




## 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's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/> 25304

**To cite this version:**

Abrard, Marine . *Etude de la qualité immunologique du lait de pseudogestation de la chienne*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2017, 68 p.

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

# ETUDE DE LA QUALITE IMMUNOLOGIQUE DU LAIT DE PSEUDOGESTATION DE 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*

**ABRARD Marine**

Née, le 21/12/1991 à TARBES (65)

---

**Directeur de thèse : Mme Sylvie CHASTANT**

**JURY**

PRESIDENT :

**M. Jean PARINAUD**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

**Mme Sylvie CHASTANT**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Mme Séverine BOULLIER**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

**Mme Patricia RONSIN**

Praticien Hospitalier à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



# ETUDE DE LA QUALITE IMMUNOLOGIQUE DU LAIT DE PSEUDOGESTATION DE 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*

**ABRARD Marine**

Née, le 21/12/1991 à TARBES (65)

---

**Directeur de thèse : Mme Sylvie CHASTANT**

**JURY**

PRESIDENT :

**M. Jean PARINAUD**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESSEURS :

**Mme Sylvie CHASTANT**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Mme Séverine BOULLIER**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

**Mme Patricia RONSIN**

Praticien Hospitalier à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



**Répartition des Enseignants-Chercheurs par Département.**

Mise à jour : 03/11/2017

**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><b>Responsable : M. SANS</b></p> <p><b>ALIMENTATION ANIMALE :</b> M. ENJALBERT Francis, PR Mme PRIYMENKO Nathalie, MC Mme MEYNADIER Annabelle, MC</p> <p><b>EPIDEMIOLOGIE :</b> Mathilde PAUL, MC</p> <p><b>PARASITOLOGIE-ZOOLOGIE :</b> M. FRANC Michel, PR M. JACQUIET Philippe, PR M. LIENARD Emmanuel, MC Mme BOUHSIRA Emilie, MC</p> <p><b>HYGIÈNE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS :</b> M. BRUGERE Hubert, PR M. BAILLY Jean-Denis, PR Mme BIBBAL Delphine, MC Mme COSTES Laura, AERC Mme DAVID Laure, MCC</p> <p><b>PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION :</b> 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><b>PATHOLOGIE DES RUMINANTS :</b> M. SCHELCHER François, PR M. FOUCRAS Gilles, PR M. CORBIÈRE Fabien, MC M. MAILLARD Renaud, PR M. MEYER Gilles, PR</p> <p><b>PRODUCTION ET PATHOLOGIE AVIAIRE ET PORCINE :</b> Mme WARET-SZKUTA Agnès, MC M. JOUGLAR Jean-Yves, MC M. GUERIN Jean-Luc, PR M. LE LOC'H Guillaume, MC</p> <p><b>PRODUCTIONS ANIMALES</b></p> <p><b>AMÉLIORATION GÉNÉTIQUE ÉCONOMIE :</b> M. DUCOS Alain, PR M. SANS Pierre, PR M. RABOISSON Didier, MC</p>	<p><b>Responsable : Mme GAYRARD</b></p> <p><b>ANATOMIE :</b> M. MOGICATO Giovanni, MC M. LIGNEREUX Yves, PR Mme DEVIERS Alexandra, MC</p> <p><b>ANATOMIE PATHOLOGIQUE - HISTOLOGIE :</b> M. DELVERDIER Maxence, PR Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, PR Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, PR Mme LACROUX Caroline, PR M. GAIDE Nicolas, AERC</p> <p><b>BIOLOGIE MOLECULAIRE :</b> Mme BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle, MC</p> <p><b>MICROBIOLOGIE – IMMUNOLOGIE - MALADIES INFECTIEUSES :</b> M. MILON Alain, PR M. BERTAGNOLI Stéphane, PR M. VOLMER Romain, MC Mme BOULLIER Séverine, MC Mme DANIELS Héène, MC</p> <p><b>BIostatistiques :</b> M. CONCORDET Didier, PR M. LYAZRHI Faouzi, MC</p> <p><b>PHARMACIE-TOXICOLOGIE :</b> M. PETIT Claude, PR Mme CLAUW Martine, PR M. GUERRE Philippe, PR M. JAEG Philippe, MC</p> <p><b>PHYSIOLOGIE – PHARMACOLOGIE THERAPEUTIQUE :</b> M. BOUSQUET-MELOU Alain, PR Mme GAYRARD-TROY Véronique, PR Mme FERRAN Aude, MC M. LEFEBVRE Hervé, PR</p> <p><b>BIOCHIMIE :</b> Mme BENNIS-BRET Lydie, MC</p> <p><b>ANGLAIS :</b> M. SEVERAC Benoît, PLPA Mme MICHAUD Françoise, PCEA</p>	<p><b>Responsable : Mme CADIERGUES</b></p> <p><b>ANESTHESIOLOGIE</b> M. VERWAERDE Patrick, MC</p> <p><b>CHIRURGIE :</b> M. AUTEFAGE André, PR M. ASIMUS Erik, MC M. MATHON Didier, MC Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, MC Mme PALIERNE Sophie, MC</p> <p><b>MEDECINE INTERNE :</b> Mme DIQUELOU Armelle, MC M. DOSSIN Olivier, MC Mme LAVOUE Rachel, MC Mme GAILLARD-THOMAS Elodie, MCC</p> <p><b>OPHTALMOLOGIE :</b> M. DOUET Jean-Yves, MC</p> <p><b>DERMATOLOGIE :</b> Mme CADIERGUES Marie-Christine, PR</p> <p><b>IMAGERIE MEDICALE</b> M. CONCHOU Fabrice, MC</p> <p><b>BIOLOGIE MOLECULAIRE :</b> Mme TRUMEL Catherine, PR</p> <p><b>PATHOLOGIE DES EQUIDES :</b> M. CUEVAS RAMOS Gabriel, MC Mme LALLEMAND Elodie, AERC</p>



