nous disposons de toutes les informations, à la fois sur la qualité immunologique et énergétique).

2-1 QUALITE IMMUNOLOGIQUE DU COLOSTRUM

2-1-1 DESCRIPTION

- **LES CHIENNES**

- **Race**

L'étude a été menée sur 139 chiennes, incluant 17 races différentes, 31,6% (44/139) de race de grande taille (Large), 18,0% (25/139) de race de taille moyenne (Medium) et 50,4% (70/139) de race de petite taille (Small) (Tableau 6).

Tableau 6 – Effectif de chiennes incluses dans l'étude de la qualité immunologique du colostrum en fonction de la race et du format racial

Nombre de chiennes	139	Large	44	Berger Allemand	4
				Bouvier Bernois	1
				Boxer	3
				Golden Retriever	19
				Labrador	17
		Medium	25	Berger australien	1
				Cocker	24
		Small	70	Bichon frisé	8
				Bichon maltais	10
				Caniche	7
				Jack Russel	5
				Lhasa apso	11
				Scottish	3
				Shih-tzu	7
Spitz	5				
Westie	8				
Yorkshire terrier	6				

➤ Age

L'âge moyen des chiennes de cette étude est de $5,3 \pm 2,0$ ans (Figure 14). Pour 4 chiennes de l'étude, l'âge est inconnu de l'éleveur.

Les jeunes chiennes représentent 18,4% (25/135) de la population, les chiennes adultes en représentent 46,3% (63/135) et les 35,0% (48/135) restant sont les chiennes âgées.

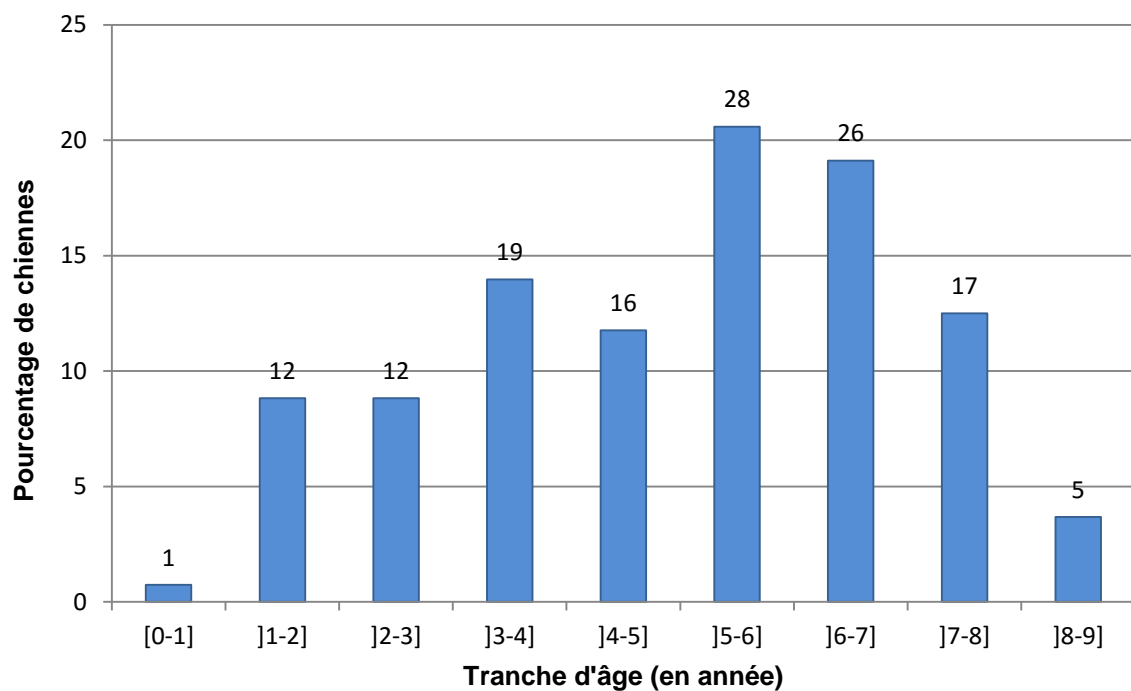


Figure 14– Répartition de l'âge des chiennes de la population dans l'étude de la qualité immunologique du colostrum, pourcentage de chiennes par tranche d'âge (n=135)

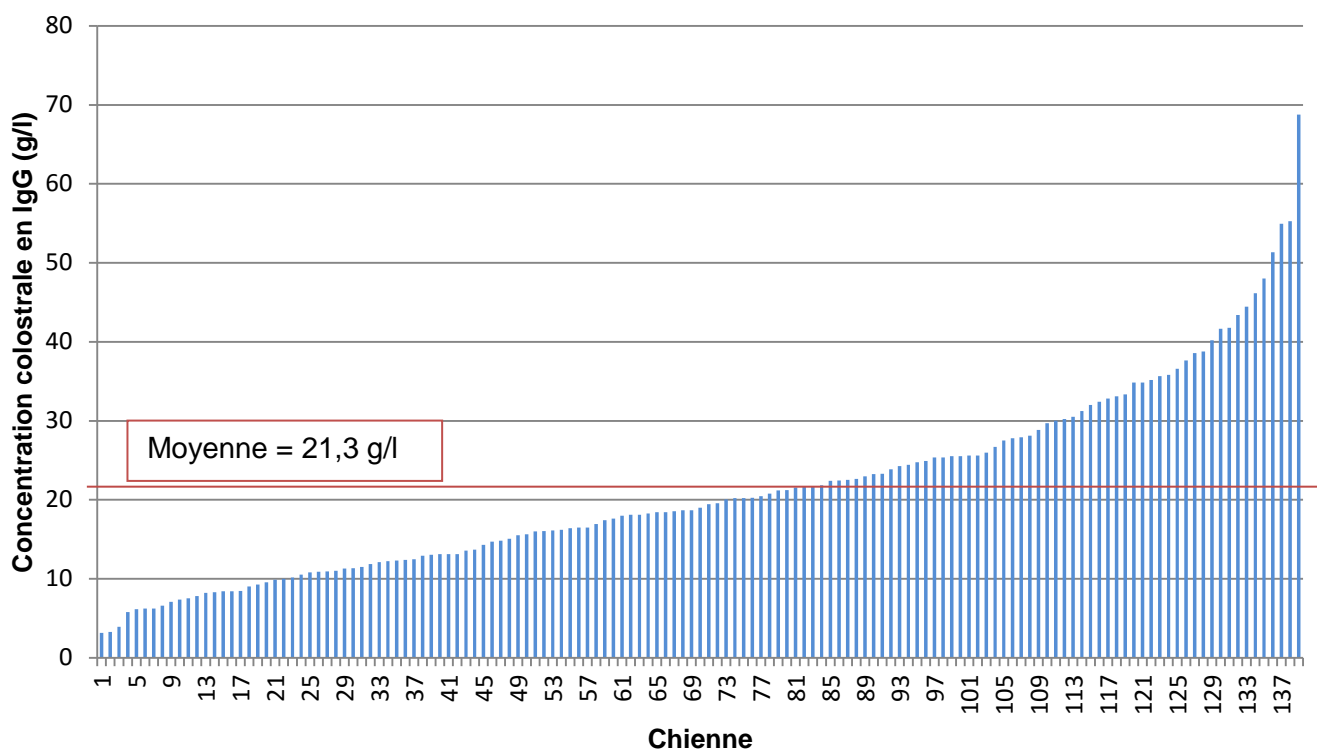
Légende :]1-2]= chiennes ayant entre 1 an (exclus) et 2 ans (inclus)

➤ Parité

12,2% (17/139) des chiennes de l'étude sont primipares.

➤ Concentration en IgG du colostrum

La concentration en IgG du colostrum est d'en moyenne $21,3 \pm 11,9$ g/l et la médiane est de 19 g/l (Figure 15). La concentration minimale observée est de 3,1 g/l et la concentration maximale est de 68,8 g/l. Le coefficient de variation inter-chiennes est de 55,7%.



*Figure 15- Concentration en IgG du colostrum par chienne
n= 139 (moyenne de toutes les mamelles)*

Un colostrum est défini comme étant de mauvaise qualité immunologique (MQ) si sa concentration en IgG est inférieure ou égale à 12,4 g/l. Un colostrum est dit de bonne qualité (BQ) si sa teneur en IgG est comprise entre 12,4 g/l (exclus) et 27,1 g/l (inclus). Enfin un colostrum est de très bonne qualité (TBQ) s'il a une concentration en IgG strictement supérieure à 27,1 g/l.

- **LES CHIOTS**

- **Race**

L'étude inclut 657 chiots, dont 38,2% (251/657) sont de grand format racial, 17,8% (117/657) sont de format racial moyen et 44,0% (289/657) sont de petit format racial (Tableau 7).

- **Sexe**

L'étude comporte 46,6% (306/657) de femelles soit un sexe ratio de 1,1 :1.

Tableau 7 – Effectif des chiots inclus dans l'étude de la qualité immunologique du colostrum en fonction de la race et du format racial

Nombre de chiots	657	Large	251	Berger Allemand	19
				Bouvier Bernois	8
				Boxer	19
				Golden Retriever	113
				Labrador	92
		Medium	117	Berger australien	5
				Cocker	112
		Small	289	Bichon frisé	29
				Bichon maltais	55
				Caniche	24
				Jack Russel	15
				Lhasa apso	46
				Scottish	12
				Shih-tzu	33
				Spitz	16
Westie	29				
Yorkshire terrier	30				

➤ Taille des portées

La taille de la portée est d'en moyenne $5,7 \pm 2,4$ chiots (Figure 16). La taille de la portée prend en compte tous les chiots nés (y compris les mort-nés).

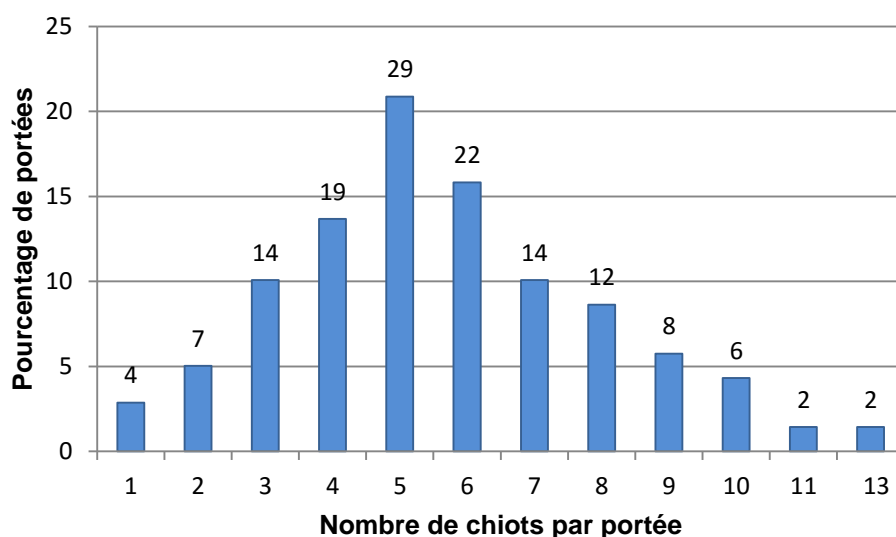


Figure 16- Répartition de la taille des portées
($n=139$ portées, 787 chiots nés totaux)

➤ Concentration sérique en IgG à J2

La concentration sérique moyenne en IgG à J2 des 657 chiots inclus est de $5,0 \pm 4,3$ g/l et la médiane est de 3,9 g/l (Figure 17). La concentration minimale observée est de 0,1 g/l et la concentration maximale est de 25,8 g/l. 31% (204/657) des chiots sont sous le seuil de 2,3 g/l d'IgG sériques à J2 (seuil définissant le déficit de transfert d'immunité passive ; Mila et al. 2014). Le coefficient de variation inter-chiots est de 85,7 %.

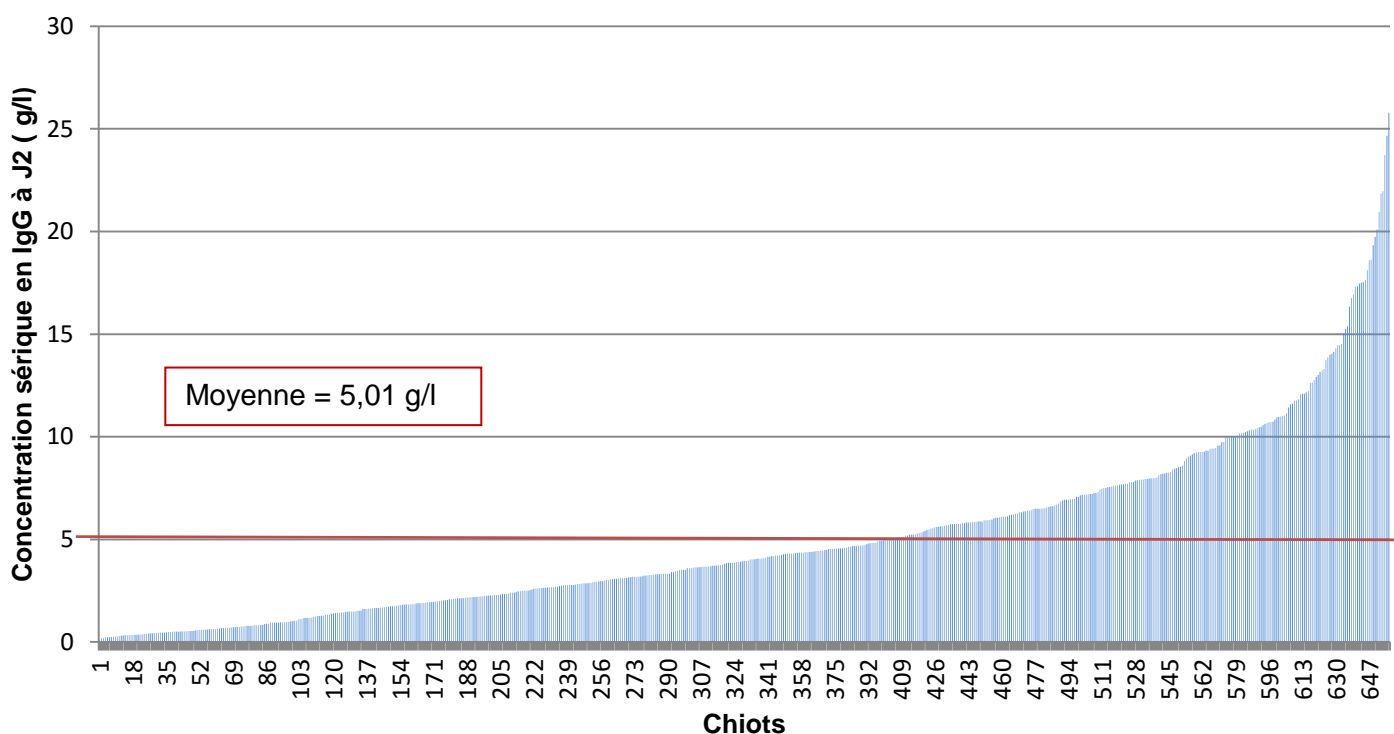


Figure 17- Concentration sérique en IgG à J2 (n=657)

2-1-2 FACTEURS INFLUENÇANT LA QUALITE IMMUNOLOGIQUE DU COLOSTRUM

Dans notre étude, ni l'âge de la chienne ($p=0,36$), ni son format racial ($p=0,97$), ni sa parité ($p=0,12$), ni la taille de sa portée ($p=0,99$), n'ont d'influence sur la qualité immunologique du colostrum qu'elle produit.

2-1-3 RELATION ENTRE QUALITE IMMUNOLOGIQUE DU COLOSTRUM ET SANTE DU CHIOT

- **Influence de la qualité immunologique du colostrum sur la concentration sérique en IgG des chiots à J2**

La concentration sérique en IgG à J2 n'est pas significativement différente entre les chiots ayant reçu les différentes catégories de colostrum ($p=0,35$; Figure 18).

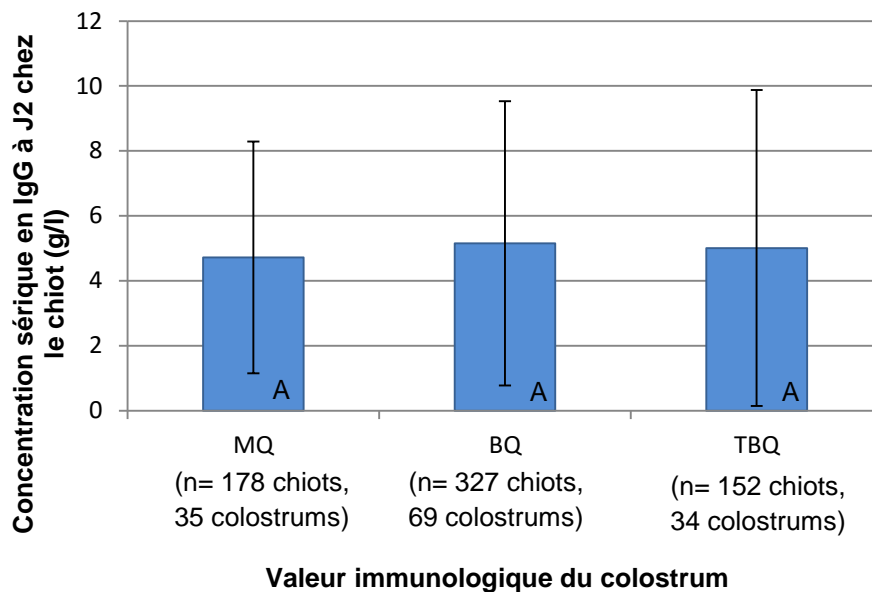


Figure 18- Moyenne des IgG sériques des chiots à J2 en fonction de la concentration en IgG du colostrum de leur mère réparti en catégories MQ= Mauvaise qualité] 3,1g/l ; 12,4g/l], BQ= Bonne qualité]12,4 g/l ;27,1g/l], TBQ = Très bonne qualité]27,1g/l ;68,8g/l]

Les barres portant une lettre identique ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$)

Parmi tous les chiots, 7,4% (49/657) présentaient une concentration sérique en IgG à J2 inférieure à 2,3g/l (déficit du transfert d'immunité passif : DTIP) en ayant reçu un colostrum de mauvaise qualité (MQ), 16,0% (105/657) étaient en DTIP en ayant bu du colostrum de bonne qualité et enfin 7,6% (50/657) des chiots étaient en DTIP alors qu'ils avaient reçu du colostrum de très bonne qualité (TBQ). Ces pourcentages ne sont pas significativement différents ($p = 0,48$).

