



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 : 17533

To cite this version :

Albaret, Amélie. *Composition immunologique des sécrétions lactées dans l'espèce canine*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2016, 100 p.

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

COMPOSITION IMMUNOLOGIQUE DES SECRETIONS LACTEES CHEZ LA CHIENNE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

ALBARET Amélie

Née, le 12 octobre 1990 à Ambert (63)

Directeur de thèse : Mme Sylvie CHASTANT

JURY

PRESIDENT :

M. Jean-Pierre OLIVES

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Sylvie CHASTANT
Mme Séverine BOULLIER

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

MEMBRE INVITE :

Mme Hanna MILA

Maître de Conférences à l'Ecole 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 Hélène, MC</p> <p><u>BIostatISTIQUES :</u> M. CONCORDET Didier, PR M. LYAZRHI Fauzi, 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, son dynamisme, et la transmission de sa passion,

Remerciements très chaleureux.

A Madame le Docteur Séverine BOULLIER

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Microbiologie – Immunologie – Maladies Infectieuses.

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

Sincères remerciements.

A Madame le Docteur Hanna MILA

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Pathologie de la reproduction.

Qui m'a beaucoup aidée tout au long de ce travail,

Pour sa disponibilité, sa patience inépuisable et sa gentillesse à toute épreuve,

Qu'elle trouve ici la marque de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Sincères remerciements.

A Mademoiselle Victoria CLUZET

Pour sa partition aux dosages, sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES.....	7
LISTE DES TABLEAUX.....	9
LISTE DES FIGURES	11
INTRODUCTION.....	13
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	15
I. Les immunoglobulines.....	15
A. Classes d'immunoglobulines	15
B. Rôle dans l'immunité humorale systémique	17
C. Fermeture de la barrière intestinale	18
D. Rôle dans l'immunité locale.....	19
E. Protection des immunoglobulines contre la digestion.....	20
II. Composants à action bactéricide et bactériostatique.....	21
III. Cellules blanches	21
IV. Composants protecteurs des entérocytes	22
ETUDE EXPERIMENTALE	25
I. Matériels et méthodes.....	25
A. Population.....	25
B. Prélèvements.....	26
C. Dosages des immunoglobulines	27
a. Principe général.....	27
b. Protocole.....	28
D. Chiots	32
E. Traitement des données	33
II. Résultats.....	34
A. Description de la population	34
B. Concentration en immunoglobulines G et A dans les sécrétions mammaires	37
a. Evolution au cours de la lactation.....	37
i. IgG.....	37
ii. IgA.....	39
b. Proportions et corrélation entre les concentrations d'IgG et d'IgA	41
C. Facteurs de variation.....	42
a. Age de la mère	42
b. Parité	48
c. Format racial	50
d. Taille de la portée	53
e. Poids total de la portée	57
f. Gain de poids des chiots.....	59

g. Mamelles prélevées	59
III. Discussion	65
A. Limites de l'étude	65
a. Population étudiée.....	65
b. Echantillonnage	66
c. Délais de prélèvement après la mise-bas.....	66
d. Classes d'immunoglobulines non dosées	67
B. Résultats	67
a. Qualité immunologique des sécrétions lactées.....	67
b. Evolution de la concentration en immunoglobulines	68
c. Définition du colostrum dans l'espèce canine	70
d. Variabilité et facteurs de variation inter-chiennes	72
i. Variations inter-raciales.....	72
ii. Variabilité liée à l'âge et la parité de la chienne.....	73
iii. Variations selon la taille/le poids de la portée.....	74
e. Variabilité et facteur de variation intra-chienne : les mamelles.....	75
C. Perspectives	77
a. Doser le taux d'IgG dans le colostrum au chevet de la mère	77
b. Remplacer le colostrum par du lait ?.....	77
c. Augmenter le taux d'IgG et d'IgA et/ou les orienter vers certains pathogènes	78
d. Rôle des composants immunitaires pour la mère	80
CONCLUSION	82
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	83
LISTES DES ANNEXES	92

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : ORIGINE DES IMMUNOGLOBULINES DANS LES SÉCRÉTIONS LACTÉES CANINES.....	15
TABLEAU 2 : SYNTHÈSE DES COMPOSANTS IMMUNOLOGIQUES ET LEURS RÔLES DANS LES SÉCRÉTIONS LACTÉES.....	23
TABLEAU 3 : RÉPARTITION DES EFFECTIFS SELON LA TAILLE DE PORTÉE.....	25
TABLEAU 4 : DILUTIONS.....	29
TABLEAU 5 : NOMBRE D'ANALYSES PAR TEMPS DE LACTATION.....	36
TABLEAU 6 : NOMBRE D'ANALYSES DANS CHAQUE CATÉGORIE	36
TABLEAU 7 : CONCENTRATIONS EN IGG (MOYENNE ± ÉCART TYPE) DANS LES SÉCRÉTIONS MAMMAIRES DE CHIENNES AU COURS DE LA LACTATION ET POURCENTAGE DE DIMINUTION DE LA CONCENTRATION EN IGG PAR RAPPORT À H4-H8	38
TABLEAU 8 : CONCENTRATIONS EN IGA (MOYENNE ± ÉCART TYPE) DANS LES SÉCRÉTIONS MAMMAIRES DE CHIENNES AU COURS DE LA LACTATION ET POURCENTAGE DE VARIATION (%) DE LA CONCENTRATION EN IGA ENTRE CHAQUE TEMPS DE LACTATION.....	40
TABLEAU 9 : VALEURS DE R ET P POUR CHAQUE TEST DE CORRÉLATION LINÉAIRE ENTRE LA CONCENTRATION EN IGG ET L'ÂGE DE LA MÈRE	42
TABLEAU 10 : VALEURS DE R ET P POUR CHAQUE TEST DE CORRÉLATION LINÉAIRE ENTRE LA CONCENTRATION EN IGA ET L'ÂGE DE LA MÈRE	43
TABLEAU 11 : CONCENTRATIONS EN IGG (G/L) SELON LES CATÉGORIES D'ÂGE POUR LES DIFFÉRENTS TEMPS DE LACTATION ET VALEURS DE P CORRESPONDANT À LA COMPARAISON DES TROIS GROUPES	45
TABLEAU 12 : CONCENTRATIONS EN IGA (G/L) SELON LES CATÉGORIES D'ÂGE POUR LES DIFFÉRENTS TEMPS DE LACTATION ET VALEURS DE P CORRESPONDANT À LA COMPARAISON DES TROIS GROUPES	46
TABLEAU 13 : CONCENTRATIONS MOYENNES (± ÉCART TYPE) EN IGG AU COURS DE LA LACTATION EN FONCTION DE LA PARITÉ DES CHIENNES ET VALEURS DE P	48
TABLEAU 14 : CONCENTRATIONS MOYENNES (± ÉCART TYPE) EN IGA AU COURS DE LA LACTATION EN FONCTION DE LA PARITÉ DES CHIENNES ET VALEURS DE P	49
TABLEAU 15 : CONCENTRATIONS MOYENNES (± ÉCART TYPE) EN IGG (G/L) SELON CHAQUE FORMAT RACIAL ET VALEUR DE P POUR CHAQUE TEMPS DE LACTATION	50
TABLEAU 16 : CONCENTRATIONS MOYENNES (± ÉCART TYPE) EN IGA (G/L) SELON CHAQUE FORMAT RACIAL ET VALEUR DE P POUR CHAQUE TEMPS DE LACTATION	51
TABLEAU 17 : VALEURS DE R ET P POUR CHAQUE TEST DE CORRÉLATION LINÉAIRE ENTRE LA CONCENTRATION EN IGG ET LA TAILLE DE LA PORTÉE	53
TABLEAU 18 : VALEURS DE R ET P POUR CHAQUE TEST DE CORRÉLATION LINÉAIRE ENTRE LA CONCENTRATION EN IGA ET LA TAILLE DE LA PORTÉE	54
TABLEAU 19 : CORRÉLATION ENTRE LES CONCENTRATIONS EN IGG ET LE NOMBRE DE CHIOTS DANS LA PORTÉE SELON LE FORMAT RACIAL.....	55
TABLEAU 20 : CORRÉLATION ENTRE LES CONCENTRATIONS EN IGA ET LE NOMBRE DE CHIOTS DANS LA PORTÉE SELON LE FORMAT RACIAL.....	55
TABLEAU 21 : CORRÉLATION LINÉAIRE ENTRE LA CONCENTRATION EN IGG ET LE POIDS TOTAL DE LA PORTÉE	57
TABLEAU 22 : CORRÉLATION LINÉAIRE ENTRE LA CONCENTRATION EN IGA ET LE POIDS TOTAL DE LA PORTÉE	57
TABLEAU 23 : VALEURS DES TESTS DE CORRÉLATION ENTRE LES CONCENTRATIONS EN IGG ET LE POIDS TOTAL DE LA PORTÉE SELON LE FORMAT RACIAL.....	58
TABLEAU 24 : VALEURS DES TESTS DE CORRÉLATION ENTRE LES CONCENTRATIONS EN IGA ET LE POIDS TOTAL DE LA PORTÉE SELON LE FORMAT RACIAL.....	58

TABLEAU 25 : INFLUENCE DE L'ORIGINE MAMMAIRE SUR LA CONCENTRATION (MOYENNE \pm ÉCART TYPE) EN IMMUNOGLOBULINES DES SÉCRÉTIONS LACTÉES À D3 (G/L).....	59
TABLEAU 26 : INFLUENCE DE LA LATÉRALITÉ DES MAMELLES SUR LA CONCENTRATION EN IGG ET EN IGA (G/L) À D3	62
TABLEAU 27 : RÉPARTITION DES MAMELLES AYANT LA PLUS FORTE CONCENTRATION EN IMMUNOGLOBULINE AU SEIN DU MÊME CHIENNE	63
TABLEAU 28 : EFFECTIFS ET PRÉLÈVEMENTS DES ÉTUDES PORTANT SUR LES COMPOSANTS IMMUNOLOGIQUES DES SÉCRÉTIONS LACTÉES CANINES	65
TABLEAU 29 : PROPORTIONS (%) DES DIFFÉRENTES CLASSES D'IMMUNOGLOBULINES DANS LES SÉCRÉTIONS MAMMAIRES DE LA CHIENNE ; SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	68
TABLEAU 30 : CONCENTRATIONS (G/L) (MOYENNE \pm ÉCART TYPE) EN IGG ET EN IGA AU COURS DE LA LACTATION DANS LES SÉCRÉTIONS MAMMAIRES DE LA CHIENNE ; SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	69

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : MÉCANISMES DE TRANSPORT DES IGA ET DES IGM DANS LA GLANDE MAMMAIRE.....	17
FIGURE 2 : PLANNING DES PRÉLÈVEMENTS.....	26
FIGURE 3 : PRÉLÈVEMENT DE SÉCRÉTION LACTÉE.....	27
FIGURE 4 : SCHÉMA DES RÉACTIONS MOLÉCULAIRES LORS D'ELISA SANDWICH.....	28
FIGURE 5 : RÉPARTITION DES ÉCHANTILLONS ET DE LA GAMME ÉTALON D'UNE PLAQUE ELISA IGG	30
FIGURE 6 : PLAQUE ELISA À LA FIN DU TEMPS DE RÉVÉLATION	31
FIGURE 7 : EXEMPLE D'UNE COURBE OBTENUE À PARTIR DE LA GAMME ÉTALON ET GRÂCE AU LOGICIEL SOFTMAX	32
FIGURE 8 : RÉPARTITION DES CHIENNES SELON LEUR RACE.....	34
FIGURE 9 : RÉPARTITION DES CHIENNES SELON LE FORMAT RACIAL	34
FIGURE 10 : RÉPARTITION DES CHIENNES PAR CATÉGORIE D'ÂGE	35
FIGURE 11 : RÉPARTITION DES PORTÉES SELON LEUR TAILLE.....	35
FIGURE 12 : ÉVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN IGG AU COURS DE LA LACTATION	37
FIGURE 13 : ÉVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN IGG AU COURS DE LA LACTATION EN TENANT COMPTE DES DIFFÉRENCES SIGNIFICATIVES.....	38
FIGURE 14 : ÉVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN IGA AU COURS DE LA LACTATION	39
FIGURE 15 : ÉVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN IGA AU COURS DU TEMPS DURANT LA LACTATION EN TENANT COMPTE DES DIFFÉRENCES SIGNIFICATIVES.....	40
FIGURE 16 : PROPORTIONS D'IGG ET D'IGA DANS LES SÉCRÉTIONS MAMMAIRES DE LA CHIENNE AU COURS DE LA LACTATION	41
FIGURE 17 : CORRÉLATION ENTRE LES CONCENTRATIONS EN IGG ET IGA LORS DE LA LACTATION SUR TOUS LES ÉCHANTILLONS.....	42
FIGURE 18 : CORRÉLATION ENTRE L'ÂGE DE LA MÈRE ET LA CONCENTRATION EN IGG À H4-H8.....	43
FIGURE 19 : CORRÉLATION ENTRE L'ÂGE DE LA MÈRE ET LA CONCENTRATION EN IGG À H36.....	43
FIGURE 20 : CORRÉLATION ENTRE L'ÂGE DE LA MÈRE ET LA CONCENTRATION EN IGG À D4	44
FIGURE 21 : EFFET DE L'ÂGE SUR LA CONCENTRATION EN IGG (G/L) AU COURS DE LA LACTATION	45
FIGURE 22 : EFFET DE L'ÂGE SUR LA CONCENTRATION EN IGA (G/L) AU COURS DE LA LACTATION	46
FIGURE 23 : POURCENTAGE DE DIMINUTION DE LA CONCENTRATION EN IGG ENTRE H4-H8 ET H36 EN FONCTION DE L'ÂGE DE LA MÈRE.....	47
FIGURE 24 : POURCENTAGE DE DIMINUTION DE LA CONCENTRATION EN IGA ENTRE H4-H8 ET H36 EN FONCTION DE L'ÂGE DE LA MÈRE.....	47
FIGURE 25 : CONCENTRATIONS MOYENNES EN IGG (G/L) SELON LA PARITÉ DES CHIENNES AU COURS DE LA LACTATION	48
FIGURE 26 : CONCENTRATIONS MOYENNES EN IGA (G/L) SELON LA PARITÉ DES CHIENNES AU COURS DE LA LACTATION	49
FIGURE 27 : CONCENTRATIONS MOYENNES EN IGG (G/L) SELON LE FORMAT RACIAL POUR CHAQUE TEMPS DE LACTATION	51
FIGURE 28 : CONCENTRATIONS MOYENNES EN IGA (G/L) SELON LE FORMAT RACIAL POUR CHAQUE TEMPS DE LACTATION	52
FIGURE 29 : POURCENTAGE DE DIMINUTION DE LA CONCENTRATION EN IGG ENTRE H4-H8 ET H36 EN FONCTION DU FORMAT RACIAL.....	52
FIGURE 30 : POURCENTAGE DE DIMINUTION DE LA CONCENTRATION EN IGA ENTRE H4-H8 ET H36 EN FONCTION DU FORMAT RACIAL.....	53
FIGURE 31 : CORRÉLATION LINÉAIRE ENTRE LE NOMBRE DE CHIOTS DANS UNE PORTÉE ET LA CONCENTRATION EN IGG À H12-H16-H20	54
FIGURE 32 : POURCENTAGE DE DIMINUTION DE LA CONCENTRATION EN IGG ENTRE H4-H8 ET H36 EN FONCTION DE LA TAILLE DE LA PORTÉE	56

FIGURE 33 : POURCENTAGE DE DIMINUTION DE LA CONCENTRATION EN IGA ENTRE H4-H8 ET H36 EN FONCTION DE LA TAILLE DE LA PORTÉE	56
FIGURE 34 : CONCENTRATION EN IGG À H48-D3 EN FONCTION DU POIDS TOTAL DE LA PORTÉE	57
FIGURE 35 : CONCENTRATIONS MOYENNES EN IGG (G/L) EN FONCTION DE LA MAMELLE À D3	60
FIGURE 36 : CONCENTRATIONS MOYENNES EN IGA (G/L) EN FONCTION DE LA MAMELLE À D3	60
FIGURE 37 : CONCENTRATIONS EN IGG (G/L) EN FONCTION DE LA PAIRE DE MAMELLES CONCERNÉE À D3.....	61
FIGURE 38 : CONCENTRATIONS EN IGA (G/L) EN FONCTION DE LA PAIRE DE MAMELLES CONCERNÉE À D3.....	61
FIGURE 39 : CONCENTRATIONS EN IGG ET IGA EN FONCTION DE LA LATÉRALISATION DES MAMELLES À D3.....	62
FIGURE 40 : RATIO ENTRE LA CONCENTRATION LA PLUS ÉLEVÉE ET LA CONCENTRATION LA PLUS FAIBLE EN IGG ENTRE LES DIFFÉRENTES MAMELLES D'UNE MÊME CHIENNE	64
FIGURE 41 : RATIO ENTRE LA CONCENTRATION LA PLUS ÉLEVÉE ET LA CONCENTRATION LA PLUS FAIBLE EN IGA ENTRE LES DIFFÉRENTES MAMELLES D'UNE MÊME CHIENNE	64
FIGURE 42 : PROPORTIONS RELATIVES EN IMMUNOGLOBULINES AU COURS DE LA LACTATION SELON BERTIERI (2012).....	70
FIGURE 43 : ASPECT DES SÉCRÉTIONS LACTÉES AU DÉBUT DE LA LACTATION	70
FIGURE 44 : EFFET DE LA PARITÉ SUR LA CONCENTRATION EN IGG DU COLOSTRUM CHEZ LA TRUIE.....	74
FIGURE 45 : TAUX D'IGG1 DANS LES SÉCRÉTIONS LACTÉES CHEZ LA VACHE SUITE À L'INDUCTION DE LA COLOSTROGÉNÈSE AVEC DE L'OESTRADIOL ET DE LA PROGESTÉRONNE	79

INTRODUCTION

Le taux de mortalité entre la naissance et le sevrage varie de 9,0% à 21,7% en élevage canin selon les études (Nielen et al, 1998 ; Indrebo et al, 2007 ; Tonnessen et al, 2012 ; Mila et al, 2012). Ces taux ne sont pas comparables à ceux des autres productions animales dont l'objectif, pour la filière bovine, est de rester en dessous de 5% de mortalité. Par exemple, une étude de l'INRA montre que la mortalité des veaux en élevage laitier et allaitant est de 5,5% (Perrin et al. 2011). Ces mortalités engendrent des pertes économiques conséquentes pour les éleveurs mais restent peu étudiées dans l'espèce canine par rapport aux espèces élevées pour la viande, le lait, ou pour leurs performances sportives (comme les chevaux).

La mortalité durant les deux premiers mois de vie, de la naissance jusqu'au sevrage, est donc élevée chez la chienne mais non homogène tout au long de cette période. On divise la mortalité de ces deux premiers mois en plusieurs périodes : périnatale (mortinatalité), néonatale précoce (mort au cours de la première semaine de vie), néonatale tardive (mort entre 7 et 21 jours) et pédiatrique (après 21 jours et jusqu'au sevrage). En prenant pour exemple les études de Nielen et al. (1998) et Mila et al. (2012), les mortalités au sevrage sans compter les mort-nés atteignent 12,2% et 15,0% dont 83,6% et 72,0% correspondent à la mortalité néonatale. Les 3 premières semaines de vie sont donc les périodes les plus à risque.

Les sécrétions lactées (que ce soit le colostrum ou le lait) jouent un rôle majeur dans la croissance mais aussi dans la survie des chiots. Ainsi, la croissance du chiot durant les 2 premiers jours de vie (Mila et al. 2015b), reflétant l'apport énergétique du colostrum et du lait, et le taux sérique d'immunoglobulines de classe G (IgG) du chiot à J2 (Mila et al. 2014), reflétant l'apport immunologique via les sécrétions lactées, ont un impact sur le risque de mortalité néonatale du chiot. Les sécrétions lactées permettent un apport nutritionnel, offrent une protection passive contre les agents pathogènes et jouent un rôle dans la maturation des organes chez le chiot. Le rôle immunologique majeur des sécrétions lactées repose sur la présence d'immunoglobulines. En effet, même si le chiot possède un système immunitaire fonctionnel à la naissance, il ne pourra pas se protéger lui-même car son système est dit « naïf ». De plus, il naît presque agammaglobulinémique du fait de la placentation endothéliochoriale de l'espèce canine pour laquelle 4 couches tissulaires séparent les sangs maternel et fœtaux, empêchant ainsi la traversée des immunoglobulines (Saint-Dizier et Chastant-Maillard 2014). Le chiot acquiert donc une immunité systémique passive grâce à l'ingestion des immunoglobulines G du colostrum. De la quantité d'immunoglobulines totales circulantes après ingestion du colostrum, 5 à 15% sont d'origine placentaire, la majorité étant

d'origine colostrale (Chappuis 1998 ; Chastant-Maillard et al. 2012; Dall'Ara et al. 2015). Il est donc essentiel que l'ingestion du colostrum apporte une quantité suffisante d'immunoglobulines pour permettre au chiot d'avoir une immunité systémique fonctionnelle.

De plus, la muqueuse intestinale n'est perméable aux immunoglobulines seulement pendant quelques heures après la naissance. Elle commence même entre 4 et 8 heures après la naissance (Chastant-Maillard et al. 2012). La prise colostrale doit être précoce pour assurer un bon transfert d'immunoglobulines. Malgré la fermeture, les immunoglobulines présentes dans les sécrétions lactées assurent une immunité locale dans le tube digestif avec un piégeage des agents pathogènes.

Parallèlement, le chiot naît dans un milieu riche en pathogènes (bactéries et virus spécifiques et/ou opportunistes) et y est très sensible. Les sécrétions lactées apportent des immunoglobulines mais aussi de nombreux autres facteurs immunologiques tels que des cellules appartenant à la lignée blanche, des cytokines, des molécules bactériostatiques et bactéricides, etc. Ces divers composants permettent de lutter contre les agents pathogènes présents dans le tractus digestif et assurent aussi une immunité systémique grâce à l'absorption des immunoglobulines G.

La qualité immunologique du colostrum et du lait est donc essentielle pour permettre un bon transfert d'immunité passive et une protection locale. L'objectif de cette étude est donc de décrire l'évolution de la concentration en immunoglobulines de classe G (immunité systémique et locale) et de classe A (immunité locale) dans les sécrétions lactées de la mise bas à 21 jours de lactation et d'étudier les différents facteurs de variation pouvant avoir un rôle sur la quantité d'immunoglobulines présentes dans les sécrétions lactées.

La première partie fera le point sur les composants participant à l'immunité systémique et locale apportés par la mère aux chiots et aux rôles qui leur sont propres ; la deuxième partie portera que l'étude expérimentale (53 chiennes et 753 échantillons) avec une présentation des résultats obtenus et une discussion de ceux-ci.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Cette partie bibliographique rappellera les différents facteurs contenus dans les sécrétions mammaires et ayant une action dans la protection immunologique de l'organisme du chiot nouveau-né.

I. Les immunoglobulines

A. Classes d'immunoglobulines

Les immunoglobulines (Ig) forment une famille de protéines dans laquelle on distingue cinq classes : IgG, IgA, IgM, IgE, IgD ; qui se fixent un antigène spécifique (Roitt et al. 2002). Chez les carnivores domestiques, les IgE existent mais ne sont détectables qu'avec des techniques très sensibles du fait de leur concentration sérique très faible. Les IgD n'ont pas été isolées dans le sérum canin, bien qu'une protéine proche ait été détectée (Day 2011).

Comme chez les autres espèces, il existe plusieurs types dans une classe d'immunoglobulines. Pour la classe G, qui représente 75% des immunoglobulines sériques, on en distingue deux types, les IgG1 et les IgG2, qui ont une concentration élevée et équivalente, et les IgG3 et IgG4 qui sont moins concentrées dans le sérum. Pour la classe E, il existe IgE1 et IgE2 alors que pour les IgA et les IgM, un seul type existe (Chabanne 2006).

Dans les sécrétions lactées canines, on ne distingue que 3 classes d'immunoglobulines dont l'origine varie au cours de la lactation : IgG, IgA et IgM (tableau 1).

Tableau 1 : Origine des immunoglobulines dans les sécrétions lactées canines (Tizard 2013)

Origine	IgG		IgA		IgM	
	Colostrum	Lait	Colostrum	Lait	Colostrum	Lait
Circulation sanguine	100%	30%	50%	10%	Grande majorité	Aucune donnée
Synthèse locale	0%	70%	50%	90%	Peu	

Les IgG présentes dans le colostrum proviennent entièrement du sérum de la mère (tableau 1). Huang et al. (1992) ont montré une chute de la concentration sérique en IgG avant la mise-bas et pendant le début de la lactation chez la truie. Cette diminution est due à un transfert d'IgG depuis la circulation sanguine vers la glande mammaire où elles seraient

stockées avant d'être excrétées dans le colostrum et dans le lait. Brandon et al. (1971), en étudiant les taux sérique et colostrale d'IgG1 chez la vache, prouvent que la colostrogénèse dans cette espèce commence au moins 5 semaines avant la mise-bas. Selon Baumrucker et Bruckmaier (2014), les IgG sont transférées de la circulation sanguine aux sécrétions lactées par transcytose. Ce transfert est permis par la présence de récepteurs *FcRn* (neonatal Fc Receptor) sur les cellules épithéliales de la glande mammaire. Les IgG sont captées par ces récepteurs au pôle basal de la cellule, internalisées puis relarguées au niveau du pôle apical dans la lumière alvéolaire de la glande mammaire. De plus, une partie des IgG passe par voie para-cellulaire (entre les cellules épithéliales).

Le passage de la phase colostrale à la phase lactée se caractérise par une diminution de l'expression du récepteur *FcRn* et par la fermeture des jonctions serrées empêchant alors le passage des IgG par voie para-cellulaire (Jones et Spencer 2007). Vingt-quatre heures après la mise-bas, Quesnel (2011) a montré que le taux d'IgG est corrélé positivement au ratio Na/K qui représente le changement de morphologie de l'épithélium de la glande mammaire et donc la cessation du transport d'IgG depuis la circulation sanguine. Ce moment marque le passage de la phase colostrale à la phase lactée durant laquelle le taux d'IgG diminue.

Quant aux IgA, elles sont importées du sang vers la glande mammaire au début de la lactation en quantité moyenne sous la forme d'IgA dimériques (IgAd) ; la grande majorité des IgA contenues dans le lait provient d'une synthèse intramammaire (tableau 1). Spencer et al. (2007) ont montré que les IgA sont produites par un groupe de cellules appelé les « IgA-producing plasma cell population ». Ce sont des cellules provenant des GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue) qui migrent dans la glande mammaire et se localisent alors sous la couche de cellules épithéliales. Après synthèse locale et/ou prélèvement depuis la circulation sanguine, les IgAd sont exportées dans le lait depuis les cellules épithéliales de la glande mammaire grâce à des récepteurs polymériques spécifiques des immunoglobulines A et M (*pIgR*) (figure 1). Durant le transport, les récepteurs sont clivés permettant ainsi la libération d'un composant sécrétoire qui se lie aux IgAd formant alors les IgA sécrétoires (IgAs) (Boumahrou et al. 2012). Les récepteurs sont la forme trouvée dans tout type de sécrétions. Ils sont aussi impliqués dans le transfert des IgAd depuis la circulation sanguine vers la glande mammaire (Kacskovics 2004).

La troisième classe d'immunoglobulines présente dans les sécrétions mammaires est la classe M. Les IgM sont les deuxième immunoglobulines en termes de concentration dans le sérum canin après les IgG mais leur concentration est faible dans les sécrétions lactées par rapport à celles des IgG et des IgA. Bourne et Curtis (1973) ont montré que 80% des IgM présentes dans le colostrum de la truie provient de la circulation sanguine contre seulement

12% dans le lait. La synthèse locale est permise par la présence de plasmocytes (Larson et al. 1980). Comme les IgA, les IgM sont transportées à travers la glande mammaire par l'intermédiaire des *pIgR*. Ce transport est possible car les IgM sont sous la forme de pentamères. La chaîne de jonction qui forme les pentamères a une deuxième fonction de liaison au *pIgR*, avec lequel elle a une forte affinité (figure 1 ; Johansen et al. 2000).

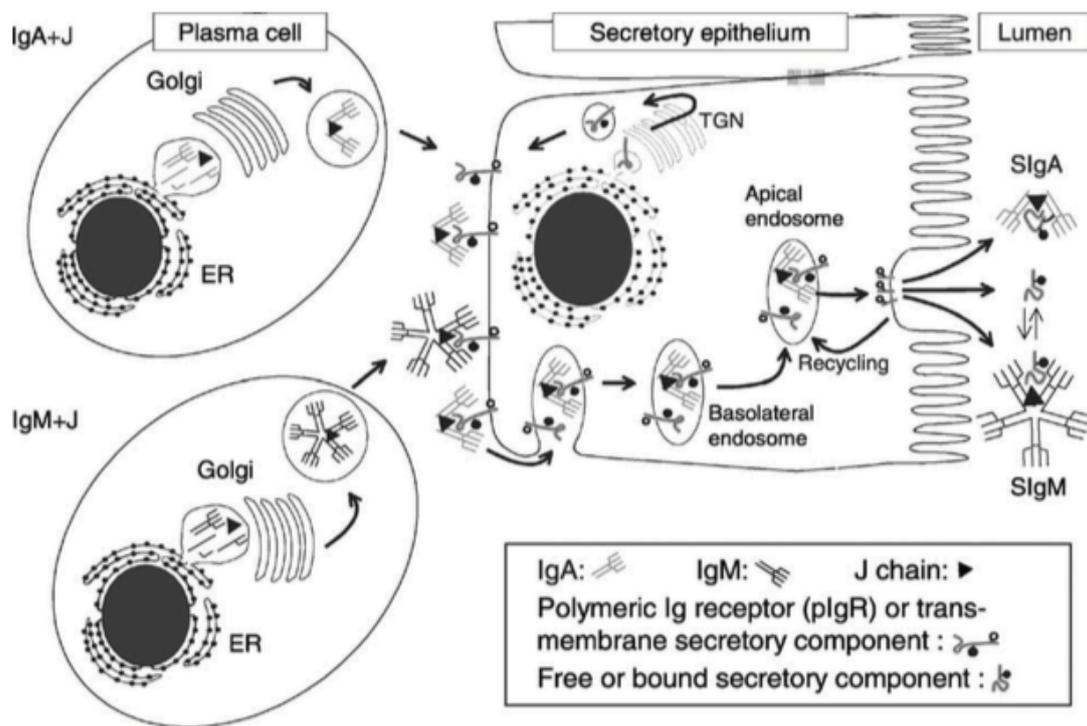


Figure 1 : Mécanismes de transport des IgA et des IgM dans la glande mammaire (Brandtzaeg 2003 ; ER : Réticulum Endoplasmique ; TGN : Réseau Trans-Golgien ; SC : Composant Sécrétoire)

B. Rôle dans l'immunité humorale systémique

Le transfert d'immunité passive est essentiel à la survie du chiot. Après ingestion du colostrum par le chiot, les anticorps sont absorbés par les cellules épithéliales (pinocytose) principalement au niveau du jéjunum et de l'iléon. Ce sont les mêmes récepteurs *FcRn* (qui assurent la captation des immunoglobulines dans la glande mammaire) qui permettent l'absorption active des immunoglobulines dans le tractus digestif. Les immunoglobulines sont ensuite transportées dans les tissus lymphatiques locaux avant de rejoindre la circulation sanguine via le canal thoracique (Chappuis 1998). Enfin, comme dans la glande mammaire, une partie des IgG traverse l'épithélium par voie para-cellulaire, ce transfert est possible seulement dans les heures qui suivent la naissance (avant la fermeture de la barrière intestinale).

Toutes les classes d'immunoglobulines sont absorbées sans spécificité. Schäfer-Somi et al. (2005) ont mesuré les concentrations sériques en IgG, IgA et IgM chez des chiots après la mise-bas. À 24 heures post-partum, les concentrations sériques en IgA et IgM sont faibles (IgA : 0,9 mg/mL ; IgM : 0,1 mg/mL) mais non nulles. Cela prouve qu'il existe une absorption dans la circulation sanguine depuis l'intestin des IgA et des IgM. En effet, ces immunoglobulines ne traversent pas la barrière placentaire et la seule façon d'en retrouver dans le sérum est une absorption intestinale via le colostrum.

Bien que toutes les immunoglobulines soient absorbées, seules les IgG participent à l'immunité systémique. Le colostrum est d'autant plus important que les IgG contenues dans les sécrétions lactées de la mère correspondent aux pathogènes de son environnement et protégeront donc les chiots de façon adaptée (Tizard 2013).