# **REMERCIEMENTS**

## **AUX MEMBRES DU JURY**

### **A Monsieur le Professeur Jean PARINAUD**

Professeur à l'Université Paul Sabatier,  
Praticien Hospitalier, Biologie de la reproduction,  
Qui nous fait l'honneur de présider le jury de cette thèse,

*Hommage respectueux.*

### **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 aidée dans la réalisation de ce travail,

*Pour sa gentillesse et sa disponibilité,  
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 accepté de faire partie du jury de cette thèse,

Sincères remerciements.

### **A Madame le Docteur Patricia RONSIN,**

Docteur vétérinaire, Praticien hospitalier,  
Pathologie de la reproduction,  
Membre invité de ce jury de thèse,

*Pour avoir participé à la collecte des échantillons,  
Sincères remerciements.*





# **TABLE DES MATIERES**

<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>5</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	<b>7</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>9</b>
<b>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE : LA PSEUDOGESTATION</b> .....	<b>11</b>
<b>A . La pseudogestation chez deux espèces à ovulation provoquée</b> .....	<b>12</b>
<b>I. La pseudogestation chez la lapine</b> .....	<b>12</b>
<b>1) Description</b> .....	<b>13</b>
a) <i>Hypothèses hormonales</i> .....	14
b) <i>Influence du stress</i> .....	14
<b>2) Signes cliniques observés</b> .....	<b>14</b>
a) <i>Modifications comportementales</i> .....	14
b) <i>Modifications utérines</i> .....	15
c) <i>Modifications mammaires</i> .....	16
<b>3) Prévalence</b> .....	<b>17</b>
<b>4) Conséquences</b> .....	<b>18</b>
<b>II. La pseudogestation chez la furette</b> .....	<b>19</b>
<b>1) Description</b> .....	<b>19</b>
<b>2) Signes cliniques observés</b> .....	<b>19</b>
<b>3) Modifications utérines</b> .....	<b>19</b>
<b>4) Modifications mammaires</b> .....	<b>20</b>
<b>B. La pseudogestation chez la chienne</b> .....	<b>21</b>
<b>I. Particularités de la physiologie sexuelle de la chienne</b> .....	<b>21</b>
<b>II. Signes associés à une pseudogestation clinique</b> .....	<b>21</b>
<b>III. Causes hormonales</b> .....	<b>22</b>
<b>1) Cas d'une chienne non gestante et n'exprimant pas de signes cliniques marqués de pseudogestation</b> .....	<b>22</b>
<b>2) Cas d'une chienne gestante</b> .....	<b>22</b>
a) <i>Avant mise bas</i> .....	22
b) <i>Après mise bas</i> .....	24
<b>3) Cas d'une chienne présentant une pseudogestation clinique</b> .....	<b>24</b>
<b>IV. Causes comportementales</b> .....	<b>26</b>
<b>V. Prise en charge des chiennes présentant des signes marqués ou persistants</b> .....	<b>26</b>
<b>1) Mesures hygiéniques</b> .....	<b>26</b>
a) <i>Effet d'une restriction alimentaire à court terme</i> .....	26