- **Influence de la qualité immunologique du colostrum sur la mortalité des chiots**

Parmi les 188 chiots recevant un colostrum de mauvaise qualité, 24 sont morts soit 12,7%, alors que les taux de mortalité des chiots recevant du bon et du très bon colostrum en termes de qualité immunologique sont respectivement de 20,1% (73/351) et 22,0%(37/168). Il y a une tendance qui apparaît : le taux de mortalité des chiots recevant un colostrum de mauvaise qualité a tendance à être moins élevé que les chiots recevant un colostrum de bonne ou de très bonne qualité ($p=0,02$ supérieur à p significative après la correction de Bonfferoni : 0,017).

2-2 QUALITE ENERGETIQUE DU COLOSTRUM

2-2-1 DESCRIPTION

- **LES CHIENNES**

- **Races**

L'étude de la qualité énergétique du colostrum a été menée sur 59 chiennes de 15 races différentes. Les chiennes de grand format représentaient 32,2% (19/59) de la population, celles de format moyen 20,3% (12/59) et enfin celles de petit format 47,5% (28/59) (Tableau 8).

Tableau 8 – Effectif de chiennes incluses dans l'étude de la qualité énergétique du colostrum en fonction de la race et du format racial

Nombre de chiennes	59	Large	19	Berger Allemand	1
				Boxer	1
				Golden Retriever	10
				Labrador	7
		Medium	12	Cocker	12
		Small	28	Bichon frisé	3
				Bichon maltais	2
				Caniche	4
				Jack Russel	2
				Lhassa apso	5
				Scottish	1
				Shih-tzu	3
				Spitz	2
				Westie	4
				Yorkshire terrier	2

- **Age**

L'âge moyen des chiennes est de 5,5 ±1,7 ans. L'âge de 3 des chiennes était inconnu. Cette population est composée de 10,7% (6/59) de jeunes chiennes, de 57,2% (32/59) de chiennes adultes et de 32,1% (18/59) de chiennes âgées (Figure 19).

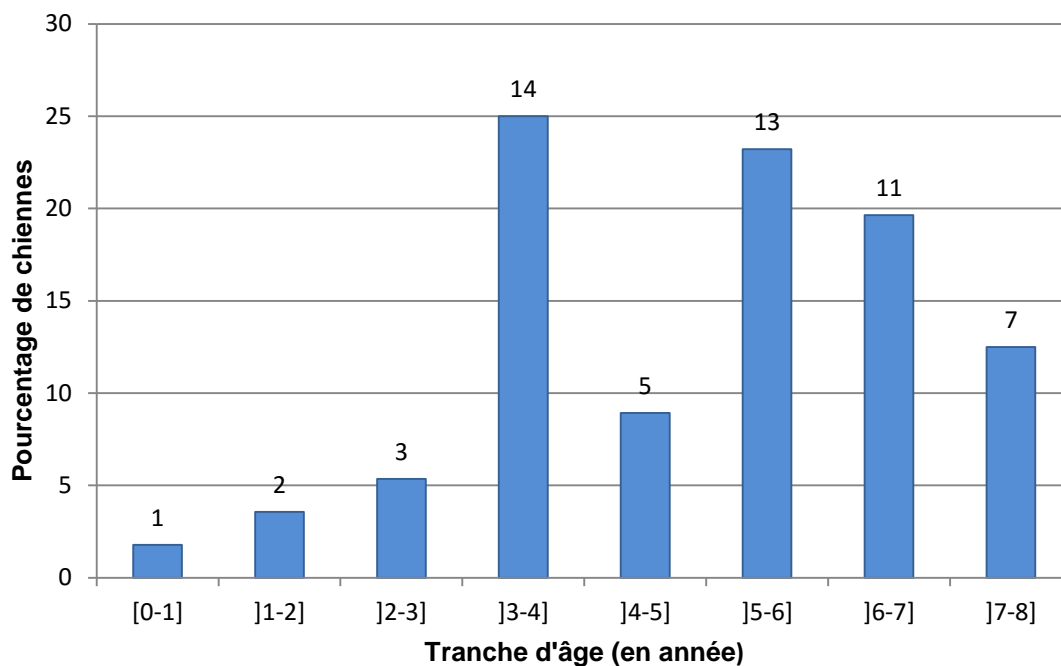


Figure 19– Répartition de l'âge des chiennes de la population dans l'étude de la qualité énergétique du colostrum, pourcentage de chiennes par tranche d'âge (n=56)

Légende :]1-2]= chiennes ayant entre 1 an (exclus) et 2 ans (inclus)

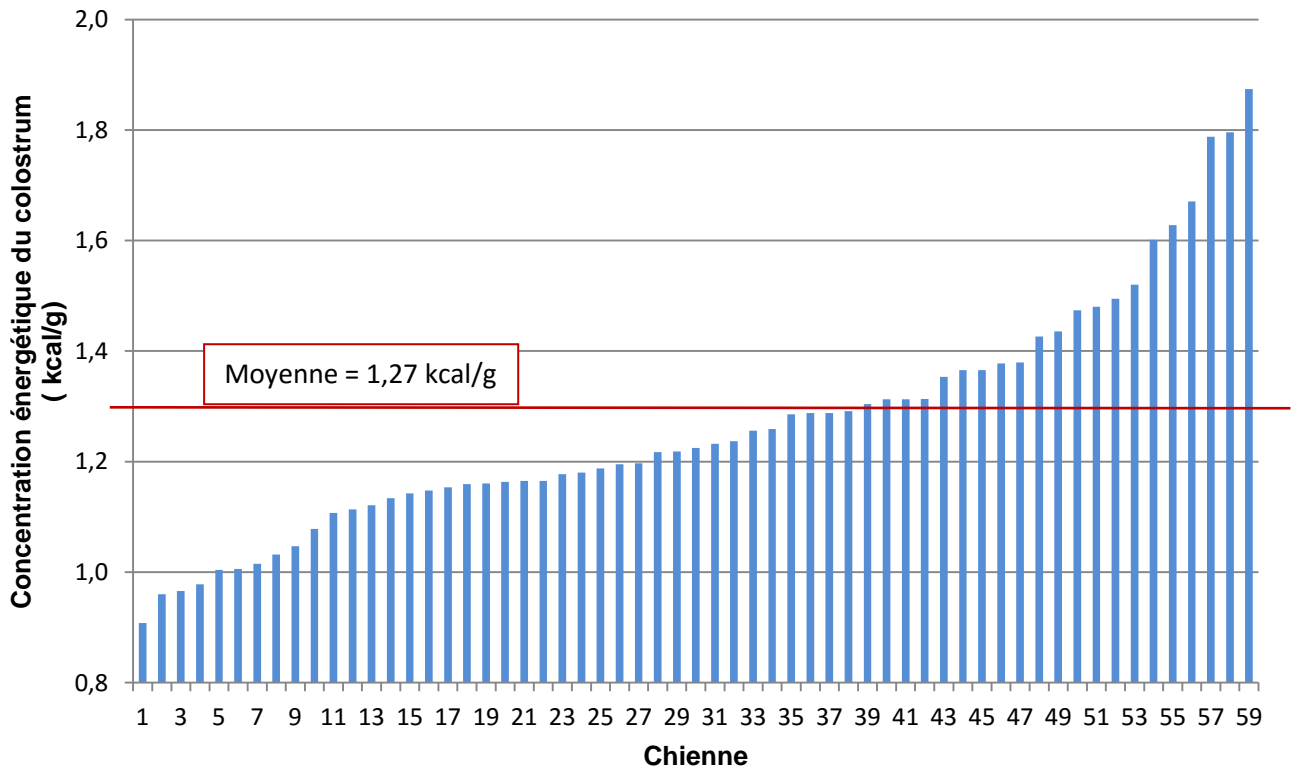
➤ **Parité**

Les chiennes primipares représentent 6,8% de la population, soit 4 chiennes de l'étude sur les 59 incluses.

➤ **Valeur énergétique du colostrum**

La valeur énergétique du colostrum est d'en moyenne $1,27 \pm 0,21$ kcal/g et la médiane est de 1,23 kcal/g (Figure 20). La valeur minimale observée est de 0,908 kcal/g et la maximale est de 1,874 kcal/g. Le coefficient de variation inter-chiennes est de 16,7%.

Un colostrum est défini comme étant de mauvaise qualité énergétique (MQ) si sa valeur énergétique est inférieure ou égale à 1,145 kcal/g. Un colostrum est dit de bonne qualité (BQ) si sa teneur en énergie est comprise entre 1,145 kcal/g (exclus) et 1,365 kcal/g (inclus). Enfin un colostrum est de très bonne qualité (TBQ) s'il a une valeur énergétique strictement supérieure à 1,365 kcal/g.



*Figure 20- Concentration en énergie du colostrum par chienne
n= 59 (moyenne de toutes les mamelles)*

- **LES CHIOTS**

- **Races**

L'étude inclut 300 chiots dont 40,7% (122/300) de chiots de grande race, 19,3% (58/300) de chiots de race moyenne et 40,0% (120/300) de chiots de petite race (Tableau 9).

- **Sexe**

La population de chiots est composée de 45% (135/300) de femelles soit un sexe ratio de 1,2 :1.

Tableau 9 – Effectif des chiots inclus dans l'étude de la qualité énergétique du colostrum en fonction de la race et du format racial

Nombre de chiots	300	Large	122	Berger Allemand	3
				Boxer	8
				Golden Retriever	73
				Labrador	38
		Medium	58	Cocker	58
		Small	120	Bichon frisé	8
				Bichon maltais	17
				Caniche	15
				Jack Russel	7
				Lhasa apso	22
				Scottish	1
				Shih-tzu	13
				Spitz	4
				Westie	19
Yorkshire terrier	14				

➤ Taille des portées

La taille de la portée est d'en moyenne $5,6 \pm 2,5$ chiots (Figure 21).

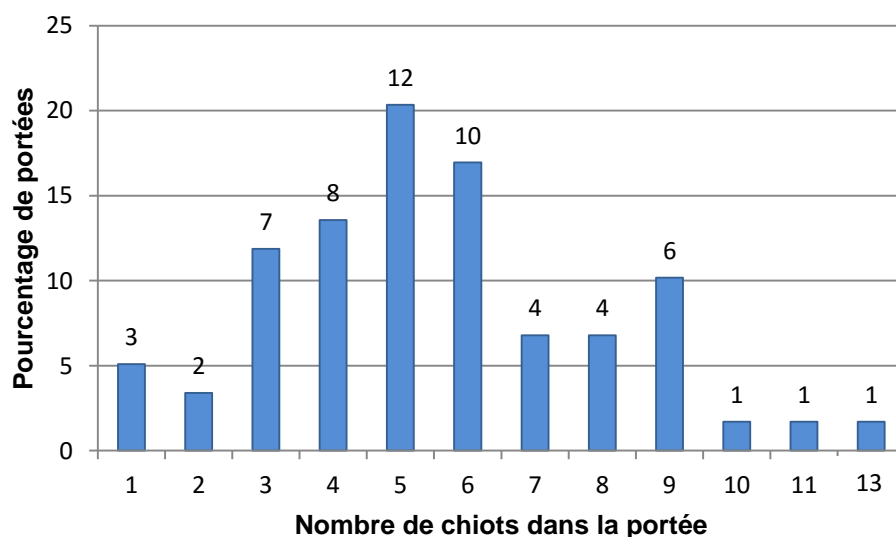


Figure 21- Répartition de la taille des portées
(n=59 portées, 328 chiots nés totaux)

➤ Glycémie des chiots à J1

La glycémie des chiots après un jour de vie est d'en moyenne 115 mg/dl \pm 43 mg/dl et la médiane est de 117 mg/dl (Figure 22). Pour 3 chiots, nous n'avons pas la valeur de glycémie à J1. La glycémie la plus faible observée est inférieure à 20 mg/dl (non mesurable par le glucomètre) et la glycémie maximale est de 228 mg/dl. Le coefficient de variation inter-chiots est de 37,1%. 28,3% (84/297) des chiots ont une glycémie à J1 sous le seuil de 92 mg/dl (seuil associé à une augmentation du risque de mortalité néonatale ; Mila et al. 2015c)

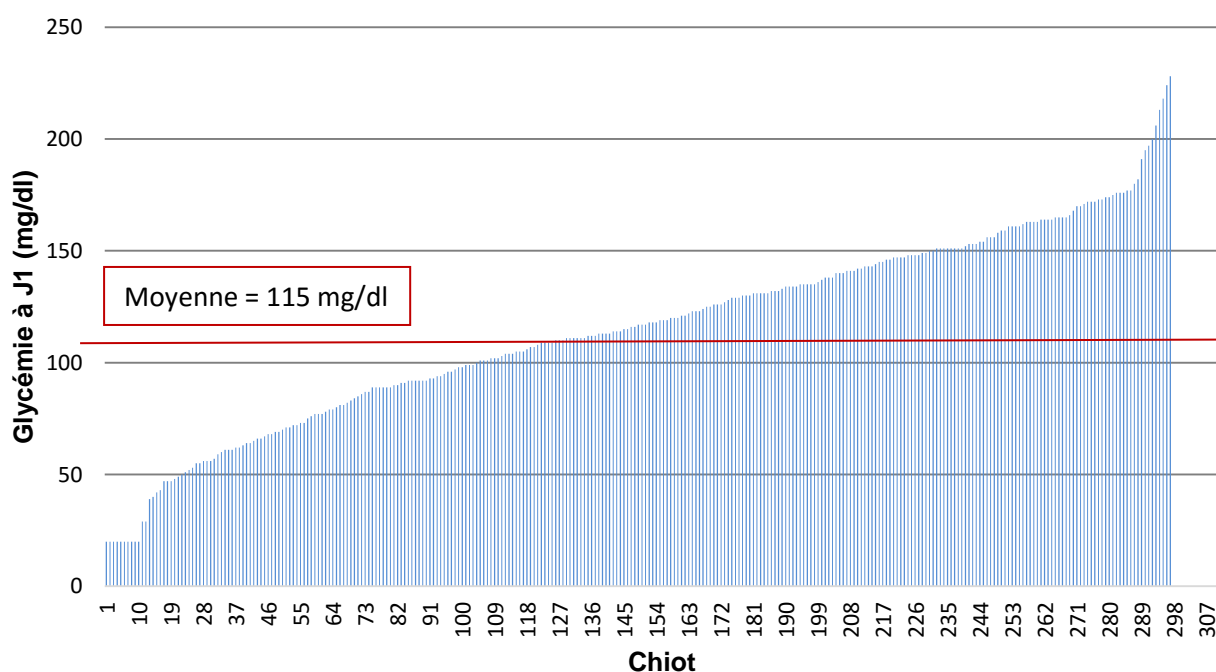


Figure 22- Glycémie à J1 (n=297 chiots)

➤ Taux de croissance des chiots entre J0 et J2

Le taux de croissance des chiots entre J0 et J2 est d'en moyenne 3,3 \pm 12,4% et la médiane est de 3,3% (Figure 23). Pour 8 chiots de l'étude nous ne possédons pas le taux de croissance car ils sont morts entre J1 et J2. La croissance la plus faible observée est une perte de poids de 33,2% et la croissance la plus forte observée est un gain de poids de 59,4%. Le coefficient de variation inter-chiots est de 380%. 27,4% (80/292) des chiots ont une croissance inférieure à -4% (seuil associé à une augmentation du risque de mortalité néonatale, Mila et al. 2015b).

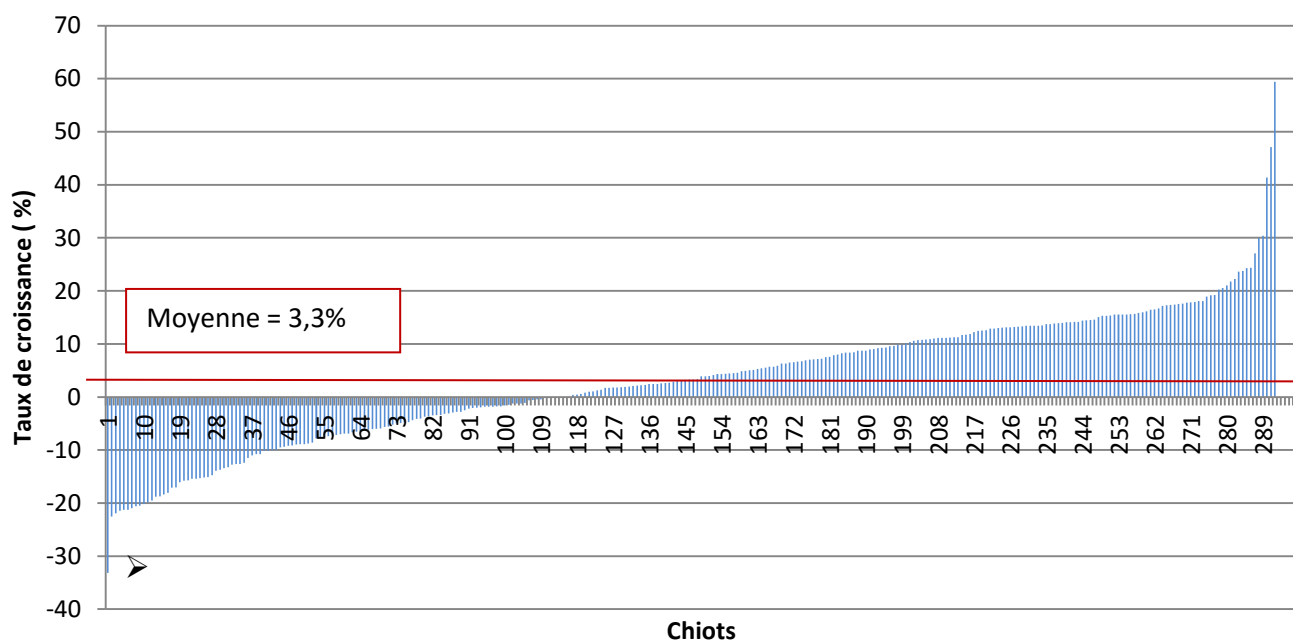


Figure 23- Distribution des taux de croissance entre J0 et J2 (n=292 chiots)

➤ **Lien entre la glycémie du chiot à J1 et son taux de croissance**

Il existe une corrélation positive entre la glycémie à J1 et le taux de croissance entre J0 et J2 ($r=0,44$; $p<0,001$; Figure 24). Les chiots qui perdent plus de 4% de leur poids entre J0 et J2 ont une glycémie moyenne de $82,6 \pm 37,1$ mg/dl alors que les chiots qui ont une croissance supérieure à -4% entre J0 et J2 ont une glycémie moyenne de $129,6 \pm 35,3$ mg/dl.