Le temps de demi-vie des immunoglobulines chez le chien est approximativement de 8,4 jours, ce qui permet aux chiots, en fonction de la quantité de colostrum ingérée, d'avoir une protection grâce au transfert d'immunité passive allant de 8 à 16 semaines (Pastoret et al. 1998). La concentration sérique en IgG atteinte par les chiots à J2 a un impact sur la mortalité néonatale. Cette concentration reflète la qualité du transfert passif d'immunité via l'ingestion du colostrum. Ainsi, un chiot ayant moins de 2,3 g/L d'IgG à J2 a un taux de survie à 21 jours moindre qu'un chiot ayant eu un transfert d'immunité correct : 44,4% des chiots avec une concentration inférieure à 2,3 g/L d'IgG sont morts avant 21 jours contre 4,9% pour les chiots ayant une concentration supérieure ou égale à 2,3 g/L (Mila et al, 2014).

Les IgA quant à elles participent à l'immunité des muqueuses. Salmon (1999) rapporte que chez le veau, des IgA issues du colostrum ont été détectées dans les tissus bronchiques et les larmes. Après leur absorption dans la circulation systémique, les IgA d'origine colostrale sont ensuite sécrétées vers les muqueuses.

C. Fermeture de la barrière intestinale

La fermeture de la barrière intestinale est définie comme l'arrêt de l'absorption de macromolécules par l'intestin chez les nouveau-nés (Leece 1973). En ce qui concerne les immunoglobulines, la fermeture serait due au renouvellement des cellules épithéliales, n'exprimant plus les récepteurs *FcRn* (Tizard 2013). Cependant, ce phénomène semble être multifactoriel car chez les porcelets, 38% des entérocytes sont toujours d'origine fœtale 8 jours après la naissance (Smith et Peacock 1980). Or la fermeture de la barrière intestinale apparaît bien avant ; le remplacement des entérocytes fœtaux n'est donc pas la seule explication à l'arrêt de l'absorption des immunoglobulines. Chez les bovins, Jochims et al. (1994) ont démontré qu'après 24 heures de vie, les immunoglobulines ne pouvaient plus

passer dans le sang au niveau de la membrane baso-latérale de l'intestin et non à cause des cellules épithéliales. Les mécanismes de fermeture de la barrière intestinale sont encore à démontrer.

Il est habituellement convenu que la barrière intestinale se ferme dans les premières 24 heures de vie du nouveau-né. Mais l'étude de Chastant-Maillard et al. (2012) a montré que chez le chiot la fermeture débute dès les 4 à 8 premières heures de vie et devient définitive entre 16 et 24 heures après la naissance. Ce phénomène apparaît donc plus tôt chez les chiots que dans les autres espèces. Par exemple, chez les porcelets, Le Dividich et al. (2005) ont montré qu'à l'âge de 23h30, la perméabilité de l'intestin était encore égale à 27% de sa capacité initiale.

Il est donc important que la prise colostrale ait lieu rapidement après la naissance et que le colostrum soit de bonne qualité pour assurer l'immunité systémique du nouveau-né. Avant et après la fermeture de la barrière intestinale, les immunoglobulines contribuent également à l'immunité locale.

De plus, il existe dans les sécrétions lactées des substances qui induisent la différenciation des entérocytes. Heird et al. (1984) ont étudié la maturation du tractus digestif chez des chiots nourris avec les sécrétions lactées de leur mère ou avec du lait de remplacement. Ils ont alors montré que la masse cellulaire et le taux d'ADN étaient significativement plus élevés chez les chiots nourris avec le lait de leur mère qu'avec du lait de remplacement. Certains facteurs présents naturellement dans les sécrétions lactées permettent donc la maturation et la différenciation de la muqueuse intestinale par hyperplasie et hypertrophie.

Ces composants sont les Insulin-like Growth Factor (IGF) ; selon Blum et Hammon (2000), on constate que les concentrations en IGF sont plus élevées dans le colostrum que dans le lait chez la vache (65 à 155 fois plus). Ils induisent d'importants changements tels que la prolifération des cellules épithéliales (épaisseur de la muqueuse et longueur du tractus digestif) (Burrin 1997). Ainsi, la maturation du tube digestif s'ajoute aux moyens de lutte contre l'entrée des pathogènes dans l'organisme.

D. Rôle dans l'immunité locale

Chez les adultes monogastriques, les IgA sont les principales immunoglobulines assurant une protection locale (appareil respiratoire, tractus intestinal, salive, larmes, ...) (Salmon 1999).

Après ingestion des sécrétions lactées, les IgA arrivent directement dans leur lieu d'action : le tractus digestif. Grâce à leur composant sécrétoire, les IgA sont protégées des enzymes digestives et peuvent assurer leur fonction de protection locale contre les agents

pathogènes. Ils semblent que les IgA représentent le facteur de protection le plus important contre les infections du tractus digestif (Pastoret et al. 1998). Les IgA se lient aux récepteurs présents à la surface des bactéries masquant alors les sites d'adhésion leur permettant de se lier aux cellules épithéliales. Il a été montré par Adinolfi et al. (1966) que l'activité des IgA n'était possible qu'en présence de lysozyme (qui est également présent dans les sécrétions mammaires). De plus, ces immunoglobulines sont responsables de la neutralisation de virus et d'entérotoxines bactériennes. Le péristaltisme élimine ensuite ces complexes agents pathogènes – immunoglobulines (Salmon 1999).

Comme les cellules produisant les IgA dans la glande mammaire ont migré depuis les tissus lymphoïdes du tractus digestif (Spencer et al. 2007), les anticorps sécrétés dans les sécrétions lactées sont adaptés aux pathogènes rencontrés dans le système digestif.

De plus, Quigley (2004) rapporte que les IgG participent à l'immunité locale intestinale. En effet, des IgG radiomarquées injectées par voie veineuse sont retrouvées dans la lumière intestinale et semblent garder une activité immunologique (Besser et al. 1988). Cependant, elles sont plus sensibles à la protéolyse que les IgA (Heddle et al. 1975) et comme les concentrations en IgG dans les sécrétions lactées diminuent très rapidement (80% en 24 heures chez le porc selon Foisnet et al. 2010), cette source d'immunité locale reste faible face aux IgA.

E. Protection des immunoglobulines contre la digestion

Les sécrétions mammaires, et plus particulièrement le colostrum, contiennent des inhibiteurs de la trypsine protégeant les immunoglobulines ingérées de la digestion et les laissant ainsi atteindre leur lieu d'absorption, l'intestin grêle (Tizard 2013). Les inhibiteurs se fixent à la trypsine pour former un complexe stable empêchant ainsi la protéolyse des immunoglobulines et des autres protéines sensibles. Quigley et al. (1995) ont montré que les concentrations en IgG et en anti-trypsines du colostrum bovin étaient corrélées positivement. Un veau recevant un colostrum de mauvaise qualité immunologique (faible concentration d'IgG) aura d'autant plus de difficultés à atteindre un transfert d'immunité passive correct à cause de la faible concentration en IgG d'une part et de la protection moindre de ces IgG par les anti-trypsines dans le tractus intestinal d'autre part.

L'évolution au cours du temps des concentrations en inhibiteurs de la trypsine suit celle des IgG, avec une forte diminution durant les premières heures post-partum. Baintner (1973) a mesuré les concentrations en inhibiteurs de la trypsine chez la chienne : 2,5 mg/mL au moment de la mise-bas, 2,4 mg/mL 6 heures après puis 0,2 mg/mL 12 heures post-partum. Chez les bovins, les concentrations en anti-trypsine sont faibles : 0,56 mg/mL (prélèvements réalisés le plus proche possible de la mise-bas) (Quigley et al. 1995).

II. Composants à action bactéricide et bactériostatique

Les granulocytes neutrophiles, représentant plus de 95% des granulocytes circulants, produisent une multitude de protéines antibiotiques dont la lactoferrine et le lysozyme. Pervaiz et Brew (1986) ont montré que les concentrations en lysozyme dans le lait de chienne sont élevées (plus de 1 mg/mL) ; Halliday et al. (1993) ont mesuré la concentration exacte à 2,57 mg/mL (5 échantillons). Pour comparaison, les concentrations en lysozyme chez la femme et la vache sont beaucoup plus faibles, de l'ordre d'un facteur 1000 (Chandan et al, 1964). La concentration en lysozyme pourrait diminuer au cours de la lactation chez la chatte selon Halliday et al (1993).

Le lysozyme est une enzyme qui agit sur les protéoglycanes directement accessibles des bactéries Gram +. En ce qui concerne les Gram -, il faut que leur paroi ait été endommagée par d'autres mécanismes au préalable (Roitt et al. 2002). Parallèlement, le lysozyme pourrait contribuer à l'installation de la flore bactérienne du système digestif du nouveau-né.

La lactoferrine est une glycoprotéine qui chélate le fer et qui empêche son utilisation par les bactéries (Roitt et al. 2002). Rainard (1987) a démontré l'activité bactériostatique de la lactoferrine dans le lait de vache. En 1986, il avait étudié l'effet de la lactoferrine et d'autres molécules (dont les immunoglobulines) provenant du lait de vache sur *E. coli*. Il a montré que la lactoferrine avait une forte action inhibitrice sur la croissance des bactéries sans effet de coopération avec les immunoglobulines (Rainard 1986).

III. Cellules blanches

Des cellules de la lignée blanche sont retrouvées à hauteur de 0,5 à 10 millions de cellules par mL dans le colostrum humain. Les cellules majoritaires sont les macrophages, les lymphocytes (B et T) et les granulocytes neutrophiles. Selon Welsh et May (1979), les macrophages ont une fonction de phagocytose associée à une libération de cytokines, les granulocytes neutrophiles seulement une fonction de phagocytose, les lymphocytes B permettent la libération d'IgA et les lymphocytes T participent à l'immunité cellulaire via la sécrétion d'interféron gamma.

Selon Brandtzaeg (2003), les proportions de chaque type cellulaire dans le lait humain sont les suivantes : 55-60% de macrophages, 30-40% de granulocytes neutrophiles et 5-10% de lymphocytes (dont 75-80% de lymphocytes T). En effet, les macrophages et les neutrophiles sont les cellules les plus observées sur un frottis de lait (Erbacher 2015). Les cellules ne survivent que quelques heures dans le tractus digestif mais permettent de lutter contre les pathogènes.

Les cellules blanches colostrales participent aussi à l'immunité à médiation cellulaire dans la circulation sanguine. En effet, elles seraient absorbées par l'épithélium au niveau des plaques de Peyer, puis transportées jusqu'aux nœuds lymphatiques mésentériques pour rejoindre la circulation systémique. Chez les porcelets, 2 heures après la prise colostrale, des cellules blanches marquées sont retrouvées dans la circulation sanguine (Tizard 2013).

IV. Composants protecteurs des entérocytes

Les lipides du lait sont contenus dans des globules gras. Leur membrane est riche en glycoprotéines telles que la mucine et la lactadhérine. Ces dernières ont des concentrations respectives plus élevées durant les deux premières semaines de lactation. Ces molécules participent au rôle immunitaire des sécrétions lactées en prévenant l'adhésion des pathogènes aux entérocytes. Elles sont de plus stables à pH faible, ce qui leur permet de rester actives dans le tractus digestif (Hamosh et al. 1999). Elles agiraient comme des récepteurs homologues pour les pathogènes qui se lieraient à elles plus qu'aux récepteurs des cellules épithéliales (Newburg 1996).

Ces molécules ont été isolées dans le lait humain (Habte et al. 2007), le lait de vache (Patton et Patton, 1990), le lait de chèvre (Campana et al. 1992), mais aucune étude n'a été répertoriée chez le chien.

La mucine est habituellement produite par les cellules acineuses des glandes salivaires et fait partie du mucus. Elle appartient à la membrane des globules gras puisqu'elle est à l'origine présente sur les pôles apicaux des cellules épithéliales de la glande mammaire qui leur transmet la mucine lors de leur formation (Patton et al. 1995). Selon Shimizu et Yamauchi (1982), elle est résistante aux protéases du tractus digestif telles que la pepsine, la trypsine et la chymotrypsine. Cependant, son polymorphisme et sa variabilité inter-individuels pourraient avoir des conséquences sur le niveau de protection.

La lactadhérine contribue à la prévention des infections au rotavirus chez les nouveau-nés dans plusieurs espèces (Newburg et al. 1998 ; Kvistgaard et al. 2004) mais la structure de cette molécule est très variable en fonction des espèces et des études supplémentaires spécifiques à chaque espèce seraient nécessaires pour préciser son rôle immunitaire (Cebo et al. 2012).

Le tableau 2 résume les différentes classes de composants immunitaires présentes dans les sécrétions lactées et leurs rôles spécifiques.

Tableau 2 : Synthèse des composants immunologiques et leurs rôles dans les sécrétions lactées

	Composant	Rôles
Immunoglobulines	IgG	Immunité systémique
	IgA	Immunité locale
	IgM	
Inhibiteurs d'enzymes	Anti-trypsine	Inhibition de la trypsine
Antibactériens	Lactoferrine	Rôle bactériostatique par chélation du fer
	Lysozyme	Rôle bactéricide par lyse des peptidoglycanes de la paroi des bactéries Gram +
Cellules de la lignée blanche	Macrophage	Phagocytose Libération de cytokines
	Granulocyte neutrophile	Phagocytose
	Lymphocyte B	Libération d'IgA
	Lymphocyte T	Immunité cellulaire
Protecteurs des entérocytes	Mucine	Récepteur homologue
	Lactadhérine	
Molécules différenciatrices de l'épithélium	Insulin-like Growth Factor	Prolifération des cellules épithéliales Augmentation de la synthèse protéique de la muqueuse

Le rôle immunologique des sécrétions lactées est complexe de part le nombre de composants qui interviennent. Dans la grande majorité des études réalisées sur le sujet, seules les immunoglobulines sont testées, les IgG pour l'immunité systémique et les IgA pour l'immunité locale.

L'objectif de notre travail est d'étudier l'évolution des concentrations en IgG et en IgA dans les sécrétions lactées au cours de la lactation chez la chienne. Nous allons également essayer de mettre en évidence les facteurs de variation ayant un impact sur les concentrations en immunoglobulines des sécrétions mammaires tels que le format racial, l'âge, la parité, la taille et le poids de la portée.

Enfin, nous rechercherons des facteurs intra-chiennes en étudiant la concentration en immunoglobulines en fonction des mamelles concernées.

ETUDE EXPERIMENTALE

I. Matériels et méthodes

A. Population

L'étude a été réalisée sur 53 chiennes provenant du même élevage et appartenant à 16 races différentes. Bien que 58 chiennes aient mis bas sur la période de prélèvement (du 13.10.2015 au 17.12.2015), 5 chiennes ont été exclues pour cause d'agressivité ou d'absence de production laitière.

Les races représentées sont les suivantes : Berger Allemand, Berger Australien, Bichons (Frisé et Maltais), Bouvier Bernois, Boxer, Cavalier King Charles, Cocker, Golden Retriever, Jack Russel, Labrador Retriever, Lhasa Apso, Shih Tzu, Scottish Terrier, Spitz Loup, West Highland White Terrier, Yorkshire Terrier.

Des catégories ont été définies selon plusieurs critères :

- Format racial : petit (<15 kg), moyen (15-25 kg), large (>25 kg)
- Catégorie d'âge : jeune (< 2ans), adulte (2-6 ans), âgée (>6 ans)
- Taille de la portée : petite, moyenne, grande (tableau 3). Puisque le nombre de chiots (ont été pris en comptes les chiots nés vivants) dans une portée varie en fonction de la race, les limites de chaque catégorie varient en fonction du format racial.

Tableau 3 : Répartition des effectifs selon la taille de portée

Format racial	Portée de petite taille		Portée de taille moyenne		Portée de grande taille		Nombre total de portées
	<4 chiots	N = 2	4-5 chiots	N = 12	>5 chiots	N = 11	
Petit	<4 chiots	N = 2	4-5 chiots	N = 12	>5 chiots	N = 11	25
Moyen	<5 chiots	N = 2	5-6 chiots	N = 3	>6 chiots	N = 5	10
Large	<6 chiots	N = 7	6-9 chiots	N = 6	>9 chiots	N = 5	18
Nombre total de portées	11		21		21		53

Les chiennes reproduisent en race pure. Elles sont logées en boxes collectifs durant la gestation puis placées en maternité dans des boxes individuels environ une semaine avant la mise-bas et jusqu'au sevrage des chiots. Elles sont nourries avec des croquettes à volonté dès

l'entrée en maternité (Starter, Royal Canin, Aimargues, France) puis avec une ration adaptée à chaque individu en dehors des périodes de reproduction (Royal Canin Breeding Dogs).

B. Prélèvements

L'heure de mise-bas a été fixée à l'heure d'expulsion du premier chiot. Les prélèvements des sécrétions lactées ont été réalisés manuellement à différents temps de la lactation (figure 2) : H4, H8, H12, H16, H20, H24, H36, H48, D3, D4, D7, D14, D21 (H pour heure ; D pour jour) :

- H24, H36, H48, D4, D7, D14, D21 : 1 prélèvement par paire de mamelle (M1 étant la paire thoracique crâniale et M5 la paire inguinale)
- H4, H8, H12, H16, H20 : prélèvement seulement de la troisième mamelle droite (M3D)
- D3 : prélèvement de chaque mamelle individuellement

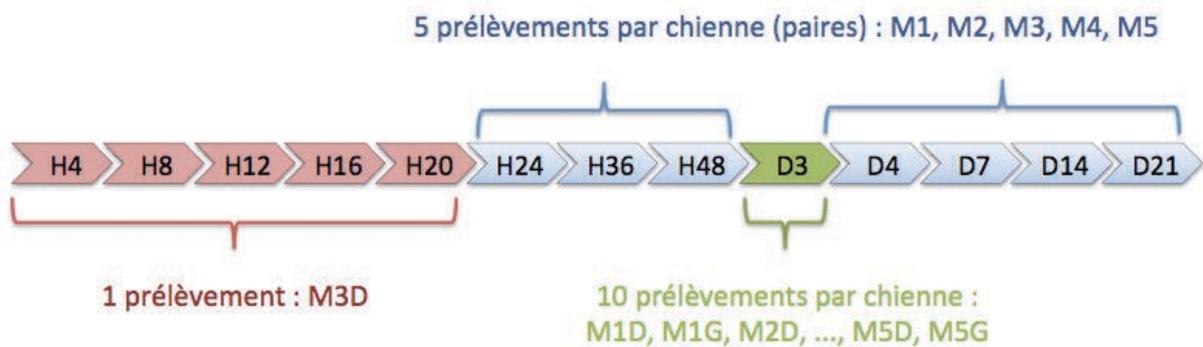


Figure 2 : Planning des prélèvements (H : heure ; D : jour ; M1 : paire de mamelles numéro 1 ; M1D : première mamelle à droite)

Chaque prélèvement est effectué après un lavage au savon contenant de la chlorhexidine et après une injection d'ocytocine (sauf pour les quelques chiennes qui avaient beaucoup de lait) (1-2 UI sous-cutané ; Ocytovem®, CEVA, Libourne, France). Un mL de sécrétion est prélevé dans des tubes Eppendorf® identifiés puis congelé et conservé immédiatement à -20°C. Pour les prélèvements par paire de mamelles, 0,5 mL de chaque mamelle (droite et gauche) sont prélevés (figure 3) et regroupés dans le même tube Eppendorf®.



Figure 3 : Prélèvement de sécrétions lactées

C. Dosages des immunoglobulines

La technique ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) est utilisée pour les dosages d'immunoglobulines G et A contenues dans les sécrétions lactées.

Tous les dosages ont été réalisés à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

a. Principe général

Cette technique immunoenzymatique permet de doser une protéine dans un liquide biologique. La technique utilisée est dite en « sandwich » et permet de lier spécifiquement l'anticorps recherché à un anticorps dit de « capture » lui-même fixé grâce à des interactions électrostatiques au fond des puits d'une microplaque.

La première étape, appelée « coating », consiste à saturer les puits en anticorps de capture. La solution à doser est ensuite déposée dans ces puits dans lesquels les immunoglobulines recherchées vont se lier aux anticorps de capture. Enfin, un autre anticorps lié à une enzyme de révélation comme la peroxydase va venir se fixer spécifiquement aux immunoglobulines de la solution à tester ; les anticorps de révélation non fixés sont éliminés par lavage. La dernière étape consiste à activer l'enzyme de révélation pour permettre une lecture colorimétrique (figure 4).

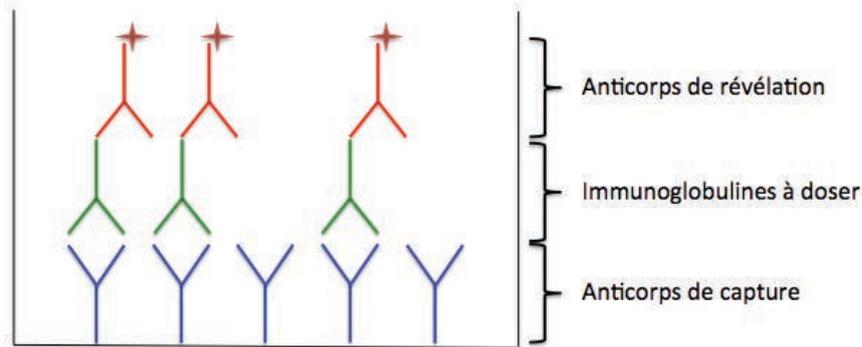


Figure 4 : Schéma des réactions moléculaires lors d'ELISA sandwich

Parallèlement, une courbe étalon est établie avec des concentrations connues d'immunoglobulines (G ou A). Elle permet de quantifier les anticorps recherchés dans la solution testée.

b. Protocole

Les kits utilisés sont le « Dog IgG ELISA Quantification Set » (référence : E40-118) et le « Dog IgA ELISA Quantification Set » (référence : E40-104) dont le fournisseur est Bethyl Lab. (Montgomery, USA). Les références indiquées correspondent à ce fournisseur.

- **Préparation des échantillons**

Douze heures avant le dosage, les échantillons sont décongelés lentement au réfrigérateur à 4°C.

Pour H24, H36, H48, D4, D7, D14 et D21, et après homogénéisation du lait, 50 µL de chaque prélèvement sont poolés dans un même tube Eppendorf® pour en faire un seul échantillon. Puis chaque tube est centrifugé 30 minutes à 2000G à 4°C pour permettre une bonne séparation des phases. 10 µL de surnageant de chaque échantillon sont ajoutés à 990 µL de dilueur pour effectuer ensuite les dilutions.

Etant donné que les concentrations en IgG varient beaucoup au cours de la lactation, différentes dilutions sont utilisées (tableau 4). Si après la lecture de la plaque ELISA, certains échantillons ont été trop ou pas assez dilués, un nouveau dosage est effectué avec une dilution adaptée.

Tableau 4 : Dilutions (H : heure ; D : jour)

Temps après la mise bas	Dilution IgG	Dilution IgA
H4, H8, H12, H16, H20	1/700 000	1/50 000
H24	1/400 000	
H36, H48	1/200 000	
D3, D4	1/100 000	
D7	1/50 000	
D14, D21	1/25 000	

Parallèlement à la préparation des échantillons, la gamme étalon est réalisée à partir d'un sérum de chien de référence (Référence : RS10-105-5) à 31 mg/mL d'IgG qui s'étend de 7,8 à 500 ng/mL et d'un sérum de chien de référence (Référence : RS10-105-5) à 1,5 mg/mL d'IgA qui s'étend de 15,6 à 1000 ng/mL pour les IgA.

Le dilueur est constitué de 99,95% de PBS-BSA 1% (pH 8) (référence : Bethyl® T6789) et de 0,05% Tween 20 (référence : Bethyl® P7949).

- **Coating**

Le coating est réalisé avec un anticorps polyclonal purifié spécifique de l'immunoglobuline canin testé (G ou A) (référence : Bethyl® C3041). Il est utilisé à une concentration de 0,01 mg/mL et sous un volume de 100µL par puits. L'anticorps est dilué dans une solution de carbonate-bicarbonate (référence : Bethyl® C3041) à 0,05M pH 9,6.

La plaque est incubée à température ambiante pendant 1 heure.

- **Lavage**

Après avoir vidé la plaque, 5 lavages sont effectués avec 200 µL par puits de PBS-Tween 20 à 0,05% (pH 8) (référence : Bethyl® T9039). Enfin, on tapote la plaque sur du papier absorbant pour éliminer les gouttes restantes.

Toutes les étapes de lavage sont identiques.

- **Saturation**

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

L'incubation dure 30 minutes à température ambiante.

- **Lavage**

- **Dépôt des échantillons et de la gamme étalon**

100 µL d'échantillon et de la gamme étalon sont déposés par puits. Chaque échantillon est dosé deux fois par plaque et une colonne est réservée pour la gamme étalon (figure 5). Dans la case H12, 100 µL de dilueur est déposé pour faire le blanc.

Pour les IgA, la plaque est organisée de la même manière avec un standard allant de 1000 à 15,6 ng/mL.

La plaque est laissée 1 heure à température ambiante.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Ech 1	Ech1	Ech 9	Ech 9	Ech 17	Ech 17	Ech 25	Ech 25	Ech 33	Ech 33	Ech 41	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	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	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	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	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	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	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	0 ng/mL Blanc

Figure 5 : Répartition des échantillons et de la gamme étalon d'une plaque ELISA IgG

- **Lavage**
- **Dépôts des anticorps de révélation**

L'anticorps monoclonal de révélation couplé à l'HRP (*horseradish peroxidase* : référence Bethyl® A40-118P) est dilué dans 99,95% de PBS-BSA 1% et 0,05% Tween 20 pour obtenir une concentration de 20 ng/mL. 100µL sont déposés dans chaque puits ; l'incubation dure 1 heure à température ambiante.

- **Lavage**

- **Révélation**

100µL de TMB sont déposés dans chaque puits. Le TMB est le substrat de la peroxydase (référence : Bethyl® 080831). La révélation dure 15 minutes, à température ambiante et la plaque doit être placée dans le noir. La figure 6 montre une plaque ELISA à la fin du temps de révélation.

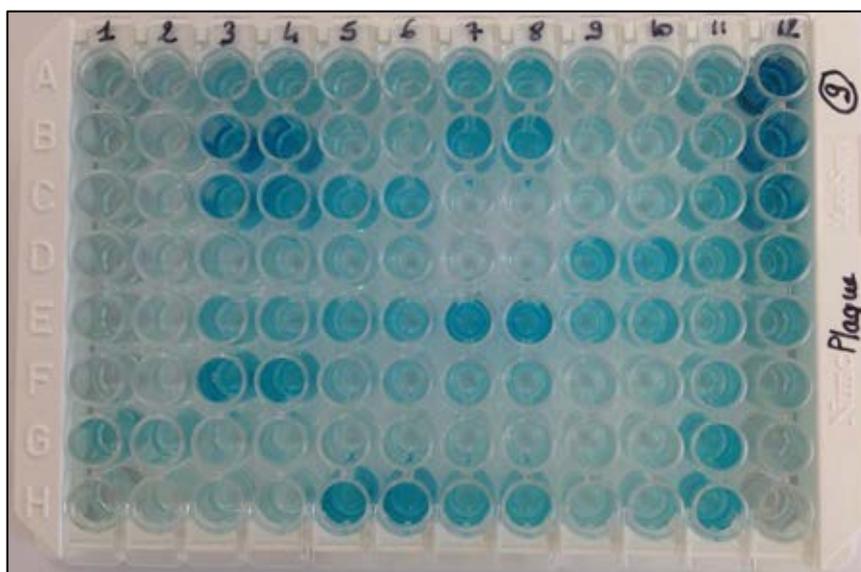


Figure 6 : Plaque ELISA à la fin du temps de révélation

- **Arrêt de la révélation**

100 µL d'acide sulfurique permettent de stopper la réaction enzymatique de chaque puits (référence : KPL® 50-85-04).

- **Lecture**

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

Le logiciel Softmax (Molecular devices Corporation, Sunnyvale, USA) permet d'obtenir l'équation pour transformer les densités optiques en concentrations pour nos échantillons (figure 7). Cette équation est obtenue à partir de la gamme étalon dont la concentration est connue.

Chaque échantillon est dosé en duplicate. Si pour le même échantillon, les deux concentrations diffèrent de plus de 15%, il est dosé une nouvelle fois. Comme vu précédemment, pour la préparation des échantillons, si les densités optiques sont plus élevées (respectivement moins élevées) que le maximum (respectivement le minimum) de la gamme étalon, l'échantillon sera dosé une nouvelle fois avec une dilution plus importante (respectivement plus faible).

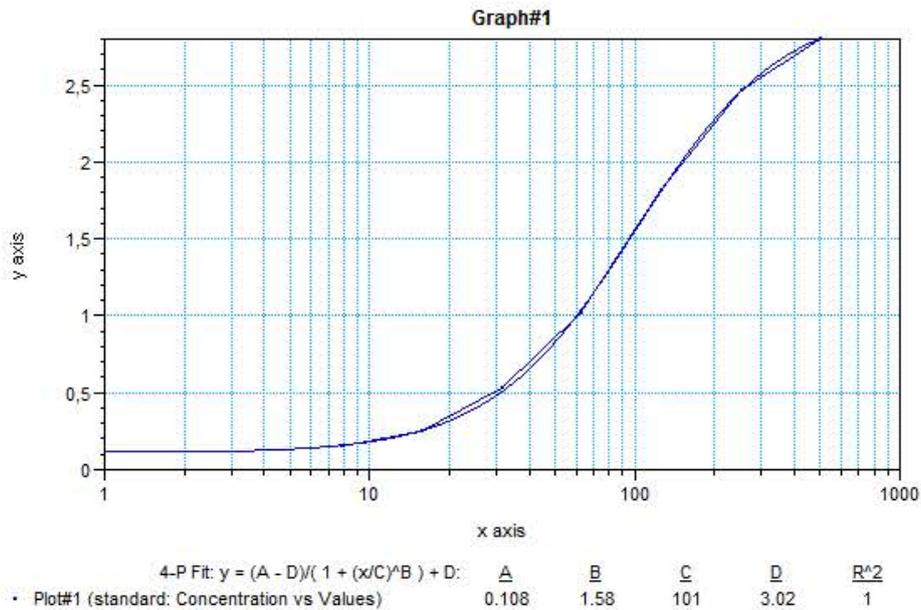


Figure 7 : Exemple d'une courbe obtenue à partir de la gamme étalon et grâce au logiciel Softmax (x : densité optique ; y : concentration en immunoglobulines)

Enfin, tous les dosages ont été réalisés sur de nombreuses plaques ; pour s'assurer de la reproductibilité de la méthode, les coefficients de variation intraplaque (moyenne des différents coefficients de variation d'une même plaque qui sont les coefficients de variation entre les deux valeurs trouvées pour un même échantillon) et les coefficients de variation interplaques (moyenne des coefficients de variation du standard des différentes plaques) ont été calculés : pour les IgG, le coefficient de variation intraplaque est de 4,6% et le coefficient de variation interplaque est de 3,7% : pour les IgA, le coefficient de variation intraplaque est de 4,7% et le coefficient de variation interplaque est de 3,8%.

D. Chiots

Les 307 chiots nés vivants ont été identifiés avec des colliers de couleur différente au sein d'une même portée et ont été pesés à H12, H24 et H48. Le poids total de la portée a été calculé à H12 : la moyenne est de 1678 g avec 182 g pour la portée la moins lourde et 4194 g pour la portée la plus lourde. Le gain moyen des chiots ($(\text{Poids}_{H48} - \text{Poids}_{H12}) / \text{Poids}_{H12} * 100$) entre H12 et H48 est de $4,6 \pm 10,6\%$ et concerne 281 chiots. En effet, à H48 il restait 281 chiots vivants soit 8,5% de mortalité entre la naissance et H48.

E. Traitement des données

Pour chaque échantillon, la concentration en immunoglobulines a été déterminée en calculant la moyenne des deux valeurs obtenues lors du dosage.

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

La normalité de chacun paramètre est testée avec le test Shapiro-Wilk.

Pour analyser l'évolution des concentrations en IgG et en IgA au cours du temps, les valeurs ont été analysées avec le test Friedman's ANOVA by ranks. Un test non paramétrique a été utilisé car malgré la normalité des valeurs, la variance n'était pas homogène.

Pour analyser l'impact des différents facteurs de variation sur les concentrations en immunoglobulines, plusieurs tests ont été réalisés :

- Corrélation linéaire (linear correlation) : âge de la mère, nombre de chiots dans la portée, poids total de la portée, gain de poids des chiots
- Kruskal-Wallis et T-Test : influence du format racial, de la catégorie d'âge, et de la parité sur les concentrations en IgG et IgA
- ANOVA et Mann-Whitney : variation de la concentration en immunoglobulines entre mamelles

Pour analyser l'impact de différents facteurs de variation sur le pourcentage de diminution en immunoglobulines, les tests paramétriques ANOVA et Mann-Whitney et non paramétriques Kruskal-Wallis et T-Test ont été utilisés en fonction de la normalité et de la variance des valeurs.