b) Effet d'une restriction alimentaire à long terme.....	26
<b>2) Traitement médical .....</b>	<b>27</b>
a) Régulation de la synthèse et de la sécrétion de la prolactine .....	27
b) Molécules disponibles.....	27
c) Autres traitements.....	31
d) Cas de chiennes réfractaires au traitement .....	32
<b>VI. Effet des pseudogestations sur les tumeurs mammaires .....</b>	<b>32</b>
1) Lien entre prolactine, pseudogestation et tumeurs mammaires.....	32
2) Effet de la cabergoline sur les tumeurs mammaires .....	33
<b>ETUDE EXPERIMENTALE .....</b>	<b>35</b>
<b>A. Matériels et méthodes .....</b>	<b>35</b>
<b>I. Population .....</b>	<b>35</b>
<b>II. Prélèvements .....</b>	<b>35</b>
<b>III. Dosage des immunoglobulines .....</b>	<b>35</b>
1) Principe général .....	35
2) Protocole .....	36
3) Principe d'interprétation des valeurs .....	39
<b>B. Résultats .....</b>	<b>41</b>
<b>I. Description de la population.....</b>	<b>41</b>
1) Format racial .....	41
2) Catégories d'âge.....	41
3) Parité .....	42
4) Moment du cycle .....	42
5) Prélèvements par paire de mamelles .....	42
6) Aspect des sécrétions.....	42
<b>II. Concentrations en immunoglobulines dans le lait de pseudogestation .....</b>	<b>43</b>
1) Concentration moyenne en IgA .....	43
2) Concentration moyenne en IgG.....	44
3) Corrélation entre concentration en IgG et IgA pour un même échantillon.....	45
.....	45
4) Facteurs de variation de la concentration en immunoglobulines .....	45
a) Format racial.....	45
b) Âge.....	47
c) Moment du cycle.....	49
d) Paire de mamelles .....	50
e) Aspect des sécrétions .....	50
5) Comparaison avec les concentrations en immunoglobulines des laits et des colostrums .	51

<b>III. Discussion.....</b>	<b>53</b>
<b>1) Limites de l'étude.....</b>	<b>53</b>
a) Population étudiée.....	53
b) Echantillonnage.....	53
c) Dosage des immunoglobulines .....	54
<b>2) Résultats .....</b>	<b>54</b>
a) Qualité immunologiques des sécrétions de pseudogestation.....	54
b) Comparaison des laits de pseudogestation au lait et au colostrum canins .....	56
c) Facteurs de variation des concentrations en immunoglobulines dans les sécrétions lactées.....	56
d) Lien entre concentration en IgG et IgA dans le lait de pseudogestation .....	57
e) Origine des immunoglobulines dans les sécrétions lactées .....	58
<b>IV. Perspectives.....</b>	<b>60</b>
<b>1) Valeur énergétique des sécrétions de pseudogestation.....</b>	<b>60</b>
<b>2) Utilisation d'une chienne pseudogestante en cas de déficit colostral .....</b>	<b>60</b>
<b>3) Quels risques pour la femelle pseudogestante ? .....</b>	<b>61</b>
<b>4) Quels risques pour les chiots ?.....</b>	<b>61</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>62</b>