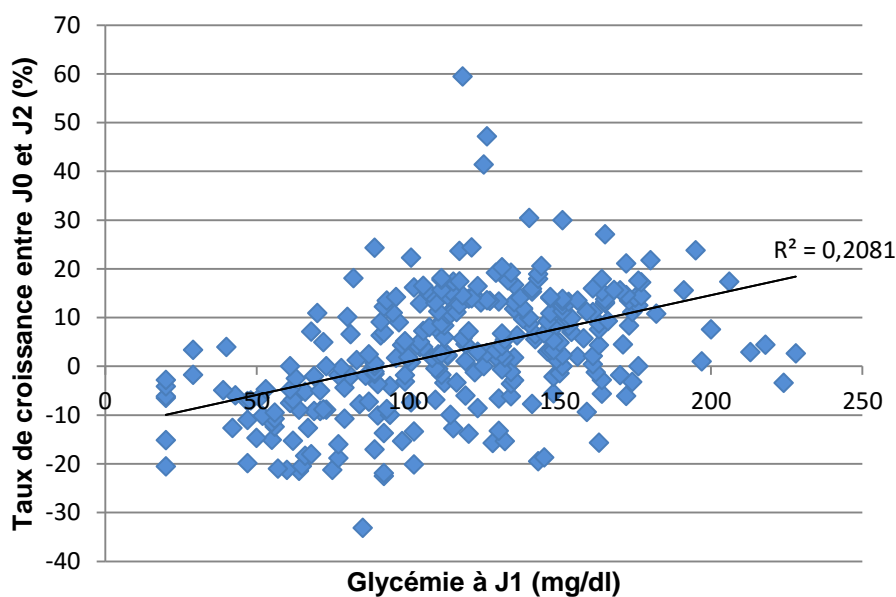


Figure 24- Corrélation entre le taux de croissance entre J0 et J2 et la glycémie à J1 (n=292 chiots)

2-2-2 FACTEURS INFLUENÇANT LA QUALITE ENERGETIQUE DU COLOSTRUM

La parité a eu un effet significatif sur la qualité énergétique du colostrum : chez les primipares, la valeur énergétique du colostrum est de $1,58 \pm 0,22$ kcal/g contre $1,24 \pm 0,19$ kcal/g chez les multipares ($p=0,008$; Figure 25).

De la même façon, l'âge des chiennes a influencé de manière significative la qualité énergétique du colostrum produit : les chiennes de moins de 3 ans ont produit un colostrum avec une valeur énergétique d'en moyenne $1,54 \pm 0,27$ kcal/g contre $1,22 \pm 0,18$ kcal/g pour les chiennes adultes et $1,23 \pm 0,20$ kcal/g pour les chiennes âgées ($p= 0,02$; Figure 25).

Enfin le format racial a également montré un effet significatif sur la qualité énergétique du colostrum : les chiennes de petite race ont produit un colostrum avec une valeur énergétique de $1,33 \pm 0,24$ kcal/g contre $1,28 \pm 0,21$ kcal/g pour les chiennes de taille moyenne et $1,17 \pm 0,12$ kcal/g pour les chiennes de grande taille ($p=0,04$; Figure 25).

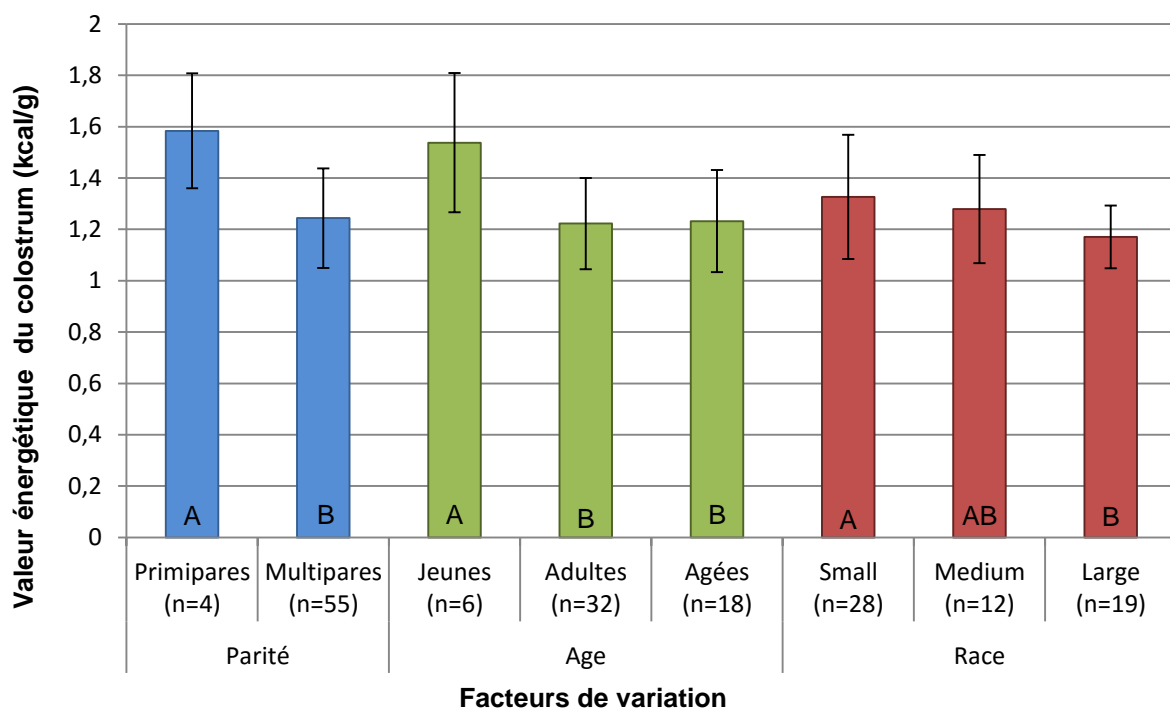


Figure 25-Influence de la parité de la chienne, de son format racial et de son âge sur la valeur énergétique du colostrum qu'elle produit (n=59)

Les barres portant des lettres différentes présentent une différence significative ($p<0,05$)

La taille de la portée n'a pas d'influence sur la valeur énergétique du colostrum ($p=0,44$).

2-2-3 RELATION ENTRE QUALITE ENERGETIQUE DU COLOSTRUM ET SANTE DU CHIOT

- **Influence de la qualité énergétique du colostrum sur la glycémie à J1 du chiot**

Il apparait que les chiots ayant reçu un colostrum de mauvaise qualité énergétique (MQ) ont en moyenne une glycémie plus faible que les chiots ayant reçu un colostrum de très bonne qualité (TBQ) (respectivement 106 ± 43 mg/dl et 127 ± 41 mg/dl ; $p=0,004$; Figure 26).

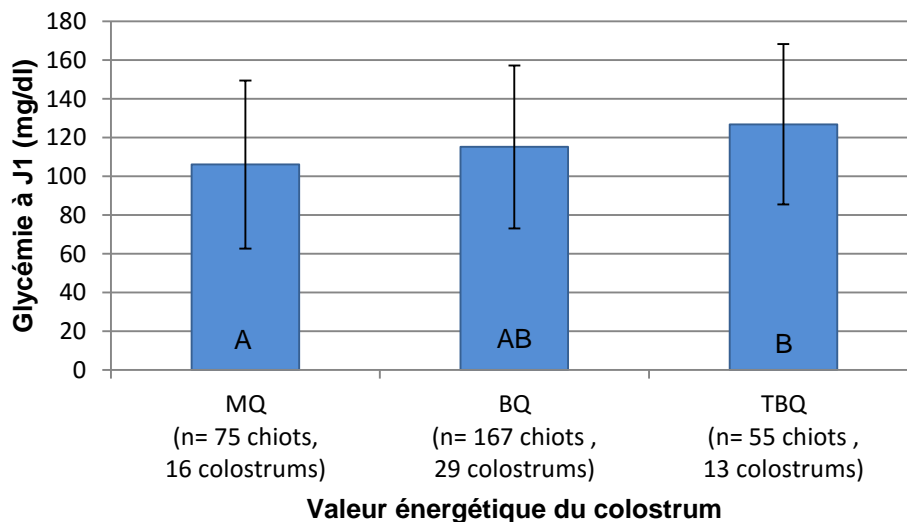


Figure 26- Glycémie à J1 des chiots en fonction de la valeur énergétique du colostrum de leur mère réparti en catégories. MQ = Mauvaise qualité [0,908 kcal/g, 1,145 kcal/g], BQ= Bonne qualité [1,145kcal/g, 1,365 kcal/g], TBQ = très bonne qualité [1,365 kcal/g, 1,874 kcal/g]

Les barres portant des lettres différentes présentent une différence significative ($p<0,05$)

Le pourcentage de chiots avec une glycémie inférieure à 92 mg/dl (seuil minimal pour diminuer le risque de mortalité néonatale) est significativement plus important parmi les chiots ayant reçu un colostrum de mauvaise qualité que parmi les chiots ayant reçu un colostrum de bonne ou de très bonne qualité (41,3% (31/75) vs 23,9% (53/222) ; $p=0,014$; Figure 27).

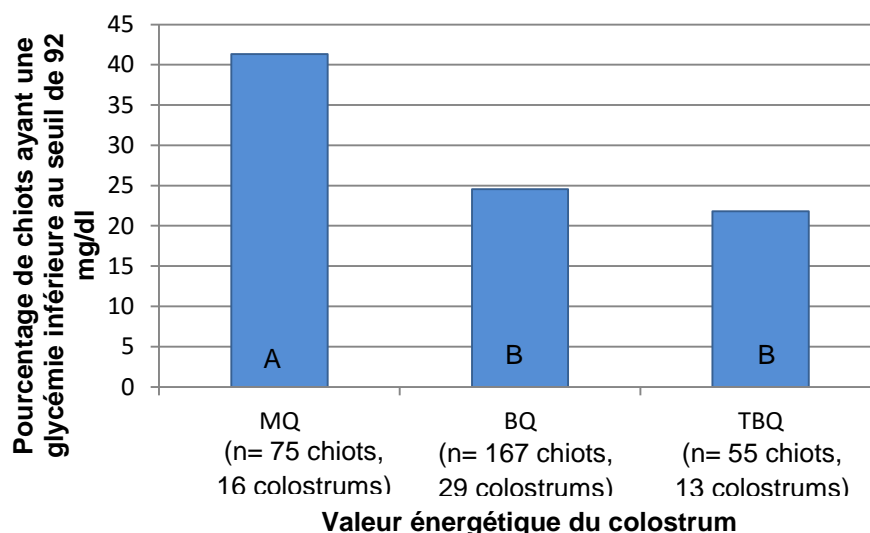


Figure 27- Pourcentage de chiots ayant une glycémie inférieure à 92 mg/dl en fonction de la valeur énergétique du colostrum de leur mère réparti en catégories. MQ = Mauvaise qualité [0,908 kcal/g, 1,145 kcal/g], BQ= Bonne qualité [1,145kcal/g, 1.365 kcal/g], TBQ = très bonne qualité [1,365 kcal/g, 1.874 kcal/g]

Les barres portant des lettres différentes présentent une différence significative ($p < 0,05$)

- **Influence de la qualité énergétique du colostrum sur le taux de croissance des chiots entre J0 et J2**

Le taux de croissance des chiots entre J0 et J2 n'a pas été influencé par la qualité énergétique du colostrum de leur mère ($p=0,14$; Figure 28).

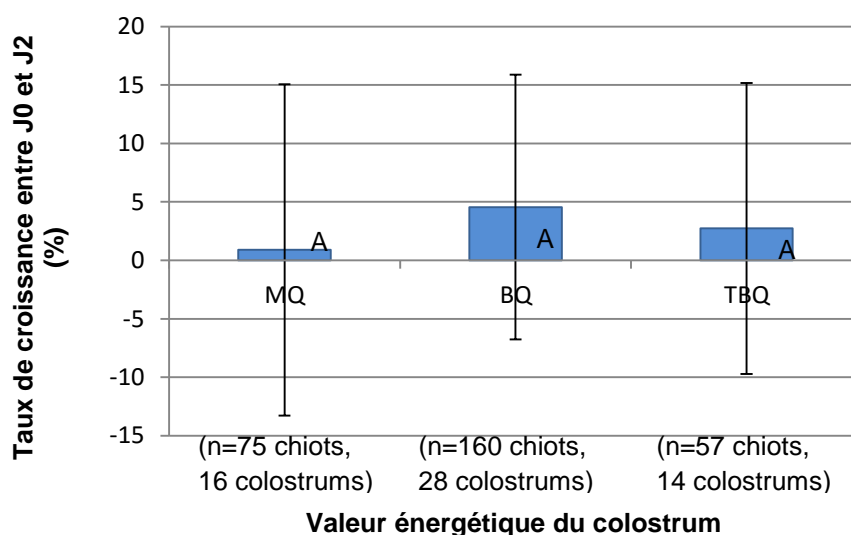


Figure 28- Taux de croissance des chiots entre J0 et J2 en fonction de la valeur énergétique du colostrum de leur mère réparti en catégorie. MQ = Mauvaise qualité [0,908 kcal/g, 1,145 kcal/g], BQ= Bonne qualité [1,145kcal/g, 1,365 kcal/g], TBQ = très bonne qualité [1,365 kcal/g, 1.874 kcal/g]

Les barres portant une lettre identique ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$)

Le pourcentage de chiots à risque, c'est-à-dire ayant un taux de croissance inférieur à -4%, est plus important pour les chiots ayant reçu du colostrum de mauvaise qualité que pour les autres colostrums (41,3% (31/75) vs 22,2% (48/217) ; $p=0,003$; Figure 29).

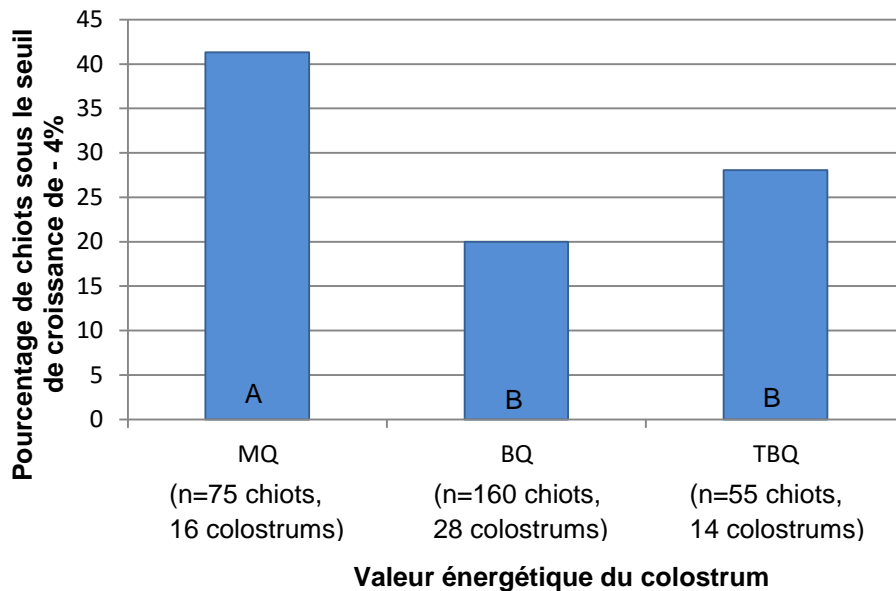


Figure 29- Pourcentage de chiots ayant un taux de croissance entre J0 et J2 inférieur à -4% en fonction de la valeur énergétique du colostrum de leur mère réparti en catégories. MQ = Mauvaise qualité [0,908 kcal/g, 1,145 kcal/g], BQ= Bonne qualité [1,145kcal/g, 1,365 kcal/g], TBQ = très bonne qualité [1,365 kcal/g, 1,874 kcal/g]

Les barres portant des lettres différentes présentent une différence significative ($p<0,05$)

- **Influence de la qualité énergétique sur la mortalité des chiots**

Le taux de mortalité des chiots ayant reçu un colostrum de mauvaise qualité (MQ) est de 20,0% (15/75), il est de 14,2% (24/169) pour les chiots ayant reçu un colostrum de bonne qualité (BQ) et de 21,8% (14/64) pour ceux ayant reçu un colostrum de très bonne qualité (TBQ). Il n'y a pas de différence significative entre ces différents groupes ($p=0,29$).

2-3 RELATION ENTRE LA QUALITE IMMUNOLOGIQUE ET LA QUALITE ENERGETIQUE DU COLOSTRUM

Après avoir étudié séparément l'importance de la qualité immunologique et de la qualité énergétique du colostrum, nous allons étudier ici s'il existe une relation entre ces deux paramètres et leur importance relative pour la santé du chiot.

2-3-1 RELATION ENTRE LA CONCENTRATION EN IgG ET LA TENEUR EN ENERGIE DU COLOSTRUM

Notre étude montre qu'il n'existe pas de corrélation entre la concentration en IgG et la valeur énergétique du colostrum ($r=0,17$; $p=0,2$; Figure 30).

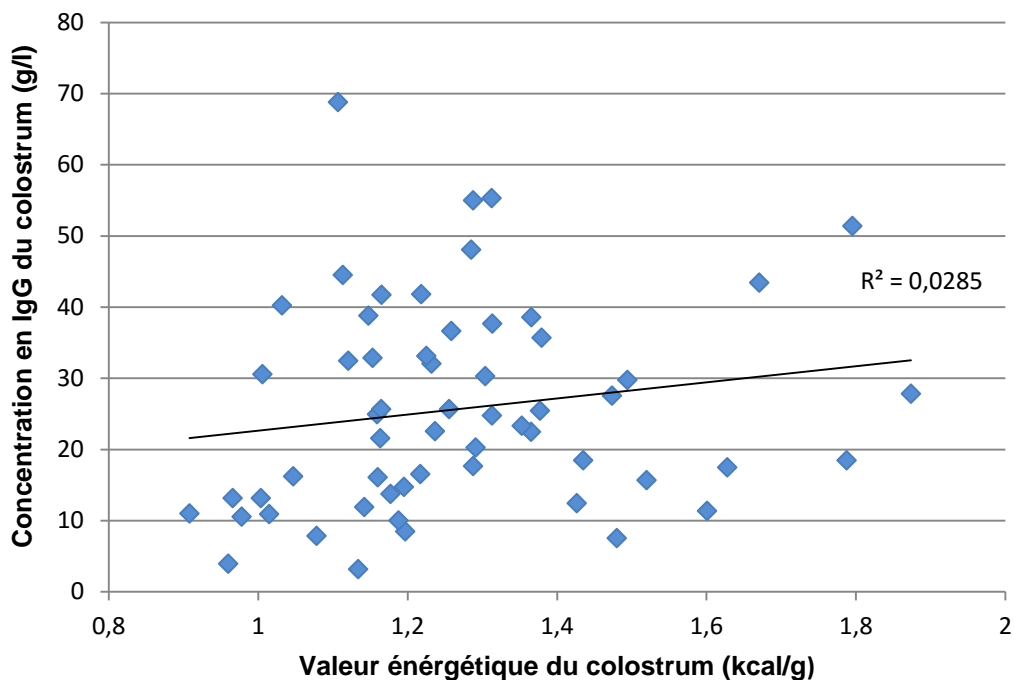


Figure 30- Corrélation entre la concentration en IgG du colostrum et sa valeur énergétique (n=58 ; $r=0,17$, $p=0,2$)

En revanche, la concentration moyenne en IgG des colostrums de mauvaise qualité énergétique (valeur énergétique inférieure à 1,145 kcal/g) est significativement plus basse ($21,2 \pm 18,45$ g/l) que celle des colostrums de bonne ou très bonne qualité ($27,3 \pm 12,5$ g/l) ($p=0,042$; Figure 31).