Les résultats sont présentés sous la forme de moyenne \pm écart type.

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

II. Résultats

A. Description de la population

Parmi les 53 chiennes incluses dans l'étude, 25 chiennes sont d'un petit format racial, 9 d'un format racial moyen et 19 d'un format racial large. Le nombre de chiennes dans chaque race est répertorié dans la figure 8 et les proportions du nombre de chiennes dans chaque format racial sont présentées dans la figure 9.

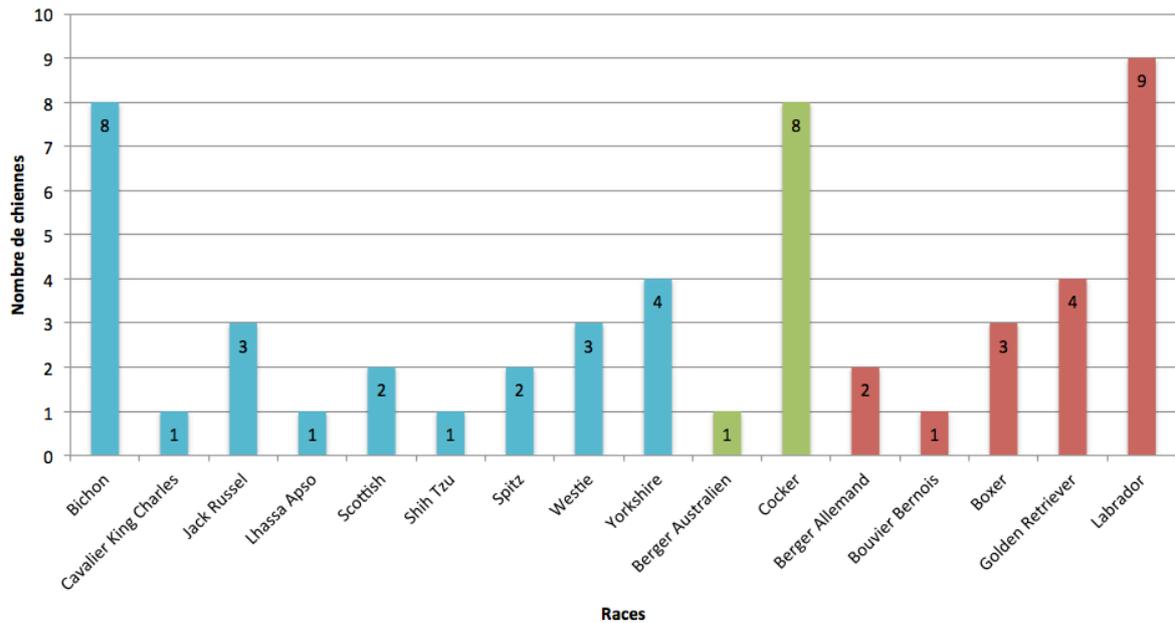


Figure 8 : Répartition des chiennes selon leur race (format racial : petit en bleu, moyen en vert, large en rouge ; n=53)

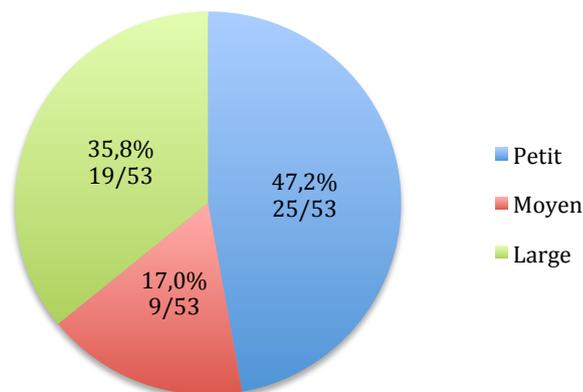


Figure 9 : Répartition des chiennes selon le format racial (n=53)

Les chiennes sont âgées en moyenne de $5,1 \pm 2,3$ ans avec des valeurs allant de 1,5 à 9,5 ans. 10 chiennes appartiennent à la catégorie jeune, 21 à la catégorie adulte et 22 à la catégorie âgée (figure 10).

La parité des chiennes est connue seulement pour 42 chiennes sur 53. Il en ressort que 9 (21,4%) chiennes sont primipares.

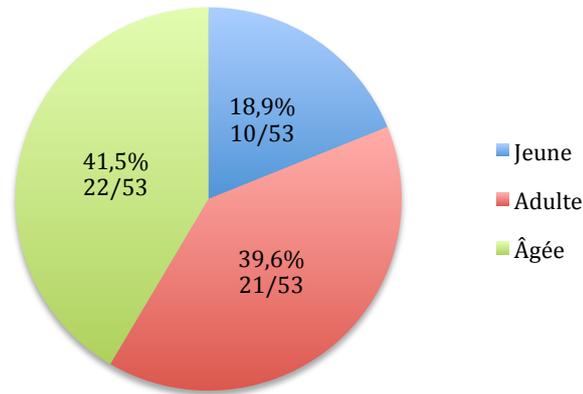


Figure 10 : Répartition des chiennes par catégorie d'âge (n=53)

Le nombre de chiots par portée varie de 2 à 13, avec une moyenne de $6,0 \pm 2,5$ chiots. Les portées ont elles aussi été classées en 3 groupes selon leur taille (tableau 3). Les proportions de chaque catégorie de portée sont résumées par la figure 11.

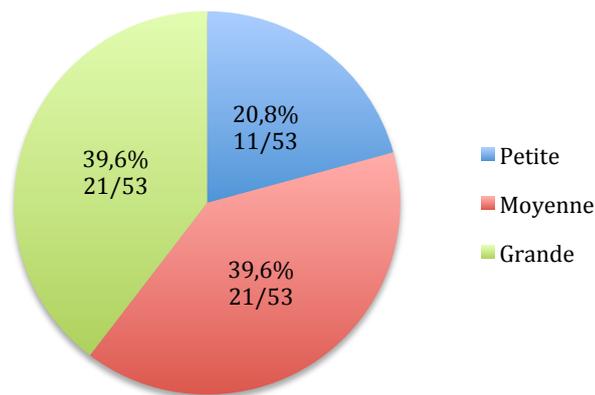


Figure 11 : Répartition des portées selon leur taille (n=53)

La moyenne du nombre de tétines est $9,1 \pm 2,6$ tétines. Elle a été calculée sur 55 chiennes car les données sont manquantes pour 3 chiennes. Seules 39 chiennes (70,9% ; n=55) possédaient 5 paires de mamelles complètes. Les autres possédaient :

- 4 paires complètes et 1 incomplète : 11 chiennes
- 4 paires complètes : 4 chiennes
- 2 paires complètes et 3 incomplètes : 1 chienne
- tétines additionnelles (1 à 2) : 6 chiennes

Au total, 753 échantillons de sécrétions lactées ont été analysés. Les détails en fonction du temps de lactation et par catégorie sont regroupés dans les tableaux 5 et 6.

Tableau 5 : Nombre d'analyses par temps de lactation (H : heure ; D : jour)

	H4	H8	H12	H16	H20	H24	H36	H48	D3	D4	D7	D14	D21
Nombre	13	19	21	17	17	47	33	44	380	47	44	39	32

Tableau 6 : Nombre d'analyses dans chaque catégorie

<i>Catégories</i>		<i>Nombre de chiennes</i>	<i>Nombre d'analyses</i>
<i>Format racial</i>	Petit	25	335
	Moyen	9	141
	Large	19	277
<i>Âge</i>	Jeune	10	126
	Adulte	21	288
	Âgée	22	339
<i>Taille de la portée</i>	Petite	11	144
	Moyenne	21	293
	Grande	21	316

B. Concentration en immunoglobulines G et A dans les sécrétions mammaires

a. Evolution au cours de la lactation

i. IgG

Sur 753 échantillons, la moyenne de la concentration en IgG dans les sécrétions au cours de la lactation est de $13,3 \pm 15,3$ g/L. L'évolution (figure 12) montre une forte diminution au cours des premières 36 heures avec un palier jusqu'à D3 puis à nouveau une diminution pour être stable à légèrement décroissante à partir de D4. Le tableau 7 regroupe les concentrations en IgG au cours de la lactation.

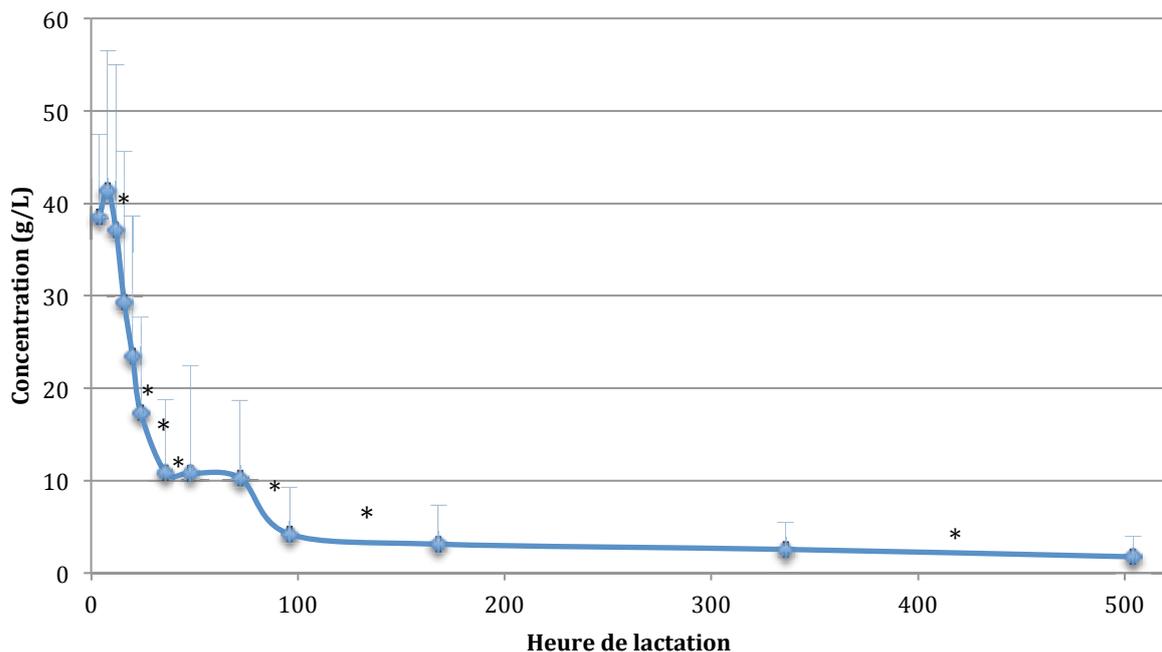


Figure 12 : Evolution de la concentration en IgG au cours de la lactation (53 chiennes ; 753 échantillons) (deux valeurs sont significativement différentes si * est présent entre les deux points)

Entre H4 et H24, les valeurs ont été comparées deux à deux par manque d'échantillons. Statistiquement, les concentrations sont significativement différentes ($p < 0,05$) entre H8 et H12, et entre H20 et H24.

À partir de H24, l'effet temps a été statistiquement analysé sur la période de H24 à D21. Il existe des différences significatives entre H24 et H36, H36 et H48, D3 et D4, D4 et D7, et D14 et D21 ($p < 0,006$ après correction de Bonferroni ; tableau 7). Pour la suite de l'étude, nous avons réalisé des moyennes entre les moments de lactation qui ne sont pas significativement différents (H4-H8, H12-H16-H20, H48-D3, D7-D14). L'évolution de la concentration en IgG en se basant sur ces moyennes est représentée par la figure 13.

Au début de la lactation, les concentrations en IgG sont élevées : $40,2 \pm 12,8$ g/L. Elles chutent alors à $10,9 \pm 7,9$ g/L en 36 heures. À partir de D4, les concentrations sont basses et décroissent légèrement : de $4,2 \pm 5,1$ g/L (D4) à $1,8 \pm 2,2$ g/L (D21) (tableau 7).

En se basant sur ces moyennes, il a été calculé le pourcentage de diminution (tableau 7) des concentrations en IgG au cours du temps ; H4-H8 étant la valeur de référence. Il dépasse les 50% après H24 ($60,0 \pm 18,0\%$; n=19) et atteint $73,9 \pm 19,1\%$ (n=12) à H36 ; où H36 est le premier palier de diminution de la concentration en IgG.

Tableau 7 : Concentrations en IgG (moyenne \pm écart type) dans les sécrétions mammaires de chiennes (n=53) au cours de la lactation et pourcentage de diminution de la concentration en IgG par rapport à H4-H8 (les lettres montrent la significativité des résultats)

Temps	H4	H8	H12	H16	H20	H24	H36	H48	D3	D4	D7	D14	D21
IgG	38,5 ^a	41,4 ^a	37,1 ^b	29,3 ^b	23,5 ^b	17,3 ^c	10,9 ^d	10,8 ^e	10,3 ^e	4,2 ^f	3,1 ^g	2,6 ^g	1,8 ^h
(g/L)	$\pm 8,9$	$\pm 15,1$	$\pm 17,8$	$\pm 16,3$	$\pm 15,2$	$\pm 10,4$	$\pm 7,9$	$\pm 11,6$	$\pm 8,4$	$\pm 5,1$	$\pm 4,2$	$\pm 2,9$	$\pm 2,2$
p	0,527	0,013	0,739	0,132	0,012	0	0,001	0,236	0	0,004	0,493	0,004	
IgG	40,2		30,5		17,3	10,9	10,5	4,2	2,9	1,8			
(g/L)	$\pm 12,3$		$\pm 17,2$		$\pm 10,4$	$\pm 7,9$	$\pm 10,0$	$\pm 5,1$	$\pm 3,7$	$\pm 2,2$			
% dimi.	Valeur référence		38,1		60,0	73,9	74,7	88,3	90,6	93,5			
			$\pm 23,0$		$\pm 18,0$	$\pm 19,1$	$\pm 20,7$	$\pm 12,8$	$\pm 13,0$	$\pm 11,1$			

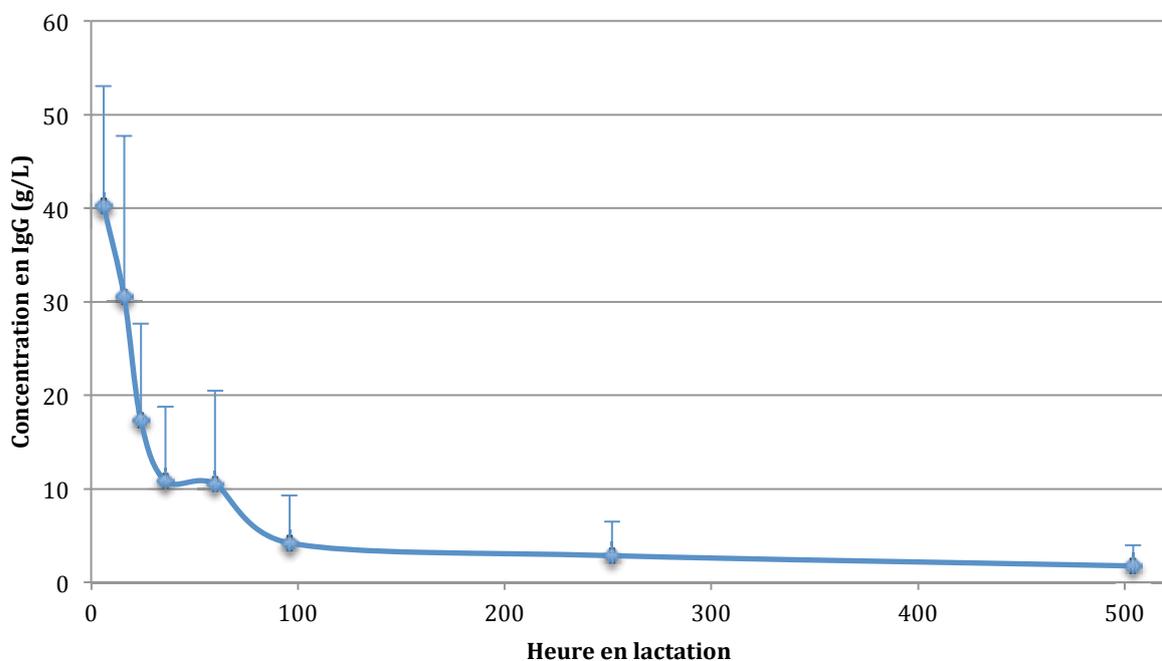


Figure 13 : Evolution de la concentration en IgG au cours de la lactation en tenant compte des différences significatives (53 chiennes ; 753 échantillons) (chaque point est significativement différent de son/ses voisin(s))

ii. *IgA*

Sur 750 échantillons, la moyenne de la concentration en IgA dans les sécrétions au cours de la lactation est de $11,6 \pm 8,6$ g/L. L'évolution (figure 14) montre une décroissance en début de lactation puis une stabilisation autour de 10,0 g/L en fin de lactation.

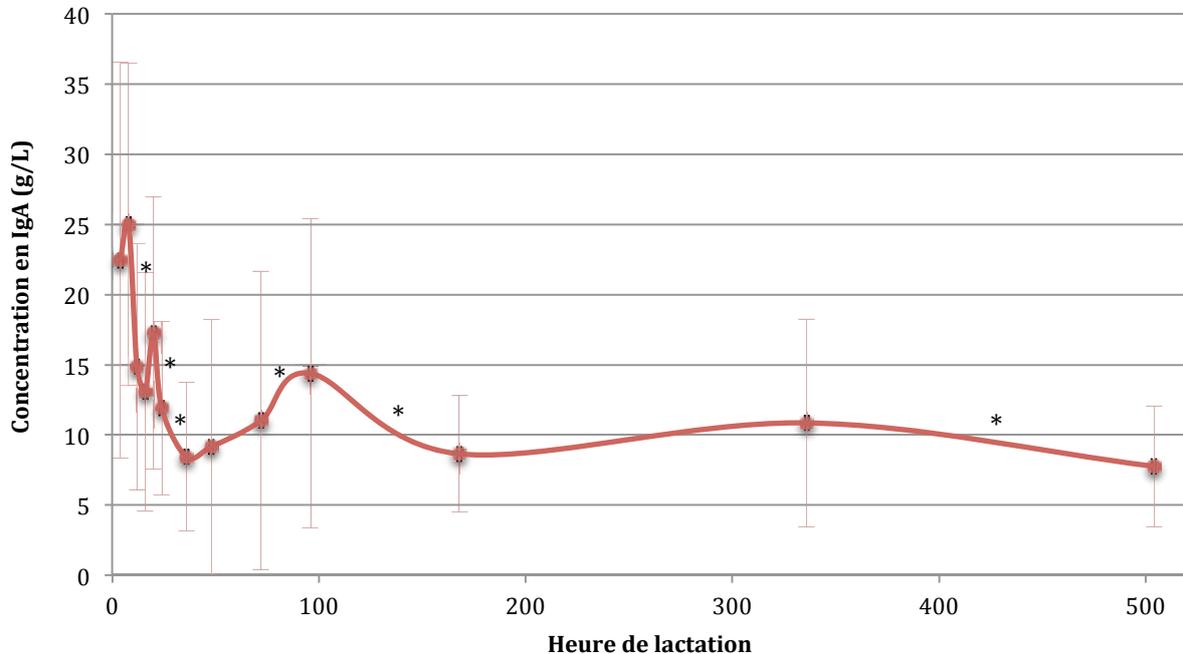


Figure 14 : Evolution de la concentration en IgA au cours de la lactation (53 chiennes ; 750 échantillons) (deux valeurs sont significativement différentes si * est présent entre deux points)

Entre H4 et H24, les valeurs ont été comparées deux à deux par manque d'échantillons. Statistiquement, les concentrations sont significativement différentes ($p < 0,05$) entre H8 et H12, et entre H20 et H24.

À partir de H24, l'effet temps a été statistiquement analysé sur la période de H24 à D21. Il existe des différences significatives entre H24 et H36, D3 et D4, D4 et D7, et D14 et D21 ($p < 0,006$ après correction de Bonferroni ; tableau 8). L'évolution de la concentration en IgA, en se basant sur les moyennes pour des périodes qui ne sont pas significativement différentes, est représentée par la figure 15.

Au début de la lactation, la concentration en IgA est de $24,1 \pm 12,2$ g/L (H4-H8). En 36 heures, cette concentration chute à $8,4 \pm 5,3$ g/L, puis augmente jusqu'à $14,4 \pm 11,0$ g/L à D4. À partir de ce moment, la concentration diminue progressivement pour atteindre $7,8 \pm 4,3$ g/L à D21.

Le pourcentage de diminution entre H4-H8 et H36 est de $51,5 \pm 20,8\%$ ($n=10$). Cependant, nous avons privilégié les variations entre chaque temps de lactation (tableau 8) :

une diminution de la concentration est notée jusqu'à H36-H48-D3 puis une stabilisation sur la fin de la lactation.

Tableau 8 : Concentrations en IgA (moyenne ± écart type) dans les sécrétions mammaires de chiennes (n=53) au cours de la lactation et pourcentage de variation (%) de la concentration en IgA entre chaque temps de lactation (les lettres montrent la significativité des résultats)

Temps	H4	H8	H12	H16	H20	H24	H36	H48	D3	D4	D7	D14	D21
IgA	22,4 ^a	25,0 ^a	14,9 ^b	13,1 ^b	17,3 ^b	11,9 ^c	8,4 ^d	9,2 ^d	11,0 ^d	14,4 ^e	8,6 ^f	10,9 ^f	7,8 ^g
(g/L)	±14,1	±11,5	±8,8	±8,5	±9,7	±6,2	±5,3	±9,1	±10,6	±11,0	±4,1	±7,4	±4,3
p	0,157	0,001	0,705	0,414	0,008	0,001	0,303	0,140	0	0,004	0,128	0,002	
IgA	24,1		15,1		11,9		8,9		14,4		9,7		7,8
(g/L)	±12,2		±8,9		±6,2		±6,3		±11,0		±6,0		±4,3
Variation%	/		-37,3		-21,2		-25,2		61,8		-32,6		-19,6

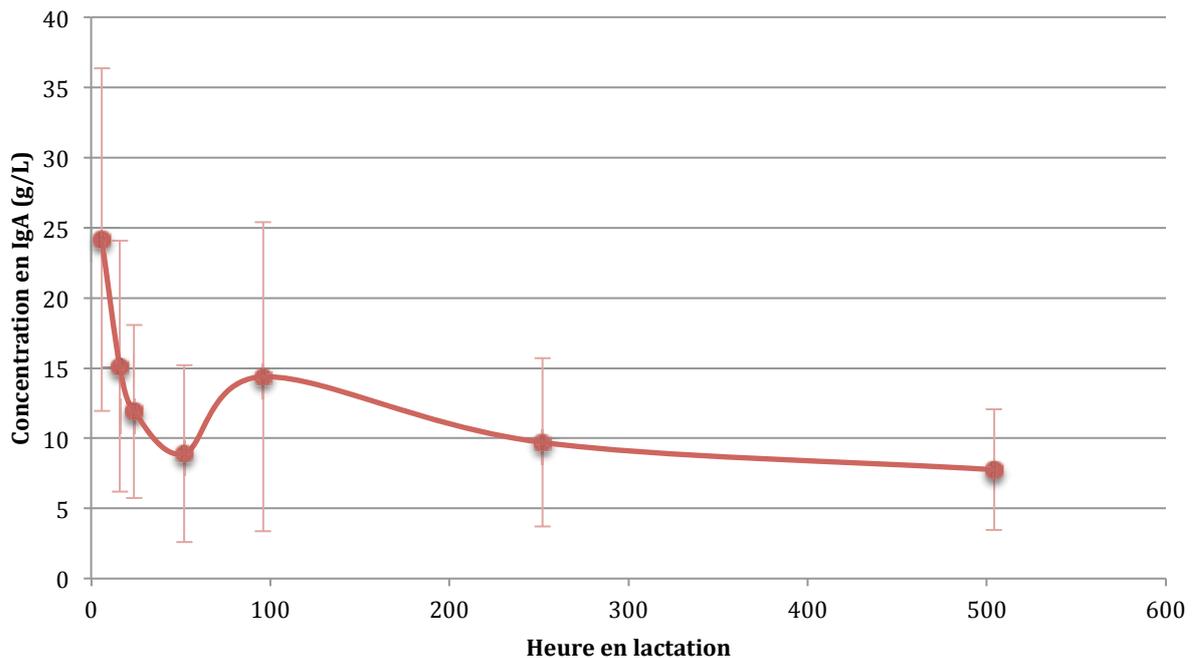


Figure 15 : Evolution de la concentration en IgA au cours du temps durant la lactation en tenant compte des différences significatives (53 chiennes ; 753 échantillons) (chaque point est significativement différent de son/ses voisin(s))

b. Proportions et corrélation entre les concentrations d'IgG et d'IgA

La figure 16 montre l'évolution des proportions relatives en immunoglobulines dans les sécrétions mammaires. Alors que dans les 4 premiers jours, la proportion en IgG diminue fortement, celle en IgA augmente. A partir de D3, la concentration en IgA devient supérieure à celle en IgG. Avant D3, les IgG dominent avec un pourcentage de 61,0% et après D3, ce sont les IgA qui dominent avec 78,0%.

Il existe une corrélation linéaire positive entre le taux d'IgG et celui d'IgA ($r > 0,4$ et $p < 0,05$) (figure 17).

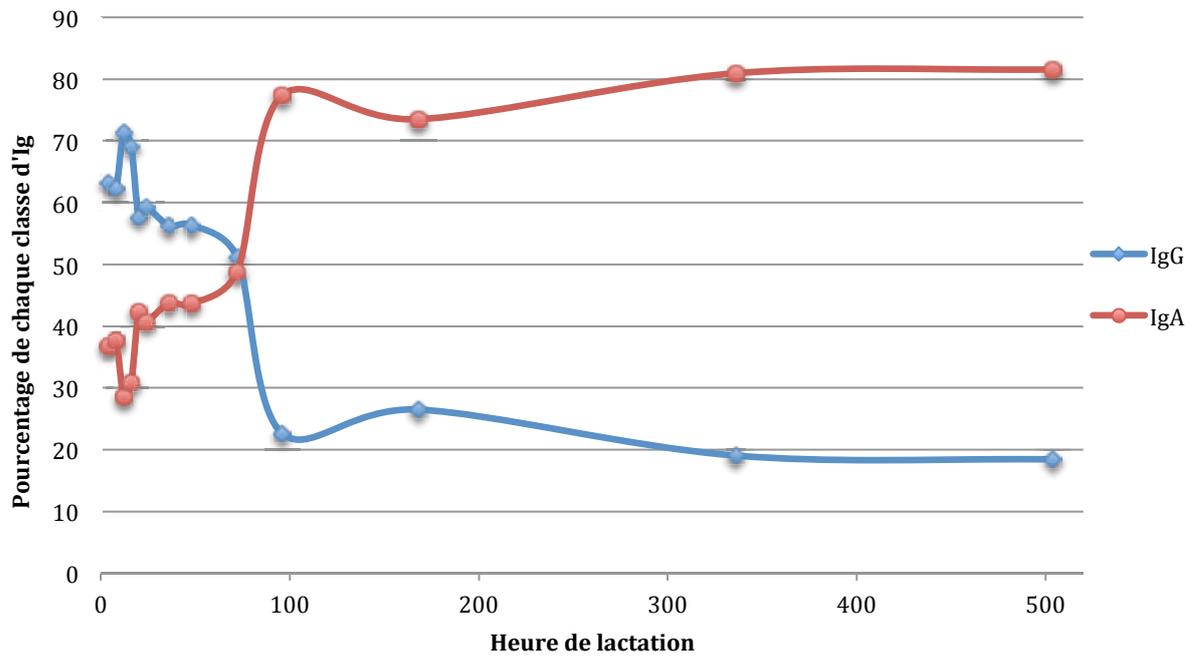


Figure 16 : Proportions d'IgG et d'IgA dans les sécrétions mammaires de la chienne au cours de la lactation

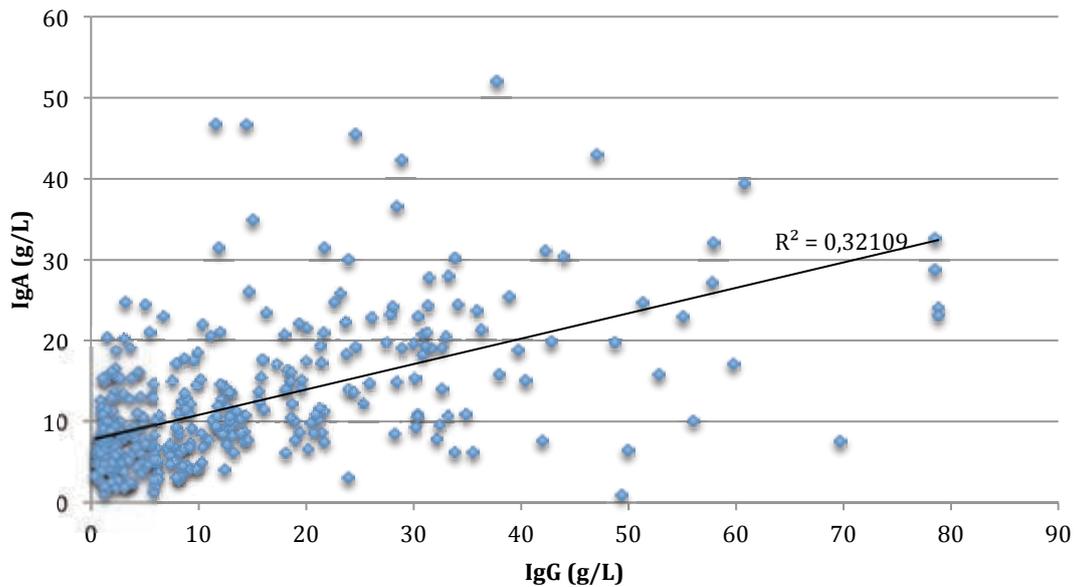


Figure 17 : Corrélation entre les concentrations en IgG et IgA lors de la lactation sur tous les échantillons ($r=0,57$; $p<0,001$; $n=393$)

C. Facteurs de variation

a. Age de la mère

- **Concentrations**

La concentration en IgG est corrélée positivement à l'âge de la mère pour plusieurs temps de lactation. Les figures 18 à 20 montrent que la concentration en IgG est corrélée avec l'âge de la mère à H4-H8, H36 et D4 ($r>0,4$ et $p<0,05$; tableau 9).

Aucune corrélation n'a été trouvée entre l'âge de la mère et la concentration en IgA ($r<0,4$ et/ou $p>0,05$) quelque soit le moment de la lactation (tableau 10).