## **LISTE DES FIGURES**

Figure 1 : Réceptivité des lapines en fonction du nombre de jours post partum, d'après Fortun-Lamothe et Bolet (1995).....	12
Figure 2 : Concentrations plasmatiques en progestérone durant la pseudogestation chez la lapine. La pseudogestation a été induite par injection de 0,8 µg de GnRH. D'après Boiti et al (2006).....	13
Figure 3: Fréquence des différents signes cliniques observés lors de pseudogestation chez la lapine de compagnie, d'après Salissard (2013). ....	14
Figure 4 : Coupe histologique d'un épithélium utérin de lapine durant l'œstrus, d'après Davies et Hoffman (1970).....	15
Figure 5 : Coupe histologique d'un épithélium utérin de lapine pseudogestante 8 jours après induction de l'ovulation, d'après Davies et Hoffman (1970). ....	16
Figure 6 : Coupe histologique d'un épithélium utérin de lapine pseudogestante 20 jours après induction de l'ovulation, d'après Busch et al. (1986).....	16
Figure 7 : Présence de deux générations de corps jaunes sur un ovaire de lapine 24 heures après insémination artificielle, d'après Theau-Clément (2008). ....	17
Figure 8 : Bilan - La pseudogestation chez la lapine - Concentrations en progestérone et modifications morphologiques de l'épithélium utérin.....	18
Figure 9 : Comparaison des concentrations sériques en progestérone chez des furettes gestantes (formes pleines) et pseudogestantes (formes vides). Ovulation à J0, chaque forme correspond à une technique de dosage : fluorimétrie (ronds), ELISA (carrés) et radioimmunologie (triangles). D'après Heap et Hammond (1974). ....	20
Figure 10 : Evolution des profils hormonaux chez la chienne non gestante, adapté de Concannon (2010). ....	23
Figure 11 : Evolution des profils hormonaux chez la chienne gestante, adapté de Concannon (1986). ....	23
Figure 12 : Concentrations sanguines en prolactine chez des chiennes pseudogestantes entre J0 et J14 : triangles, groupe placebo ; ronds : chiennes traitées par la bromocriptine ; carrés : chiennes traitées par la cabergoline. D'après Gobello et al (2001d).....	24
Figure 13 : Concentrations en prolactine et en progestérone chez des chiennes pseudogestantes (ronds noirs) et chez des chiennes en diœstrus n'ayant jamais présenté de signes de pseudogestation, d'après Tsutsui et al (2007). ....	25
Figure 14 : Régulation de la synthèse et de la sécrétion de prolactine (GABA : acide gamma amino-butyrique ; GAP : Gonadotropin releasing hormon Associated Peptid ; TRH : Thyroxin Releasing Hormon ; VIP : Vaso-Intestinal Peptid). D'après Touraine et Goffin (2015).....	27
Figure 15 : Réponse clinique des chiennes pseudogestantes à la cabergoline 7 et 14 jours après le début du traitement, d'après Gobello et al (2001d).....	29
Figure 16 : Comparaison de l'évolution des signes cliniques chez les chiennes ayant reçu de la métergoline et celles ayant reçu un placebo, 7 et 14 jours après le début du traitement (grade 0 : glandes mammaires au repos ; grade I : hypertrophie mammaire et sécrétion séreuse ; grade II : hypertrophie mammaire et sécrétion lactée). D'après Castex et al (2002).....	30
Figure 17 : Degré d'hyperplasie mammaire avant et après traitement avec de la cabergoline chez des chiennes présentant des tumeurs mammaires, d'après Verstegen et Onclin (2004). ....	33
Figure 18 : Degré de difficulté estimé par les chirurgiens pour le retrait des tumeurs mammaires avant et après traitement avec de la cabergoline, d'après Verstegen et Onclin (2004). ....	34
Figure 19 : Principe de l'ELISA "sandwich" ; en bleu, anticorps de capture ; en rouge, immunoglobulines à doser ; en vert et orange, anticorps de révélation. ....	36
Figure 20 : Aspect des échantillons après centrifugation. ....	36
Figure 21 : Exemple de répartition des échantillons et de la gamme étalon pour une plaque ELISA IgG (en gras, échantillons de lait de pseudogestation ; en italique, échantillons de colostrum ; en souligné, échantillons de lait). Les colonnes 11 et 12 contiennent la gamme étalon. ....	38
Figure 22 : Plaque ELISA après l'arrêt de la révélation. ....	38
Figure 23 : Valeurs et graphe obtenus après lecture des densités optiques par le spectrophotomètre. ....	39
Figure 24 : Répartition des chiennes selon leur format racial (n = 31). La première valeur représente le nombre de chiennes incluses dans la catégorie, la deuxième le pourcentage correspondant.....	41