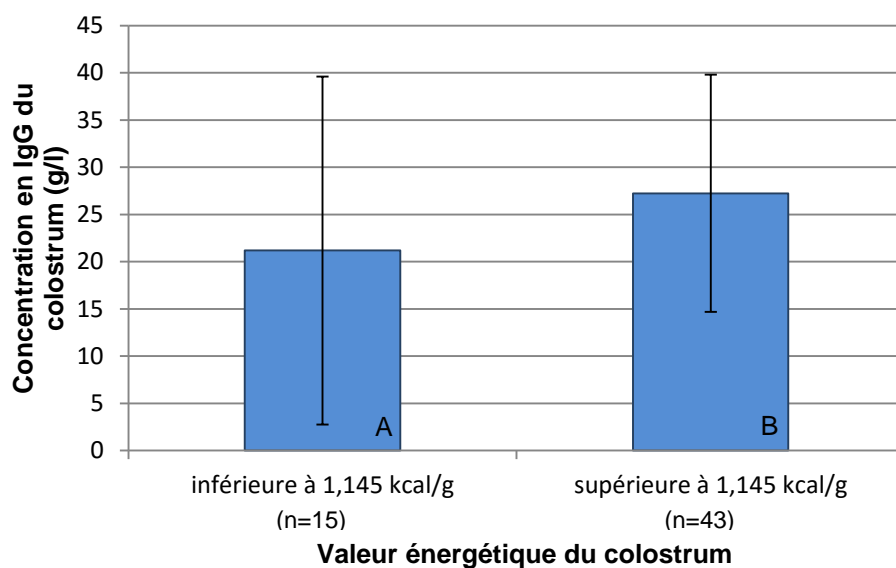


Figure 31- Relation entre la concentration en IgG du colostrum et sa valeur énergétique (qualitative) (n=58)

Les barres portant des lettres différentes présentent une différence significative ($p < 0,05$)

2-3-2 INFLUENCE DE LA QUALITE DU COLOSTRUM SUR LA SANTE GLOBALE DU CHIOT

- **Relation entre la concentration sérique IgG et le taux de croissance du chiot**

Nous avons défini 4 cadrans en fonction du nombre de facteurs de risque de mortalité que présentait le chiot. Les facteurs de risque étant un taux de croissance inférieur à -4% ou une concentration sérique en IgG à J2 inférieure à 2,3 g/l (Figure 32).

Il apparait que seulement 6,0% (17/284) des chiots arrivent à couvrir leur besoin en IgG alors qu'ils n'ont pas suffisamment grandi. De la même façon, 13,4% (38/284) des chiots quant à eux ont une croissance supérieure à -4% alors qu'ils n'ont pas atteint le seuil minimum d'IgG permettant un meilleur taux de survie (Figure 33).

Pour environ 80% (229/284) des chiots, si le besoin énergétique est couvert alors le besoin immunologique aussi, et inversement.

Cadran 1 : IgG+/Cr-

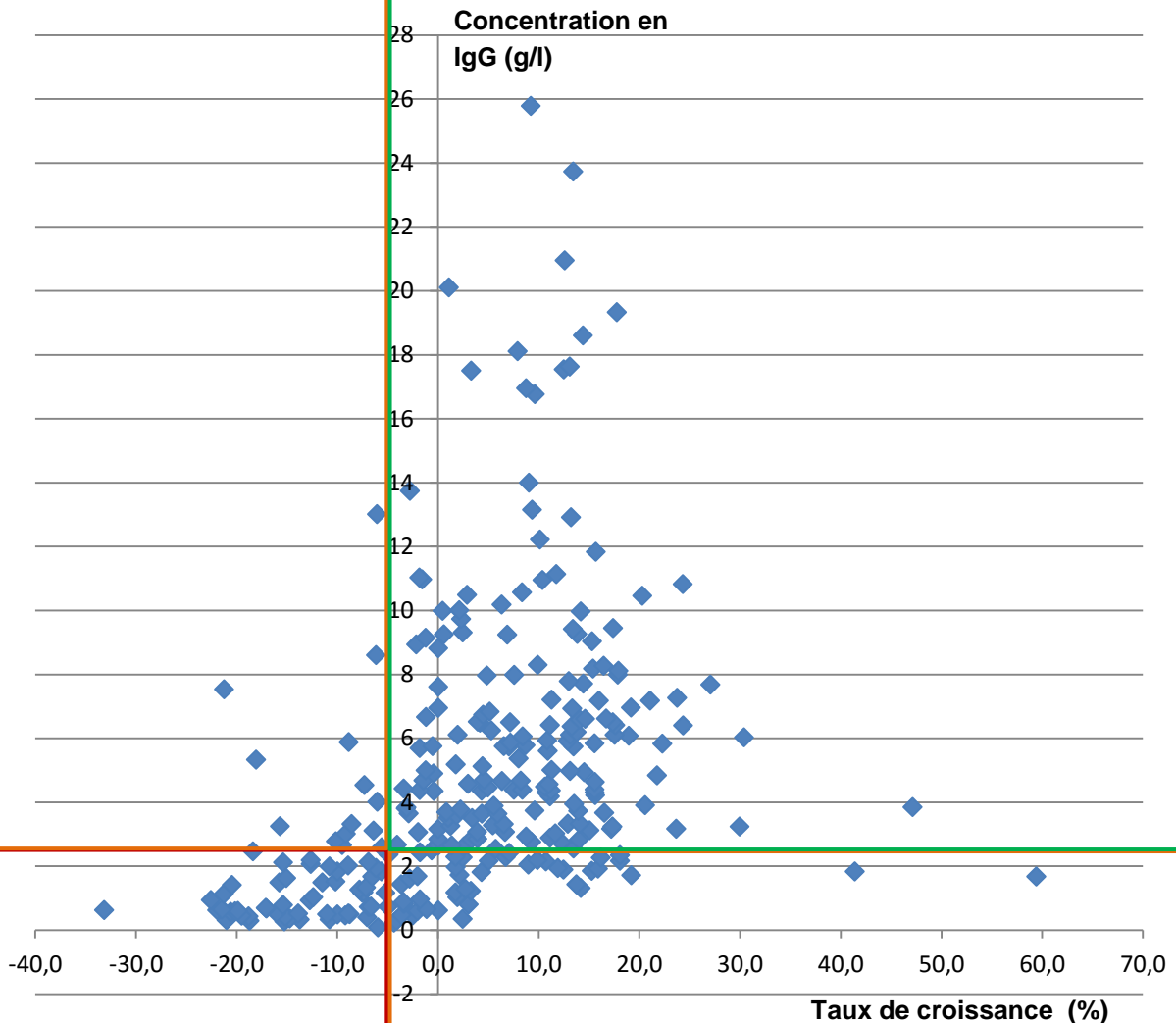
1 facteur de risque
6% des chiots

Mortalité J0-J21 : **23,7%**

Cadran 2 : IgG+/Cr+

0 facteur de risque
60,8% des chiots

Mortalité J0-J21 : **3,5%**



Cadran 3 : IgG-/Cr-

2 facteurs de risque
19,8% des chiots

Mortalité J0-J21 : **41%**

Cadran 4 : IgG-/Cr+

1 facteur de risque
13,4% des chiots

Mortalité J0-J21 : **10,5%**

Figure 32- Association des facteurs de risque de mortalité néonatale. Mise en évidence de 4 situations différentes (représentées par 4 cadrans) en fonction de la situation du chiot par rapport au seuil minimum d'IgG sérique à J2 et du taux de croissance entre J0 et J2. Relation avec le taux de mortalité néonatale. (n=284)

La mortalité est significativement plus faible pour les chiots ayant couvert tous leurs besoins (immunologique et énergétique) (IgG+/Cr+) que pour les chiots n'ayant couvert aucun besoin (IgG-/Cr-) ou les chiots ayant couvert seulement leur besoin immunologique (IgG+/Cr-) (respectivement $p < 0,001$, $p = 0,007$). Les chiots ayant réussi à couvrir uniquement leur besoin énergétique (IgG-/Cr+) ont un taux de mortalité équivalent aux chiots ayant couvert tous leurs besoins (IgG+/Cr+).

- **Impact de la qualité du colostrum**

Si l'on s'intéresse pour chaque catégorie de colostrum au pourcentage de chiots dans chaque cadran, on constate que le colostrum de bonne qualité énergétique a permis à une proportion plus importante de chiots de se retrouver dans le cadran 2 (IgG+/Cr+) : 64,3% (137/213) pour le colostrum de bonne qualité contre 49,3% (35/71) pour le colostrum de mauvaise qualité ($p = 0,024$; Figure 33). De même le colostrum de bonne qualité énergétique est associé à une plus faible proportion de chiots dans le cadran 3 (IgG-/Cr-) : 14,6% (31/213) pour le colostrum de bonne qualité contre 35,2% (25/71) pour le colostrum de mauvaise qualité ($p < 0,001$).

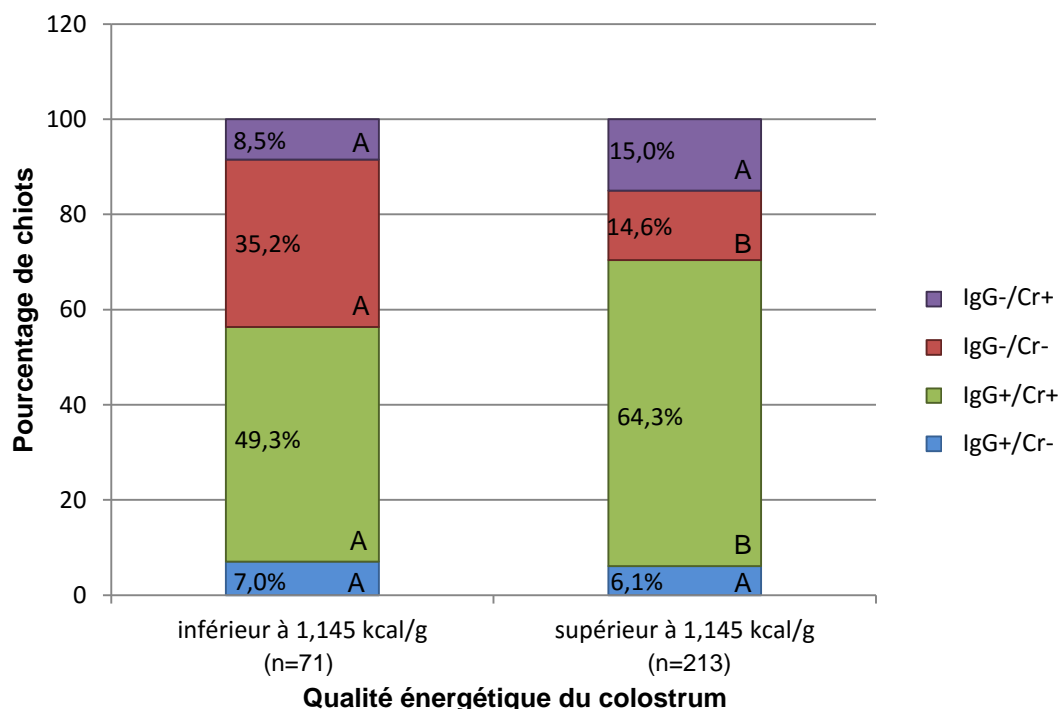


Figure 33- Prévalence des facteurs de risque de mortalité néonatale en fonction de la qualité énergétique du colostrum (n=284). IgG- : concentration sérique en IgG à J2 < 2,3 g/l (DTIP). IgG+ : concentration sérique en IgG à J2 > 2,3 g/l. Cr- : croissance entre J0 et J2 < -4%. Cr+ : croissance entre J0 et J2 > -4%.

Concernant la qualité immunologique du colostrum, la prévalence des chiots dans le cadran 2 (IgG+/Cr+) parmi les chiots consommant du colostrum de mauvaise qualité était plus élevée que parmi les chiots consommant un colostrum de bonne qualité : 75,5% (37/49) contre 57,4% (135/235) ($p=0,018$, Figure 34).

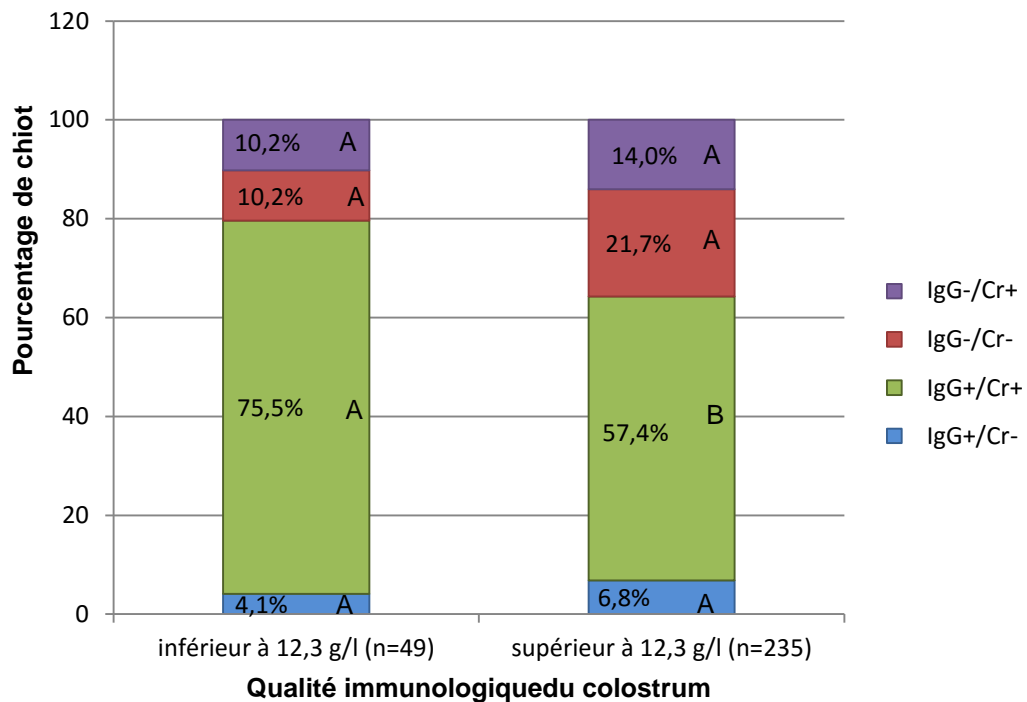


Figure 34- Prévalence des facteurs de risque de mortalité néonatale en fonction de la qualité immunologique du colostrum (n=284). IgG- : concentration sérique en IgG à J2 < 2,3 g/l (DTIP). IgG+ : concentration sérique en IgG à J2 > 2,3 g/l. Cr- : croissance entre J0 et J2 < -4%. Cr+ : croissance entre J0 et J2 > -4%.

Les lettres A et B signifient qu'il y a, au sein d'un même cadran, une différence significative entre les deux colostrums de différentes qualités énergétiques ($p<0,05$)

3 DISCUSSION

3-1 LIMITES DE L'ETUDE

3-1-1 POPULATION ETUDIEE

Notre étude concernant la qualité immunologique du colostrum a été menée sur 657 chiots, 139 chiennes de 17 races différentes ; quant à celle sur la qualité énergétique, elle a été réalisée avec une population de 300 chiots, 59 chiennes et 15 races différentes. L'effectif des animaux étudiés apparaît très important comparé aux rares autres études menées sur ce sujet dans l'espèce canine qui n'excèdent jamais 44 chiennes, 108 chiots de 13 races différentes (Adkins et al. 1997 ; Gonnier et Rossig 2013 ; Coinus 2014). Le nombre de races différentes est important mais cependant, il n'a pas permis de réaliser une étude relative à chaque race (le nombre d'individus pour chacune d'entre elles étant insuffisant) mais a néanmoins permis d'étudier l'influence du format racial. Les animaux inclus dans cette étude sont tous issus du même élevage. Cela implique une bonne maîtrise des nombreux facteurs de variation, les animaux vivant dans le même environnement (luminosité, température, humidité, exposition à des agents pathogènes identiques), recevant la même alimentation et les mêmes soins (vaccination, vermifugation...). Cependant le fait de ne s'être limité qu'à un seul élevage a également pu sélectionner des biais, et ne permet pas de savoir si les valeurs obtenues sont reproductibles dans un autre système d'élevage.

Pour les besoins de l'étude, nous avons décidé de classer les chiennes en catégories selon leur format racial et également leur âge, mais ces choix sont critiquables. En effet, nous avons pris le parti de répartir les races en trois formats raciaux en fonction de leur poids. Ils s'avèrent que le format racial M (chiennes entre 10 et 25 kg) n'est composé que de deux races dans l'étude de la qualité immunologique (le cocker et le berger australien) et de seulement une race pour la qualité énergétique (le cocker). Du fait du faible effectif pour certaines races, nous avons décidé de ne pas étudier l'effet race sur les différents paramètres.

Nous avons également fait le choix de classer les chiennes en catégories en fonction de leur âge. Les chiennes jeunes (moins de 3 ans) étaient sous représentées ce qui pose un problème par la suite pour l'interprétation des résultats. Cependant, si

l'effectif avait été suffisant, il aurait été plus pertinent de définir une chienne jeune comme une chienne ayant moins de 2 ans (ce qui correspond en général au début de la mise à la reproduction). Enfin les chiennes sont considérées comme « âgées » à partir de 6 ans. Cette limite ne prend pas en compte le format racial de la chienne. Or les chiens de grand gabarit ont une espérance de vie bien plus courte que les petits chiens (Adams et al. 2010).

3-1-2 DELAI DE PRELEVEMENT DU COLOSTRUM

Le colostrum a été prélevé sur les chiennes dans un délai de 8 à 24 heures après la mise-bas. Or une étude menée en parallèle de celle présentée ici a permis de démontrer qu'entre 8 heures post mise-bas et 24 heures post mise-bas, le taux d'IgG dans le colostrum diminue d'en moyenne 60% (Albaret et al. 2016). De plus, la fermeture de la barrière intestinale du chiot a lieu aux alentours de 12 heures de vie (Chastant-Maillard et al. 2012). Le colostrum prélevé au-delà de 12 heures, en n'ayant pas la même teneur en IgG que le colostrum prélevé auparavant, est moins représentatif de la qualité réelle (en termes de concentration en IgG) du colostrum ingéré par le chiot tant qu'il était capable d'assimiler les IgG. Il aurait donc été plus pertinent que le prélèvement du colostrum soit réalisé de manière standardisée à 8 heures post mise-bas pour toutes les chiennes. Or une partie des prélèvements ont eu lieu en 2012 et 2013, à ce moment-là, la chute rapide de la concentration en IgG du colostrum n'avait pas encore été démontrée, de ce fait peu d'importance avait été portée sur le moment précis du prélèvement.