Tableau 9 : Valeurs de r et p pour chaque test de corrélation linéaire entre la concentration en IgG et l'âge de la mère

		H4-H8	H12-H16-H20	H24	H36	H48-D3	D4	D7-D14	D21
Âge de la mère	r	0,697	0,508	0,342	0,454	0,388	0,447	0,320	0,306
	p	0,025	0,382	0,019	0,008	0,010	0,002	0,061	0,089

Tableau 10 : Valeurs de r et p pour chaque test de corrélation linéaire entre la concentration en IgA et l'âge de la mère

	H4-H8	H12-H16-H20	H24	H36-H48-D3	D4	D7-D14	D21
Âge de la mère	r	0,651	0,647	0,213	0,314	0,133	0,382
	p	0,080	0,552	0,156	0,075	0,133	0,382

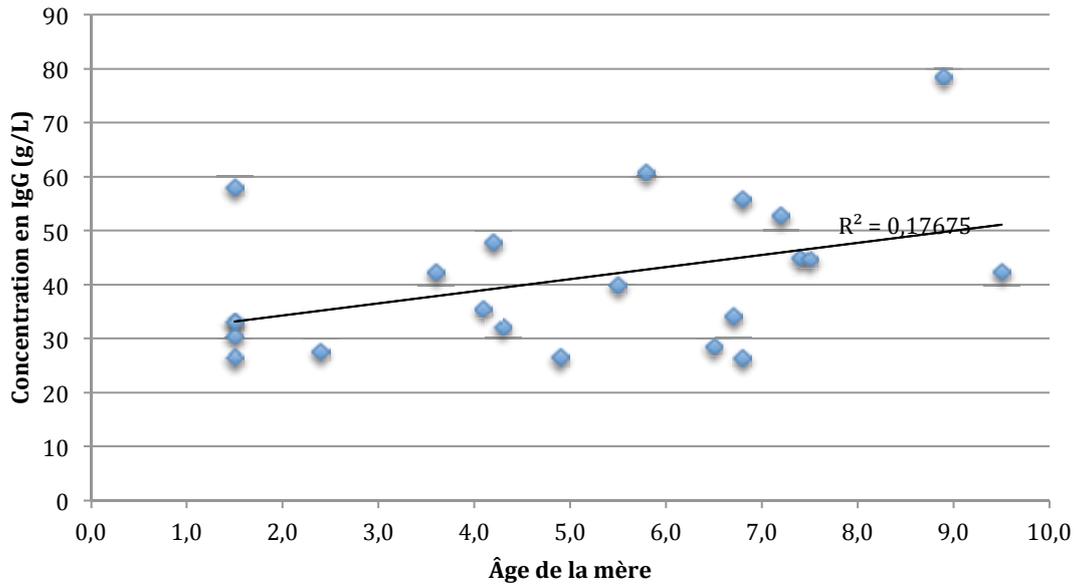


Figure 18 : Corrélation entre l'âge de la mère et la concentration en IgG à H4-H8 (n=22 ; r=0,64 et p=0,025)

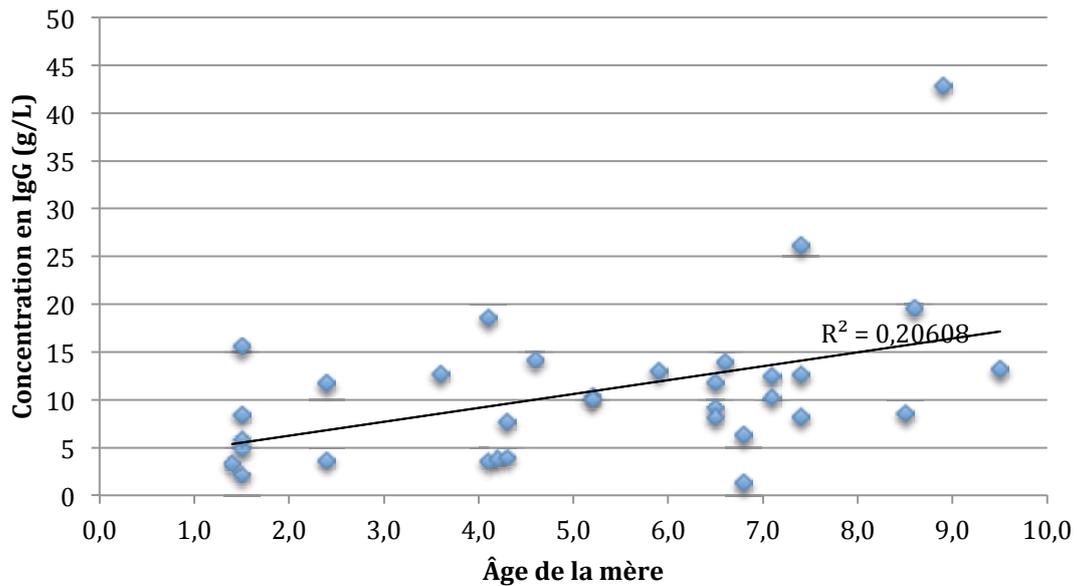


Figure 19 : Corrélation entre l'âge de la mère et la concentration en IgG à H36 (n=33 ; r=0,454 ; p=0,008)

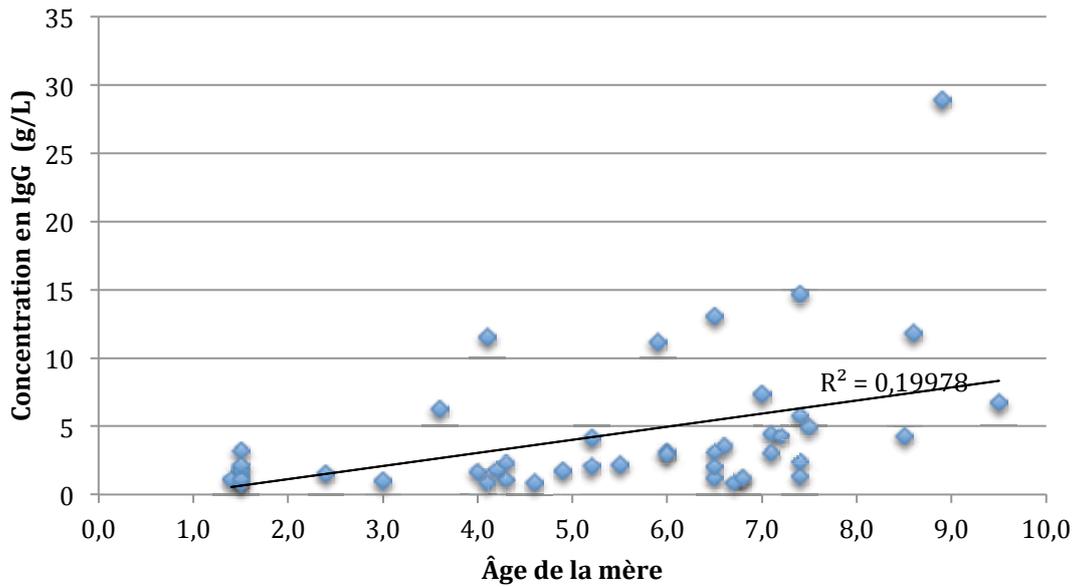


Figure 20 : Corrélation entre l'âge de la mère et la concentration en IgG à D4 (n=47 ; r=0,447 ; p=0,0016)

Les tableaux 11 et 12 ainsi que les figures 21 et 22 résument les concentrations moyennes en immunoglobulines au cours du temps pour chaque catégorie d'âge. Quatre différences significatives ont été mises en évidence pour les concentrations en IgG des différentes catégories d'âge pour H24, H48-D3, D4 et D7-D14. Les chiennes âgées (>6 ans) ont des concentrations en IgG plus élevées que les jeunes chiennes (<2 ans) ($p < 0,017$ après la correction de Bonfèroni ; H24 : $p = 0,016$; H48-D3 : $p = 0,002$; D4 : $p = 0,005$; D7-D14 : $p < 0,001$). Même si pour les autres temps de lactation, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence, on voit sur la figure 21 que la tendance est générale tout au long de la lactation.

Aucune différence significative n'a été trouvée pour les concentrations en IgA entre les différentes catégories d'âge de chiennes. Cependant, les valeurs sont légèrement plus élevées pour les chiennes âgées que pour les jeunes chiennes.

Tableau 11 : Concentrations en IgG (g/L) selon les catégories d'âge pour les différents temps de lactation et valeurs de p correspondant à la comparaison des trois groupes

	All	H4-H8	H12-H16-H20	H24	H36	H48-D3	D4	D7-D14	D21
Jeune	12,8	36,2	28,3	11,8	6,7	4,1	1,6	1,2	1,0
	±14,5	±12,4	±17,8	±9,1	±4,9	±2,8	±0,8	±0,4	±0,2
Effectif	10	5	6	9	6	8	9	9	7
Adulte	13,9	39,1	28,9	17,2	9,5	9,5	3,3	2,4	1,1
	±12,3	±11,4	±15,9	±10,1	±4,9	±7,2	±9,3	±3,7	±0,4
Effectif	21	8	12	18	12	20	17	17	9
Âgée	14,1	49,3	30,0	19,9	13,6	12,8	6,0	4,4	2,4
	±10,2	±16,0	±17,8	±10,5	±9,9	±9,6	±6,6	±4,7	±3,0
Effectif	22	9	14	20	15	22	21	22	16
p-value	0,506	0,471	0,930	0,042	0,139	0,010	0,013	<0,001	0,334

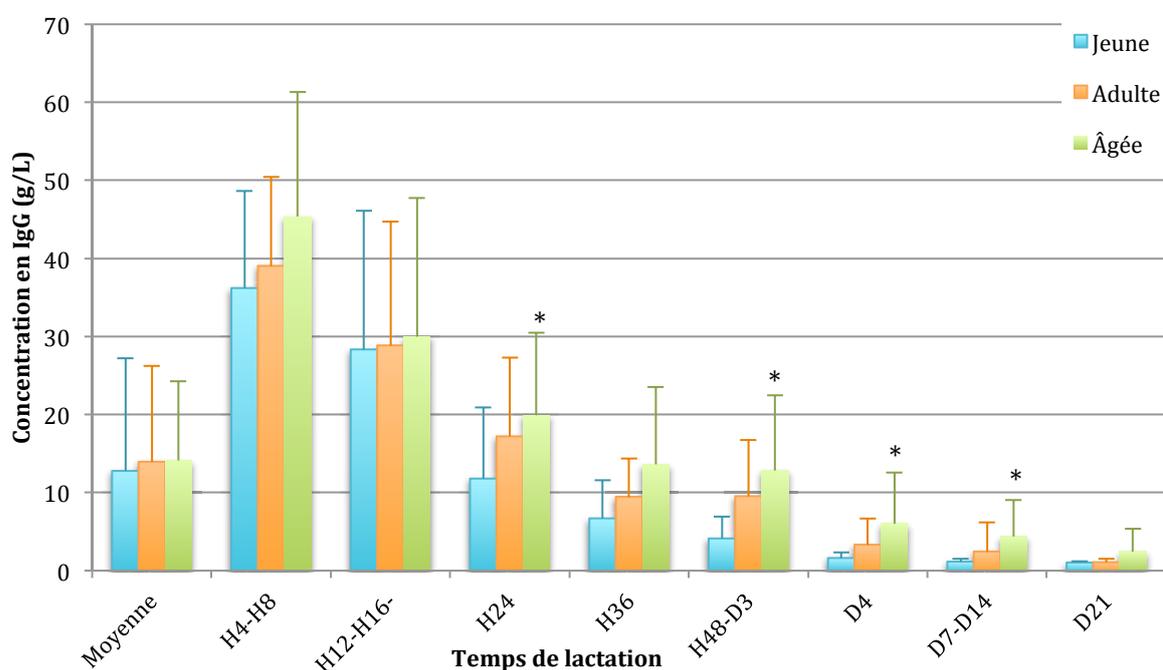


Figure 21 : Effet de l'âge sur la concentration en IgG (g/L) au cours de la lactation (* : différence significative entre les catégories jeune et âgée pour un temps de lactation donné)

Tableau 12 : Concentrations en IgA (g/L) selon les catégories d'âge pour les différents temps de lactation et valeurs de p correspondant à la comparaison des trois groupes

	All	H4-H8	H12-H16-H20	H24	H36-H48-D3	D4	D7-D14	D21
Jeune	8,7 ±4,4	19,2 ±3,5	12,8 ±8,5	10,3 ±6,4	6,3 ±3,2	12,8 ±6,5	7,9 ±1,4	6,4 ±1,8
Effectif	10	5	6	7	9	9	9	8
Adulte	13,6 ±9,4	23,2 ±13,9	13,0 ±8,1	12,1 ±7,0	9,8 ±7,1	15,1 ±13,7	9,7 ±7,2	6,3 ±1,8
Effectif	21	8	10	19	20	19	17	10
Âgée	11,7 ±5,5	27,1 ±7,6	16,9 ±9,8	12,3 ±5,4	9,2 ±5,8	14,4 ±10,1	11,0 ±5,1	9,2 ±5,6
Effectif	22	6	13	20	22	20	22	18
p-value	0,303	0,322	0,565	0,512	0,410	0,971	0,308	0,185

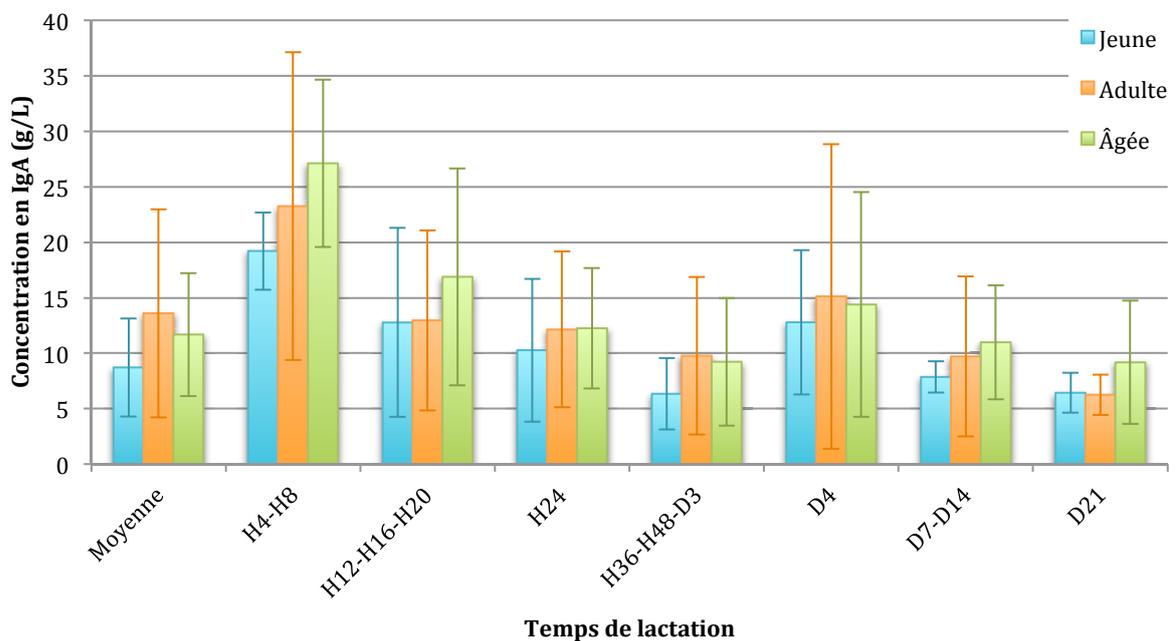


Figure 22 : Effet de l'âge sur la concentration en IgA (g/L) au cours de la lactation (pas de différence significative entre les différents groupes)

- **Pourcentage de diminution**

L'appartenance à une catégorie d'âge n'a pas de lien avec le pourcentage de diminution de la concentration en IgG entre H4-H8 et H36 ($p>0,05$), bien qu'il semblerait que la décroissance soit moins marquée pour les chiennes de plus de 6 ans (figure 23).

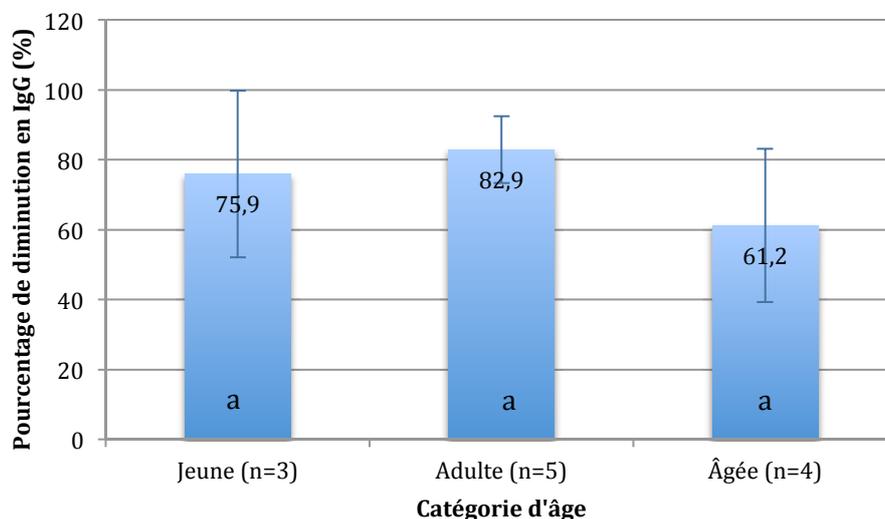


Figure 23 : Pourcentage de diminution de la concentration en IgG entre H4-H8 et H36 en fonction de l'âge de la mère (n=12) (les lettres identiques indiquent qu'il n'y a pas de différence significative ; $p>0,05$)

En ce qui concerne le pourcentage de diminution en IgA, il n'existe pas de différence significative ($p>0,05$) entre les différentes catégories d'âge, même si à nouveau les chiennes plus jeunes semblent avoir un pourcentage de diminution plus élevé que pour les chiennes plus âgées (figure 24).

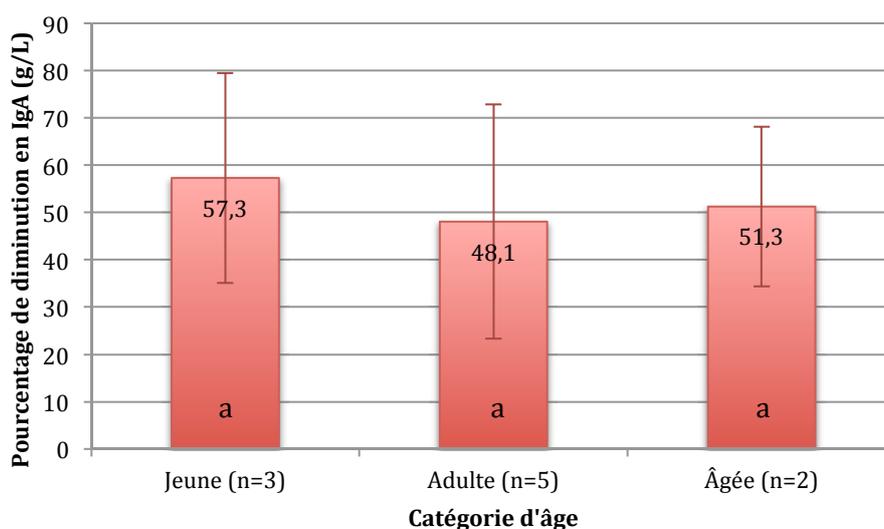


Figure 24 : Pourcentage de diminution de la concentration en IgA entre H4-H8 et H36 en fonction de l'âge de la mère (n=10) (les lettres identiques signifient qu'il n'existe pas de différence significative ; $p>0,05$)

b. Parité

Nous avons testé l'effet de la parité des chiennes sur les concentrations en immunoglobulines. Les tableaux 13 et 14 regroupent les valeurs moyennes des concentrations pour chaque temps de lactation en fonction de la parité avec les valeurs de p pour chacune d'entre elles. Les figures 25 et 26 représentent ces résultats sous la forme d'histogrammes.

Trois différences significatives ont été mises en évidence pour les concentrations en IgG à H24, H48-D3 et D4 ; aucune pour les concentrations en IgA.

Tableau 13 : Concentrations moyennes (\pm écart type) en IgG au cours de la lactation en fonction de la parité des chiennes et valeurs de p

	All	H4-H8	H12-H16-H20	H24	H36	H48-D3	D4	D7-D14	D21
Primipares	8,7	36,2	24,1	11,7	7,4	4,0	1,6	1,2	1,1
	$\pm 7,0$	$\pm 12,4$	$\pm 16,2$	$\pm 9,1$	$\pm 5,1$	$\pm 2,9$	$\pm 0,8$	$\pm 0,4$	$\pm 0,2$
Effectif	9	5	5	9	5	8	9	9	6
Multipares	11,3	39,6	27,5	16,8	10,2	9,7	3,6	2,6	2,0
	$\pm 5,6$	$\pm 10,2$	$\pm 13,6$	$\pm 6,8$	$\pm 5,6$	$\pm 7,5$	$\pm 3,4$	$\pm 2,3$	$\pm 2,5$
Effectif	33	12	20	33	23	33	30	32	24
p-value	0,238	0,527	0,415	0,020	0,322	0,007	0,042	0,083	0,568

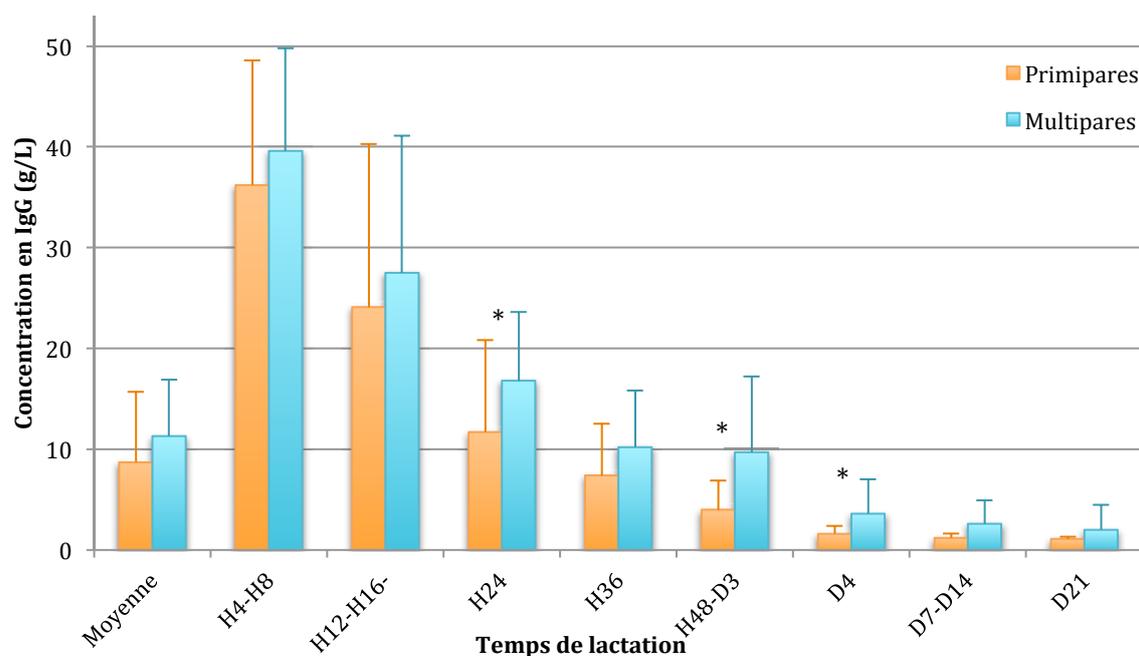


Figure 25 : Concentrations moyennes en IgG (g/L) selon la parité des chiennes au cours de la lactation (* : différence significative entre les deux groupes : $p < 0,05$)

Tableau 14 : Concentrations moyennes (\pm écart type) en IgA au cours de la lactation en fonction de la parité des chiennes et valeurs de p

	All	H4-H8	H12- H16-H20	H24	H36- H48-D3	D4	D7-D14	D21
Primipares	9,4 $\pm 4,0$	19,2 $\pm 3,9$	15,1 $\pm 7,0$	9,1 $\pm 6,8$	6,1 $\pm 3,4$	11,7 $\pm 6,8$	8,0 $\pm 1,4$	6,8 $\pm 1,5$
Effectif	9	5	5	8	9	9	9	7
Multipares	11,1 $\pm 5,5$	25,0 $\pm 18,6$	14,6 $\pm 9,0$	11,5 $\pm 5,0$	8,6 $\pm 5,5$	14,1 $\pm 10,2$	9,4 $\pm 4,3$	8,2 $\pm 5,1$
Effectif	33	9	19	31	33	32	32	25
p-value	0,334	0,859	0,144	0,226	0,592	0,637	0,569	0,334

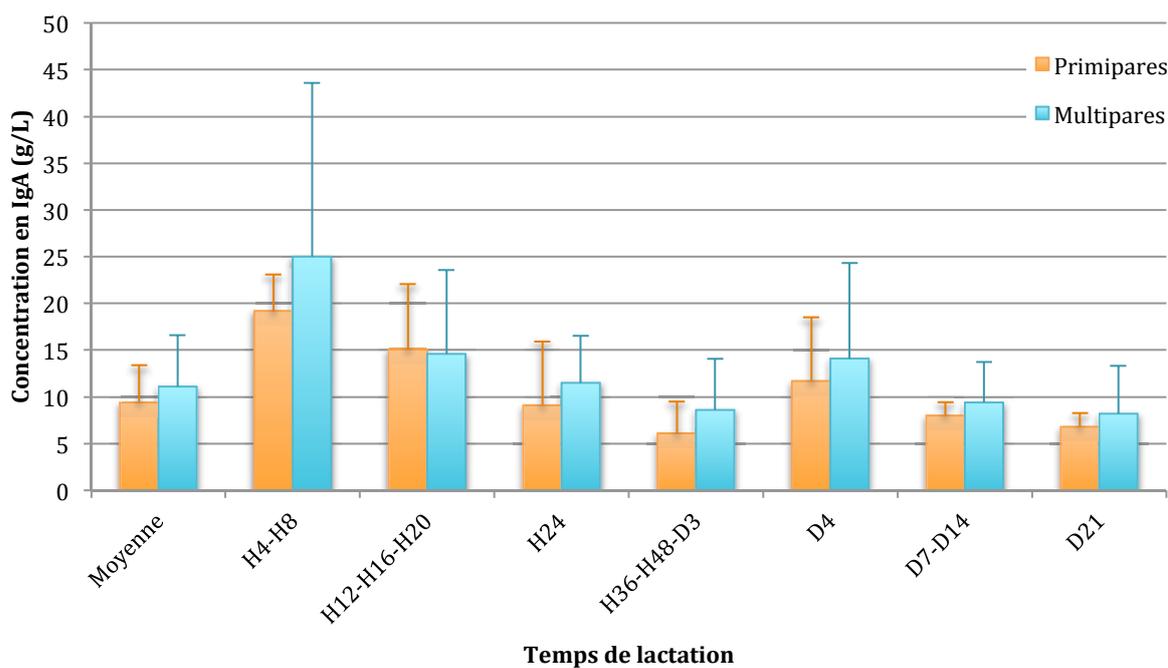


Figure 26 : Concentrations moyennes en IgA (g/L) selon la parité des chiennes au cours de la lactation (pas de différence significative entre les deux groupes)

c. Format racial

• **Concentrations**

Les tableaux 15 et 16 ainsi que les figures 27 et 28 résument les concentrations moyennes en immunoglobulines au cours du temps pour chaque format racial. Aucune différence significative n'a été trouvée pour les concentrations en IgG bien que la figure 27 montre une légère tendance : les concentrations en IgG pour les races de grande taille paraissent plus élevées que pour les races de petite taille.

En ce qui concerne les IgA, une seule différence significative a été mise en évidence ($p=0,019$) : la concentration moyenne en IgA des races de grande taille ($29,8 \pm 9,4$ g/L) est plus élevée que celle des races de petite taille ($15,3 \pm 6,3$ g/L) avec une valeur de p égale à 0,014 ($p<0,017$ qui s'applique avec la correction de Bonferoni).

Tableau 15 : Concentrations moyennes (\pm écart type) en IgG (g/L) selon chaque format racial et valeur de p pour chaque temps de lactation

	All	H4-H8	H12-H16-H20	H24	H36	H48-D3	D4	D7-D14	D21
Petit	13,0	35,7	29,3	16,5	9,1	10,8	3,7	2,8	1,3
	$\pm 10,4$	$\pm 10,4$	$\pm 16,7$	$\pm 9,8$	$\pm 5,0$	$\pm 9,1$	$\pm 3,9$	$\pm 3,6$	$\pm 1,2$
Effectif	25	7	15	21	16	23	21	22	15
Moyen	11,3	41,9	30,9	16,8	9,9	8,3	3,4	3,1	1,3
	$\pm 7,4$	$\pm 10,5$	$\pm 7,0$	$\pm 8,9$	$\pm 5,1$	$\pm 4,1$	$\pm 2,0$	$\pm 0,9$	$\pm 0,5$
Effectif	18	4	5	10	11	10	10	9	6
Large	16,2	42,8	28,5	18,8	13,9	10,3	5,4	4,0	2,6
	$\pm 15,0$	$\pm 9,1$	$\pm 19,9$	$\pm 12,3$	$\pm 11,6$	$\pm 9,5$	$\pm 7,4$	$\pm 5,4$	$\pm 3,4$
Effectif	18	11	12	16	11	17	16	17	11
p-value	0,778	0,882	0,583	0,887	0,727	0,981	0,465	0,563	0,223

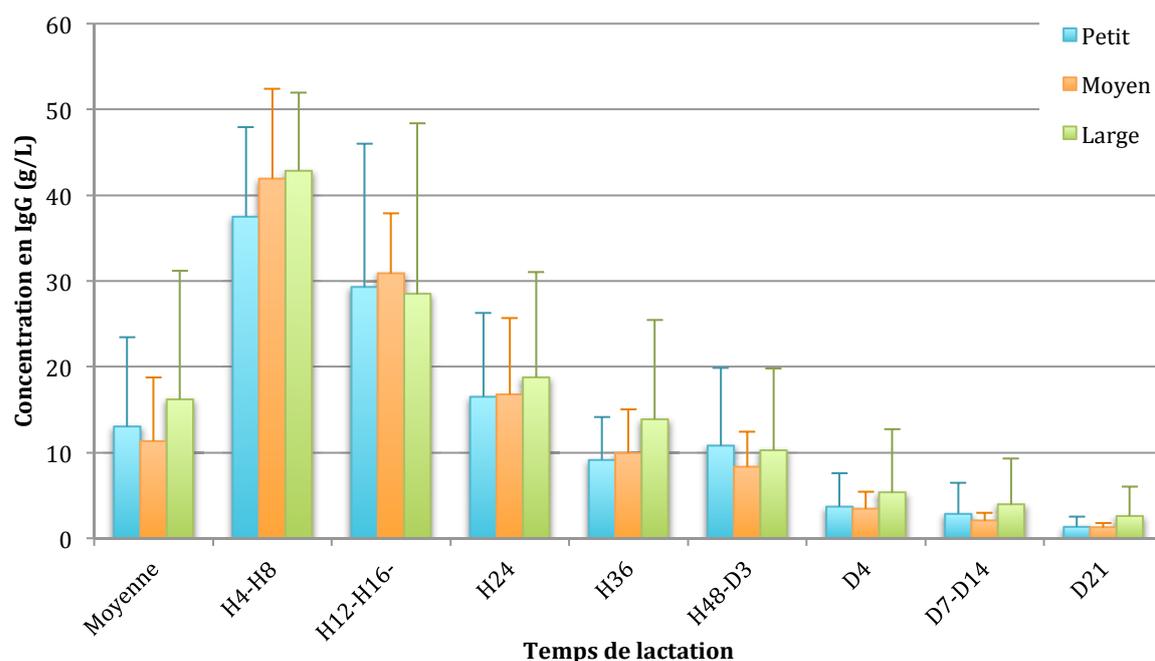


Figure 27 : Concentrations moyennes en IgG (g/L) selon le format racial pour chaque temps de lactation (pas de différence significative entre les formats raciaux)

Tableau 16 : Concentrations moyennes (\pm écart type) en IgA (g/L) selon chaque format racial et valeur de p pour chaque temps de lactation

	All	H4-H8	H12-H16-H20	H24	H36-H48-D3	D4	D7-D14	D21
Petit	10,1	15,3	11,3	11,2	8,7	13,0	8,6	7,0
	$\pm 6,6$	$\pm 6,3$	$\pm 6,4$	$\pm 6,8$	$\pm 7,1$	$\pm 11,5$	$\pm 3,7$	$\pm 5,1$
Effectif	25	6	14	19	24	22	22	16
Moyen	10,6	26,7	14,4	10,6	8,1	13,0	9,3	8,1
	$\pm 4,0$	$\pm 2,9$	$\pm 8,7$	$\pm 3,9$	$\pm 3,3$	$\pm 7,1$	$\pm 2,6$	$\pm 1,9$
Effectif	10	4	5	10	10	10	9	7
Large	15,1	29,8	20,0	13,5	9,8	17,1	12,0	8,5
	$\pm 8,7$	$\pm 9,4$	$\pm 10,0$	$\pm 6,5$	$\pm 5,7$	$\pm 12,4$	$\pm 7,9$	$\pm 4,4$
Effectif	18	8	10	17	17	16	17	13
p-value	0,075	0,019	0,052	0,656	0,486	0,320	0,145	0,128

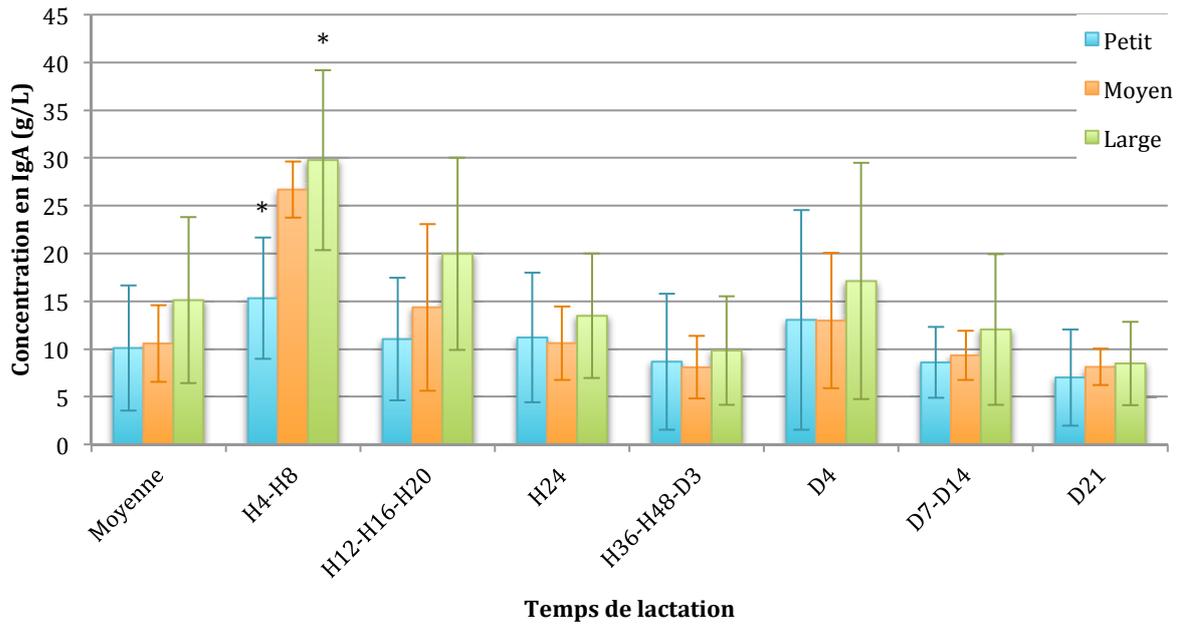


Figure 28 : Concentrations moyennes en IgA (g/L) selon le format racial pour chaque temps de lactation (l'étoile montre que les catégories petit format racial et large format racial à H4-H8 sont différentes ; $p=0,014$)

- **Pourcentage de diminution**

Le format racial a une influence sur le pourcentage de diminution de la concentration en IgG dans les premières 36 heures. Les races de petite taille subissent une diminution de la concentration en IgG plus importante que les races de grande taille (figure 29).