<i>Figure 25 : Répartition des chiennes par catégorie d'âge (n = 31). La première valeur représente le nombre de chiennes incluses dans la catégorie, la deuxième le pourcentage correspondant. ....</i>	<i>41</i>
<i>Figure 26 : Répartition des échantillons selon leur couleur (n = 42). La première valeur représente le nombre de prélèvements inclus dans la catégorie, la deuxième le pourcentage correspondant. ....</i>	<i>42</i>
<i>Figure 27 : Concentrations en IgA dans les laits de pseudogestation pour chaque échantillon (n = 42). La ligne horizontale représente la moyenne. ....</i>	<i>43</i>
<i>Figure 28 : Distribution des concentrations en IgA des laits de pseudogestation (n = 42). ....</i>	<i>43</i>
<i>Figure 29 : Concentrations en IgG dans les laits de pseudogestation pour chaque échantillon (n = 41). La ligne horizontale représente la moyenne. ....</i>	<i>44</i>
<i>Figure 30 : Distribution des concentrations en IgG des laits de pseudogestation (n = 41). ....</i>	<i>44</i>
<i>Figure 31 : Corrélation entre les concentrations en IgG et IgA du lait de pseudogestation (n = 41 ; p = 0,015 ; r = 0,48). ....</i>	<i>45</i>
<i>Figure 32 : Concentration en IgA en fonction du poids de la chienne (n = 42 ; p = 0,03 ; r = 0,32). ....</i>	<i>46</i>
<i>Figure 33 : Concentrations en IgG en fonction du poids de la chienne (n = 41 ; p = 0,23 ; r = 0,19). ....</i>	<i>46</i>
<i>Figure 34 : Concentrations en IgA et IgG (moyenne ± écart type) suivant le format racial (n = 42 pour les IgA et n = 42 pour les IgG ; p = 0,01 pour les IgA et p = 0,35 pour les IgG). L'étoile montre que les catégories petit format racial et grand format racial sont différentes pour les IgA (p = 0,01). ....</i>	<i>47</i>
<i>Figure 37 : Concentrations moyennes en IgA et IgG (moyenne ± SD) suivant les catégories d'âge (n = 42 pour les IgA et n = 41 pour les IgG ; p = 0,01 pour les IgA et p = 0,15 pour les IgG). L'étoile montre que les catégories moins de deux ans et plus de 6 ans sont différentes pour les IgA (p = 0,04). ....</i>	<i>49</i>
<i>Figure 38 : Concentrations en immunoglobulines (moyenne ± SD) en fonction du moment du cycle (n = 41). ..</i>	<i>49</i>
<i>Figure 39 : Concentrations moyennes en IgA et IgG en fonction de l'aspect des sécrétions de pseudogestation (n = 42 pour les IgA et n = 41 pour les IgG ; p = 0,051 pour les IgA et 0,47 pour les IgG). ....</i>	<i>51</i>
<i>Figure 40 : Concentrations moyennes en IgA et IgG dans les laits de pseudogestation, les colostrums et les laits (n = 42 et 41 pour les laits de pseudogestation ; n = 9 pour les laits et colostrum sauf pour les IgG des colostrums où n = 21 ; p = 0,12 pour les IgA ; p &lt; 0,0001 pour les IgG). L'étoile montre que les concentrations en IgG du lait de pseudogestation et du lait sont différentes (p &lt; 0,0001). ....</i>	<i>52</i>
<i>Figure 41 : Pourcentage des différentes classes d'Ig (G et A) au cours de la lactation chez la chienne, d'après Albaret (2016). ....</i>	<i>58</i>