3-1-3 DONNEES MANQUANTES

Nous connaissons l'évolution de la qualité immunologique du colostrum au cours des premières heures qui suivent la mise-bas mais nous ne disposons pas de cette information concernant la qualité énergétique du colostrum. Cependant nous savons que la valeur énergétique du lait à 14 jours post mise-bas est inférieure de 20% à la valeur énergétique du colostrum (Adkins et al. 2001). La question soulevée précédemment concernant la pertinence du moment de prélèvement peut donc se poser ici, bien que cela semble avoir moins d'importance car le chiot continue de

profiter de l'énergie du colostrum après la fermeture de sa barrière intestinale et que la chute de la teneur en énergie est moins brutale que la teneur en IgG.

Pour être beaucoup plus précis dans notre étude, il aurait été intéressant de connaître la quantité de colostrum ingéré par le chiot et également à quel moment ce colostrum a été bu. Cependant ces données sont très compliquées à obtenir ; pour connaître le moment de la tétée il faudrait filmer les chiots 24 heures sur 24, pour estimer la quantité bue il faudrait peser le chiot avant et après chaque tétée.

De même nous avons travaillé sur les teneurs moyennes en IgG et en énergie du colostrum de chaque chienne, or la qualité du colostrum produit varie en fonction des mamelles sur un même individu (Coinus 2014). Nous avons choisi de travailler sur la moyenne car les chiots n'étant pas filmés, nous ne savons pas quelles mamelles a tété le chiot, ni combien de colostrum il a bu sur chacune d'entre elles.

3-2 RESULTATS

3-2-1 COMPOSITION DU COLOSTRUM

La concentration moyenne en IgG du colostrum de notre étude est de 21,3 \pm 11,9 g/l. Si l'on compare cette valeur à la littérature, elle se trouve dans la moyenne de ce qui est décrit, la valeur la plus basse décrite étant celle de Norcross (1982) à 14,53 g/l et la plus haute étant celle de Coinus (2014) à 29,8 g/l en 2014. Dans ces études, les prélèvements de colostrum ont été réalisés durant les premières 24 heures post mise-bas.

Concernant la valeur énergétique du colostrum, dans notre étude la moyenne est de 1,27 \pm 0,21 kcal/g. Cette moyenne est inférieure à ce qui est rapporté dans la littérature, Coinus (2014) décrit une valeur énergétique de 1,31 kcal/g et Adkins et al (1997) de 1831 kcal/l soit 1,73 kcal/g (en admettant que la densité du colostrum est de 1,060 (Franceschini 1950)). La forte différence entre les valeurs peut venir du fait que l'étude de Adkins et al (1997) a été menée seulement sur 10 chiennes de même race (beagle) et, que les prélèvements ont été réalisés 24 heures après la mise-bas au lieu de 8 à 24 heures dans notre étude.

3-2-2 FACTEURS INFLUENÇANT LA QUALITE DU COLOSTRUM

➤ Effet de la taille de la portée

Notre étude n'a pas permis de mettre en évidence une influence de la taille de la portée sur la qualité immunologique et énergétique du colostrum. Ces résultats sont en adéquation avec les résultats décrits dans la littérature concernant l'espèce canine (Coinus 2014 ; Mila et al. 2015). Chez la truie, qui est le modèle le plus proche du chien, il a été montré de la même façon que la taille de la portée n'avait pas d'influence sur la concentration en IgG du colostrum (Quesnel 2011). Cependant chez la vache, la brebis et la chèvre, la gémellité induit une production de colostrum plus riche en IgG (Csapr 1994). De plus, chez la brebis non seulement la concentration en IgG du colostrum est augmentée par la gémellité mais la valeur énergétique l'est également (Higaki et al. 2013). Cependant, ces espèces sont plus éloignées du modèle canin quant à la taille de la portée.

➤ Effet des caractéristiques intrinsèques de la mère sur la concentration en IgG du colostrum

Aucun facteur lié à la mère (ni son âge, ni son format racial, ni sa parité) n'a montré d'influence sur la concentration moyenne en IgG du colostrum.

Les races ont été regroupées en catégories en fonction de leur poids et aucun effet du format racial sur la concentration en IgG du colostrum n'a pu être mis en évidence, ce qui était déjà le cas dans les études de Gonnier et Rossig (2013) et de Coinus (2014). Cependant ceci ne veut pas dire que l'effet race n'existe pas car nos effectifs ne nous permettent pas de comparer des races entre elles mais des groupes raciaux. En effet chez la brebis, il existe un effet race sur la concentration en IgG du colostrum (Corbière et al. 2013). De même chez la vache, les vaches allaitantes produisent un colostrum généralement plus concentré en IgG que les vaches laitières (ceci pouvant en partie être expliqué par l'effet de dilution chez les vaches laitières) (Weaver et al. 2000). Cependant certaines races laitières comme les jersiaises ou les

guernesaises ont un colostrum plus riche en IgG que les races allaitantes (Maillard et Guin 2013).

Concernant l'âge maternel, nos résultats sont comparables à ceux de Gonnier et Rossig (2013). A contrario, l'étude de Coinus (2014) montre une différence de concentration en IgG du colostrum en fonction de l'âge de la chienne : dans cette étude, les chiennes de moins de 6 ans ont produit un colostrum avec une teneur en IgG plus faible. Cependant les catégories d'âge choisies n'étaient pas les mêmes que dans notre étude (dans cette étude les chiennes de moins de 6 ans étaient considérées comme jeunes et les chiennes de plus de 6 ans comme âgées ; alors que notre étude considère les chiennes de moins de 3 ans comme des chiennes jeunes, les chiennes entre 3 et 6 ans comme des chiennes adultes et les chiennes de plus de 6 ans comme des chiennes âgées). Il serait intéressant de rechercher l'impact de l'âge sur la qualité immunologique du colostrum en faisant des catégories d'âge tenant compte du format racial de la chienne. Dans les autres espèces, l'impact de l'âge n'est que très peu relevé. C'est plutôt l'effet de la parité qui est étudié et nous pouvons considérer que dans les espèces de production, l'âge et la parité sont fortement corrélés.

Notre étude est la seule s'intéressant à la parité de la chienne avec la limite que seule la distinction « primipare » et « multipare » est disponible et non pas le numéro de lactation. Dans les autres espèces, la parité influence toujours de manière significative la concentration en IgG du colostrum. La truie primipare produit un colostrum de moins bonne qualité immunologique que la truie multipare (Quesnel 2011). Il en va de même dans l'espèce bovine où les vaches en 3^{ème} ou 4^{ème} lactation produisent un colostrum de qualité supérieure (Weaver et al. 2000 ; Gulliksen et al. 2008 ; Maillard et Guin 2013). A l'inverse, chez la brebis le colostrum des primipares est plus concentré en IgG que les multipares (cependant les brebis multipares produisent plus de colostrum que les primipares et donc la dilution est beaucoup plus marquée) (Higaki et al. 2013 ; Corbière et al. 2013). Une étude plus poussée portant sur le numéro de lactation de la chienne et la teneur en IgG du colostrum serait nécessaire pour déterminer réellement l'impact de la parité.

➤ **Effet des caractéristiques intrinsèques de la mère sur la valeur énergétique du colostrum**

Dans notre étude, il apparaît que la parité, l'âge et le format racial ont une influence sur la qualité énergétique du colostrum.

Les chiennes de petit format racial produisent un colostrum plus riche en énergie (avec une valeur énergétique de $1,33 \pm 0,24$ kcal/g) que les chiennes de format M ou L (respectivement $1,28 \pm 0,21$ kcal/g et $1,17 \pm 0,12$ kcal/g). Dans l'étude de Coinus (2014), aucun effet du format racial n'avait été mis en évidence mais les catégories de race n'étaient pas les mêmes. Dans les espèces bovines et porcines, l'effet de la race sur la valeur énergétique du colostrum est décrit (Fahmy 1972 ; Zarcula et al. 2010) ce qui laisse penser que la génétique peut influencer sur la qualité du colostrum. Cependant notre étude ne compare pas réellement des races entre elles mais des formats raciaux. Les chiennes de plus petit format ont un colostrum plus riche en énergie, il est possible qu'elles produisent une plus faible quantité de colostrum et donc que celui-ci soit moins dilué. Aujourd'hui la quantité de colostrum produit par une chienne reste inconnue. Nous disposons seulement d'une estimation de la quantité journalière de lait produit durant la première semaine qui serait d'en moyenne 2,7% (1-6%) du poids de la chienne (Meyers et al. 1985). De même une étude race par race serait intéressante à mener sur des groupes plus nombreux d'individus pour voir si une différence est mise en évidence.

Le colostrum des chiennes primipares a en moyenne une valeur énergétique de $1,58 \pm 0,22$ kcal/g alors qu'elle n'est que de $1,24 \pm 0,19$ kcal/g pour les multipares. De même les jeunes chiennes (moins de trois ans) ont un colostrum plus riche en énergie que les autres avec une teneur de $1,54 \pm 0,27$ kcal/g. Cependant notre étude ne compte que 4 chiennes primipares et 6 chiennes jeunes. L'étude de Coinus (2014) ne montre pas de différence de teneur énergétique du colostrum en fonction de l'âge mais la catégorie des chiennes de moins de 3 ans n'existe pas dans cette étude. Ici encore nous pouvons penser que l'âge et la parité sont corrélés et les études sur les autres espèces s'intéressent une fois de plus surtout à la parité. Une étude montre que la valeur énergétique du colostrum de la vache est plus élevée pour les vaches en 2^{ème} et 3^{ème} lactation que pour les vaches en 4^{ème} lactation

(Zarcula et al. 2010). Cependant une étude menée sur les brebis révèle que la parité n'a pas d'impact sur la qualité énergétique du colostrum (Higaki et al. 2013). Concernant le colostrum de la chienne, nous pouvons imaginer que les jeunes chiennes produisent une plus faible quantité de colostrum et donc que la dilution est moins importante. Dans notre étude, une tendance se dessine mais d'autres études avec un plus grand nombre d'individus de numéro de lactation connu seront nécessaires pour conclure.

Dans d'autres espèces, notamment bovine et ovine, l'influence de l'alimentation de la mère est un facteur souvent étudié ce que nous n'avons pas pu faire dans cette étude (les chiennes étant toutes nourries avec la même alimentation).

3-2-3 LIEN ENTRE LA QUALITE DU COLOSTRUM ET LA SANTE DU CHIOT

- **Importance de la qualité immunologique du colostrum**

Notre étude n'a pas permis de mettre en évidence un lien direct entre la concentration en IgG du colostrum de la mère entre 8 heures et 24 heures post mise-bas et la concentration en IgG du sérum du chiot après 2 jours de vie. De même elle n'a pas permis de mettre en évidence un seuil minimum d'IgG dans le colostrum associé à une réduction du risque de mortalité du chiot comme cela peut être le cas chez la vache ou la jument par exemple (Jaster 2005 ; Benamou-Smith 2013; Tableau 10). Les veaux ayant reçu un colostrum de bonne qualité immunologique (c'est-à-dire avec une concentration en IgG supérieure à 60 g/l) ont une concentration sérique en IgG à J2 largement supérieure aux veaux ayant reçu un colostrum de mauvaise qualité.

Dans l'étude de Jaster (2005) la quantité de colostrum distribuée et le moment de la distribution sont parfaitement connus et maîtrisés ce qui n'est pas le cas dans notre étude.

Tableau 10 – Relation entre la concentration en IgG du colostrum et la concentration en IgG sérique du veau à J2 (Jaster 2005)

	GROUPE 1	GROUPE 2	GROUPE 3	GROUPE 4
Nombre d'individus	6	6	6	6
Concentration en IgG du colostrum distribué en mg/ml	84	84	31,2	31,2
Quantité distribuée et moment de la distribution	4L à la naissance	2L à la naissance + 2L à 12 h de vie	4L à la naissance	2L à la naissance + 2L à 12 h de vie
Concentration sérique en IgG des veaux à J2	38,66 ^a	45,66 ^b	13,81 ^c	9,95 ^c

^a Les chiffres portant des lettres différentes sont significativement différents ($p < 0,05$)

De même une étude menée sur les porcelets montre une étroite corrélation entre la concentration en IgG du colostrum de la mère (prélevé juste après l'expulsion du premier porcelet et avant toute tétée) et la concentration sérique en IgG du porcelet à J1 (Kielland et al. 2015). Dans notre étude, le colostrum a été prélevé entre 8 heures et 24 heures post mise-bas ce qui peut expliquer que la corrélation entre les concentrations en IgG du colostrum et du sérum du chiot n'a pas pu être mise en évidence. En effet la concentration en IgG du colostrum chute très vite chez la chienne (- 60% entre 8 heures et 24 heures ; Albaret et al. 2016). De plus notre étude a été menée dans des conditions naturelles et donc la quantité de colostrum ingérée par le chiot et le moment de l'ingestion ne sont pas maîtrisés. Chez la brebis, dans des conditions naturelles de tétée, il n'existe aucune corrélation entre la concentration en IgG du colostrum de la première traite et la concentration en IgG sérique de l'agneau à J2 (Corbière et al. 2013).

Cela suggère que la qualité immunologique du colostrum n'est pas suffisante mais que c'est bien l'association des trois paramètres (qualité, quantité et moment d'ingestion) qui permet un transfert d'immunité satisfaisant (car seules les études maîtrisant ces trois paramètres obtiennent des résultats intéressants).

- **Importance de la qualité énergétique du colostrum**

Notre étude met en évidence que la valeur énergétique du colostrum est déterminante pour limiter le risque de mortalité du chiot. En effet, parmi les chiots recevant un colostrum de mauvaise qualité énergétique (à savoir avec une valeur énergétique inférieure à 1,145 kcal/g), se trouvaient 1,7 fois plus de chiots avec une glycémie inférieure à 92 mg/dl et 1,9 fois plus de chiots avec une croissance inférieure à -4%, que parmi les chiots recevant un colostrum de bonne qualité. Nous savons par ailleurs que les chiots présentant ces facteurs de risque ont une probabilité de mortalité néonatale fortement augmentée (4,3 fois plus de mortalité pour les chiots avec une glycémie inférieure à 92 mg/dl et 7,7 fois plus de mortalité pour les chiots avec une croissance inférieure à -4%) (Mila et al. 2015b ; 2015c).

Une étude menée sur les porcelets montre qu'une supplémentation en énergie des porcelets de faible poids de naissance augmente de manière significative leur chance de survie (Declerck et al. 2016). De même une étude a été menée dans l'espèce canine visant à évaluer l'effet d'une supplémentation en énergie des chiots durant leurs deux premiers jours de vie (Le Gal 2016). Cette étude montre que cette supplémentation permet une meilleure croissance des chiots entre 12 et 48 heures de vie, ce qui est un facteur déterminant dans la survie. De plus, cette étude montre également un taux de mortalité inférieur pour les chiots ayant reçu une supplémentation.

A l'issue de ces résultats, il semblerait que ce soit la qualité énergétique du colostrum qui soit le facteur limitant et non pas la qualité immunologique de celui-ci. Nous avons calculé les quantités théoriques que le chiot doit ingérer pour couvrir ses besoins immunologiques et énergétiques. Pour atteindre une concentration sérique en IgG à J2 de 2,3 g/l (en admettant que le taux d'absorption digestive est de 40% et que l'hématocrite est de 35%), le chiot devrait ingérer 1,3 ml pour 100g de poids vif durant ses 12 premières heures de vie d'un colostrum ayant une concentration en IgG de 20 g/l. Cependant pour couvrir ses besoins énergétiques (250 kcal/kg/j ; Hand et al. 2010), le chiot devrait ingérer 18,5 ml pour 100g de poids vif par jour d'un colostrum ayant une valeur énergétique de 1,27 kcal/g. Les chiots recevant un colostrum de mauvaise qualité (moins de 1,145 kcal/g) devraient ainsi ingérer plus de 20 ml de colostrum pour 100 g de poids vif par jour.

- **Lien entre la qualité immunologique et énergétique du colostrum**

Notre étude n'a pas permis de mettre en évidence une corrélation linéaire entre la concentration en IgG du colostrum et sa valeur énergétique. Cependant, il apparaît que le colostrum de mauvaise qualité énergétique (moins de 1,145 kcal/g) a en moyenne une teneur en IgG plus faible (21,2 g/l) que le colostrum de bonne qualité (27,3 g/l).

Nous nous sommes intéressés au lien entre la concentration en IgG sérique du chiot à J2 (conséquence de la qualité immunologique du colostrum) et sa croissance entre J0 et J2 (conséquence de sa qualité énergétique).

Nous constatons que seulement 6,0% des chiots arrivent à couvrir leurs besoins immunologiques alors que leurs besoins énergétiques ne sont pas couverts. Et bien que leurs besoins immunologiques soient respectés, 23,5% de ces chiots sont morts avant l'âge de 21 jours. Nous pouvons imaginer que ces chiots aient tété correctement pendant les 12 premières heures, ce qui leur aurait permis d'obtenir la quantité suffisante d'IgG sérique, puis qu'ensuite ils n'aient plus bu suffisamment pour couvrir leurs besoins énergétiques.

A l'inverse, 13,4% des chiots ont une croissance suffisante mais une concentration en IgG sérique insuffisante. Nous pouvons imaginer que cette situation arrive lorsque le chiot ne tète pas suffisamment tôt.

Les chiots qui couvrent seulement leurs besoins énergétiques ont un risque de mortalité identique aux chiots qui couvrent tous leurs besoins alors que les chiots qui couvrent uniquement leurs besoins immunologiques (et pas leurs besoins énergétiques), ont 6,7 fois plus de risque de mourir en période néonatale que les chiots couvrant tous leurs besoins.

Nous constatons également que les chiots qui reçoivent un colostrum de bonne qualité énergétique ont 1,2 fois plus de chance de couvrir à la fois leurs besoins immunologiques et énergétiques et 3,6 fois moins de risque de ne pas les couvrir.

Il apparaît que très peu de chiots arrivent à couvrir leurs besoins immunologiques si leurs besoins énergétiques ne le sont pas et que même s'ils y arrivent, ils ont un risque de mortalité qui reste plus élevé. Bien que les deux facteurs (immunologique et énergétique) soient importants, il semble que le facteur le plus discriminant soit le

manque d'énergie. Ainsi il paraît intéressant de savoir qu'un colostrum contenant plus de 1,145 kcal/g permet de diminuer significativement le risque pour le chiot d'être sous le seuil de croissance et de glycémie minimum (associés à une augmentation du risque de mortalité néonatale).