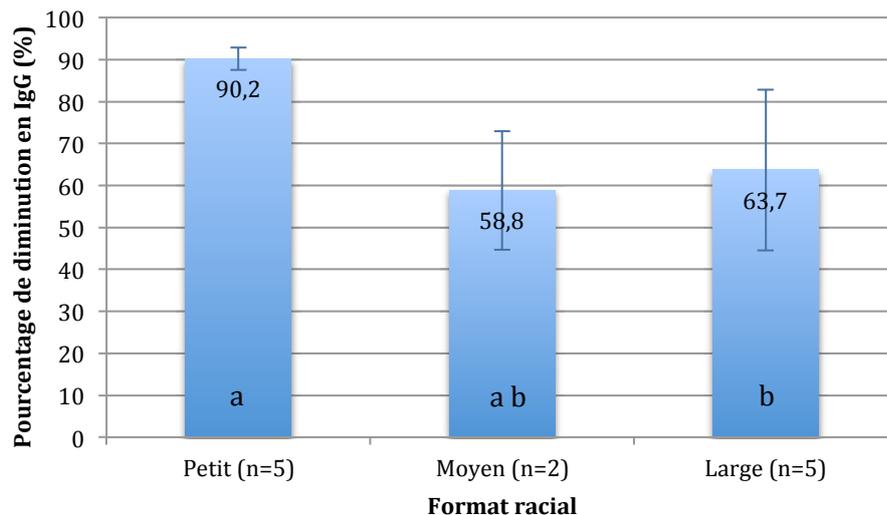


Figure 29 : Pourcentage de diminution de la concentration en IgG entre H4-H8 et H36 en fonction du format racial (n=12) (les lettres non identiques entre petit et large formats raciaux signifient que la différence est significative ; $p=0,009$)

En ce qui concerne le pourcentage de diminution d'IgA dans les sécrétions lactées en 36 heures, il semblerait qu'il soit moins marqué pour les races de grande taille (figure 30) mais aucune différence significative n'a pu être mise en évidence.

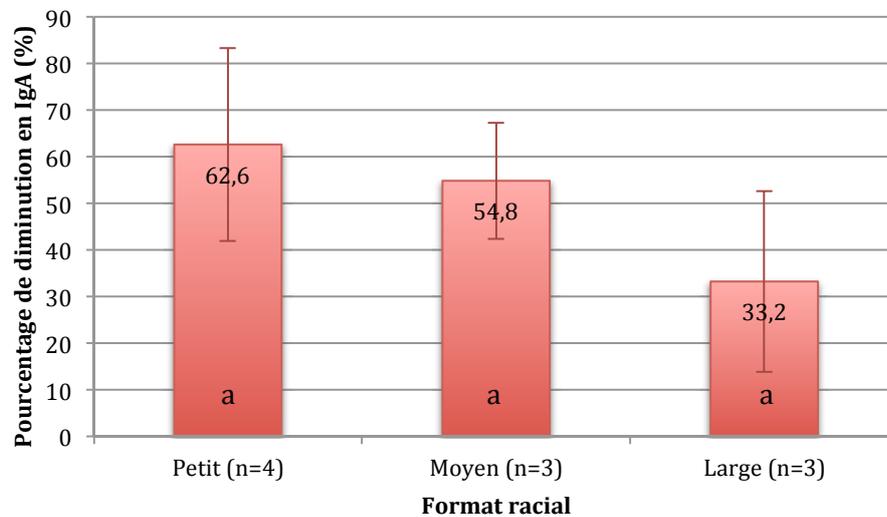


Figure 30 : Pourcentage de diminution de la concentration en IgA entre H4-H8 et H36 en fonction du format racial (n=10) (les lettres identiques montrent qu'il n'y a pas de différences significative entre les formats raciaux ; $p > 0,05$)

d. Taille de la portée

- **Concentrations**

Une corrélation négative (figure 31) existe entre la concentration en IgG dans les sécrétions lactées à H12-H16-H20 et le nombre de chiots dans la portée ($r < -0,4$ et $p < 0,05$). Les tableaux 17 et 18 regroupent les valeurs r et p des tests statistiques effectués pour chercher des corrélations linéaires.

Tableau 17 : Valeurs de r et p pour chaque test de corrélation linéaire entre la concentration en IgG et la taille de la portée

	H4-H8	H12-H16-H20	H24	H36	H48-D3	D4	D7-D14	D21	
Taille de la portée	r	-0,417	-0,890	-0,254	-0,383	-0,395	-0,386	-0,319	-0,235
	p	0,230	0,043	0,085	0,028	0,009	0,007	0,062	0,195

Tableau 18 : Valeurs de r et p pour chaque test de corrélation linéaire entre la concentration en IgA et la taille de la portée

		H4-H8	H12-H16-H20	H24	H36-H48-D3	D4	D7-D14	D21
Taille de la portée	r	0,606	-0,730	-0,106	-0,266	-0,281	-0,340	-0,145
	p	0,112	0,479	0,486	0,134	0,054	0,043	0,400

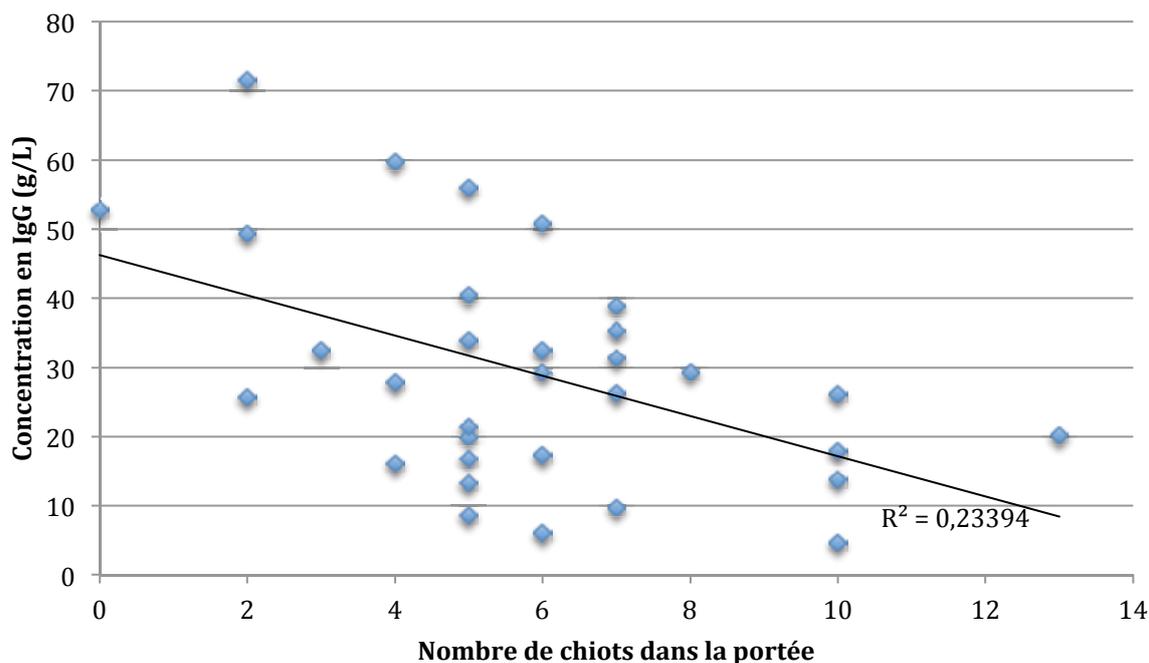


Figure 31 : Corrélation linéaire entre le nombre de chiots dans une portée et la concentration en IgG à H12-H16-H20 (n=32 ; r=-0,89 ; p=0,043)

Des corrélations linéaires ont été cherchées entre les concentrations en IgG (tableau 19)/IgA (tableau 20) et la taille de la portée en fonction du format racial. Comme la taille de la portée diffère en fonction des races, nous avons pu mettre en évidence 8 corrélations linéaires. Les graphiques ne sont pas représentés mais chaque corrélation linéaire trouvée est une corrélation négative.

Tableau 19 : Corrélation entre les concentrations en IgG et le nombre de chiots dans la portée selon le format racial

Format racial	Valeurs stats	H4-H8	H12-H16-H20	H24	H36	H48-D3	D4	D7-D14	D21
	Effectif	7	15	21	16	23	21	22	15
Petit	r	-0,166	-0,536	-0,370	-0,093	-0,348	0,031	-0,170	-0,112
	p	0,722	0,039	0,010	0,731	0,104	0,895	0,452	0,691
	Effectif	4	5	10	6	10	10	9	6
Moyen	r	-0,027	0,253	0,097	0,145	-0,205	-0,385	-0,410	-0,880
	p	0,973	0,681	0,790	0,784	0,571	0,273	0,274	0,021
	Effectif	10	11	16	11	17	16	17	11
Large	r	-0,593	-0,427	-0,354	-0,652	-0,518	-0,639	-0,593	-0,391
	p	0,071	0,190	0,178	0,030	0,033	0,008	0,012	0,234

Tableau 20 : Corrélation entre les concentrations en IgA et le nombre de chiots dans la portée selon le format racial

Format racial	Valeurs stats	H4-H8	H12-H16-H20	H24	H36-H48-D3	D4	D7-D14	D21
	Effectif	6	14	19	24	22	22	7
Petit	r	-0,602	-0,249	-0,390	-0,355	-0,129	-0,295	-0,066
	p	0,206	0,391	0,098	0,089	0,568	0,183	0,808
	Effectif	4	5	10	10	10	9	16
Moyen	r	0,078	0,325	-0,154	-0,094	0,024	-0,493	-0,379
	p	0,922	0,594	0,670	0,796	0,947	0,177	0,402
	Effectif	9	10	17	17	16	17	13
Large	r	0,083	0,042	-0,051	-0,391	-0,592	-0,492	-0,296
	p	0,846	0,908	0,845	0,121	0,016	0,045	0,326

- **Pourcentage de diminution**

La taille de la portée a une influence sur le pourcentage de diminution de la concentration en IgG entre H4-H8 et H36 (figure 32). La concentration en IgG diminue plus fortement pour des portées de moyenne à grande taille face à des portées de petite taille.

Concernant le pourcentage de diminution en IgA, aucune différence n'a été mise en évidence ($p>0,05$) (figure 33).

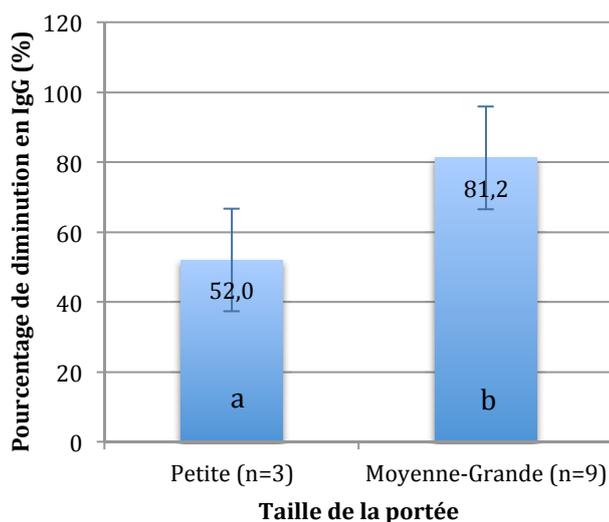


Figure 32 : Pourcentage de diminution de la concentration en IgG entre H4-H8 et H36 en fonction de la taille de la portée (n=12) (les lettres différentes signifient que les pourcentages de diminution sont significativement différents ; $p=0,021$)

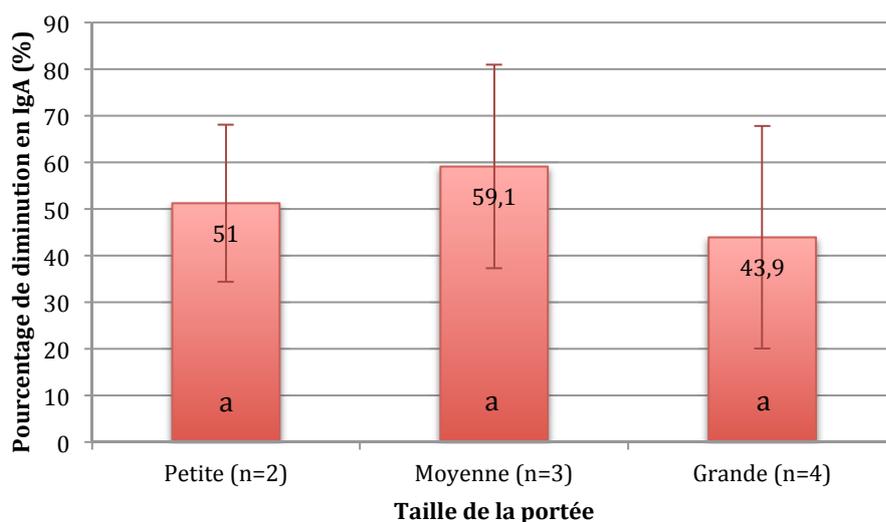


Figure 33 : Pourcentage de diminution de la concentration en IgA entre H4-H8 et H36 en fonction de la taille de la portée (n=10) (les lettres identiques montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre chaque catégorie ; $p>0,05$)

e. Poids total de la portée

Une seule corrélation (tableaux 21 et 22) a été trouvée entre la concentration en IgG/IgA et le poids total de la portée : elle concerne les IgG à H48-D3. Cette corrélation est négative (figure 34).

Tableau 21 : Corrélation linéaire entre la concentration en IgG et le poids total de la portée

		H4-H8	H12-H16-H20	H24	H36	H48-D3	D4	D7-D14	D21
Poids_{tot} (portée)	r	-0,352	-0,001	-0,223	-0,297	-0,419	-0,308	-0,229	-0,005
	p	0,318	0,998	0,131	0,093	0,005	0,035	0,186	0,978

Tableau 22 : Corrélation linéaire entre la concentration en IgA et le poids total de la portée

		H4-H8	H12-H16-H20	H24	H36-H48-D3	D4	D7-D14	D21
Poids_{tot} (portée)	r	0,606	-0,730	-0,106	-0,266	-0,281	-0,340	-0,145
	p	0,112	0,479	0,486	0,134	0,054	0,043	0,400

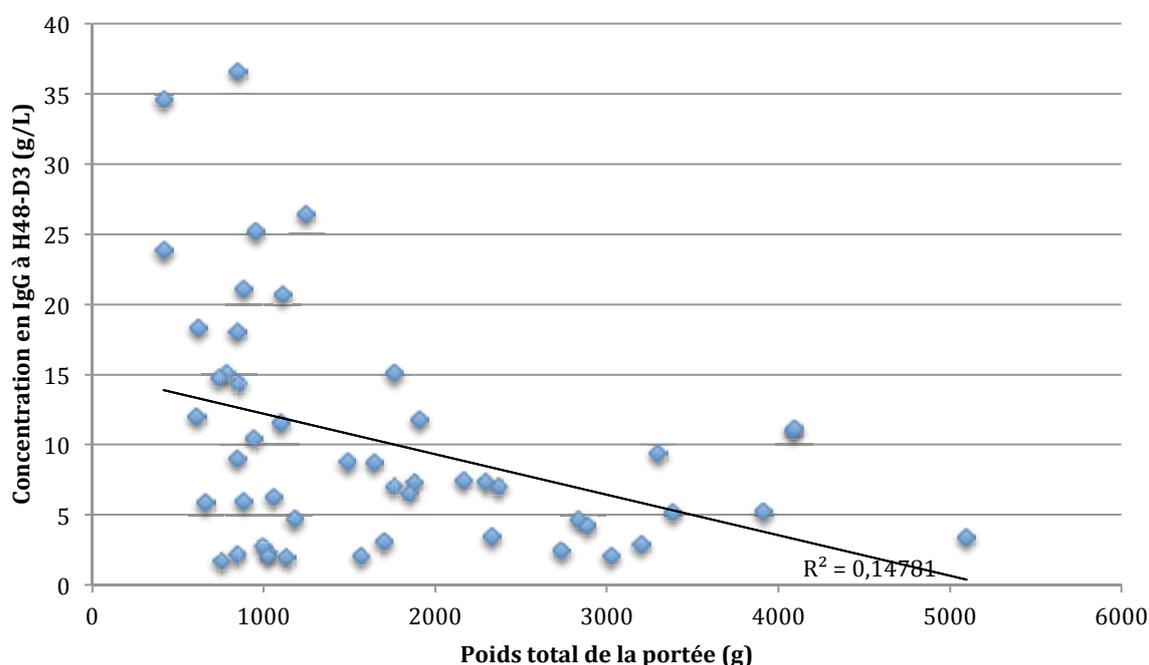


Figure 34 : Concentration en IgG à H48-D3 en fonction du poids total de la portée (n=50 ; r=-0,419 ; p=0,005)

De la même façon que pour la taille de la portée, le poids des chiots varie en fonction de la race. Nous avons donc cherché des corrélations entre les taux d'IgG (tableau 23)/IgA (tableau 24) et le poids de la portée en fonction du format racial. Dix corrélations linéaires négatives ont été trouvées. Les graphiques ne sont pas représentés.

Tableau 23 : Valeurs des tests de corrélation entre les concentrations en IgG et le poids total de la portée selon le format racial

Format racial	Valeurs stats	H4-H8	H12-H16-H20	H24	H36	H48-D3	D4	D7-D14	D21
	Effectif	7	15	21	16	23	21	22	15
Petit	r	-0,010	-0,093	-0,362	0,161	-0,264	0,142	-0,130	-0,278
	p	0,833	0,741	0,107	0,551	0,224	0,540	0,566	0,315
	Effectif	4	5	10	6	10	10	9	6
Moyen	r	0,683	-0,334	0,011	-0,675	-0,722	-0,790	-0,529	-0,725
	p	0,317	0,583	0,975	0,142	0,009	0,007	0,143	0,103
	Effectif	10	11	16	11	17	16	17	11
Large	r	-0,616	-0,441	-0,600	-0,789	-0,743	-0,764	-0,767	-0,427
	p	0,058	0,175	0,014	0,004	<0,001	<0,001	<0,001	0,190

Tableau 24 : Valeurs des tests de corrélation entre les concentrations en IgA et le poids total de la portée selon le format racial

Format racial	Valeurs stats	H4-H8	H12-H16-H20	H24	H36-H48-D3	D4	D7-D14	D21
	Effectif	6	14	19	24	22	22	7
Petit	r	-0,592	-0,037	-0,312	-0,391	-0,363	-0,315	-0,224
	p	0,216	0,901	0,194	0,059	0,097	0,153	0,405
	Effectif	4	5	10	10	10	9	16
Moyen	r	-0,040	-0,854	-0,674	-0,626	-0,391	-0,560	-0,268
	p	0,960	0,066	0,033	0,053	0,264	0,117	0,562
	Effectif	9	10	17	17	16	17	13
Large	r	-0,221	0,081	-0,363	-0,608	-0,639	-0,687	-0,305
	p	0,598	0,824	0,153	<0,001	<0,001	0,002	0,311

f. Gain de poids des chiots

Le gain moyen des chiots entre H12 et H48 est de $4,6 \pm 10,6\%$. Il a été comparé au pourcentage de diminution en IgG entre H4-H8 et H36. Aucune corrélation linéaire n'a pu être mise en évidence ($r=0,434$ et $p=0,159$).

g. Mamelle prélevée

Le tableau 25 regroupe les concentrations moyennes en IgG et IgA ainsi que les écarts types pour chaque mamelle, chaque paire de mamelles et les groupes de mamelles possibles (crânial vs caudal). Les valeurs de p montrent qu'aucun test n'a montré de différence significative entre chaque mamelle et groupes de mamelles.

Tableau 25 : Influence de l'origine mammaire sur la concentration (moyenne \pm écart type) en immunoglobulines des sécrétions lactées à D3 (g/L)

	M1D	M1G	M2D	M2G	M3D	M3G	M4D	M4G	M5D	M5G	p		
IgG	10,5 $\pm 10,2$	10,0 $\pm 9,8$	12,5 $\pm 11,1$	11,4 $\pm 11,3$	9,0 $\pm 8,4$	9,3 $\pm 10,1$	10,5 $\pm 10,7$	10,4 $\pm 11,5$	11,4 $\pm 9,5$	13,7 $\pm 11,5$	0,698		
IgA	9,3 $\pm 7,1$	8,5 $\pm 6,5$	10,6 $\pm 8,0$	9,4 $\pm 6,3$	8,9 $\pm 6,5$	8,9 $\pm 6,7$	10,5 $\pm 8,8$	9,9 $\pm 7,9$	11,3 $\pm 6,7$	13,4 $\pm 9,4$	0,196		
IgG	10,3 \pm 9,9		11,9 \pm 11,2		9,2 \pm 9,2		10,5 \pm 11,1		12,5 \pm 10,5		0,420		
IgA	8,9 \pm 6,7		10,0 \pm 7,1		8,9 \pm 6,6		10,2 \pm 8,3		12,3 \pm 8,2		0,120		
IgG	10,0 \pm 9,2		11,3 \pm 9,4								0,560		
IgA	8,9 \pm 6,3		10,6 \pm 6,0								0,285		
IgG	10,4 \pm 8,8				10,1 \pm 8,8								0,890
IgA	9,2 \pm 6,1				10,0 \pm 6,3								0,533
IgG	10,1 \pm 8,1						10,9 \pm 9,8				0,632		
IgA	9,2 \pm 5,7						10,6 \pm 6,8				0,284		
IgG	10,1 \pm 8,0								12,4 \pm 10,1		0,260		
IgA	10,0 \pm 5,7								12,4 \pm 7,6		0,111		

Les concentrations en IgG et en IgA à D3 toutes mamelles confondues varient respectivement entre 0,1 et 54,3 g/L et 0,7 et 40,0 g/L. Aucune différence significative n'a été trouvée entre les différentes mamelles pour les concentrations en IgG et IgA. Les figures 35 et 36 montrent les concentrations moyennes en IgG et en IgA en fonction des mamelles.

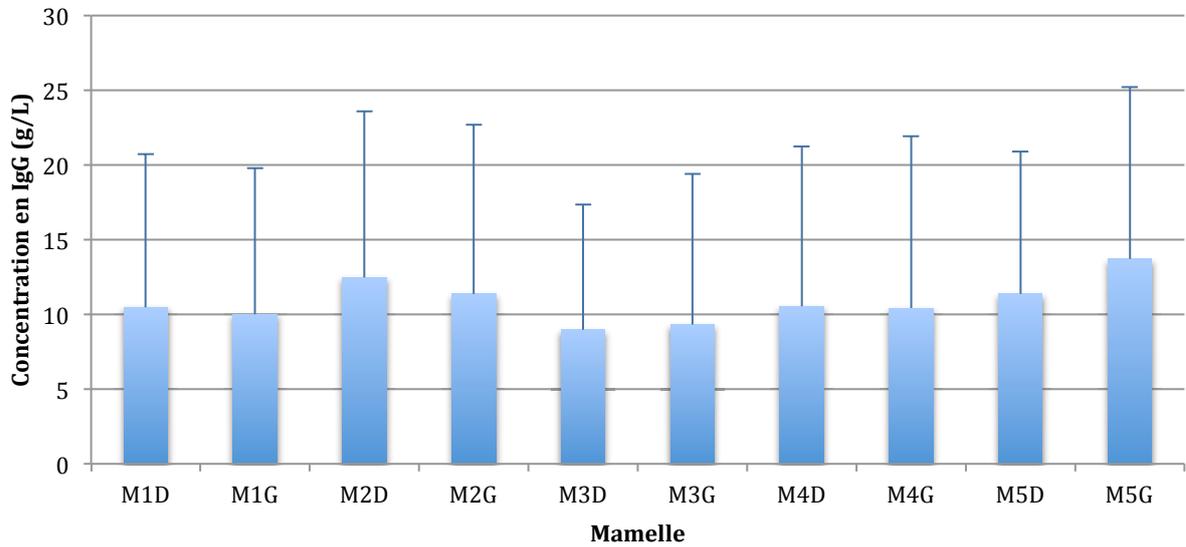


Figure 35 : Concentrations moyennes en IgG (g/L) en fonction de la mamelle à D3 (pas de différence significative entre chaque mamelle)

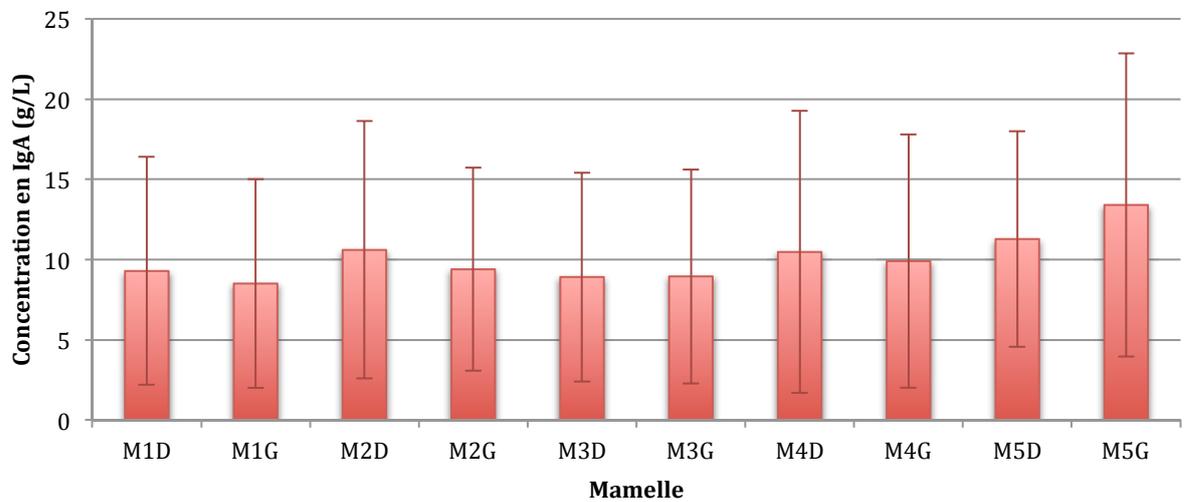


Figure 36 : Concentrations moyennes en IgA (g/L) en fonction de la mamelle à D3 (pas de différence significative entre chaque mamelle)

Par paire de mamelles, les concentrations en IgG et IgA moyennes à D3 varient respectivement entre 1,0 et 41,2 g/L et 0,8 et 34,1 g/L. Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les concentrations en IgG et IgA respectivement entre les paires de mamelles. Les figures 37 et 38 illustrent les concentrations des deux types d'immunoglobulines en fonction des paires de mamelles.

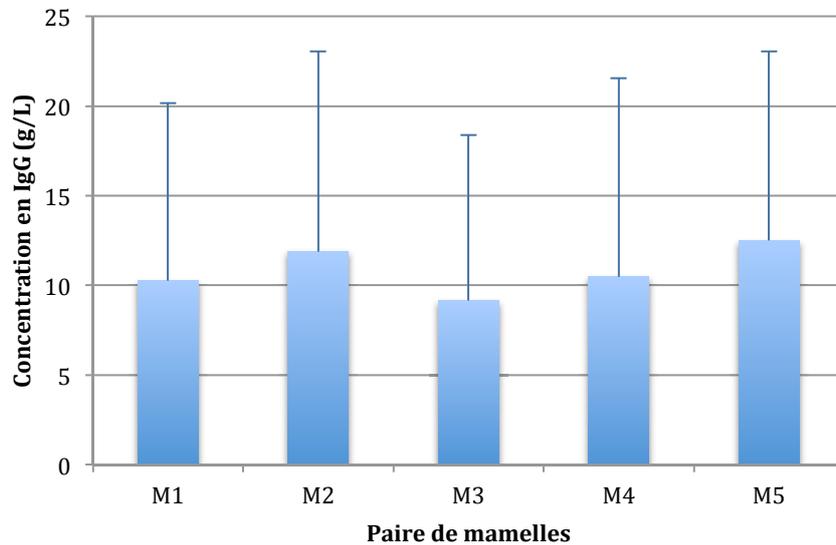


Figure 37 : Concentrations en IgG (g/L) en fonction de la paire de mamelles concernée à D3 (pas de différence significative pour chaque classe d'immunoglobulines)

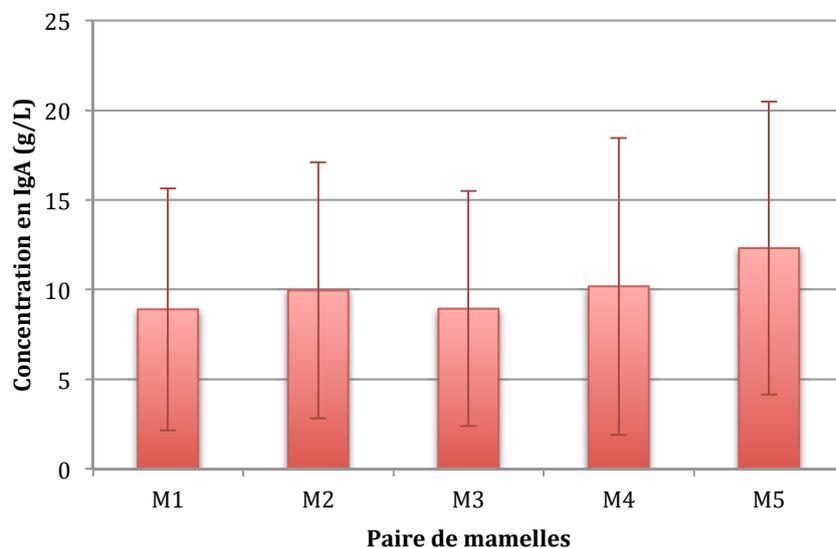


Figure 38 : Concentrations en IgA (g/L) en fonction de la paire de mamelles concernée à D3 (pas de différence significative pour chaque classe d'immunoglobulines)

Nous avons testé les potentielles différences entre les latéralisations des mamelles : droite et gauche ; toutes paires de mamelles confondues et par paire de mamelles. Aucun résultat n'est significatif (tableau 26). La figure 39 montre les concentrations en fonction de la latéralisation des mamelles.

Tableau 26 : Influence de la latéralité des mamelles sur la concentration en IgG et en IgA (g/L) à D3 (moyenne ± écart type)

	IgG			IgA		
	Droite (g/L)	Gauche (g/L)	p	Droite (g/L)	Gauche (g/L)	p
M1-M2-M3-M4-M5	10,9 ± 10,1	11,4 ± 11,0	0,698	10,8 ± 10,0	11,0 ± 11,0	0,196
M1	10,5 ± 10,2	10,0 ± 9,8	0,866	9,3 ± 7,1	8,5 ± 6,5	0,680
M2	12,5 ± 11,1	11,4 ± 11,3	0,648	10,6 ± 8,0	9,4 ± 6,3	0,438
M3	9,0 ± 8,4	9,3 ± 10,1	0,862	8,9 ± 6,5	8,9 ± 6,7	0,979
M4	10,5 ± 10,7	10,4 ± 11,5	0,959	10,5 ± 8,8	9,9 ± 7,9	0,754
M5	11,4 ± 0,5	13,7 ± 11,5	0,340	11,3 ± 6,7	11,4 ± 9,4	0,260

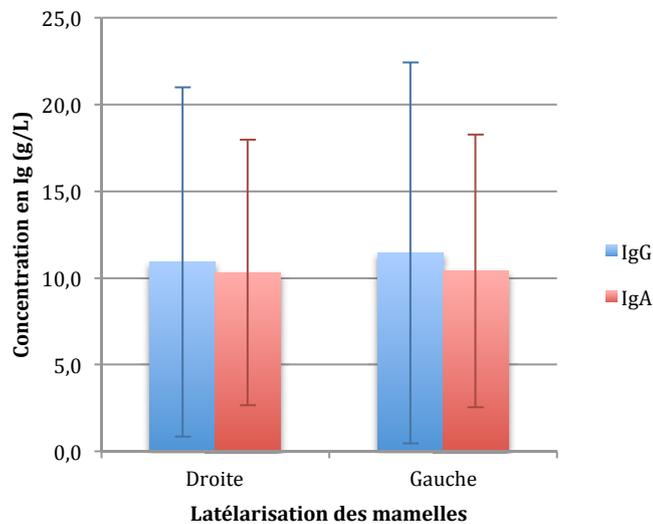


Figure 39 : Concentrations en IgG et IgA en fonction de la latéralisation des mamelles à D3 (pas de différence significative pour chaque classe d'immunoglobulines)

Le tableau 25 montre les groupes effectués dans le but de séparer les mamelles crânielles et caudales. Aucune différence significative n'a été trouvée quelque soit les groupes effectués et quelque soit la classe de l'immunoglobuline dosée.