## **LISTE DES TABLEAUX**

<i>Tableau 1 : Concentration en IgA par paires de mamelles (g/L) : .....</i>	<i>50</i>
<i>Tableau 2 : Concentration en IgG par paires de mamelles (g/L) : .....</i>	<i>50</i>
<i>Tableau 3 : Valeurs en IgG du colostrum obtenues dans la littérature, d'après Schäfer et Somi et al (2005) ; Bertieri (2012) ; Mila et al (2015) et Albaret (2016) :.....</i>	<i>55</i>
<i>Tableau 4 : Valeurs moyennes en IgG et IgA pour le lait obtenues dans la littérature, d'après Schäfer- Somi et al (2005) ; Bertieri (2012) et Albaret (2016) :.....</i>	<i>55</i>
<i>Tableau 5 : Compositions énergétiques du colostrum et du lait à J3 et J14, d'après Chastant et Mila (2016). ...</i>	<i>60</i>





## **INTRODUCTION**

La mortalité néonatale est très fréquente dans l'espèce canine, et constitue un enjeu en matière d'élevage : en effet, environ 20% des chiots meurent avant l'âge de 21 jours. Selon les études, les taux de mortalité néonatale varient entre 6,9% (Indrebo et al. 2007) et 10 % (Nielen et al. 1998) des chiots nés vivants, avec une répartition hétérogène : en effet, la mortalité néonatale précoce (durant les sept premiers jours de vie) varie entre 3,9% (Tonnessen et al. 2012) et 46,9% des nés vivants (Nielen et al. 1998), tandis que les valeurs de mortalité néonatale tardive (entre 8 et 21 jours de vie) sont proportionnellement moins élevées, entre 1,2 % (Indrebo et al. 2007) et 16,5 % (Nielen et al. 1998) des chiots nés vivants.

A sa naissance, le chiot possède un système immunitaire immature (Tizard 2013), et est quasiment dépourvu d'immunoglobulines : en effet, la placentation endothéliochoriale zonaire de la chienne ne permet le passage que d'une très faible partie des anticorps via la barrière placentaire (Dall'Ara et al. 2015). La majorité des anticorps est donc transférée au chiot après sa naissance, via le colostrum. Il s'agit de la première sécrétion mammaire produite après la mise-bas, qui permet un apport énergétique et immunologique au chiot. Celui de la chienne est particulièrement riche en immunoglobulines : 20 à 30 g/L d'immunoglobulines de type G (Coinus 2014 ; Mila et al. 2015), qui participent à l'immunité systémique, et environ 10 g/L d'immunoglobulines de type A, qui participent à l'immunité locale (Chabanne 2006 ; Tizard 2013 ; Albaret 2016).

Un déficit en immunoglobulines dans les premiers jours de vie est péjoratif à la survie du chiot : le taux de survie des chiots âgés de deux jours ayant un taux circulant d'immunoglobulines G de moins de 230 mg/dL est significativement inférieur à celui de ceux dont la concentration est supérieure à ce seuil (Mila et al. 2014). La prise d'un colostrum de qualité, en quantité suffisante, et avant la fermeture de la barrière intestinale est donc un facteur clé de la survie (Chastant-Maillard et al. 2012).