3-3 PERSPECTIVES

Cette étude ouvre beaucoup de perspectives et pose de nombreuses questions.

D'abord concernant les facteurs qui influencent la qualité du colostrum. Dans notre étude, aucun facteur ne semble avoir d'impact sur la qualité immunologique du colostrum alors que dans d'autres espèces, des facteurs tels que la parité de la mère ou sa race ont une influence. Il serait donc intéressant de refaire une étude portant sur ce sujet en utilisant du colostrum prélevé de manière plus standardisée (toujours au même moment post mise-bas). A l'inverse, nous avons pu mettre en évidence l'impact de la parité, de l'âge de la chienne et de son format racial sur la qualité énergétique du colostrum. Cependant le nombre d'individus étudiés étant faible, il n'est pas encore possible de conclure de manière certaine sur ce sujet. De plus notre étude tend à montrer que la qualité énergétique du colostrum est bien plus importante pour la santé du chiot que ce qu'on pouvait le penser jusqu'à lors, il est donc d'autant plus intéressant d'étudier les paramètres qui permettent de l'améliorer.

Ensuite, notre étude n'a pas permis de mettre en évidence un seuil minimum d'IgG nécessaire dans le colostrum pour améliorer la survie mais bien un seuil minimum d'énergie (énergie < 1,145 kcal/g). Il semble que dans les autres espèces la notion de seuil minimum d'IgG nécessaire dans le colostrum soit de plus en plus mise en doute et il serait intéressant de se pencher sur l'existence d'un seuil minimum d'énergie pour ces autres espèces.

De plus afin de prouver l'importance de l'énergie par rapport à l'immunité il pourrait être envisagé de faire une étude où l'on ne donnerait aux chiots que de l'énergie. Cette étude permettrait de savoir s'il y a une différence significative sur la mortalité entre les chiots ne recevant que de l'énergie et ceux recevant un colostrum normal (contenant de l'énergie et des IgG).

Enfin nous avons aujourd'hui des données sur le moment de la fermeture de la barrière intestinale chez le chiot, des données sur la qualité du colostrum mais nous avons que très peu d'informations concernant la quantité : que ce soit la quantité de colostrum bu par les chiots ou la quantité de colostrum produit par la mère. Il serait donc intéressant de mener des études portant sur ce sujet afin d'avoir plus de précision sur ce paramètre qui est l'un des piliers de la prise colostrale.

CONCLUSION

L'objectif de cette étude était de déterminer des seuils minimum d'IgG et d'énergie dans le colostrum permettant une meilleure survie du chiot et également de déterminer l'importance relative de ces deux paramètres. Notre étude a permis de montrer que si un chiot reçoit un colostrum de bonne qualité énergétique, à savoir avec une teneur en énergie supérieure à 1,145 kcal/g, il avait 1,7 fois plus de chances de passer le seuil critique des 92 mg/dl de glycémie à un jour de vie et 1,9 fois plus de chances d'avoir une croissance supérieure à -4% au cours de ses deux premiers jours de vie. Cependant aucun seuil d'IgG minimum dans le colostrum permettant de diminuer le risque de défaut de transfert d'immunité passive chez le chiot n'a pu être mis en évidence. On a pu mettre en évidence que si un chiot couvre ses besoins énergétiques et ne couvre pas ses besoins immunitaires, son risque de mortalité n'est pas différent des chiots couvrant tous leurs besoins. A l'inverse un chiot qui couvre uniquement ses besoins immunitaires, sans couvrir ses besoins énergétiques, a un risque de mortalité plus élevé. L'apport énergétique semble donc être le facteur le plus discriminant.

L'âge de la chienne, sa parité et son format racial influence la teneur en énergie de son colostrum, cependant ce sont des paramètres que nous ne pouvons pas moduler. Dans d'autres espèces, l'alimentation a été montrée comme ayant un rôle dans la qualité du colostrum. Il serait intéressant de travailler sur l'alimentation de la chienne afin de lui permettre de produire un colostrum de meilleure qualité énergétique, et ainsi, permettre à un plus grand nombre de chiots de réussir à couvrir leurs besoins énergétiques. Un problème se pose lorsque la mère est absente, ou ne produit pas assez de colostrum. Aujourd'hui il n'existe pas de colostrum de substitution dans l'espèce canine, mais seulement du lait maternisé. Or le lait maternisé, non seulement ne contient pas d'IgG, mais présente également un apport calorique en moyenne de 0,94 kcal/g (Heinze et al. 2014), ce qui est bien en dessous du seuil de 1,145 kcal/g que nous avons fixé dans cette étude. La conception d'un colostrum de substitution ayant une teneur en IgG d'au moins 21,3 g/l (moyenne des concentrations observées dans le colostrum canin) et une valeur énergétique supérieure à 1,145 kcal/g (seuil minimum d'énergie permettant de diminuer le risque de mortalité néonatale) serait une avancée de taille pour réduire le taux de mortalité néonatale en élevage canine.

BIBLIOGRAPHIE

ADAMS JV, EVANS KM, SAMPSON J, WOOD JLN (2010). Methods and mortality results of a health survey of purebred dogs in the UK. *Journal of Small Animal Practice*, **51**, 512-524.

ADKINS Y, LEPINE A, LONNERDAL B (2001). Changes in protein and nutrient composition of milk throughout lactation in dogs. *American journal of veterinary research*, **62(8)**, 1266-1272.

ALBARET A, MILA H, GRELLET A, CHASTANT-MAILLARD S (2016). Pattern of immunoglobulin G concentration in canine colostrum and milk during the lactation. *8th International Symposium on canine and feline reproduction*, Maison-Alfort, France, 22-25 juin, 3.

BANNERY C (1986). *Etude expérimentale de l'allaitement artificiel du chiot. Influence du taux lipidique de l'aliment et de la fréquence des tétées*. Thèse de doctorat vétérinaire. Alfort.

BELIN M (2013). *Croissance et mortalité du chiot en élevage*. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse, 80 pages.

BENAMOU-SMITH A (2013). Le colostrum dans l'espèce équine. *Bulletin GTV*, **(21)**, 39-45.

BERTIERI M (2012). *Etude de la concentration en immunoglobulines des sécrétions mammaires de la chienne*. Thèse de doctorat vétérinaire. Toulouse, 79 pages.

BOUCHARD G, PLATA-MADRID H, YOUNGQUIST R, BUENING G, GANJAM V, KRAUSE F, ALLEN G, PAINE A (1992). Absorption of an alternate source of immunoglobulin in pups. *Am J Vet Res*, **53**, 230-233.

BUDDINGTON R (1998). Development of the canine and feline gastrointestinal tract. *In: Iams Nutrition symposium proceeding*, **2**, 195-213.

BUDDINGTON R, LEPINE A (2000). Dietary inputs and the developing gastrointestinal ecosystem. *In: Iams Nutrition Symposium Proceedings*, **3**, 183-193.

CHAPPUIS G (1998). Neonatal immunity and immunisation in early age : lesson from veterinary medicine. *Vaccine*, **16(14-15)**, 1468-1672.

CHASTANT-MAILLARD S, FREYBURGER L, MARCHETEAU E, THOUMIRE S, RAVIER JF, REYNAUD K (2012). Timing of the Intestinal Barrier Closure in Puppies. *Reproduction in Domestic Animals*, **47**, 190-193.

CHASTANT-MAILLARD S, MILA H (2016) Le colostrum de la chienne. *Veterinary focus*, **26(1)**, 32-38

CHIGERWE M, TYLER JW, MIDDLETON JR, SPAIN JN, DILL JS, STEEVENS BJ (2008). Comparison of four methods to assess colostrum IgG concentration in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **233(5)**, 761-766.

COINUS S (2014). *Composition nutritionnelle et immunologique du colostrum canin*. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse, 68 pages.

CORBIÈRE F, SAGOT L, GAUTIER JM (2013). Le colostrum chez les ovins : transfert de l'immunité passive et autres aspects d'importance pour l'agneau. *Bulletin des GTV*, **(21)**, 63-69.

- CSAPR J (1994). Composition of Colostrum from Goats, Ewes and Cows Producing Twins. *Int. Dairy Journal*, 445-458.
- DALL'ARA P, MELONI T, ROTA A, SERVIDA F, FILIPE J, VERONESI MC (2015). Immunoglobulins G and lysozyme concentrations in canine fetal fluids at term of pregnancy. *Theriogenology* , **83**, 766-771.
- DAVIDSON AP (2003). Approaches to Reducing Neonatal Mortality in Dogs. *In : Recent advances in small animal reproduction, Ithaca, NY, International Veterinary Information Service* .
- DECLERCK I, DEWULF J, DECALUWE R, MAES D (2016). Effects of energy supplementation to neonatal (very) low birth weight piglets on mortality, weaning weight, daily weight gain and colostrum intake. *Livestock Science*, **183**, 48-53.
- ERHARD MH, LUFT C, REMLER HP, STANGASSINGER M (2001). Assessment of colostrum transfer and systemic availability of immunoglobulin G in new-born foals using a newly developed enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) system. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, **85(5-6)**,164-173.
- FAHMY MH (1972). Comparative study of colostrum and milk composition of seven breeds of swine. *Canadian Journal of Animal Science*, **52(4)**, 621-627.
- FRANCESCHINI G (1950). *Contribution à l'étude du lait de chienne*. Thèse de doctorat vétérinaire, Alfort, 55 pages
- GILL MA (2001). *Perinatal and late neonatal mortality in the dog*. Thèse de doctorat d'université, University of Sydney, Australie, 190 pages .
- GONNIER M, ROSSIG L (2013). *Etude du colostrum et du transfert passif de l'immunité dans l'espèce canine*. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse,91 pages .
- GRANDJEAN D, PARAGON BM, PIBOT P (1989). Alimentation du chiot au sevrage. *Point vétérinaire*,**21**, spécial pédiatrie, 305-309.
- GUILLOMOT M (2001) L'implantation du blastocyste . *In : La reproduction chez les mammifères et l'Homme. Coord Thibault Ch, Levasseur MC. 928 pages, Chapitre 21, 457-478*
- GULLIKSEN SM, LIE KI, SØLVERØD L, ØSTERÅS O (2008). Risk Factors Associated with Colostrum Quality in Norwegian Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* , **91(2)**, 704-712.
- HAND MS, THATCHER C, REMILLARD R, ROUDEBUSH P, NOVOTNY B (2010). *Small Animal Clinical Nutrition 5th edition*.
- HEDDLE RJ, ROWLEY D (1975). Dog immunoglobulins. I. immunochemical characterization of dog serum, parotid saliva, colostrum, milk and small bowel fluid. *Immunology*, **29(1)**, 185.
- HEINZE CR, FREEMAN LM, MARTIN CR et al (2014) Comparaison of the nutrient composition of commercial dog milk replacers with that of dog milk. *J Am Vet Med Assoc*, 224(12), 1413-1422
- HIGAKI S, NAGANO M, KATAGIRI S, TAKAHASHI Y (2013). Effects of parity and litter size on the energy contents and immunoglobulin G concentrations of Awassi ewe colostrum. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **37(1)**, 109–112.

- JASTER EH (2005). Evaluation of quality, quantity, and timing of colostrum feeding on immunoglobulin G 1 absorption in Jersey calves. *Journal of dairy science*, **88(1)**, 296-302.
- JEGOU V, PORHIEL JY, BRUNSCHWIG P, JOUANNE D (2006). Mortalité des veaux d'élevage en Bretagne: Facteurs de risque de mortalité dans 80 élevages bretons. *Renc. Rech. Ruminants*, **13**, 423-426.
- KACSKOVICS I (2004). Fc receptor in livestock species. *Veterinary immunology and immunopathology*, **102**, 351-362
- KIELLAND C, ROOTWELT V, REKSEN O, FRAMSTAD T (2015). The association between immunoglobulin G in sow colostrum and piglet plasma. *Journal of Animal Science*, **93(9)**, 4453.
- KLOPFENSTEIN C (2002). Physiopathologie comparative de la lactation chez la truie et chez la vache. *Medecin Vétérinaire du Quebec*, **32**, 52-56.
- LECCE JG, MORGAN DO (1962). Effect of dietary regimens on cessation of intestinal absorption of large molecules (closure) in neonatal pigs and lambs. *The journal of nutrition*, **78**, 265.
- LE DIVIDICH J, THOMAS F, RENOULT H, OSWALD I (2005). Acquisition de l'immunité Passive chez le Porcelet: rôle de la quantité d'immunoglobulines ingérées et de la perméabilité intestinale. *J. Rech. Porcine*, **37**, 443-448.
- LE GAL A (2016). *Impact d'une supplementation energetique precoce sur la croissance, le metabolisme et la mortalite neonatale chez le chiot*. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse, 88 pages.
- LEVIEUX D (1984). Transmission de l'immunité passive colostrale: le point des connaissances. In : *Jarrige R (ed), Physiopathologie et pathologie périnatale chez les animaux de ferme*, INRA, Paris, France, 345-369
- MAILLARD R, GUIN B (2013). Immunié colostrale chez les bovins. *Bulletin GTV*, **(21)**, 17-25.
- MANGIN S (2002). *Transfert d'immunité colostrale chez le veau*. Thèse de doctorat vétérinaire, Alfort, 92 pages.
- MARTINET J, HOUDEBINE LM (1993). Transmission de l'immunité humorale systémique. In : *Biologie de la lactation*, 391-392.
- MEYERS H (1985). Untersuchungen zum Energie- und Nährstoffbedarf von Zuchthündinnen und Saugwelpen. *Advances in Animal Physiology and Animal Nutrition*. Parey ed, Hamburg.
- MILA H, FEUGIER A, GRELLET A, ANNE J, GONNIER M, MARTIN M, ROSSIG L, CHASTANT-MAILLARD S (2014). Inadequate passive immune transfer in puppies: definition, risk factors and prevention in a large multi-breed kennel. *Preventive Veterinary Medicine*, **116(1-2)**, 209-213.
- MILA H, FEUGIER A, GRELLET A, CHASTANT-MAILLARD S (2015a). Immunoglobulin G concentration in canine colostrum: evaluation and variability. *The journal of reproductive Immunology*, **112**, 24-28
- MILA H, GRELLET A, FEUGIER A, CHASTANT-MAILLARD S (2015b). Differential impact of birth weight and early growth on néonatal mortality in puppies. *Journal of Animal Science*, **93(9)**, 4436-4442

- MILA H, GRELLET A, FEUGUIER A, CHASTANT-MAILLARD S (2015c). Monitoring of the newborn dog and prediction of neonatal mortality. *à paraître*.
- MÜNNICH A, KÜCHENMEISTER U (2014). Causes, Diagnosis and Therapy of Common Diseases in Neonatal Puppies in the First Days of Life: Cornerstones of Practical Approach. *Reproduction in Domestic Animals*, **49**, 64-74.
- NEVILLE MC, MORTON J, UMEMURA S (2001). Lactogenesis: the transition from pregnancy to lactation. *Pediatric Clinics of North Americ*, **48**, 35-52.
- NGUYEN D (2001). Hormonal regulation of tight junction closure in the mouse mammary epithelium during the transition from pregnancy to lactation. *Journal of Endocrinology*, **170**, 347-356.
- NIELEN A, VAN DER GAAG I, KNOL B, SCHUKKEN Y (1998). Investigation of mortality and pathological changes in a 14-month birth cohort of boxer puppies. *Veterinary Record*, **142(22)**, 602-606.
- NORCROSS NL (1982) Secretion and composition of colostrum and milk. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **181**, 1057-1060
- PETZINGER C, OFTEDAL O, JACOBSEN K, MURTOUGH K, IRLBECK N, POWER M (2014). Proximate composition of milk of the bongo (*Tragelaphus eurycerus*) in comparison to other African bovids and to hand-rearing formulas: Milk Composition Bongo. *Zoo Biology*, **33(4)**, 305-313.
- POTKAY S, BACHER J (1977). Morbidity and mortality in a closed Foxhound breeding colony. *Laboratory Animal Science*, **27(1)**, 78-84.
- QUESNEL H (2011). Colostrum production by sows: variability of colostrum yield and immunoglobulin G concentrations. *animal*, **5(10)**, 1546-1553.
- RICKS J, ROBERTS M, PATTERSON R (1970). Canine secretory immunoglobulins : identification of secretory component. *J. Immunol.* , **105(6)**, 1327-1333.
- SCHÄFER-SOMI S, BAR SCHADLER S, AURICH JE (2005). Immunoglobulins in nasal secretions of dog puppies from birth to six weeks of age. *Research in Veterinary Science*, **78(2)**, 143-150.
- STOFFEL MH, FRIESS AE, HARTMANN SH (2000). Ultrastructural evidence of transplacental transport of immunoglobulin G in bitches. *Journal of reproduction and fertility*, **118(2)**, 315–326.
- STOTT GH, MARX DB, MENEFEE BE, MIGHTENGALE GT (1979). Colostral immunoglobulin transfer in calves I. Period of absorption. *J Dairy Sci.*, **62(10)**, 1632-1638.
- TIZARD, R, 2013. *Veterinary Immunologie*, 568
- WEAVER DM, TYLER JW, VANMETRE DC, HOSTETLER DE, BARRINGTON GM (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **14(6)**, 569-577.
- ZARCULA S, CERNESCU H, MIRCUCU C, TULCAN C, MORVAY A, BAUL S, POPOVICI D (2010). Influence of breed, parity and food intake on chemical composition of first colostrum in cow. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, **43 (1)**, 154-157.

ANNEXES

Annexe 1 : Conférence, résumé publié sur IVIS, *International Symposium on canine and feline reproduction*, Maison-Alfort , France, 22-25 juin.

Canine and feline colostrum: composition and modulation

Chastant-Maillard S, Aggouni C, Mila H.