Pour chaque chienne, nous avons répertorié la mamelle produisant le lait le plus concentré en immunoglobulines. Le but est de voir si une mamelle ou paire de mamelles sort du lot. On compare le pourcentage trouvé par rapport au pourcentage qu'on aurait si la répartition était homogène (soit 10% pour les mamelles comparées individuellement et 20% pour les paires de mamelles). En ce qui concerne les IgG, deux paires de mamelles sont au-dessus de la moyenne : M2 et M5 ; pour les IgA, M5 atteint 36,7% alors que M1 seulement 8,2%. Les résultats sont regroupés dans le tableau 27.

Tableau 27 : Répartition des mamelles ayant la plus forte concentration en immunoglobuline au sein du même chienne (D : Droite ; G : Gauche)

		M1D	M1G	M2D	M2G	M3D	M3G	M4D	M4G	M5D	M5G
IgG	Effectif	3	2	8	7	5	2	2	6	3	10
	%	6,2	4,2	16,7	14,6	10,4	4,2	4,2	12,5	6,2	20,8
	%	10,4		31,3		14,6		16,7		27,0	
IgA	Effectif	2	2	4	7	5	1	2	8	7	11
	%	4,1	4,1	8,2	14,3	10,2	2,0	4,1	16,3	14,3	22,4
	%	8,2		22,5		12,2		20,4		36,7	

Pour chaque chienne, nous avons calculé le ratio entre la plus forte concentration et la plus faible concentration des mamelles prélevées. Pour les IgG, l'écart est d'un facteur 5,9 en moyenne avec des valeurs allant de 1,35 à 22,1 ; pour les IgA, le ratio moyen est de 5,1 avec des valeurs s'étendant de 1,3 à 49,2 (figures 40 et 41).

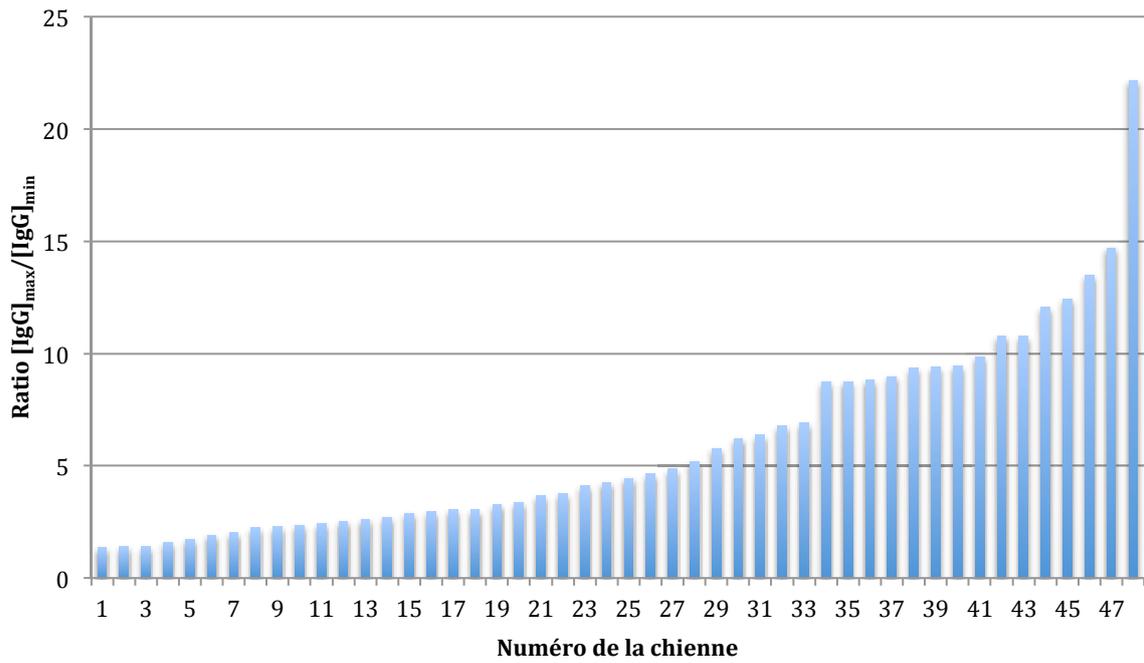


Figure 40 : Ratio entre la concentration la plus élevée et la concentration la plus faible en IgG entre les différentes mamelles d'une même chienne (n=48)

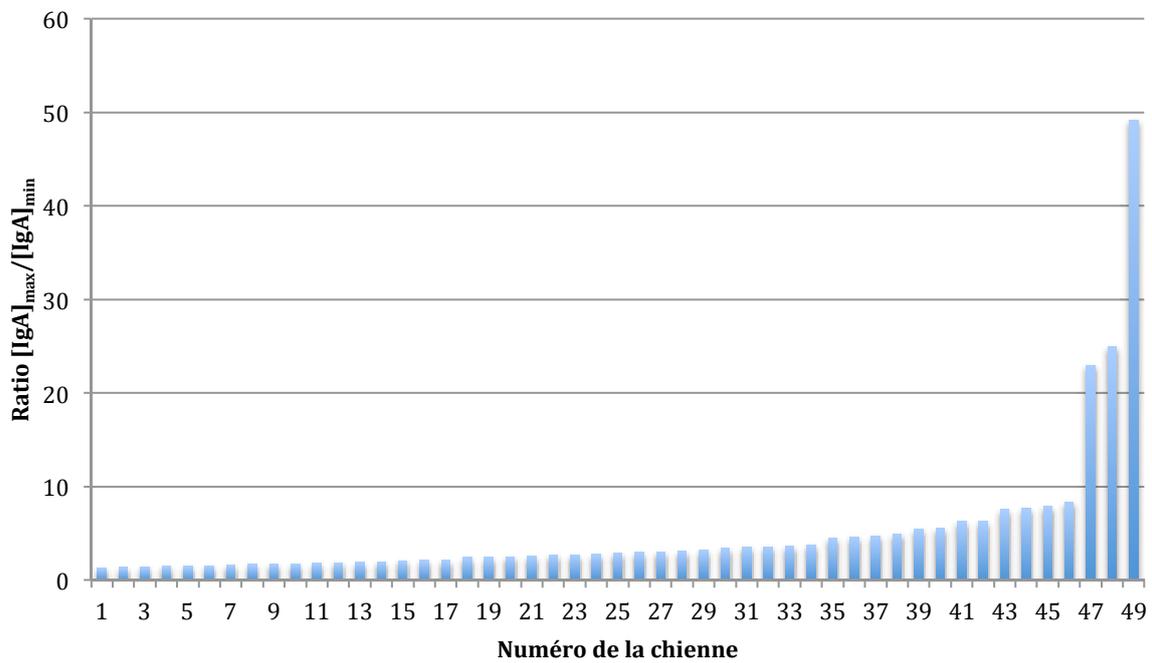


Figure 41 : Ratio entre la concentration la plus élevée et la concentration la plus faible en IgA entre les différentes mamelles d'une même chienne (n=49)

III. Discussion

A. Limites de l'étude

a. Population étudiée

Les 53 chiennes incluses dans l'étude appartiennent à 16 races différentes. Les mères étaient issues d'un seul et même élevage. Cet environnement commun (logement, chauffage, luminosité, humidité, alimentation, vaccinations, vermifugation, ...) à toutes les chiennes permet de nous affranchir des différents effets que pourraient avoir ces facteurs sur la composition immunologique du colostrum. Cependant, les valeurs obtenues ne sont peut-être pas extensibles aux autres élevages canins puisque le choix de n'avoir qu'un seul élevage a pu sélectionner des biais.

Par rapport aux études déjà réalisées sur le terrain, nous avons l'avantage d'avoir un grand nombre d'individus. De plus, nous pouvons espérer représenter au mieux l'espèce canine avec les 16 races incluses dans l'étude (tableau 28). Cependant, il nous a été impossible de mettre en évidence des différences inter-raciales du fait des effectifs faibles dans chaque race.

Tableau 28 : Effectifs et prélèvements des études portant sur les composants immunologiques des sécrétions lactées canines

Etude	Nombre de chiennes	Nombre de races	Paramètres immunologiques mesurés	Temps de prélèvements
Heddle et Rowley (1975)	4	Croisés	IgG, IgA, IgM	H24, H48, D3, D5, D8, D11, D15, D19, D23, D28
Schäfer-Somi et al. (2005)	6	1 (Rottweiler)	IgG, IgA, IgM	H24, H48, D3, D7, D14, D21, D28, D35, D42
Bertieri (2012)	10	1 (Beagle)	IgG, IgA, IgM	J0, H24, H48, D7, D14, D21, D28, D35, D42, D49, D56
Gonnier et Rossig (2013)	44	13	IgG	H24
Coinus (2014)	21	10	IgG	H24
Aggouni (2016)	139	17	IgG	1 prélèvement : entre H8 et H24
Notre étude	53	16	IgG, IgA	H4, H8, H12, H16, H20, H24, H36, H48, D3, D4, D7, D21

Les chiennes étaient classées en 3 formats raciaux mais avec un nombre supérieur de chiennes et notamment en races de grandes tailles, nous aurions pu les catégoriser en 4 groupes : petit (<15 kg), moyen (15-25 kg), large (25-40 kg), très grand (> 40kg) formats.

Nous avons classé les chiennes en 3 catégories d'âge : jeune (<2 ans), adulte (2-6 ans), âgée (>6ans). Les bornes étaient identiques pour les différents formats raciaux or pour un même âge mais deux races de tailles différentes, la notion d'âge est variable : une chienne de petite taille sera adulte à 7 ans alors qu'une race de grande taille ou géante sera âgée.

b. Echantillonnage

Durant les 20 premières heures après la mise-bas, seule la mamelle M3 à droite a été prélevée. Le choix de ne prélever qu'une seule mamelle avait pour but de ne pas limiter la quantité de colostrum disponible pour les chiots. Prélever toutes les mamelles durant les 20 premières heures aurait permis de mieux documenter la variabilité entre mamelles et de déterminer plus précisément la concentration moyenne en IgG à un temps donné.

Malgré un nombre d'échantillons élevé (753), il reste peu de valeurs pour les différentes comparaisons après mise en classe. En effet, pour chaque chienne nous n'avons pas pu à chaque temps de lactation (entre H4 et H20) prélever tous les échantillons prévus.

c. Délais de prélèvement après la mise-bas

Les prélèvements ont débuté 4 heures après la mise-bas pour les chiennes dont l'horaire précis était connu. Ce délai est plus court que les délais rapportés dans toutes les autres études portant sur la qualité immunologique du colostrum chez la chienne (tableau 28). Cependant, chez la truie, la concentration en IgG diminue d'environ 15 à 30% au cours des 3-4 premières heures post-partum (Devillers et al. 2007). Il aurait été intéressant de prélever du colostrum juste après la naissance du premier chiot et avant la première tétée pour avoir les valeurs de concentrations initiales en immunoglobulines.

De plus, les chiots étaient laissés avec la mère et étaient donc librement. À chaque prélèvement, il était impossible de connaître le délai entre la dernière tétée et le prélèvement. Le temps que la glande mammaire produise à nouveau du lait, il est possible que certains prélèvements aient été réalisés avant que la production ne soit complète et cela peut biaiser les résultats.

d. Classes d'immunoglobulines non dosées

Seules les IgG et les IgA ont été dosées dans notre étude malgré la présence d'IgM dans les sécrétions lactées canines (Tizard 2013). Nous avons pris le parti de ne pas les doser car les concentrations restent constantes tout au long de la lactation, les IgM ne représentent qu'une petite part des immunoglobulines (la concentration en IgM sur la lactation est de $0,6 \pm 0,08$ g/L et elles représentent seulement 2% des immunoglobulines totales selon Bertieri (2012). De plus, dans cette même étude, les IgE ont été dosées sur la moitié des échantillons prélevés et leurs concentrations n'ont pas été reportées car les résultats ont donné des concentrations quasi nulles.

B. Résultats

a. Qualité immunologique des sécrétions lactées

Au cours des premières heures de lactation (H4-H8), la concentration en IgG chez la chienne ($40,2 \pm 12,8$ g/L) est plus élevée que pour les autres études menées dans l'espèce canine (Schäfer-Somi, 2005 : $19,3 \pm 20,9$ g/L ; Bertieri, 2012 : $26,5 \pm 6,8$ g/L). Cela s'explique facilement car comme les concentrations diminuent rapidement au cours des premières 36 heures, plus on prélève tôt plus les concentrations seront élevées.

En revanche, par rapport aux études menées chez d'autres espèces, nous trouvons une concentration moyenne en IgG à H4-H8 moins élevée : $62,0 \pm 23,8$ g/L chez le chat (Claus et al. 2006), $62,3 \pm 20,1$ g/L et $74,2 \pm 6,1$ g/L chez la truie (Foisnet et al. 2010 ; Quesnel 2011), 101 g/L chez la brebis (Tian et al. 2015), $47,9 \pm 25,5$ g/L chez la chèvre (Levieux et al. 2002), $65,4 \pm 51,5$ g/L chez la vache laitière et $114,8 \pm 42,7$ g/L chez la vache allaitante (Chigerwe et al. 2005), 54,5 g/L chez la jument (Erhard et al. 2001), $100,7 \pm 60,4$ g/L chez le chamelle (El-Hatmi et al. 2006). Pour la grande majorité de ces études, les premiers prélèvements ont été réalisés juste après la sortie du premier (ou du seul) nouveau-né. Les différences observées avec notre étude pourraient donc s'expliquer par le délai entre la sortie du premier nouveau-né et le prélèvement qui est plus long pour notre étude.

En ce qui concerne les proportions d'immunoglobulines, à H24, les IgG représentent entre 60 et 80% des immunoglobulines totales (tableau 29). Le 3^{ème} jour de lactation marque une transition puisque les IgA sont majoritaires ou sont en voie de l'être.

Tableau 29 : Proportions (%) des différentes classes d'immunoglobulines dans les sécrétions mammaires de la chienne ; synthèse bibliographique (la partie grisée montre les temps de lactation pour lesquels les IgA sont majoritaires)

Temps de lactation	Heddle et Rowley (1975) (2 à 4 chiennes)			Schäfer-Somi (2005) (6 chiennes)			Bertieri (2012) (10 chiennes)			Notre étude (53 chiennes)	
	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA
H4 (* : D0)	/	/	/	/	/	/	56%*	42%*	2%*	63,2%	36,8%
H24	80%	18%	2%	64,8%	33,2%	2,0%	59,1%	39,5%	1,4%	59,3%	40,7%
H48	50%	42%	8%	68,2%	30,3%	1,5%	54,5%	43%	2,5%	56,3%	43,7%
D3	38%	52%	10%	74,1%	24,3%	1,6%	52%	44%	4%	51,2%	48,8%
D4	12%	76%	12%	/	/	/	46%	50%	4%	22,6%	77,4%
D7	11%	78%	11%	35,1%	57,9%	7,0%	29%	67%	4%	26,5%	73,5%
D14	6%	80%	14%	45,5%	45,5%	9,1%	9%	87%	4%	19,0%	81,0%
D21	6%	80%	14%	14,9%	79,7%	5,4%	7%	89%	4%	18,4%	81,6%

b. Evolution de la concentration en immunoglobulines

La tendance des concentrations en IgG au cours de la lactation est la même pour notre étude que pour la littérature chez la chienne et chez les autres espèces ; c'est-à-dire une diminution au fur et à mesure de la lactation (tableau 30). Chez la chienne, les écarts-types montrent une grande variabilité des valeurs quelque soit l'étude.

En ce qui concerne les IgA et à partir de H24, la diminution semble être plus marquée pour Schäfer-Somi et al. (2005) et Bertieri (2012) que pour notre étude (tableau 29). Nous avons pu trouver des différences significatives pour les concentrations en IgA entre certains temps de lactation alors que Bertieri (2012) n'en avait pas.

Tableau 30 : Concentrations (g/L) (moyenne \pm écart type) en IgG et en IgA au cours de la lactation dans les sécrétions mammaires de la chienne ; synthèse bibliographique

Classe d'immunoglobulines	Schäfer-Somi et al. (2005)		Bertieri (2012)		Notre étude	
	IgG	IgA	IgG	IgA	IgG	IgA
Concentration à H24	19,3 \pm 20,9	9,9 \pm 4,3	26,5 \pm 6,8	17,7 \pm 3,8	17,3 \pm 10,4	11,9 \pm 6,2
Concentration à H48	13,5 \pm 9,4	6,0 \pm 1,7	12,1 \pm 2,0	9,5 \pm 1,7	10,8 \pm 11,6	9,2 \pm 9,1
Concentration à D14	2,0 \pm 2,1	2,0 \pm 2,1	0,6 \pm 0,1	6,4 \pm 0,9	2,6 \pm 2,9	10,9 \pm 7,4

En s'intéressant à la diminution de la concentration en IgG au cours du temps, on constate que chez les autres espèces, le pourcentage de diminution est du même ordre que celui que nous avons trouvé chez le chien (tableau 7) : chez la truie, le pourcentage de diminution entre le début de la mise-bas et 24 heures est de $70,9 \pm 18,1\%$ (Quesnel 2011) à environ 80% pour Foisnet et al. (2010) ; avec un pourcentage de diminution qui atteints les 50% dès 12 heures post-partum (Farmer et al. 2006). Chez la chèvre, Moreno-Indias et al. (2012) trouvent un pourcentage de diminution en IgG de 89% au cours des 10 premières heures après le part.

Les proportions de chaque classe d'immunoglobulines peuvent être comparées à celles de trois études (tableau 29). On peut noter qu'à partir de D14, les proportions en IgG pour les deux autres études passent la barre des 10% alors que nos valeurs sont stables autour de 20%. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que nous n'avons pas dosé les IgM.

La figure 42 montre l'évolution des proportions en IgG, IgA et IgM au cours de la lactation selon Bertieri (2012). Ce graphique est comparable à celui que nous avons construit avec nos valeurs.

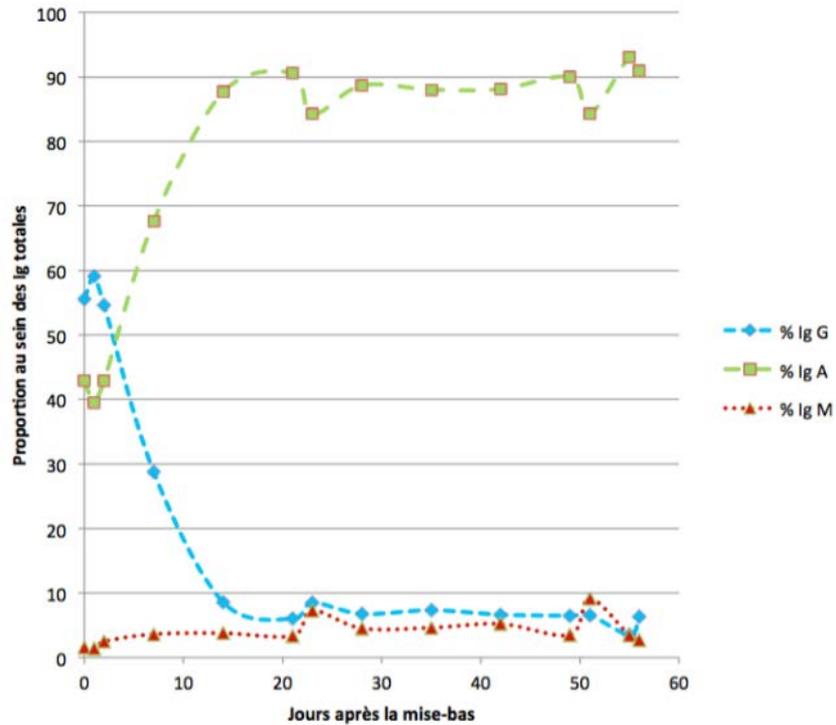


Figure 42 : Proportions relatives des différentes classes d’immunoglobulines au cours de la lactation dans les sécrétions lactées canines selon Bertieri (2012) (n=10 ; chiennes Beagles)

c. Définition du colostrum dans l’espèce canine

Le colostrum est défini physiquement comme étant un liquide jaunâtre sécrété par les glandes mammaires immédiatement après le part (figure 43).



Figure 43 : Aspect des sécrétions lactées au début de la lactation

Trouver une définition d'un point de vue chimique du colostrum est plus difficile. Dans l'espèce canine, aucune étude n'a donné de définition du colostrum en terme de concentration en immunoglobulines. Dans l'espèce bovine, il existe une définition légale du colostrum qui est la suivante : selon le décret du 25 mars 1924 (modifié et complété par le décret du 4 janvier 1971), sera considéré comme lait impropre à la consommation humaine, « le lait provenant d'une traite opérée moins de sept jours après le part, et, d'une manière générale, le lait contenant du colostrum ». Biologiquement parlant, Devillers et al (2006) définissent le colostrum de la truie comme étant les premières sécrétions lactées produites jusqu'à ce que la matière sèche diminue suffisamment pour avoir du lait. Dans l'étude récente de Sánchez-Macías et al. (2014), la composition des sécrétions lactées a été étudiée chez la chèvre dans le but de distinguer les différentes sécrétions lactées : ils ont obtenu un pourcentage de diminution en 24 heures de 39% en IgG, de 53% en IgA et de 69% en IgM. Ils concluent en disant que le colostrum correspond aux sécrétions lactées des 24 premières heures car la concentration en immunoglobulines reste convenable pour permettre un transfert d'immunité passif.

Parallèlement chez la chienne, une récente thèse (Aggouni 2016) a montré un seuil de 12,4 g/L au dessus duquel le colostrum est de bonne qualité immunologique. Entre la moyenne trouvée à H4-H8 et ce seuil, le pourcentage de diminution est de 69,2%. En s'appuyant sur les pourcentages de diminution calculés à partir de nos analyses, ce seuil est atteint entre H24 (pourcentage de diminution de 60,0%) et H36 (pourcentage de diminution de 73,9%). En prenant une marge de sécurité, on peut proposer que le colostrum correspond aux premières sécrétions lactées jusqu'à 24 heures après la mise-bas.

Quelques jours après la mise-bas, les sécrétions lactées deviennent de plus en plus blanches et moins denses. Il y a eu transition entre le colostrum et le lait. Cette période de transition se caractérise par des changements nutritionnels, métaboliques, hormonaux et immunologiques de la glande mammaire et il faut 5 jours pour arriver à la composition normale du lait de chèvre et ils nomment les sécrétions lactées de H24 à D5 comme étant le lait de transition (Sánchez-Macías et al. 2014).

d. Variabilité et facteurs de variation inter-chiennes

Il existe une forte variabilité entre les chiennes quant aux concentrations en immunoglobulines. Ces différences pourraient s'expliquer grâce aux facteurs de variation étudiés précédemment.

Ces fortes variations pourraient avoir des conséquences sur la portée. En effet, pour de nombreuses portées, les chiots les plus faibles pourraient avoir accès seulement aux mamelles qui ne produisent pas des sécrétions lactées de bonne qualité et cela pourrait aggraver leur état par rapport aux chiots plus vigoureux. Cependant, le comportement de tétée des chiots est mal connu et on ne sait pas si un chiot tète toujours à la même mamelle.

i. Variations inter-raciales

Dans l'espèce canine, il existe une grande variabilité inter-raciale avec un rapport de poids pouvant atteindre 80 (Chihuahua vs Dogue Allemand). Il est donc légitime de se demander si ces variations se répercutent sur la concentration en immunoglobulines dans le colostrum. Aucune différence significative n'avait été mise en évidence dans l'étude de Gonnier et Rossig (2013). Nous avons pu montrer une différence significative entre les grandes races et les petites races seulement pour les concentrations en IgA et pour H4-H8. Il apparaît que les races de grande taille sécrètent plus d'IgA que les races de petite taille. Cependant, en analysant les tableaux 15 et 16 et les figures 27 et 28, on voit que tout au long de la lactation et pour les deux classes d'immunoglobulines testées, les concentrations tendent à être plus élevées chez les grandes races que chez les petites : les concentrations en IgG (respectivement IgA) pour les formats de grande taille pouvant être jusqu'à 2 (respectivement 1,9) fois plus élevées que pour les petites races. De même, le pourcentage de diminution en IgG (entre H4-H8 et H36) est plus élevé pour les chiennes de petit format (90,2%) que pour les chiennes de grand format (63,7%) (figure 29).

Si la qualité immunologique des sécrétions lactées est affectée par le format racial, on peut se demander si la mortalité des chiots est plus élevée chez les petites races que chez les grandes. L'étude de Belin (2013), montre l'inverse : plus le format racial est grand plus la mortalité des chiots nés vivants est élevée jusqu'à 21 jours.

Dans l'espèce bovine, il a été prouvé que les vaches de race allaitante ont un taux plus élevé d'IgG dans leur colostrum que les vaches de race laitière. Le volume de colostrum produit est cependant plus élevé chez la vache laitière et aurait un effet de dilution des IgG (Chigerwe et al. 2005). Chez la chienne, une seule étude a calculé la production des sécrétions lactées (durant la première semaine) : la quantité de colostrum produite par jour représente 2,7% du poids de la chienne (Meyers 1985 ; n=5). Il serait intéressant d'étudier l'effet race sur

cette production pour pouvoir mettre en relation les données de production et les concentrations en immunoglobulines.

Chez la truie, Quesnel (2011) a montré que les concentrations en IgG chez les Large White sont plus élevées que chez les croisées Large White - Landrace. Il serait donc intéressant d'étudier la variabilité des concentrations en IgG en fonction des différentes races de l'espèce canine et pas seulement en fonction du format racial.

ii. Variabilité liée à l'âge et la parité de la chienne

Nous avons montré qu'il existe une corrélation positive (figures 18, 19 et 20) entre l'âge de la mère et la concentration en IgG dans les sécrétions lactées à plusieurs moments de la lactation (H4-H8, H36, D4). Ainsi plus les chiennes sont âgées, plus leurs sécrétions lactées sont riches en IgG. En ce qui concerne les IgA, rien n'a pu être significativement démontré bien que pour certains moments de la lactation, la tendance fût la même. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Coinus (2014) : la concentration en IgG des jeunes chiennes était de 24,3 g/L contre 39,9 g/L pour les chiennes plus âgées ($p=0,011$; $n=20$). Aucune différence significative entre les catégories d'âge n'a été trouvée en ce qui concerne le pourcentage de diminution en 36 heures en IgG.

L'âge de la mère a donc une influence sur la concentration en IgG mais pas sur le pourcentage de diminution de ceux-ci.

En ce qui concerne la parité, les concentrations en IgG chez les primipares sont inférieures à celles des multipares pour H24, H48-D3 et D4. Cependant, le numéro de parité était inconnu pour 20,8% des chiennes de notre effectif (données manquantes pour quelques chiennes quand l'éleveur a acheté l'élevage). Il serait intéressant de mieux connaître l'effet de la parité sur les concentrations en immunoglobulines des sécrétions mammaires pour déterminer à partir de quel numéro de portée les taux immunoglobulines sont significativement plus élevés. Même si les concentrations en IgG dépendent de la parité, il n'est pas certain qu'il en soit de même pour le taux sérique d'IgG chez les chiots ou la mortalité.

On peut noter que pour la reproduction des espèces de production animale (vache, truie, chien dans un gros élevage), les femelles sont mises à la reproduction le plus tôt possible et au moins une fois par an : la parité et l'âge de la femelle sont liés. Si l'âge est corrélé à la concentration en immunoglobulines, la parité l'est aussi.

Chez les autres espèces, la parité/l'âge exerce aussi un effet sur la concentration en immunoglobulines dans le colostrum. Chez la vache, Tyler et al. (1999) ont montré que les vaches étant dans leur 3^{ème} lactation ou plus avaient 19,5 g/L d'IgG en plus que les

primipares. Chez la truie, le taux d'IgG à H24 dans les sécrétions lactées est influencé par la parité : les primipares ont une concentration en IgG moins élevée que les multipares (Quesnel (2011) ; figure 44). Cabrera et al. (2012) ont montré que la concentration en IgG pour les truies multipares est plus élevée de 5% que celle des primipares.

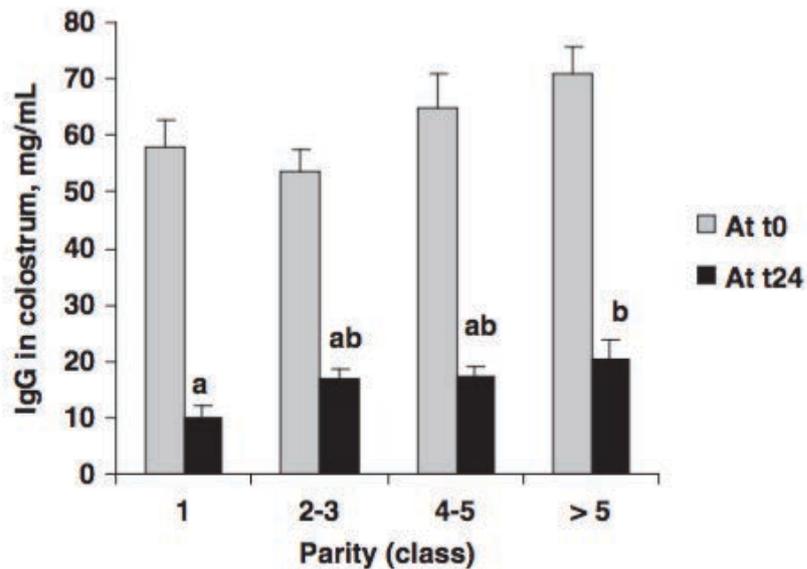


Figure 44 : Effet de la parité sur la concentration en IgG du colostrum chez la truie (Quesnel 2011)

On pourrait expliquer la différence trouvée entre les primipares et les multipares par le fait qu'une mère primipare est normalement jeune et qu'elle n'a pas fait face à autant de pathogènes qu'une mère multipare. De plus, la glande mammaire d'une primipare est moins développée, avec un nombre de cellules épithéliales moindre et donc des capacités de stockage puis de transport des immunoglobulines diminuées.

iii. Variations selon la taille/le poids de la portée

La taille de la portée (nombre de chiots nés vivants) a une influence sur la concentration en IgG : plus la taille de la portée est élevée moins les sécrétions lactées à H12-H16-H20 sont riches (figure 31). Les autres tests de corrélation (effet de la taille de la portée tout au long de la lactation) n'étaient pas statistiquement interprétables mais montraient la même tendance. Nous avons choisi de travailler sur le nombre de chiots nés vivants pour étudier l'influence du nombre de chiots qui tètent sur les concentrations en immunoglobulines.

Le poids total de la portée (somme des poids des chiots vivants à H12) a également une influence sur la concentration en IgG : plus le poids total de la portée est élevé moins les sécrétions lactées à H48-D3 sont riches (figure 34).

En affinant nos analyses (en prenant en compte en particulier le format racial), nous avons trouvé un nombre plus important de corrélations entre la taille/le poids de la portée et les concentrations en IgG/IgA. En effet, il est plus judicieux de comparer les portées des chiennes de petites races (respectivement grandes races) ensemble puisque la taille de la portée dépend du format racial. Toutes les corrélations mises en évidence sont négatives : plus une portée est grande (taille et poids), moins les concentrations en immunoglobulines sont élevées.

Enfin, la catégorie de taille de la portée a un effet sur le pourcentage de diminution en IgG entre H4-H8 et H36 : il est plus élevé pour les portées moyennes à grandes.

Ces trois derniers points montrent globalement que plus une portée est nombreuse, moins les sécrétions sont riches en IgG et que leur diminution est plus marquée que pour des portées de petite taille. Comme l'origine des IgG dans les sécrétions lactées au début de la lactation est majoritairement sérique et qu'elles sont stockées dans la glande mammaire avant le début de la lactation, et comme une portée de grande taille/poids a besoin de plus de quantité de colostrum qu'une portée de petite taille/poids, il est logique que les concentrations en IgG soient plus faibles et diminuent plus vite après le début de la tétée des chiots avec les grandes portées. Gonnier et Rossig (2013) ainsi que Coinus (2014) n'avaient pas pu mettre en évidence de résultats significatifs.

Chez la truie, plusieurs études trouvent des résultats opposés en ce qui concerne l'effet de la portée sur le colostrum : pour Devillers et al. (2005), les truies les plus productrices (en quantité de colostrum) ont des portées plus lourdes et plus nombreuses. La quantité de colostrum produite est alors corrélée au poids moyen individuel de la portée ; cela pourrait être expliqué par le fait que plus les porcelets sont lourds, plus ils sont vifs et plus ils stimuleraient les mamelles et donc augmenteraient la production de colostrum. Cependant, Foisnet et al. (2010) et Quesnel (2011) n'ont pas trouvé de corrélation. De plus, aucune de ces trois études n'a pu mettre en évidence une relation entre la taille/poids de la portée et la concentration en IgG dans le colostrum.

e. Variabilité et facteur de variation intra-chienne : les mamelles

En plus de la variabilité inter-chiennes, les concentrations varient beaucoup selon la mamelle prélevée. Plusieurs hypothèses pourraient être avancées pour expliquer ces variations : un flux sanguin dans la glande mammaire variable, expression plus ou moins importante du *FcRn* responsable d'un stockage d'IgG *pre-partum* différent, variations dans la production laitière responsables d'une dilution plus ou moins importante des immunoglobulines dans les sécrétions lactées. Mais aucune étude n'a été réalisée pour

explorer les causes de la variabilité intra-chienne des concentrations en immunoglobulines chez la chienne.

Nous avons testé la variation entre mamelles du taux d'immunoglobulines car des études ont mis en évidence des différences entre mamelles pour d'autres espèces. En effet, chez la vache, bien que les quantités d'IgG dans le lait issu des quartiers avant et arrière soient proches et corrélées, il existe une différence significative dans le sens où le lait issu des quartiers postérieurs est légèrement plus riche (56,2 g/L) en IgG que celui issu des quartiers antérieurs (53,1 g/L) (Le Cozler et al. 2016). Cependant, chez la truie, Wu et al. (2010) ont montré inversement que le taux d'immunoglobulines dans les quartiers antérieurs était supérieur à celui des quartiers postérieurs.

Chez la chienne, nos résultats n'ont pas montré de différence significative entre les mamelles quant à la concentration en IgG et en IgA dans les sécrétions lactées. D'autres études ont obtenu les mêmes résultats (Gonnier et Rossig, 2013 ; Coinus, 2014).

Il n'est donc pas possible de conseiller aux éleveurs de favoriser la tétée d'une paire de mamelles plutôt qu'une autre afin d'améliorer le transfert d'immunité passive.

Le protocole d'échantillonnage pourrait être mis en cause. En effet, dans notre étude, la recherche de différences entre mamelles n'a été effectuée qu'à un seul moment (D3) même si les échantillons ont été prélevés par paire de mamelles à partir de H24 (les échantillons ont été poolés pour les tests ELISA). Peut-être qu'en prélevant et en dosant du lait de chaque tétine à intervalles d'heure différents et sur assez d'individus, il serait possible d'atteindre une puissance suffisante pour conclure quant à l'existence ou non d'une différence entre les mamelles.

Il est légitime de penser qu'il existe des différences entre mamelles car bien que les IgG proviennent majoritairement d'un transfert depuis la circulation sanguine (auquel cas une concentration en IgG homogène serait logique), elles sont stockées dans la glande mammaire avant la mise-bas et il existe une synthèse locale. Ces étapes intermédiaires pourraient être à l'origine de différence entre les mamelles.

C. Perspectives

a. Doser le taux d'IgG dans le colostrum au chevet de la mère

Il existe dans les espèces à forte production animale (ruminants, porc) des systèmes de dosage d'immunoglobulines (pèse colostrum, réfractomètre optique ou digital) du colostrum dès la mise bas pour prévenir un mauvais transfert d'immunité passive en donnant au nouveau-né un colostrum de meilleure qualité. Mais chez le chien, Mila et al. (2015) ont montré que la concentration en IgG dans le colostrum n'était pas corrélée à sa densité optique. D'autres études seraient donc nécessaires pour mettre au point une solution technique pour permettre de connaître la qualité du colostrum au chevet de la mère.

De plus, aucune étude n'a encore mis en évidence chez le chien une corrélation entre le taux d'IgG colostrale chez la mère et le taux d'IgG sérique chez le chiot (Mila et al. 2014). Une telle relation permettrait de définir un seuil de concentration en IgG dans le colostrum pour lequel, si la concentration est inférieure, il faudrait être plus vigilant quant à la prise colostrale. Une étude récente a étudié la qualité immunologique du colostrum et montre qu'un colostrum ayant une concentration inférieure ou égale 12,4 g/L est de mauvaise qualité (Aggouni, 2016). Ce seuil a été défini en étudiant l'impact de la concentration en IgG du colostrum sur la santé des chiots. Approfondir la question permettrait de définir un seuil pour lequel le risque de défaut de transfert d'immunité passive serait augmenté.

Dans cette situation, plusieurs moyens pourraient être mis en œuvre :

- S'assurer que la prise colostrale soit précoce et en quantité suffisante pour chaque chiot de la portée
- Distribuer aux chiots du colostrum de bonne qualité préalablement congelé
- Supplémenter les chiots en plasma hyper-immunisé
- Faire adopter les chiots à une mère dont la qualité en immunoglobulines du colostrum est connue.

b. Remplacer le colostrum par du lait ?

Le rôle majeur du colostrum est de permettre une immunité systémique chez le chiot jusqu'à ce qu'il puisse se protéger lui-même. Mais le lait ne contient que des IgA (80-90%) qui n'ont aucune action systémique. Administrer seulement du lait à un chiot qui vient de naître n'est pas suffisant. On pourrait penser à compléter le chiot en immunoglobulines grâce par exemple à du plasma d'adulte. Deux études (Poffenbarger et al. 1991 ; Bouchard et al. 1992) ont montré que la supplémentation orale avec du plasma hyper-immunisé ne suffit pas à obtenir un transfert d'immunité passive aussi bon qu'avec du colostrum. On peut donc utiliser du lait de chienne en remplacement du colostrum à condition de compléter les

chiots par voie orale avec du plasma hyper-immunisé tout en sachant que le transfert d'immunité passive sera moins bon qu'avec du colostrum. Chez le chaton, Crawford et al. (2003) ont montré que la supplémentation par voie sous-cutanée permettait un taux sérique en IgG plus élevé que pour une supplémentation par voie orale. Cette voie pourrait être explorée chez le chiot.

Une autre alternative serait d'administrer au chiot du lait de transition. Selon le tableau 7, la concentration en IgG atteint 50% de sa valeur initiale (mesurée à H4-H8) à D4. Il serait donc intéressant pour un éleveur de congeler une partie du lait produit par une chienne après H24 (soit après la fermeture de la barrière intestinale de ses chiots) et jusqu'à D4 dans l'optique de nourrir des chiots orphelins pour apporter un minimum d'immunoglobulines. Cependant, l'efficacité de cette méthode doit être testée pour évaluer l'efficacité du transfert d'immunité passive dans ces conditions.

c. Augmenter le taux d'IgG et d'IgA et/ou les orienter vers certains pathogènes

Afin de parvenir à de meilleurs transferts d'immunité passive, il est légitime de s'intéresser aux mécanismes permettant d'augmenter la production de colostrum et d'améliorer sa qualité en orientant les IgG contre des agents pathogènes précis.

Le contrôle de la colostrogenèse se fait par les hormones sexuelles et lactogènes. Tucker (1985) a montré que le début de la colostrogenèse coïncidait avec une augmentation des concentrations sanguines de la mère en œstrogènes, corticostéroïdes, hormones de croissance et en prolactine, en parallèle d'une diminution de la progestéronémie.

Baumrucker et Bruckmaier (2014) rapportent que la colostrogenèse est induite par la circulation systémique d'œstradiol et de progestérone synthétisé par le conceptus chez la vache. Après des séries de 7 jours d'injection d'œstradiol et de progestérone, le taux d'IgG dans le lait de vache augmente (maximum atteint après 22 jours) (figure 45). Smith et al. (1971) avaient déjà testé ce type d'induction et précisaient déjà que l'injection d'œstradiol sans progestérone ne permettait pas de produire du colostrum.

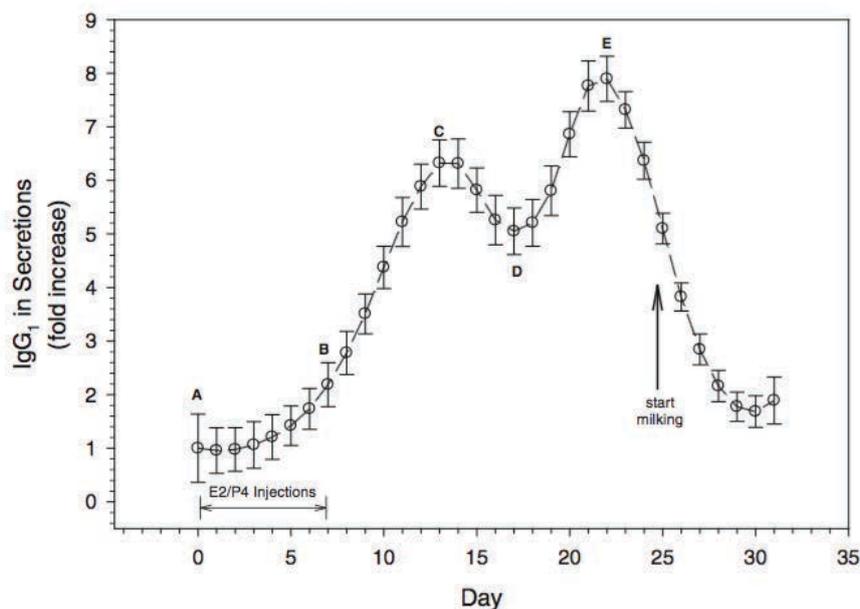


Figure 45 : Taux d'IgG1 dans les sécrétions lactées chez la vache suite à l'induction de la colostrogénèse avec de l'œstradiol et de la progestérone (Baumrucker et Bruckmaier, 2014)

Certaines études ont étudié l'expression du récepteur *pIgR* dans la glande mammaire chez la brebis. Pouvoir l'augmenter permettrait d'augmenter le taux d'IgA et d'IgM dans les sécrétions lactées et ainsi augmenter le rôle immunitaire local du lait. Les deux travaux de Rincheval-Arnold et al. (2002a ; 2002b) ont montré que chez la brebis, la stimulation du gène *pIgR* résultait des effets combinés de la prolactine et de glucocorticoïdes ainsi que de l'interféron gamma.

Aucune étude n'a été réalisée chez la chienne sur la production laitière, son induction, et sur la stimulation des récepteurs à IgA et IgM ; mais celles réalisées chez les autres espèces productrices (vache, truie, brebis) pourraient servir de point de départ pour étudier l'induction de la colostrogénèse et l'augmentation des taux en IgA dans les sécrétions lactées pour l'espèce canine.

Certains pathogènes sont très pathogènes pour des chiots non immunisés. La vaccination des mères est un moyen d'orienter spécifiquement les immunoglobulines contre des pathogènes mais ne permet pas d'augmenter leur concentration. La vaccination des mères réalisée dans l'objectif de protéger les nouveau-nés (via le transfert post-natal d'anticorps colostraux spécifiques) existe pour beaucoup d'espèces et s'est révélée être efficace et sûre (Pravieux et al. 2007). Poulet et al. (2001) ont montré que le transfert d'immunité passive contre l'herpesvirus de type I est efficace : les chiots des chiennes vaccinées n'ont présenté aucun symptôme après une mise en contact oro-nasale du virus à 3 jours de vie contrairement aux chiots des mères non vaccinées qui ont présenté des symptômes et qui en sont morts dans 62% des cas.

Chez les bovins, cette technique est utilisée et son efficacité pour la santé des veaux démontrée. Les taux sérique et colostral en anticorps spécifiques sont significativement plus élevés chez les mères vaccinées que chez les non-vaccinées ; le transfert passif d'immunoglobulines est aussi meilleur chez les veaux nés de mères vaccinées. Ces études l'ont montré pour différents pathogènes comme *Salmonella typhimurium*, rotavirus, coronavirus, *Pasteurella multocida* (Myers et Snodgrass 1982 ; Jones et al. 1988 ; Hodgins et Shewen 1996).

Dans l'espèce équine, Turner et al. (2008) ont montré que des poulains nés de mères vaccinées contre le virus West-Nile ont un taux sérique d'anticorps spécifiques contre le virus West-Nile plus élevé que des poulains issus de mères non vaccinées.

Ainsi, la vaccination au cours de la gestation ne semble pas avoir pour conséquence une augmentation du taux sérique global en IgG chez les nouveau-nés mais plutôt une orientation spécifique des anticorps contre certains pathogènes. Ces faits restent encore à tester dans l'espèce canine.

d. Rôle des composants immunitaires pour la mère

Le lait ayant un rôle majeur pour le développement des chiots, les mammites cliniques et subcliniques dans l'espèce canine peuvent être à l'origine de septicémie chez le chiot après ingestion du lait : soit par transfert direct des agents pathogènes qui provoquent une septicémie soit par un affaiblissement des défenses du chiot qui permet à d'autres agents pathogènes de provoquer une septicémie (Schäfer-Somi et al. 2003). Dans l'espèce bovine, un veau nourri avec un lait infecté par *S. aureus* a plus de risque de présenter de la diarrhée. Ces mêmes auteurs ont montré qu'un traitement du lait contaminé par la chaleur est une méthode simple qui permet de réduire les risques pour la santé du veau, notamment du risque diarrhéique (Abb-Schwedler et al. 2014).

La détection d'une mammite clinique devra faire l'objet d'un traitement et d'une mise à l'écart des chiots pour éviter tout risque de transmission des agents pathogènes. Cependant, la prévalence des mammites subcliniques et cliniques reste inconnue. Erbacher (2015) a montré que seules 58% des chiennes de son étude (comptant 50 chiennes) n'ont aucune mamelle inflammée 3 jours après la mise-bas mais ne détermine pas la prévalence. On peut se demander si les agents immunologiques dans les sécrétions lactées jouent un rôle dans la lutte contre les mammites.

Aucune étude n'a été rapportée à ce sujet dans l'espèce canine mais chez la vache, Sarikaya et al. (2005) ont montré l'importance relative des trois populations de cellules blanches du lait de la citerne du trayon, du lait alvéolaire et du lait résiduel. Il en résulte que

dans chaque fraction de lait, la population de cellules contient plus ou moins de chaque type cellulaire. Dans le lait de la citerne du trayon, les leucocytes sont plus concentrés que dans le lait alvéolaire avec une prédominance de macrophages. Il en résulte que cette population de cellules joue un rôle majeur dans les défenses immunitaires de la mamelle puisqu'elles se situent directement à la porte d'entrée des pathogènes.

CONCLUSION

L'importance de la prise colostrale et indirectement de la qualité immunologique du colostrum pour la survie des nouveau-nés a été démontrée pour de nombreuses espèces. Notre étude a pu mettre en évidence une diminution forte et rapide des concentrations en immunoglobulines après la mise bas ainsi que de fortes variabilités inter-chiennes et intra-chienne. L'âge de la mère, son format racial, la taille et le poids de la portée sont des facteurs influençant la qualité immunologique du lait. Aucune différence statistique entre mamelles n'a pu être trouvée.

Aucune recommandation fiable et prouvée ne peut être tirée de cette étude pour permettre d'améliorer le transfert d'immunité passive des chiots en élevage. Cependant, les facteurs de variation mis en évidence pourraient être des données à prendre en compte sur le terrain pour porter plus d'attention à certaines portées. Par ailleurs, un dosage des immunoglobulines du colostrum au chevet de la chienne peut être réalisé avec des méthodes prouvées chez d'autres espèces (comme l'utilisation d'un réfractomètre) pour permettre aux éleveurs de créer une banque de colostrum utilisable en cas de mauvaise qualité de colostrum chez une autre mère, d'agalactie, de mort de la mère, de portée nombreuse, etc.

Cette étude offre de nombreuses perspectives : des prélèvements de colostrum plus tôt après la mise-bas, des analyses supplémentaires pour permettre de qualifier non seulement la qualité immunologique mais également nutritionnelle du colostrum ; une étude du comportement de tétée des chiots pour montrer si les chiots ont une mamelle « attirée » ; une étude permettant de comparer des races entre elles et pas seulement des formats raciaux ; une étude portant sur la quantité ingérée par les chiots ; une étude pour établir une méthode permettant d'estimer la quantité d'immunoglobulines facilement au chevet de la chienne.

Pour finir et comme vu dans la partie bibliographique, les immunoglobulines ne représentent qu'une petite partie des agents immunitaires des sécrétions lactées dans l'espèce canine mais peu d'études s'y sont intéressés. Dans des futurs travaux, ces autres composants pourraient être évalués et leurs effets sur la santé des chiots recherchés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABB-SCHWEDLER K, MAESCHLI A, BOSS R, GRABER HU, STEINER A et KLOCKE P (2014). Feeding mastitis milk to organic dairy calves: effect on health and performance during suckling and on udder health at first calving. *BMC veterinary research*. **10**, 267-278.

ADINOLFI M, GLYNN AA, LINDSAY M et MILNE CM (1966). Serological properties of γ A antibodies to *Escherichia coli* present in human colostrum. *Immunology*. **10**, 517-526.

AGGOUNI C (2016). *Etude de la qualité immunologique et énergétique du colostrum de la chienne : impact sur la santé du chiot*. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Paul Sabatier de Toulouse. 93 pages.

BAINTNER K (1973). The physiological role of colostral trypsin inhibitor: experiments with piglets and kittens. *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*. **23**, 247-260.

BAUMRUCKER CR et BRUCKMAIER RM (2014). Colostrogenesis: IgG1 Transcytosis Mechanisms. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. **19**, 103-117.

BELIN M (2013). *Croissance et mortalité du chiot en élevage*. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Paul Sabatier de Toulouse. 81 pages.

BERTIERI MB (2012). *Étude de la concentration en immunoglobulines des sécrétions mammaires de la chienne*. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Paul Sabatier de Toulouse. 72 pages.

BESSER T, MCGUIRE TC, GAY CC et PRITCHETT LC (1988). Transfer of functional immunoglobulin G (IgG) antibody into the gastrointestinal tract accounts for IgG clearance in calves. *Journal of virology*. **62**, 2234–2237.

BLUM JW et HAMMON H (2000). Colostrum effects on the gastrointestinal tract, and on nutritional, endocrine and metabolic parameters in neonatal calves. *Livestock Production Science*. **66**, 151–159.

BOUCHARD G, PLATA-MADRID H, YOUNGQUIST RS, BUENING GM, GANJAM VK, KRAUSE GF, ALLEN GK et PAINE AL (1992). Absorption of an alternate source of immunoglobulin in pups. *American Journal of Veterinary Research*. **53**, 230-233.

BOUMAHROU N, CHEVALEYRE C, BERRI M, MARTIN P, BELLIER S et SALMON H (2012). An increase in milk IgA correlates with both pIgR expression and IgA plasma cell accumulation in the lactating mammary gland of PRM/Alf mice. *Journal of Reproductive Immunology*. **96**, 25-33.

BOURNE F J et CURTIS J (1973). The transfer of immunoglobulins IgG, IgA and IgM from serum to colostrum and milk in the sow. *Immunology*. **24**, 157-162.

BRANDON MR, WATSON DL et LASCELLES AK (1971). The mechanism of transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*. **49**, 613-623.

BRANDTZAEG P (2003). Mucosal immunity: integration between mother and the breast-fed infant. *Vaccine*. **21**, 3382-3388.

BURRIN DG (1997). Is milk-borne insulin-like growth factor-I essential for neonatal development? *The Journal of nutrition*. **127**, 975S-979S.

CABRERA R, LIN X, CAMPBELL JM, MOESER AJ et ODLE J (2012). Influence of birth order, birth weight, colostrum and serum immunoglobulin G on neonatal piglet survival. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2012. **3**, 1-9.

CAMPANA WM, JOSEPHSON RV et PATTON S (1992). Presence and genetic polymorphism of an epithelial mucin in milk of the goat (*Capra hircus*). *Comparative Biochemistry and Physiology. B, Comparative Biochemistry*. **103**, 261-266.

CEBO C, REBOURS E, HENRY C, MAKHZAMI S, COSETTE P et MARTIN P (2012). Identification of major milk fat globule membrane proteins from pony mare milk highlights the molecular diversity of lactadherin across species. *Journal of Dairy Science*. **95**, 1085-1098.

CHABANNE L (2006). *Immunologie clinique du chien et du chat*. Masson.

CHANDAN RC, SHAHANI KM et HOLLY RG (1964). Lysozyme content of human milk. **204**, 76-77.

CHAPPUIS G (1998). Neonatal immunity and immunisation in early age: lessons from veterinary medicine. *Vaccine*. **16**, 1468-1472.

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

CHIGERWE M, DAWES ME, TYLER JW, MIDDLETON JR, MOORE MP et NAGY DM (2005). Evaluation of a cow-side immunoassay kit for assessing IgG concentration in colostrum. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. **227**, 129-131.

CLAUS M, LEVY J, MACDONALD K, TUCKER S et CRAWFORD P (2006). Immunoglobulin concentrations in feline colostrum and milk, and the requirement of colostrum for passive transfer of immunity to neonatal kittens. *Journal of Feline Medicine & Surgery*. **8**, 184-191.

COINUS S (2014). *Composition nutritionnelle et immunologique du colostrum canin*. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Paul Sabatier de Toulouse. 67 pages.

CRAWFORD PC, HANEL RM et LEVY JK (2003). Evaluation of treatment of colostrum-deprived kittens with equine IgG. *American Journal of Veterinary Research*. **64**, 969-975.

DALL'ARA P, MELONI T, ROTA A, SERVIDA F, FILIPE J et VERONESI MC (2015). Immunoglobulins G and lysozyme concentrations in canine fetal fluids at term of pregnancy. *Theriogenology*. **83**, 766-771.

DAY MJ (2011). *Clinical Immunology of the Dog and Cat, Second Edition*. CRC Press.

DEVILLERS N, FARMER C, LE DIVIDICH J et PRUNIER A (2007). Variability of colostrum yield and colostrum intake in pigs. *Animal*. **1**, 1033-1041.

DEVILLERS N, LE DIVIDICH J, FARMER C, MOUNIER A, LEFEBVRE M et PRUNIER A (2005). Origine et conséquences de la variabilité de la production de colostrum par la truie et de la consommation de colostrum par les porcelets. *Journées de la Recherche Porcine en France*. **37**, 435-442.

DEVILLERS N, LE DIVIDICH J et PRUNIER A (2006). Physiologie de la production de colostrum chez la truie. *INRA Productions Animales*. **19**, 29-38.

EL-HATMI H, LEVIEUX A et LEVIEUX D (2006). Camel (*Camelus dromedarius*) immunoglobulin G, alpha-lactalbumin, serum albumin and lactoferrin in colostrum and milk during the early post partum period. *Journal of Dairy Research*. **73**, 288-293.

ERBACHER AL (2015). *Relation entre l'inflammation mammaire chez la chienne en post-partum et la santé du chiot*. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Paul Sabatier de Toulouse. 52 pages.

ERHARD MH, LUFT C, REMLER HP et 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**, 164-173.

FARMER C, DEVILLERS N, ROOKE JA et LE DIVIDICH J (2006). Colostrum production in swine: from the mammary glands to the piglets. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*. **1**, 1-15.

FOISNET A, FARMER C, DAVID C et QUESNEL H (2010). Relationships between colostrum production by primiparous sows and sow physiology around parturition. *Journal of Animal Science*. **88**, 1672-1683.

GONNIER M et ROSSIG L (2013). *Etude du colostrum et du transfert passif de l'immunité dans l'espèce canine*. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Paul Sabatier de Toulouse. 89 pages.

HABTE HH, KOTWAL GJ, LOTZ ZE, TYLER MG, ABRAHAMS M, RODRIQUES J, KAHN D et MALL AS (2007). Antiviral activity of purified human breast milk mucin. *Neonatology*. **92**, 96-104.

HALLIDAY JA, BELL K et SHAW DC (1993). Feline and canine milk lysozymes. *Comparative Biochemistry and Physiology. B, Comparative Biochemistry*. **106**, 859-865.

HAMOSH M, PETERSON JA, HENDERSON T, SCALLAN CD, KIWAN R, CERIANI RL, ARMAND M, MEHTA NR et HAMOSH P (1999). Protective function of human milk: The milk fat globule. *Seminars in Perinatology*. **23**, 242-249.

HEDDLE RJ et ROWLEY D (1975). Dog immunoglobulins. I. immunochemical characterization of dog serum, parotid saliva, colostrum, milk and small bowel fluid *Immunology*. **29**, 185-195.

HEIRD WC, SCHWARZ SM et HANSEN IH (1984). Colostrum-induced enteric mucosal growth in beagle puppies. *Pediatric Research*. **18**, 512-515.

HODGINS DC et SHEWEN PE (1996). Preparturient vaccination to enhance passive immunity to the capsular polysaccharide of *Pasteurella haemolytica* A1. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. **50**, 67-77.

HUANG SC, HU ZL, HASLER-RAPACZ J et RAPACZ J (1992). Preferential mammary storage and secretion of immunoglobulin gamma (IgG) subclasses in swine. *Journal of Reproductive Immunology*. **21**, 15-28.

INDREBO A, TRANGERUD C et MOE L (2007). Canine neonatal mortality in four large breeds. *Acta Veterinaria Scandinavica*. **49**, 1-5.

JOCHIMS K, KAUP FJ, DROMMER W et PICKEL M (1994). An immunoelectron microscopic investigation of colostrum IgG absorption across the intestine of newborn calves. *Research in Veterinary Science*. **57**, 75-80.

JOHANSEN FE, BRAATHEN R et BRANDTZAEG P (2000). Role of J chain in secretory immunoglobulin formation. *Scandinavian Journal of Immunology*. **52**, 240-248.

JONES E et SPENCER SA (2007). The physiology of lactation. *Paediatrics and Child Health*. **17**, 244-248.

JONES PW, COLLINS P et AITKEN MM (1988). Passive protection of calves against experimental infection with *Salmonella typhimurium*. *The Veterinary Record*. **123**, 536-541.

KACSKOVICS I (2004). Fc receptors in livestock species. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. **102**, 351-362.

KVISTGAARD AS, PALLESEN LT, ARIAS CF, LOPEZ S, PETERSEN TE, HEEGAARD CW et RASMUSSEN JT (2004). Inhibitory effects of human and bovine milk constituents on rotavirus infections. *Journal of dairy science*. **87**, 4088–4096.

LARSON BL, HEARY HL et DEVERY JE (1980). Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. *Journal of Dairy Science*. **63**, 665-671.

LE COZLER Y, GUATTEO R, LE DRÉAN E, TURBAN H, LEBOEUF F, PECCEU K et GUINARD-FLAMENT J (2016). IgG1 variations in the colostrum of Holstein dairy cows. *Animal: An International Journal of Animal Bioscience*. **10**, 230-237.

LE DIVIDICH J, THOMAS F, RENOULT H et OSWALD I (2005). Acquisition de l'immunité passive chez le porcelet: rôle de la quantité d'immunoglobulines ingérées et de la perméabilité intestinale. *Journées de la Recherche Porcine*. **37**, 443–448.

LEECE JG (1973). Effect of dietary regimen on cessation of uptake of macromolecules by piglet intestinal epithelium (closure) and transport to the blood. *Journal of Nutrition*. **103**, 751-756.

LEVIEUX D, MORGAN F, GENEIX N, MASLE I et BOUVIER F (2002). Caprine immunoglobulin G, beta-lactoglobulin, alpha-lactalbumin and serum albumin in colostrum and milk during the early post partum period. *Journal of Dairy Research*. **69**, 391-399.

MEYERS H (1985). Untersuchungen zym 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 et CHASTANT-MAILLARD S (2015a). Immunoglobulin G concentration in canine colostrum: Evaluation and variability. *Journal of Reproductive Immunology*. **112**, 24-28.

MILA H, FEUGIER A, GRELLET A, ANNE J, GONNIER M, MARTIN M, ROSSIG L et 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**, 209-213.

MILA H, GRELLET A et CHASTANT-MAILLARD S (2012). Prognostic value of birth weight and early weight gain on neonatal and pediatric mortality : a longitudinal study on 984 puppies. *7th Quadrennial International Symposium on Canine and Feline Reproduction, 26-29 juillet 2012 Whistler, BC, Canada*. 2012. 163.

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

MORENO-INDIAS I, SÁNCHEZ-MACÍAS D, CASTRO N, MORALES-DELANUEZ A, HERNÁNDEZ-CASTELLANO LE, CAPOTE J et ARGÜELLO A (2012). Chemical composition and immune status of dairy goat colostrum fractions during the first 10h after partum. *Small Ruminant Research*. **103**, 220-224.

MYERS LL et SNODGRASS DR (1982). Colostral and milk antibody titers in cows vaccinated with a modified live-rotavirus-coronavirus vaccine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. **181**, 486-488.

NEWBURG DS, PETERSON JA, RUIZ-PALACIOS GM, MATSON DO, MORROW AL, SHULTS J, DE LOURDES GUERRERO M, CHATURVEDI P, NEWBURG SO et SCALLAN CO (1998). Role of human-milk lactadherin in protection against symptomatic rotavirus infection. *The Lancet*. **351**, 1160–1164.

NEWBURG DS (1996). Oligosaccharides and glycoconjugates in human milk: their role in host defense. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. **1**, 271-283.

NIELEN ALJ, VAN DER GAAG I, KNOL BW et SCHUKKEN YH (1998). Investigation of mortality and pathological changes in a 14 month birth cohort of boxer puppies. *Veterinary Record*. **142**, 602-606.

PASTORET PP, GRIEBEL P, BAZIN H et GOVAERTS A (1998). *Handbook of Vertebrate Immunology*. Norfolk, Great Britain.

PATTON S, GENDLER SJ et SPICER AP (1995). The epithelial mucin, MUC1, of milk, mammary gland and other tissues. *Biochimica Et Biophysica Acta*. **1241**, 407-423.

PATTON S et PATTON RS (1990). Genetic Polymorphism of PAS-I, the Mucin-Like Glycoprotein of Bovine Milk Fat Globule Membrane. *Journal of Dairy Science*. **73**, 3567-3574.

PERRIN JB, DUCROT C, VINARD JL, HENDRIKX P et CALAVAS D (2011). Analyse de la mortalité bovine en France de 2003 à 2009. *INRA Productions animales*. **24**, 235-244.

PERVAIZ S et BREW K (1986). Purification and characterization of the major whey proteins from the milks of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*), the Florida manatee (*Trichechus manatus latirostris*), and the beagle (*Canis familiaris*). *Archives of Biochemistry and Biophysics*. **246**, 846-854.

POFFENBARGER EM, OLSON PN, CHANDLER ML, SEIM HB et VARMAN M (1991). Use of adult dog serum as a substitute for colostrum in the neonatal dog. *American Journal of Veterinary Research*. **52**, 1221-1224.

POULET H, GUIGAL PM, SOULIER M, LEROY V, FAYET G, MINKE J et CHAPPUIS MERIAL G (2001). Protection of puppies against canine herpesvirus by vaccination of the dams. *Veterinary Record*. **148**, 691-695.

PRAVIEUX JJ, POULET H, CHARREYRE C et JUILLARD V (2007). Protection of Newborn Animals through Maternal Immunization. *Journal of Comparative Pathology*. **137**, S32-S34.

QUESNEL H (2011). Colostrum production by sows: variability of colostrum yield and immunoglobulin G concentrations. *Animal*. **5**, 1546-1553.

QUIGLEY JD, MARTIN KR et DOWLEN HH (1995). Concentrations of trypsin inhibitor and immunoglobulins in colostrum of Jersey cows. *Journal of Dairy Science*. **78**, 1573-1577.

QUIGLEY JD (2004). The role of oral immunoglobulins in systemic and intestinal immunity of neonatal calves. *Diamond V Mills, Cedar Rapid, Iowa, USA*.

RAINARD P (1986). Bacteriostasis of Escherichia coli by bovine lactoferrin, transferrin and immunoglobulins (IgG1, IgG2, IgM) acting alone or in combination. *Veterinary Microbiology*. **11**, 103-115.

RAINARD P (1987). Bacteriostatic activity of bovine lactoferrin in mastitic milk. *Veterinary Microbiology*. **13**, 159-166.