NeoCare, Toulouse National Veterinary School, UMR INRA/ENVT 1225 IHAP, Université de Toulouse, INP-ENVT, Toulouse, France.

s.chastant@envt.fr

Puppy survival within the early weeks is particularly dependent on colostrum, a specific secretion of the mammary gland produced during the first two days post-partum. Colostrum is source of nutrients and immunoglobulins (crucial, as puppies are almost agammaglobulinemic at birth). It also contributes to the maturation of some organs, especially the digestive tract. Colostrum differentiates from milk mainly based on its concentration in immunoglobulins G ([IgG]): 20-30 g/l in dog colostrum, 40-50 g/l in cats vs less than 1 g/l in milk. [IgG] rapidly drops after parturition (-50% in 24 hours [1]). Immune quality of colostrum is highly variable between bitches (from 3 to 70 g/l), with no relationship with maternal blood [IgG], dam's age, breed size or litter size. Moreover, within one bitch, the different mammary glands produce colostrums of different [IgG] (by 2 fold in mean) but the position of the mammary gland producing the colostrum with the highest [IgG] is not constant among females [2]. In contrast with large species, refractometry does not allow a reliable evaluation of colostrum [IgG] in the canine [2]. After ingestion by the newborn, colostrum IgG are protected from digestion by a high concentration of colostrum anti-trypsin (1000 times higher than in milk). Transfer of a sufficient quantity of IgG from puppies digestive tract into its bloodstream (passive immune transfer) is crucial for their survival [3]. To be absorbed through the digestive epithelium, IgG have to be ingested before 12-16 hours after birth, time of the end of the intestinal barrier closure both for puppies [4] and kittens [5]. But colostrum not only ensures systemic immune protection, but also plays a major role for local digestive protection, thanks to a high IgA concentration. In colostrum, immunoglobulins are 55% IgG and 40% IgA, whereas in milk, proportions are 5% and 90% [6]. IgA in the digestive lumen can trap pathogens, that can be inactivated by other colostrum components, such as lysozyme, lactoferrin, white blood cells and various cytokines involved into the immune response. Colostrum also provides oligosaccharides, mucin and lactadherin, preventing pathogens adhesion to the digestive epithelium. Moreover, hormones (cortisol, insulin) and growth factors from colostrum hasten intestinal barrier closure, preventing entry of pathogens into the newborns bloodstream. Besides its major role in immunity, colostrum is responsible for energy supply. In bitch and queen, energetic concentration [E] of colostrum is not superior to that of mature milk. Canine colostrum is more energetic than that in feline, and both are markedly more energetic than bovine, goat or sheep milk (making them inadequate substitutes). Variability of [E] between bitches is more limited than for [IgG] (x2 instead of x20). Variation between mammary glands also seems low, both in bitches and in queens. [E] depends on the fat concentration of the secretion and is affected by breed size (with better energetic quality in small breeds <10 kg adult body weight). Energetic supply over the two first days of life, as evidenced by puppies growth rate over the two first days of life, is one of the major determinants of puppies survival [4]. Despite colostrum immune quality ([IgG]) and

energetic quality ([E]) are not correlated, at the puppies level, growth rate over the two first days of life is highly associated with the quality of passive immune transfer. 40% of puppies losing weight are in deficit of passive transfer vs only 1% among those that gain weight [7]. Early and sufficient suckling of colostrum is thus the very first care to be provided to puppies and newborns for their later health and survival.

[1] Claus et al. 2006 J Feline Med Surg 8:184-91. [2] Mila et al. 2015. J Reprod Immunol. 112:24-28. [3] Mila et al. 2014. Prev Vet Med, 116:209–213. [4] Chastant-Maillard et al, 2012 Reprod Domest Anim. 47 Suppl 6:190-3. [5] Casal et al 1996 Am J Vet Res 57:1653-1658. [6] Schäfer-Somi S et al. 2005 Res Vet Sci 78:143-50. [7] Chastant et Mila 2016 Veterinary Focus 26:32-38

Canine and feline colostrum

Chastant-Maillard S, Aggouni C, Albaret A, Fournier A, Mila H.

NeoCare, Toulouse National Veterinary School, UMR INRA/ENVT 1225 IHAP,
Université de Toulouse, INP-ENVT, Toulouse, France.

s.chastant@envt.fr

SHORT TITLE: Canine and feline colostrum

KEYWORDS: immunoglobulins, energy, growth, neonatal mortality, digestive tract

CONTENTS

Puppy and kitten survival over the first weeks is particularly dependent on colostrum, a specific secretion of the mammary gland produced during the first two days post-partum. Colostrum is source of nutrients and immunoglobulins. It also contributes to the digestive tract maturation. Colostrum differentiates from milk mainly based on its concentration in immunoglobulins G: 20-30 g/l in dog colostrum, 40-50 g/l in cats vs less than 1 g/l in milk. IgG concentration rapidly drops after parturition (-50% in 24 hours). Immune quality of colostrum is highly variable between bitches, with no relationship with maternal blood IgG level, dam's age, breed size or litter size. In addition to systemic immune protection, colostrum also plays a major role for local digestive protection, thanks to IgA, lysozyme, lactoferrin, white blood cells and various cytokines. Energetic concentration of canine and feline colostrum is not superior to that of mature milk. It depends on colostrum fat concentration and is affected by breed size (higher in breeds <10 kg adult body weight). As puppies and kittens are almost agammaglobulinemic at birth, transfer of IgG from their digestive tract into their bloodstream is crucial for their survival, IgG absorption ending at 12-16 hours after birth. Energetic supply over the two first days of life, as evidenced by growth rate over the two first days of life, also affects risk of neonatal mortality. Early and sufficient suckling of colostrum is thus the very first care to be provided to newborns for their later health and survival.

Corresponding author :

Sylvie CHASTANT-MAILLARD; s.chastant@envt.fr

The neonatal period (from birth to 21 days of life) is a major risk period for feline and canine newborns since approximately 20% of live-born puppies and kitten die before they are 21 days old; 70 to 90% of deaths occur during the first week post-partum (Gill, 2001; Mila et al, 2015a; Fournier et al 2016). Carnivores newborns survival within the three first weeks of life is particularly dependent on colostrum, a specific secretion of the mammary gland produced during the first two days post-partum. Colostrum is crucial for newborns since it provides them with nutrients and immunoglobulins (Ig). In puppies, both the quality of passive immune transfer (evaluated by circulating IgG levels at 2 days of age) and the energy ingested (as evaluated via the growth between birth and 2 days old), have been demonstrated to control the risk of neonatal mortality (Mila et al, 2014, 2015b).

1. Immune role of colostrum

Immunoglobulins

In carnivores, colostrum distinguishes from milk by a markedly higher concentration in immunoglobulins G ([IgG]): 20-30 g/l in dog colostrum, 50-70 g/l in cats vs less than 1-5 g/l in milk (Schäfer-Somi et al, 2004; Claus et al 2006). IgG from the dam's bloodstream are trapped into the mammary cells during the last weeks of pregnancy by their fixation on specific receptors (FcRn, Fragment constant receptor neonatal). They thus accumulate into the mammary tissue at the end of pregnancy. At parturition, IgG are massively released into the first mammary secretions, with colostral levels typically 3-4 times higher than in the maternal bloodstream (Claus et al, 2006; Mila et al, 2015c). Nevertheless, [IgG] rapidly drops from parturition, with a reduction of 50% over the first 24 hours; at day 7, [IgG] has fallen to ~5 g/L and to less than 1 g/L on D14 (Schäfer-Somi et al, 2004; Claus et al, 2006; Albaret et al, 2016). This dramatic reduction is explained by the translocation of the FcRn receptor at parturition from the basal to the apical aspect of glandular cells (Kuo et al 2010), allowing IgG from secretions to be recaptured through the maternal bloodstream. This [IgG] after parturition allows to set the transition from colostrum to milk at the third day post-partum.

Other immune difference between colostrum and milk is the proportion of the different classes of immunoglobulins. In colostrum, class G is the dominant one. Proportions in the canine colostrum are 60% IgG, 35-40% for IgA, and 5% for IgM, IgE being undetectable. In the feline colostrum, 96% of immunoglobulins are IgG, vs 2% for IgM and 2% of IgA (Casal et al). Whereas IgG originate massively from the maternal bloodstream, IgA and M are rather produced locally in the mammary tissue. In milk, IgA becomes the dominant type (90% of Ig), IgG and IgM accounting both for only 5% (Schafer-Somi et al, 2004; Chastant-Maillard et al, 2010).

Colostral Ig are of crucial importance for puppies and kittens survival, both for systemic (IgG) and local (IgG and IgA) immunity. Due to the endotheliochorial structure of their placenta, these newborns are nearly agammaglobulinemic at birth: [IgG] in the newborn blood at birth is around 0.3 g/L to be compared to 8-25 g/L in

adult dogs (Bouchard et al, 1992; Poffenbarger et al, 1991); in cat, respectively 0.1 vs 15-20 g/l (Casal et al, 1996; Levy et al, 2001). Ingested colostral IgG are absorbed from the gut lumen into the intestinal lymphatic vessels and then, the newborn bloodstream either by specific and non specific transfer: specific transport depends on FcRn receptors, also expressed by enterocytes, whereas Ig also cross freely the digestive epithelium between the loosely associated enterocytes. Interestingly, colostrum is also highly concentrated in anti-trypsins (1000 fold higher than in milk; Levieux et al, 1999), protecting Ig from digestive processes. Nevertheless, digestive wall differentiation, beginning as early as birth, restricts Ig absorption to a short window of time after birth: development of the brush border and establishment of tight junctions between enterocytes progressively limits IgG intestinal crossing. At birth, in puppies, 40% of the ingested Ig are absorbed from the gut lumen through the bloodstream, whereas only 20% at 4 hours after life; from 12-16 hours after birth, intestinal barrier is totally closed, both in puppies (Chastant-Maillard et al 2012) and in kittens (Casal et al, 1996). From above, an early suckling appears necessary for an adequate acquisition of passive immunity, first due to the rapid decrease in colostral [Ig] in the first hours post-partum, and secondly to the timing of the intestinal barrier closure.

From nearly null at birth, [IgG] is maximal in the newborns blood thanks to colostral intake at 24-48 hours after ingesting colostrum. At that stage, puppy's blood [IgG] will be in the order of 6 g/L, 25 g/l in kittens, 85-97% of circulating Ig being of colostral origin (Casal et al, 1996; Levy et al, 2001; Chastant-Maillard et al, 2012). The threshold defining deficit in passive immune transfer has been determined in puppies at 2.3 g IgG /l serum at 2 days of age (Mila et al, 2014): neonatal mortality rate (from birth to Day 21) is 44% for puppies whose concentration is below the threshold vs 4.9% for those above. The minimal [IgG] protective for kittens is lacking to date. IgA are also absorbed before intestinal barrier closure, but they are rapidly resecreted through mucosa, especially respiratory and digestive, where they play a role in local immunity (Salmon et al, 2009; Chastant-Maillard et al, 2012).

But intestinal barrier closure does not end the immune role of colostrum. Ingested immunoglobulins, both IgG and IgA, enclosed into the digestive lumen, participate into digestive local immunity, either by trapping pathogens or by contributing to antigen presentation to white blood cells.

Other immune factors

Colostrum provides other components with an immune role: non specific antibacterial factors such as lactoferrin and lysozyme, together with cytokines, involved into immune response and white blood cells activation. Colostrum also contains white blood cells, (macrophages, neutrophils and lymphocytes): these cells are absorbed by the newborn before the intestinal barrier closes, and either enter the circulation, or play a role in cellular, humoral or local digestive immunity. Colostral mucin, lactadherin and oligosaccharides also prevent the adhesion of pathogens to enterocytes (Stelwagen et al, 2009).

Colostrum will also indirectly contribute to the defense of the organism against pathogens by promoting intestinal barrier closure: thanks to colostrum hormones (especially insulin and cortisol), enterocytes become more closely associated, limiting the penetration of pathogens from the digestive tract into the newborn bloodstream.

Improving the immune quality of colostrum

The immunological quality of the colostrum, in terms of IgG concentration, is quite variable, both between female dogs and between teat pairs of the same female. In one study looking at the colostrum of 44 female dogs of the same breed, the IgG levels varied between females by a factor of 5; The IgG concentration in 180 samples from different teat pairs varied between 0.8 and 61 g/L, with a variation coefficient of 42% between teat pairs of the same bitch (Mila et al, 2015c) However, the teat pair producing the highest-quality colostrum varies from one animal to another, so there is no value in advising puppies should suckle from one particular teat. The variation of [IgG] between teats is unknown in queens. During the colostrum period, neither kittens nor puppies develop a nipple preference (Hudson et al 2009; Arteaga et al., 2013). Nevertheless, passive immune transfer may markedly differ between puppies of the same litter (figure 1), probably due either to differences in the quantity, the quality and/or the timing of colostrum ingestion.

The immune quality of colostrum (as evaluated through colostrum [IgG]) seems to be difficult to be improved. Neither the dam's age, litter size, nor breed size, revealed to influence colostrum [IgG] (Mila et al, 2015c). Ensuring appropriate nutrition of the dam during gestation and its good general health are basic prerequisites. Despite colostrum IgG originate from the maternal bloodstream, no relationship appeared between the colostrum [IgG] and the maternal serum concentration (Chastant-Maillard et al., 2012; Mila et al, 2015c). Moreover, the risk for deficit in passive immune transfer of puppies is not associated to the mean colostrum [IgG] delivered by the dam (Mila et al, 2014). But one suggested strategy may be to increase among total immunoglobulins, the proportion of antibodies directed against pathogens affecting the newborn such as the canine parvovirus CPV-2, canine herpesvirus CHV-1 or feline herpes or calicivirus. This specific enrichment can be obtained by vaccination of the dam during the second half of pregnancy and/or at short distance of heats for antigens whose vaccination is contraindicated during pregnancy.

2. Role in organ maturation

As presented above, colostrum contains significant quantities of hormones (cortisol, insulin, thyroxin, Growth Hormone) and several growth factors (insulin-like Growth Factors, Epidermal Growth Factor, Nerve Growth Factor) (15). These substances are involved into the development and maturation of several organs, namely the digestive tract, the liver, the pancreas and the thyroid (Heird et al, 1984). This

maturation then improve further nutrients intestinal absorption and the efficacy of the newborn's metabolism.

3. Nutrients supply

Energy is provided in colostrum nearly equally by proteins (50% of colostrum energy) and by lipids (40%), but variations in the energy value are principally explained by variations in the lipid levels (Mila et al, 2015d). In carnivores, energetic concentration (kcal/ml) is similar in colostrum and in milk, but pattern over lactation differs slightly between bitch and queen. In dog, energy value progressively decreases by 20% during the two first weeks post-partum whereas in queens, it more rapidly drops (-30% over the first three days) and then increase progressively over the whole lactation (Adkins et al 1997, 2001). In comparison with canine (1300-1800 kcal/l) and feline colostrum (1300 kcal/l), energetic value of milk replacers ranges between 500 and 1500 kcal/l (Adkins et al, 1997; 2001; Heinze et al, 2014; Mila et al, 2015d).

The energy value of colostrum can vary between dams, albeit within a fairly small range compared to its immune value, by a factor of 1.6; differences between teat pairs of the same dog are also much more limited for energy than for IgG with a variation coefficient of around 8%, as opposed to 42% for the immunological value (Mila et al, 2015c). Interestingly, the immunological quality and energy value of colostrum are not correlated (figure 2; Mila et al, 2015d).

Age and litter size have not been shown to affect the energy value, whereas bitches from small breeds (<10kg) have colostrum of 10% higher energetic value than females from large breeds (>40kg) (unpublished data).

4. Quality vs quantity of colostrum

Whilst minimal quality criteria (i.e. threshold levels of colostrum IgG and energy concentrations) required to control neonatal mortality have been determined in some species (REF veau), they are currently unknown for canine and feline. Even the actual quantity of colostrum produced by bitches and queens is unknown, only estimated from milk production measured during the first week post-partum: 2.7% (1-6%) and 4.1% (1-8%) of the dam's body weight respectively in bitches and in queens (Meyers et al 1995 on 5 bitches; Dobenecker et al, 1998 on 6 queens). A 10 kg Beagle bitch is thus estimated to produce 270 ml of colostrum per day and a 4 kg queen 160 ml of colostrum per day.

Knowledge of newborns immune and energy needs also the calculation of the minimal quantity of colostrum to be ingested. For adequate passive immune transfer (i.e. puppy's IgG serum levels of 2.3 g/L), the quantity of average colostrum that must be ingested is 1.3 mL per 100 g of puppy bodyweight within the first 8 hours of life (digestive absorption rate of 40%, 35% hematocrit, colostrum IgG levels 20 g/L). In contrast, the average quantity of ingested colostrum required to cover energy needs is much higher, at 12 mL per 100 g of puppy bodyweight per day (energy need of 212 kcal/kg per day if the colostrum supplies 1800 kcal/L). Similar calculation in kittens

shows that the minimal colostrum ingestion to cover energy needs is 16 ml per 100g of kitten body weight per day (220 kcal/kg per day; Peterson et Kutzler, 2011). Calculation for sufficient passive immune transfer is impossible to perform due to the unavailability of serum IgG threshold in kittens. Taken together, these results indicate that a Beagle dam would be able to produce enough colostrum for eleven 200g puppies, whereas a standard queen would be able to appropriately nurse ten 100g kittens. In mean, colostrum production does not seem to be a major limiting factor for newborns health. This conclusion is reinforced by the observation of a similar prevalence of immune and energy deficit in puppies (respectively 20% and 30% at two days of age; Mila et al, 2014, 2015b), despite the much higher quality of colostrum required to cover energy needs.

CONCLUSION

Birth induces major physiological changes for the fetus, to which the newborn will have to cope with to survive. Among those dramatic changes, the nutrients are no more passively and continuously supplied by the placenta and the environment becomes hostile, since massively infected by potential pathogens and instable low temperature (vs the sterile thermoregulated uterus). Colostrum, providing immune factors and nutrients, especially energy, is the key element for a correct adaptation of the newborn to the extra uterine life. In case of its deficit, their survival would depend on an adequate substitute, designed at least to ensure immune and energetic provision.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank all the people who contributed to improving knowledge on canine colostrum, particularly Jennifer Anne, Pierre Bergamo, Marie-Blanche Bertieri, Bruno Carrez, Stéphanie Coinus, Alexandre Feugier, Milène Gonner, Elie Marcheteau, Claire Mariani, Maelys Martin, Sandra Thoumire, Karine Reynaud, Jean-François Ravier, Lisa Rossig.

LEGENDS

Figure 1: Immune (A) and energetic (B) value of canine colostrum depending on mammary pair number. M1: thoracic to M5: inguinal. Mean \pm SD. Between brackets, number of bitches. $p > 0.05$ for both criteria.

Figure 2: Differences in passive immune transfer between litters and between puppies within litters on 34 litters from various purebred bitches. Each bar represents blood IgG concentration of one puppy; each group of bars of the same color represents puppies from the same litter.

Figure 3: Absence of correlation between IgG and energy concentrations in canine colostrum. 77 samples from 21 bitches ($p > 0.05$; unpublished data).

REFERENCES

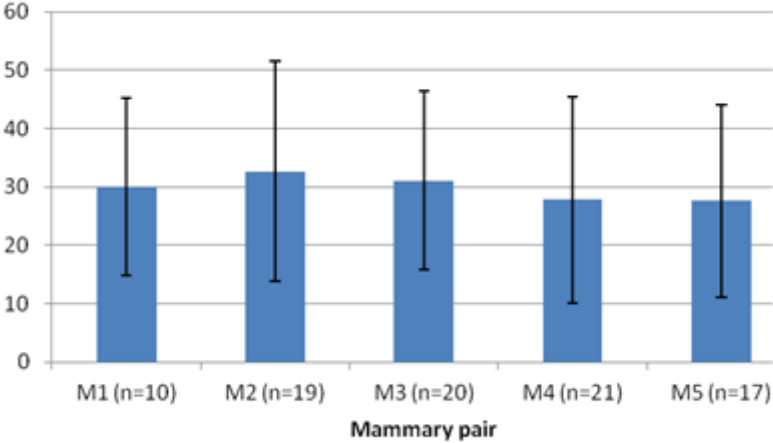
- Adkins, Y., Lepine, A.J., Lonnerdal, B., 2001. Changes in protein and nutrient composition of milk throughout lactation in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 62, 1266-1272.
- Adkins, Y., Zicker, Lepine, A.J., Lönnerdal, B. 1997. Changes in nutrient and protein composition of cat milk during lactation. *Am. J. Vet. Res.* 58, 370-5.
- Albaret, A., Mila, H., Grellet, A., Chastant-Maillard, S., 2016. Pattern of immunoglobulin G concentration in canine colostrum and milk during the lactation. 8th International Symposium on canine and feline reproduction. 22-25th June, Maisons-Alfort, France. page 3
- Arteaga, L., Rödel, H.G., Elizalde, M.T., Gonzalez, D., Hudson, R., 2013. The pattern of nipple use before weaning among littermates of the domestic dog. *Ethology.* 119, 12-19.
- Bouchard, G., Plata-Madrid, H., Youngquist, R.S., Buening, G.M., Ganjam, V.K., Krause, G.F., Allen, G.K., Paine, A.L., 1992. Absorption of an alternate source of immunoglobulin in pups. *Am. J. Vet. Res.* 53, 230–233.
- Casal, M.L., Jezyk, P.F., Giger, U. 1996. Transfer of colostrum antibodies from queens to their kittens. *Am. J. Vet. Res.* 57, 1653-1658.
- Chastant-Maillard, S., Marcheteau, E., Freyburger, L., Fontbonne, A., Bergamo, P., Ravier, J.F., Reynaud, K. 2010. Identification and quantification of immunoglobulins in canine colostrum – Quantification of colostrum transfer. 7th EVSSAR Congress, 14-15th May. Louvain-La-Neuve, Belgium. 107.
- Chastant-Maillard, S., Freyburger, L., Marcheteau, E., Thoumire, S., Ravier, J., Reynaud, K., 2012. Timing of the intestinal barrier closure in puppies. *Reprod. Dom. Anim.* 47, 190–193.
- Claus, M., Levy, J., Macdonald, K., Tucker, S., Crawford, P., 2006. Immunoglobulin concentrations in feline colostrum and milk, and the requirement of colostrum for passive transfer of immunity to neonatal kittens. *J. Feline. Med. Surg.* 8, 184-191.
- Dobenecker, B., Zottmann, B., Kienzle, E., Zentek, J., 1998. Investigations on milk composition and milk yield in queens. *J Nutr.* 128:2618S-2619S.
- Fournier, A., Masson, M., Mila, H., Mariani, C., Grellet, A., Chastant-Maillard, S. 2016. Epidemiological analysis of reproductive performances and pre-weaning mortality rates in 5415 purebred queens and 28 966 kittens in France. 8th International Symposium on canine and feline reproduction. 22-25th June, Maisons-Alfort, France. 66.
- Gill, M.A. Perinatal and late neonatal mortality in the dog. University of Sydney 2001. PhD thesis; available at; http://ses.library.usyd.edu.au/bitstream/2123/4137/1/m_gill_thesis_2001.pdf Accessed 23rd September 2015.
- Heinze, C.R., Freeman, L.M., Martin, C.R., Power, M.L., Fascetti, A.J. 2014. Comparison of the nutrient composition of commercial dog milk replacers with that of dog milk. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 244, 1413-1422.

- Heird, W.C., Schwarz, S.M., Hansen, I.H. 1984. Colostrum-induced enteric mucosal growth in beagle puppies. *Pediatr. Res.* 18, 512-515.
- Hudson, R., Raihani, G., Gonzalez D., Bautista A., Distel H. 2009. Nipple preference and contests in suckling kittens of the domestic cat are unrelated to presumed nipple quality. *Dev Psychobiol.* 51,322-32.
- Kuo, T.T., Baker, K., Yoshida, M., Qiao, S.W., Aveson, V.G., Lencer, W.I., Blumberg, R.S. 2010. Neonatal Fc receptor: from immunity to therapeutics. *J. Clin. Immunol.* 30,777-89.
- Levieux, D., Ollier, A. 1999. Bovine immunoglobulin G, lactalbumin and serum albumin in colostrum and milk during the early post-partum period. *J. Dairy Res.* 66, 421-430.
- Levy, J.K., Crawford, P.C., Collante, W.R., Papich, M.G., 2001. Use of adult cat serum to correct failure of passive transfer in kittens. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 219, 1401–1405.
- Mila, H., Feugier, A., Grellet, A., Anne, J., Gonnier, M., Martin, M., Rossig, L., Chastant-Maillard, S., 2014. Inadequate passive immune transfer in puppies: definition, risk factors and prevention in a large multi-breed kennel. *Prev. Vet. Med.* 116, 209–213.
- Mila, H., Feugier, A., Grellet, A., Chastant-Maillard S. Variability of mortality risk factors with age in puppies. *Annual Meeting of the Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine.* Gand, Belgique, 25-27 Mars, 2015a.
- Mila, H., Grellet, A., Feugier, A., Chastant-Maillard S. 2015b Differential impact of birth weight and early growth rate on neonatal mortality in puppies. *J. Anim. Sci.* 93, 4436-4442.
- Mila, H., Feugier, A., Grellet, A., Anne, J., Gonnier, M., Martin, M., Rossig, L., Chastant-Maillard, S., 2015c. Immunoglobulin G concentration in canine colostrum: evaluation and variability. *J. Reprod. Immunol.* 112,24-28.
- Mila, H., Coinus, S., Grellet, A., Feugier, A., Mariani, C., Power, M., Maslanka, M., Chastant-Maillard, S. 2015d Energy or immunity ? Nutritional and immunological composition of canine colostrum. 18th EVSSAR congress (Hanovre), 11-12 September. 109
- Peterson, M., Kutzler, M. 2011. *Small animal Pediatrics: The first 12 months of life.*, Elsevier. 526p.
- Poffenbarger, E.M., Olson, P.N., Chandler, M.L., Seim, H.B., Varman, M., 1991. Use of adult dog serum as a substitute for colostrum in the neonatal dog. *Am. J. Vet. Res.* 52, 1221–1224.
- Salmon, H., Berri, M., Gerds V., Meurens, F. 2009. Humoral and cellular factors of maternal immunity in swine. *Dev. Comp. Immunol.* 33, 384-393.
- Schäfer-Somi, S., Bär-Schadler, S., Aurich, J.E., 2005. Immunoglobulins in nasal secretions of dog puppies from birth to six weeks of age. *Res. Vet. Sci.* 78, 143–150.
- Stelwagen, K., Carpenter, E., Haigh, B., Hodgkinson, A., Wheeler, TT. 2009. *J. Anim. Sci.* Immune components of bovine colostrum and milk. 87, 3-9.

Figure 1

A.

Energy (kcal/g)



B.

[IgG] (g/l)

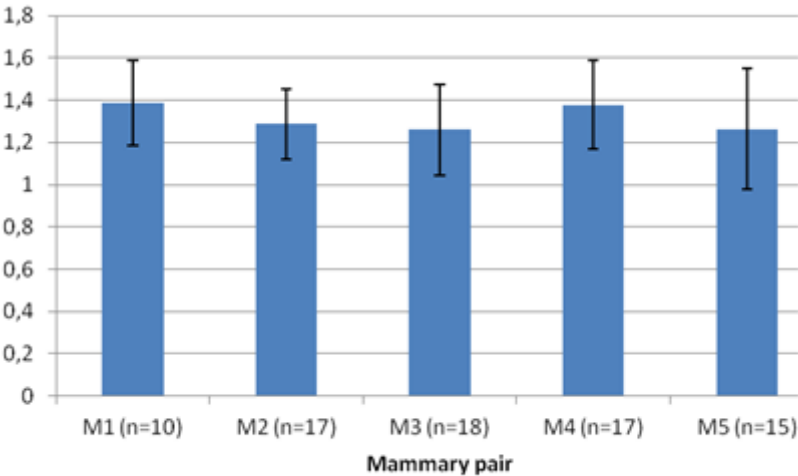


Figure 2

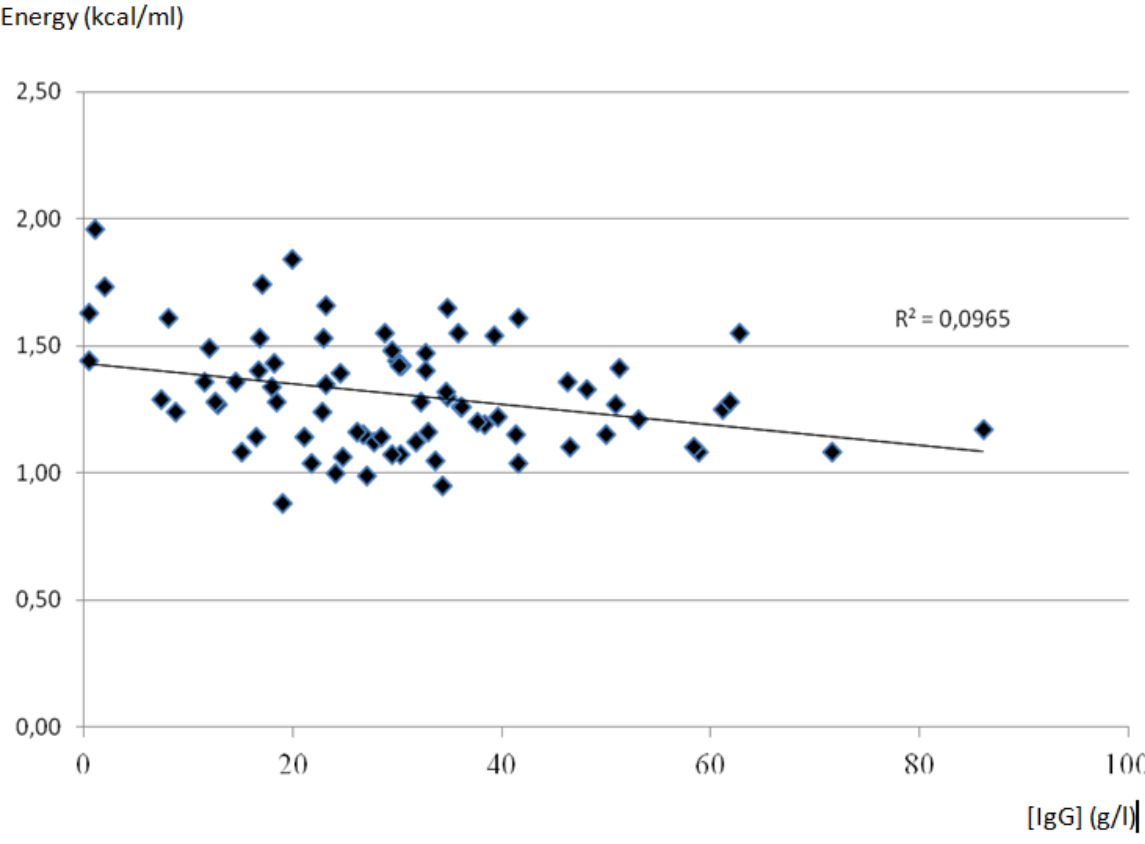
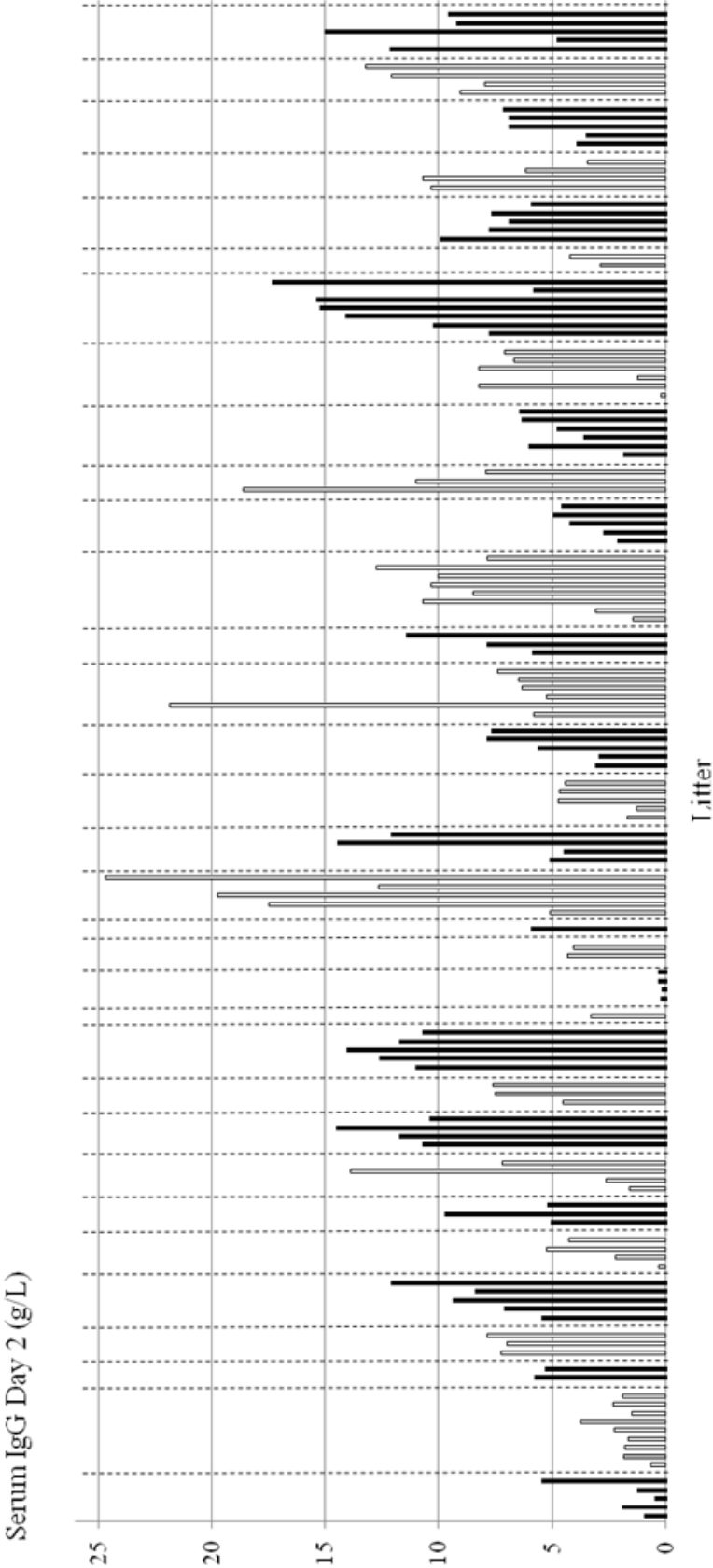


Figure 3



NOM : AGGOUNI

PRENOM : Charlotte

TITRE : Etude de la qualité immunologique et énergétique du colostrum de la chienne : impact sur la santé du chiot

RESUME : Le colostrum joue un rôle important dans la survie du chiot en lui apportant les nutriments et les anticorps dont il a besoin pour sa survie durant ses premiers jours de vie. Nous avons défini la qualité immunologique du colostrum par sa concentration en IgG (en g/l) et sa qualité énergétique par sa teneur en énergie (en kcal/g). L'étude de la qualité immunologique a été menée sur 139 chiennes et 657 chiots d'un élevage canin français. Ni l'âge, ni le format racial, ni la parité de la chienne, ni la taille de la portée n'ont montré d'influence sur la concentration en IgG du colostrum produit. Nous n'avons pas mis en évidence de lien entre la qualité immunologique du colostrum et la concentration en IgG sérique à deux jours de vie du chiot. L'étude de la qualité énergétique du colostrum a été réalisée sur 59 chiennes et 300 chiots. Les chiennes de moins de 15 kg produisent un colostrum de meilleure qualité énergétique que les chiennes de plus grand format. Dans notre étude les chiennes de moins de 3 ans et les primipares semblent également produire un colostrum de meilleure qualité mais le nombre d'individu est trop faible pour conclure. Les chiots recevant un colostrum de mauvaise qualité énergétique, que nous avons défini comme étant un colostrum ayant une valeur énergétique inférieure à 1,145 kcal/g, ont 1,7 fois plus de risque d'avoir une glycémie à un jour de vie inférieure à 92 mg/dl et 1,9 fois plus de risque d'avoir un taux de croissance sur ses deux premiers jours de vie inférieur à -4% (ces deux situations augmentent le risque de mortalité néonatale du chiot). Le colostrum de mauvaise qualité énergétique a en moyenne une concentration en IgG plus faible. Très peu de chiots arrivent à couvrir leurs besoins immunologiques si leurs besoins énergétiques ne le sont pas et même s'ils y arrivent ils ont un risque de mortalité qui reste plus élevé. Il semble donc que le facteur le plus discriminant soit le manque d'énergie et non le manque d'anticorps.

MOTS CLES : colostrum / chien / immunoglobuline G / énergie / qualité

TITLE: Study of the immune and energetic quality of bitches colostrum: impact on puppies health

SUMMARY: Colostrum plays an important role in puppies survival by providing nutrients and antibodies required for its survival during the first days of life. We defined the immune quality of colostrums by its concentration in immunoglobulins G (IgG), (g/l) and its energetic quality by its energy value (kcal/g). Immune quality was studied on 139 bitches and 657 puppies from a French breeding kennel. Neither the age, nor the breed size, the parity and the litter size were shown to have any influence on colostrum IgG concentration. The blood IgG concentration at Day 2 was not found correlated to the immune quality of colostrums. Energetic quality was studied on 59 bitches and 300 puppies. Colostrum from bitches less than 15 kg were of higher energetic quality than those from bitches of bigger size. Bitches less than 3 years and primiparous females seemed to have colostrum from higher energetic quality, but on a limited number of bitches. Puppies whose dam produced a low quality colostrums (energy value below 1.145 kcal/g) were at higher risk (x 1.7) of hypoglycemia at one day of age (<92 mg/dl) and at higher risk of low growth over the two first days of life (below -4%), both situations associated to a higher risk of neonatal mortality. Colostrums of low energetic quality are in mean of lower immune quality. A very limited number of puppies in hypoglycemia succeed in acquiring a sufficient blood IgG level, and even in that case, they remain at higher risk of neonatal mortality. This indicates that the main limiting factor of puppies survival is a deficit in energy rather than an immune deficit.

KEY WORDS: colostrum / dog / G immunoglobulins / energy / quality