RINCHEVAL-ARNOLD A, BELAIR L, CENCIC A et DJIANE J (2002a). Up-regulation of polymeric immunoglobulin receptor mRNA in mammary epithelial cells by IFN-gamma. *Molecular and Cellular Endocrinology*. **194**, 95-105.

RINCHEVAL-ARNOLD A, BELAIR L et DJIANE J (2002b). Developmental expression of pIgR gene in sheep mammary gland and hormonal regulation. *Journal of Dairy Research*. **69**, 13-26.

ROITT I, BROSTOFF J et MALE D (2002). *Imunologie*. 3e édition. De Boeck.

SAINT-DIZIER M et CHASTANT-MAILLARD S (2014). *Particularités de la reproduction chez la chienne*. In : La reproduction animale et humaine. Editions Quae. Paris, France.

SALMON H (1999). The mammary gland and neonate mucosal immunity. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. **72**, 143-155.

SÁNCHEZ-MACÍAS D, MORENO-INDIAS I, CASTRO N, MORALES-DELANUEZ A et ARGÜELLO A (2014). From goat colostrum to milk: Physical, chemical, and immune evolution from partum to 90 days postpartum. *Journal of Dairy Science*. **97**, 10-16.

SARIKAYA H, WERNER-MISOF C, ATZKERN M et BRUCKMAIER RM (2005). Distribution of leucocyte populations, and milk composition, in milk fractions of healthy quarters in dairy cows. *The Journal of Dairy Research*. **72**, 486-492.

SCHÄFER-SOMI S, BÄR-SCHADLER S et AURICH JE (2005). Immunoglobulins in nasal secretions of dog puppies from birth to six weeks of age. *Research in Veterinary Science*. **78**, 143-150.

SCHÄFER-SOMI S, SPERGSER J, BREITENFELLNER J et AURICH JE (2003). Bacteriological status of canine milk and septicaemia in neonatal puppies: a retrospective study. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*. **50**, 343-346.

SHIMIZU M et YAMAUCHI K (1982). Isolation and characterization of mucin-like glycoprotein in human milk fat globule membrane. *Journal of Biochemistry*. **91**, 515-524.

SMITH KL, MUIR LA, FERGUSON LC et CONRAD HR (1971). Selective Transport of IgG1 into the Mammary Gland: Role of Estrogen and Progesterone¹. *Journal of Dairy Science*. **54**, 1886-1894.

SMITH MW et PEACOCK MA (1980). Anomalous Replacement of Foetal Enterocytes in the Neonatal Pig. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. **206**, 411-420.

SPENCER J, BOURSIER L et EDGEWORTH J (2007). IgA Plasma Cell Development. In : *Mucosal Immune Defense: Immunoglobulin A*. Springer US. 25-42.

TIAN ZH, SHI F, ZHONG FG, BAI DP et ZHANG XY (2015). Analysis of Fcgrt gene polymorphism in indigenous Chinese sheep and its association with colostrum IgG concentration. *Genetics and Molecular Research*. **14**, 2461-2470.

TIZARD IR (2013). *Veterinary Immunology*. Elsevier Health Sciences. Saint-Louis, Missouri.

TONNESSEN R, BERGE KS, NODTVEDT A et INDREBO A (2012). Canine perinatal mortality: A cohort study of 224 breeds. *Theriogenology*. **77**, 1788-1801.

TUCKER HA (1985). Endocrine and neural control of the mammary gland. In : *Lactation*. Ames: Iowa State University Press : BL Larson.

TURNER JL, WAGGONER JW, ROSE SS, ARNS MJ, HANKINS KG et TUTTLE J (2008). West Nile Virus Antibody Titers and Total Immunoglobulin G Concentrations in Foals from Mares Vaccinated in Late Gestation. *Journal of Equine Veterinary Science*. **28**, 17-21.

TYLER JW, STEEVENS BJ, HOSTETLER DE, HOLLE JM et DENBIGH JL (1999). Colostral immunoglobulin concentrations in Holstein and Guernsey cows. *American Journal of Veterinary Research*. **60**, 1136-1139.

WELSH JK et MAY JT (1979). Anti-infective properties of breast milk. *The Journal of Pediatrics*. **94**, 1-9.

WU WZ, WANG XQ, WU GY, KIM SW, CHEN F et WANG JJ (2010). Differential composition of proteomes in sow colostrum and milk from anterior and posterior mammary glands. *Journal of Animal Science*. **88**, 2657-2664.

LISTES DES ANNEXES

Annexe 1 : Albaret A, Mila H, Grellet A, Chastant-Maillard S, 2016. Proceeding du congrès ISCFR (International Symposium on Canine and Feline Reproduction), Maisons Alfort, 22 au 24 juin 2016

Annexe 2 : Poster présenté lors du congrès ISCFR (International Symposium on Canine and Feline Reproduction), Maisons Alfort, 22 au 24 juin 2016

Annexe 3 : Chastant-Maillard S, Aggouni C, Albaret A, Fournier A, Mila H, 2016. Article publié dans *Reproduction in Domestic Animals*, août 2016

Annexe 1

Pattern of immunoglobulin G concentration in canine colostrum and milk during the lactation

Albaret, A., Mila, H., Grellet, A., Chastant-Maillard, S.

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

s.chastant@envt.fr

Puppies are born almost agammaglobulinemic and colostrum intake, providing passive immunity, is indispensable for their survival¹. As gut closure begins in puppies between 6 and 8 hours after birth and is completed in 16 to 24 hours², colostrum intake has to take place as soon as possible after birth. But due to parturition length, depending on the decrease rate of immunoglobulin G (IgG), some puppies may ingest colostrum of low immune quality. This study intends to describe the evolution of IgG concentration in canine mammary gland secretion and to provide a definition of the colostrum in the dog. Fifty-eight bitches belonging to 18 different breeds were included within one breeding kennel. Each female was followed during the whole period of lactation (from parturition to puppies weaning). Dams were categorized by breed size (small: <15kg; large: >15 kg), age (young: <2 years old; adult: 2-6 years old; old: >6 years old). Litter size was categorized into quartiles (small: lowest 25%, large for the largest 25% and medium for others), separately for small and large breed sizes. Mammary secretion was collected every 4 hours until 20 hours after parturition (H4, H8, H12, H16, H20; n=19); and then at 24 hours (H24), 36 hours (H36), 48 hours (H48), 4 days (D4), 7 days (D7), 14 days (D14) and 21 days (D21) after the parturition (n=58). IgG concentrations were analysed with commercial ELISA test (Dog IgG-Quantitation Kit, Bethyl Lab, Montgomery, USA). The effect of time on IgG concentration was assayed with Friedman's ANOVA test (Tanagra, Lyon, France). The effect of age, breed size and litter size on IgG concentration during the first 24h were tested with Kruskal-Wallis test. Data are presented as mean \pm SD. IgG concentration in mammary secretion from 373 collected samples varied from 0.38 g/l to 78.8 g/l. Significant decline in IgG concentration was observed over the lactation from 38.5 ± 8.9 at H4 to 1.8 ± 2.2 at D21 with significant variations between sampling times (Table 1).

Time	H4	H8	H12	H16	H20	H24	H36	H48	D4	D7	D14	D21
IgG	38,5 ^A	41,4 ^A	37,1 ^B	29,3 ^B	23,5 ^B	17,3 ^C	10,9 ^D	10,8 ^E	4,2 ^F	3,1 ^G	2,6 ^G	1,8 ^H
(g/l)	$\pm 8,9$	$\pm 15,1$	$\pm 17,8$	$\pm 16,3$	$\pm 15,2$	$\pm 10,4$	$\pm 7,9$	$\pm 11,6$	$\pm 5,1$	$\pm 4,2$	$\pm 2,9$	$\pm 2,2$

Table 1. IgG concentration in mammary secretions in the bitch (n=58). Mean values with different superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

The average decrease rate between H4-H8 and H24 was $60.0 \pm 18.0\%$ (n=19). The decrease was linked neither to the litter size, nor to the age of the bitch, but to the breed size: IgG concentration declined slower in large breeds than in small ones (49.8% vs 73.9% decrease between H4-H8 and H24, $p=0.02$). As the IgG concentration is decreased by more than 50% by H24, colostrum in the canine species can be defined as the mammary secretion of the first day of lactation. It could be hypothesized, that the slower decline in large breeds could contribute to the higher passive immune transfer in puppies from large breeds. Transitional milk (between H24 and D4 post-partum), i.e. collected from a dam after the gut closure of her own puppies, could be frozen to feed orphaned puppies; however, its efficacy for passive immune transfer remains to be tested.

[1] Mila H, Grellet A, Feugier A and Chastant-Maillard S. Differential impact of birth weight and early growth on neonatal mortality in puppies. *J Anim Sci.* 2015;93:4436-4442

[2] Chastant-Maillard S, Freyburger L, Marcheteau E, Thoumire S, Ravier JF and Reynaud K. Timing of the intestinal barrier closure in puppies. *Reprod Dom Anim.* 2012;47:190-193

Annexe 2

Pattern of immunoglobulin G concentration in canine colostrum and milk during lactation

Amélie ALBARET, Hanna MILA, Aurélien GRELLET, Sylvie CHASTANT-MAILLARD

NeoCare, IHAP, Université de Toulouse, INRA, ENVT, Toulouse, France



NeoCare
Néonatalogie des Carnivores
Reproduction et Elevage

INP ECOLE NATIONALE VÉTÉRAIRE

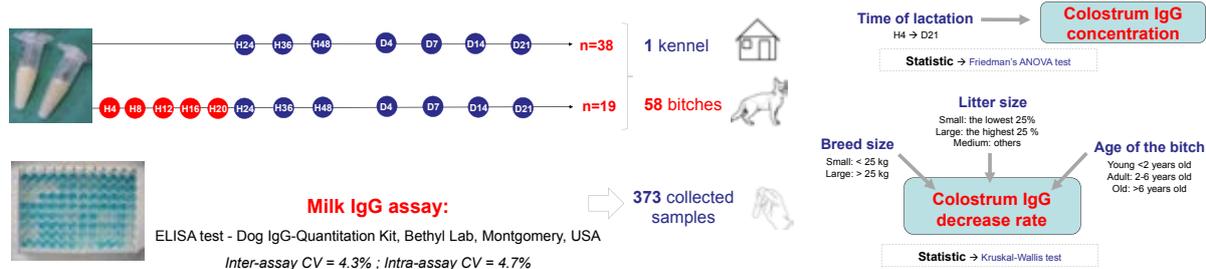
INTRODUCTION

Puppies are born almost agammaglobulinemic and colostrum intake, providing passive immunity, is indispensable for their survival¹. As gut closure begins in puppies between 6 and 8 hours after birth and is completed in 16 to 24 hours², colostrum intake has to take place as soon as possible after birth. However, the IgG concentration decreases after delivery. Depending on the decrease rate, puppies being born lately may ingest colostrum of low immune quality and be at increased risk of neonatal mortality

This study intends

1. to describe the evolution of IgG concentration in canine mammary gland secretion
2. to provide an objective immune-based definition of the colostrum in the dog.

MATERIAL AND METHODS



RESULTS

- IgG concentration in mammary secretion varied from 0.38 g/l to 78.8 g/l.
- Significant decline in IgG concentration was observed over the lactation from 38.5 ± 8.9 g/l at H4 to 1.8 ± 2.2 g/l at D21 with significant variations between sampling times (Fig.1).
- The average decrease rate between H4-H8 and H24 was $60.0 \pm 18.0\%$ (n=19).
- The decrease was linked neither to the litter size, nor to the age of the bitch, but to the breed size: IgG concentration declined slower in large breeds than in small ones (49.8% vs 73.9% decrease between H4-H8 and H24, $p=0.02$; Fig.2).

Figure 1: IgG concentration in mammary secretions in the bitch (n=58)

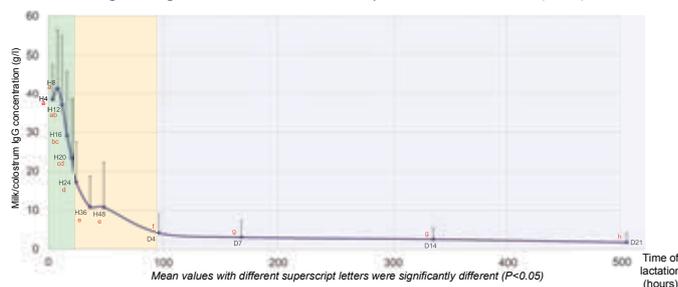
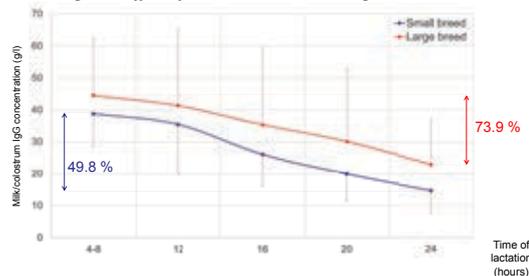


Figure 2: Effect of breed size on colostrum IgG decrease rate



DISCUSSION

Colostrum

H4 → H24 : IgG concentration 2 times lower
Colostrum = mammary secretion of the 1st day of lactation

Transitional milk

Between H24 and D4 post-partum
Could be frozen to feed orphaned puppies ?
→ efficacy for passive immune transfer to be tested

CONCLUSIONS

Due to the rapid decline of IgG concentration in colostrum, together with the rapid closure of intestinal barrier, a very early suckling after birth is essential for adequate passive immune transfer in puppies (and thus a reduction of the risk of neonatal mortality)

[1] Mila H, Grellet A, Feugier A and Chastant-Maillard S. Differential impact of birth weight and early growth on neonatal mortality in puppies. J Anim Sci. 2015;93:4436-4442

[2] Chastant-Maillard S, Freyburger L, Marcheteau E, Thoumire S, Ravier JF and Reynaud K. Timing of the intestinal barrier closure in puppies. Reprod Dom Anim. 2012;47:190-193

Canine and feline colostrum

S Chastant-Maillard | C Aggouni | A Albaret | A Fournier | H Mila

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

Correspondence

Sylvie Chastant-Maillard, NeoCare, Toulouse National Veterinary School, UMR INRA/ENVN 1225 IHAP, Université de Toulouse, INP-ENVN, Toulouse, France.
Email: s.chastant@envn.fr

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 2 days post-partum. Colostrum is a 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 <1 g/L in milk. IgG concentration rapidly drops after parturition (–50% in 24 hr). 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, due 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 hr 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.

1 | INTRODUCTION

The neonatal period (from birth to 21 days of life) is a major risk period for feline and canine newborns as approximately 20% of live-born puppies and kitten die before they are 21 days old; 70–90% of deaths occur during the first week post-partum (Fournier et al., 2016; Gill, 2001; Mila, Feugier, Grellet, & Chastant-Maillard, 2015a). In carnivores, survival of newborns within the first 3 weeks of life is particularly dependent on colostrum, a specific secretion of the mammary gland produced during the first 2 days post-partum. Colostrum is crucial for newborns as it provides them with nutrients and immunoglobulins. 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 of age) have been demonstrated to control the risk of neonatal mortality (Mila, Grellet, Feugier, & Chastant-Maillard, 2015b;

Mila et al., 2014). The following article reviews recent findings concerning canine and feline colostrum, and the role for puppies' survival and development.

2 | IMMUNE ROLE OF COLOSTRUM

2.1 | Immunoglobulins

In carnivores, colostrum distinguishes from milk by a markedly higher concentration in immunoglobulin G (IgG): 20–30 g/L in dog colostrum, 50–70 g/L in cats' vs <1–5 g/L in milk (Claus, Levy, Macdonald, Tucker, & Crawford, 2006; Schäfer-Somi, Bär-Schadler, & Aurich, 2005). IgG from the dam's bloodstream is 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

is massively released into the first mammary secretions, with colostrum 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 hr; at day 7, IgG has fallen to ~5 g/L and to <1 g/L on day 14 (Albaret, Mila, Grellet, & Chastant-Maillard, 2016; Claus et al., 2006; Schäfer-Somi et al., 2005). 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% IgA and 5% IgM, IgE being undetectable. In the feline colostrum, 96% of immunoglobulins are IgG, vs 2% of IgM and 2% of IgA (Casal, Jezyk, & Giger, 1996). Whereas IgG originates mainly 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% (Chastant-Maillard et al., 2010; Schäfer-Somi et al., 2005).

Colostrum Ig is 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's blood at birth is approximately 0.3 g/L to be compared to 8–25 g/L in adult dogs (Bouchard et al., 1992; Poffenbarger, Olson, Chandler, Seim, & Varman, 1991), respectively, 0.1 vs 15–20 g/L in cat (Casal et al., 1996; Levy, Crawford, Collante, & Papich, 2001). Ingested colostrum IgG is absorbed from the gut lumen into the intestinal lymphatic vessels and then to the newborn's bloodstream either by specific or non-specific transfer: specific transport depends on FcRn receptors, also expressed by enterocytes, whereas Ig also crosses freely the digestive epithelium between the loosely associated enterocytes. Interestingly, colostrum is also highly concentrated in antitrypsins (1,000-fold higher than in milk; Leveux & Ollier, 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 limit IgG intestinal crossing. At birth, in puppies, 40% of the ingested Ig is absorbed from the gut lumen through the bloodstream, whereas only 20% at 4 hr after life; from 12 to 16 hr 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 colostrum [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 colostrum intake at 24–48 hr after ingesting colostrum. At that stage, puppy's blood IgG will be in the order of 6, 25 g/L in kittens, 85%–97% of circulating Ig being of colostrum origin (Casal et al., 1996;

Chastant-Maillard et al., 2012; Levy et al., 2001). 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 is also absorbed before intestinal barrier closure, but it is rapidly resecreted through mucosa, especially respiratory and digestive, where it plays a role in local immunity (Chastant-Maillard et al., 2012; Salmon, Berri, Gerds, & Meurens, 2009).

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

2.2 | Other immune factors

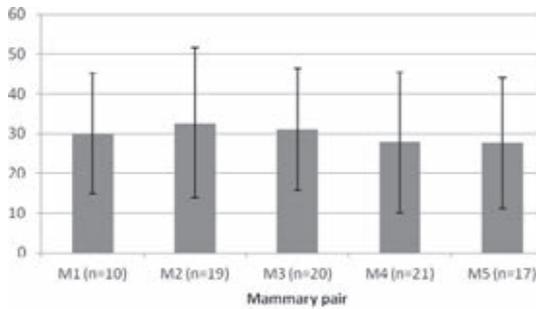
Colostrum provides other components with an immune role: non-specific antibacterial factors such as lactoferrin and lysozyme, together with cytokines, involved in immune response and white blood cell activation. Colostrum also contains white blood cells, (macrophages, neutrophils and lymphocytes): these 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. Colostrum mucin, lactadherin and oligosaccharides also prevent the adhesion of pathogens to enterocytes (Stelwagen, Carpenter, Haigh, Hodgkinson, & Wheeler, 2009).

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

2.3 | 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 (Arteaga, Rödel, Elizalde, Gonzalez, & Hudson, 2013; Hudson, Raihani, Gonzalez, Bautista, & Distel, 2009). Nevertheless, passive immune transfer may markedly differ between puppies of the same litter (Figure 1), probably due to either differences in the quantity, the quality and/or the timing of colostrum ingestion.

(a) Energy (kcal/g)



(b) [IgG] (g/l)

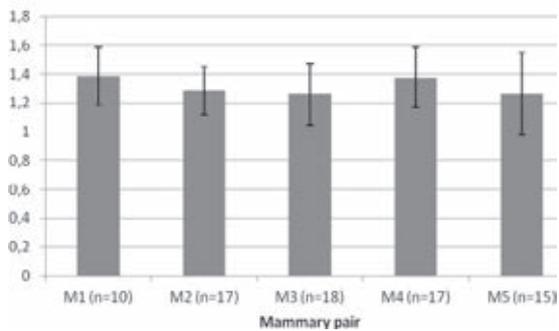


FIGURE 1 Immune (a) and energetic (b) value of canine colostrum depending on mammary pair number. M1: thoracic to M5: inguinal. Mean \pm SD. Between brackets, number of bitches. $p > .05$ for both criteria

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 influenced colostrum IgG (Mila et al., 2015c). Ensuring appropriate nutrition of the dam during gestation and its good general health are basic prerequisite. 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 with the mean colostrum IgG delivered by the dam (Mila et al., 2014). However, one strategy may be to increase 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.

3 | 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 in the development and maturation of several organs, namely the digestive tract, the liver, the pancreas and the thyroid (Heird, Schwarz, & Hansen, 1984). This maturation then improves intestinal absorption of further nutrients and the newborn's metabolism.

4 | 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, energy concentration (kcal/ml) is similar in colostrum and in milk, but the pattern during lactation differs slightly between bitch and queen. In dogs, energy value progressively decreases by 20% during the two first weeks post-partum, whereas in queens, it more rapidly drops (~30% over the first 3 days) and then increases progressively over the whole lactation (Adkins, Lepine, & Lonnerdal, 2001; Adkins, Zicker, Lepine, & Lönnerdal, 1997). In comparison with canine (1,300–1,800 kcal/L) and feline colostrum (1,300 kcal/L), energy value of milk replacers ranges between 500 and 1,500 kcal/L (Adkins et al., 1997, 2001; Heinze, Freeman, Martin, Power, & Fascetti, 2014; Mila et al., 2015d).

The energy value of colostrum can vary between dams by a factor of 1.6, which is a fairly small range compared to variations of its immune value; differences between teat pairs of the same dog are also much more limited for energy than for IgG with a variation coefficient of approximately 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 (<10 kg) have colostrum with 10% more energy than females from large breeds (>40 kg) (unpublished data).

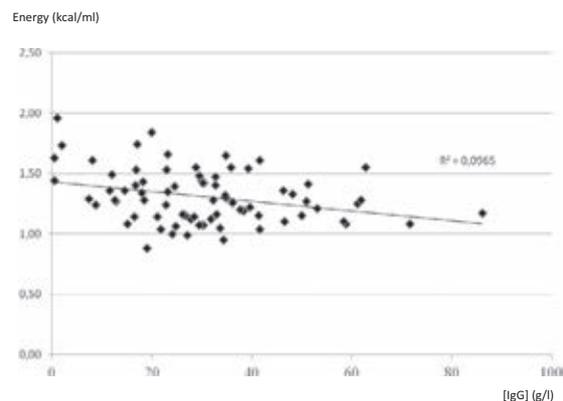


FIGURE 2 Absence of correlation between IgG and energy concentrations in canine colostrum. A total of 77 samples from 21 bitches ($p > .05$)

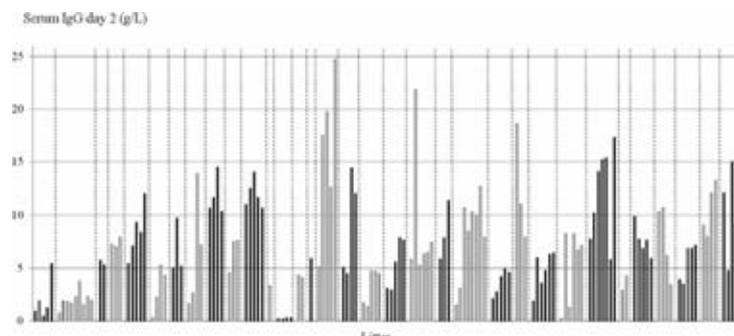


FIGURE 3 Differences in passive immune transfer between litters and between puppies within litters on 34 litters from purebred bitches of various breeds. Each bar represents blood IgG concentration of one puppy; each group of bars of the same colour represents puppies from the same litter

5 | QUALITY VS QUANTITY OF COLOSTRUM

Whilst minimal quality criteria (i.e. threshold levels of colostral IgG and energy concentrations) required to control neonatal mortality have been determined in some species (Tyler, Hancock, Thorne, Gay, & Gay, 1999 in calves; Cabrera, Lin, Campbell, Moeser, & Odle, 2012; in piglets), 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 in bitches and in queens, respectively (Meyers, 1985; on five bitches; Dobenecker, Zottmann, Kienzle, & Zentek, 1998 on six 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 the newborns' needs for immunoglobulins and energy allows the calculation of the minimal quantity of colostrum to be ingested. For adequate passive immune transfer (i.e. puppy 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 hr of life (digestive absorption rate of 40%, 35% haematocrit, colostral 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 1,800 kcal/l). Similar calculation in kittens shows that the minimal colostral ingestion to cover energy needs is 16 ml per 100 g of kitten bodyweight per day (220 kcal/kg per day; Peterson & 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 200-g puppies, whereas a standard queen would be able to appropriately nurse ten 100-g kittens. On average, colostral 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 2 days of age;

Mila et al., 2014, 2015b), despite the much higher quality of colostrum required to cover energy needs.

6 | CONCLUSION

Birth induces major physiological changes in the foetus, and the newborn will have to adapt to survive. Among these dramatic changes, the nutrients are no more passively and continuously supplied by the placenta, and the environment becomes hostile, as 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 (by alphabetic order) Jennifer Anne, Pierre Bergamo, Marie-Blanche Bertieri, Bruno Carrez, Stéphanie Coinus, Alexandre Feugier, Milène Gonnier, Elie Marcheteau, Claire Mariani, Maelys Martin, Sandra Thoumire, Karine Reynaud, Jean-François Ravier and Lisa Rossig.

CONFLICT OF INTEREST

All authors declare that there is no conflict of interest that could be perceived as prejudicing the impartiality of the research reported. The research from HM cited in this review is funded, at least partly, by Royal Canin Research and Development (Aimargues, France).

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

SCM wrote the manuscript and contributed to the design of the protocols and data analysis. CA and AA collected colostrum samples, performed Ig assays and analysed the data. AF provided specific

information on feline colostrum. HM contributed to colostrum sample collection and to the design of the protocols and data analysis and finally revised the manuscript.

REFERENCES

- Adkins, Y., Lepine, A. J., & Lonnerdal, B. (2001). Changes in protein and nutrient composition of milk throughout lactation in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, *62*, 1266–1272.
- Adkins, Y., Zicker, S. C., Lepine, A. J., & Lonnerdal, B. (1997). Changes in nutrient and protein composition of cat milk during lactation. *American Journal of Veterinary Research*, *58*, 370–375.
- 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. 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., ... & Paine, A. L. (1992). Absorption of an alternate source of immunoglobulin in pups. *American Journal of Veterinary Research*, *53*, 230–233.
- Cabrera, R. A., Lin, X., Campbell, J. M., Moeser, A. J., & Odle, J. (2012). Influence of birth order, birth weight, colostrum and serum immunoglobulin G on neonatal piglet survival. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *3*, 42.
- Casal, M. L., Jezyk, P. F., & Giger, U. (1996). Transfer of colostral antibodies from queens to their kittens. *American Journal of Veterinary Research*, *57*, 1653–1658.
- Chastant-Maillard, S., Freyburger, L., Marcheteau, E., Thoumire, S., Ravier, J., & Reynaud, K. (2012). Timing of the intestinal barrier closure in puppies. *Reproduction in Domestic Animals*, *47*, 190–193.
- 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 colostral transfer*. 7th EVSSAR Congress, 14–15th May. Louvain-La-Neuve, Belgium. 107.
- 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. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, *8*, 184–191.
- Dobenecker, B., Zottmann, B., Kienzle, E., & Zentek, J. (1998). Investigations on milk composition and milk yield in queens. *The Journal of Nutrition*, *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. (2001). *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. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *244*, 1413–1422.
- Heird, W. C., Schwarz, S. M., & Hansen, I. H. (1984). Colostrum-induced enteric mucosal growth in beagle puppies. *Pediatric Research*, *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. *Developmental Psychobiology*, *51*, 322–332.
- 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. *Journal of Clinical Immunology*, *30*, 777–789.
- Levieux, D., & Ollier, A. (1999). Bovine immunoglobulin G, lactalbumin and serum albumin in colostrum and milk during the early post-partum period. *Journal of Dairy Research*, *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. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *219*, 1401–1405.
- Meyers, H. (1985). *Untersuchungen zum Energie- und Nährstoffbedarf von Zuchthündinnen und Saugwelpen*. *Advances in Animal Physiology and Animal Nutrition*. Hamburg: Parey ed.
- 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
- Mila, H., Feugier, A., Grellet, A., Anne, J., Gonnier, M., Martin, M., ... & 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*, 209–213.
- Mila, H., Feugier, A., Grellet, A., Anne, J., Gonnier, M., Martin, M., ... & Chastant-Maillard, S. (2015c). Immunoglobulin G concentration in canine colostrum: Evaluation and variability. *Journal of Reproductive Immunology*, *112*, 24–28.
- Mila, H., Feugier, A., Grellet, A., & Chastant-Maillard, S. (2015a) *Variability of mortality risk factors with age in puppies*. Annual Meeting of the Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine. Gand, Belgium, 25–27 March.
- Mila, H., Grellet, A., Feugier, A., & Chastant-Maillard, S. (2015b). Differential impact of birth weight and early growth rate on neonatal mortality in puppies. *Journal of Animal Science*, *93*, 4436–4442.
- Peterson, M., & Kutzler, M. (2011). *Small animal pediatrics: The first 12 months of life*. Saint Louis: Elsevier Saunders. 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. *American Journal of Veterinary Research*, *52*, 1221–1224.
- Salmon, H., Berri, M., Gerds, V., & Meurens, F. (2009). Humoral and cellular factors of maternal immunity in swine. *Developmental & Comparative Immunology*, *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. *Research in Veterinary Science*, *78*, 143–150.
- Stelwagen, K., Carpenter, E., Haigh, B., Hodgkinson, A., & Wheeler, T. T. (2009). Immune components of bovine colostrum and milk. *Journal of Animal Science*, *87*, 3–9.
- Tyler, J. W., Hancock, D. D., Thorne, J. G., Gay, C. C., & Gay, J. M. (1999). Partitioning the mortality risk associated with inadequate passive transfer of colostral immunoglobulins in dairy calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *13*, 335–337.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

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

Je soussignée, Sylvie CHASTANT, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **ALBARET Amélie** intitulée « **Composition immunologique des sécrétions lactées chez la chienne.** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.



Fait à Toulouse, le 27 octobre 2016
Professeur Sylvie CHASTANT
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITELIN

Vu :
Le Président du jury :
Professeur Jean-Pierre OLIVES

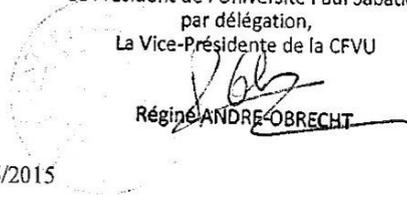


Professeur J.P. OLIVES
GASTROENTEROLOGIE ET NUTRITION
Hôpital des Enfants
TSA 70034 - 31059 TOULOUSE CEDEX 9

Mlle ALBARET Amélie
a été admis(e) sur concours en : 2011
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 25/06/2015
a validé son année d'approfondissement le : 30/05/2016
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL

Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU



Régine ANDRE-OBRECHT

NOM : ALBARET

Prénom : Amélie

Titre : *Composition immunologique des sécrétions lactées dans l'espèce canine*

Résumé : La consommation du colostrum est essentielle à la survie des chiots. Les prélèvements réalisés en 2014 sur 53 chiennes ont permis d'étudier l'évolution de la concentration en immunoglobulines G et A au cours de la lactation et les facteurs de variation de la qualité immunologique des sécrétions lactées. Les concentrations en IgG et en IgA dans les sécrétions mammaires diminuent fortement au cours des premières 36 heures pour tendre à une stabilisation à partir de J4 jusqu'à J21. À partir de J3, les proportions d'IgG et d'IgA s'inversent. Le pourcentage de diminution en IgG au cours des premières 36 heures est influencé par la taille de la portée ainsi que par le format racial. La concentration en IgG augmente avec l'âge de la chienne et la parité ; et diminue avec la taille et le poids de la portée. Enfin, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence concernant les concentrations en immunoglobulines en fonction du numéro de la mamelle.

Mots clés : colostrum / lait / immunoglobuline / chien

SECOND NAME: ALBARET

First name: Amélie

Title: *Immunological composition of canine colostrum and milk*

Summary: Colostrum intake is essential for the survival of puppies. Samples taken in 2014 on 53 bitches permitted to study the evolution of IgA and IgG throughout lactation and to highlight the variance factors of the immune quality of colostrum and milk. IgG and IgA concentrations in mammary gland secretions decrease strongly for the first 36 hours and tend toward stabilization from D4 to D21. From the 3rd day, the ratio of IgG and IgA reverse. The percentage reduction of IgG for the first 36 hours is influenced by the litter size and the breed size. IgG concentration increases with the age of the bitch and with the parity and decreases with the size and the weight of the litter. Eventually, no significant difference was highlighted regarding immunoglobulin concentrations according the teat number.

Keywords: colostrum / milk / immunoglobulin / dog