Dans l'espèce bovine, les éleveurs ont la possibilité d'apporter au veau du colostrum congelé ou des substituts colostraux, permettant un apport acceptable en immunoglobulines (Quickley et al. 2002 ; Jones et al. 2004). Des spécialités vétérinaires de lactosérum bovin contenant des immunoglobulines G sont disponibles, et peuvent être utilisées durant les douze premières heures de vie du veau (Locatim®, Merial, Lyon, France).

Chez le chien, aucun substitut colostré n'est disponible (le lait maternisé disponible n'apporte pas d'immunoglobulines), et aucune étude ne permet de déterminer si l'utilisation des substituts bovins (anticorps hétérologues dirigés contre des pathogènes bovins) serait efficace. L'adoption par une autre chienne ayant mis bas le même jour ou la veille est l'alternative idéale mais cette solution est peu fréquemment possible. De plus, l'utilisation du sérum canin par voie orale ne permet pas d'atteindre le taux minimal d'immunoglobulines protecteur (Chastant-Maillard et Mila 2016).

Les sources les plus logiques d'immunoglobulines seraient donc les sécrétions mammaires canines. La chienne peut produire des sécrétions lactées de trois types : le

colostrum, le lait, ainsi qu'une sécrétion produite pendant la pseudogestation, qui survient à la fin du diœstrus chez la chienne non gestante.

Le colostrum n'est sécrété que pendant les deux premiers jours post partum. De plus, sa concentration en IgG de l'ordre de 20 g/L lors de la mise-bas chute très rapidement, et perd 50 à 70% de sa valeur initiale au cours des premières 24 heures par épuisement du stock en IgG du tissu mammaire (Albaret 2016). Il n'est pas conseillé de traire une chienne au cours des premières heures (pour contribuer à une banque colostrale par exemple) de façon à ne pas dégrader la qualité colostrale pour les chiots de sa propre portée avant la fermeture de leur barrière intestinale.

Au-delà des 48 premières heures, la chienne produit du lait, sécrétion dont la concentration en IgG est faible, d'environ 1 g/L (Chabanne 2006 ; Albaret 2016). La composition immunologique du troisième type de sécrétion, le lait de pseudogestation, est inconnue.

L'objectif de notre étude a été de déterminer si le lait produit au cours de la pseudogestation se rapproche en ce qui concerne les concentrations en immunoglobulines d'une sécrétion de type colostrale ou lactée ; et dans une perspective plus large, s'il pourrait être utilisé comme substitut colostrale.

La partie bibliographique qui suit s'intéresse aux espèces chez lesquelles une lactation de pseudogestation est décrite : parmi elles, deux espèces à ovulation provoquée, la lapine et la furette ; ainsi que la chienne, espèce à ovulation spontanée.

## **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE : LA PSEUDOGESTATION**

Chez les mammifères, l'œstrus signe une croissance folliculaire terminale, permise par la FSH (*Follicle Stimulating Hormon*). L'ovulation suit le pic de LH (*Luteinizing Hormon*) d'environ 24 à 48 heures. Certaines espèces ovulent spontanément, c'est le cas de la chienne, la chèvre et la vache. Chez les espèces à ovulation provoquée, comme la chatte ou la furette, c'est l'accouplement ou la stimulation mécanique vaginale qui provoque le pic de LH et ensuite l'ovulation.

Après l'ovulation, la granulosa folliculaire se lutéinise, formant le corps jaune qui sécrète de la progestérone : c'est la phase de diœstrus. Chez la chienne et les primates, la sécrétion de progestérone débute avant l'ovulation. Chez la plupart des animaux, une faible sécrétion de LH permet le maintien du corps jaune pendant la première moitié du diœstrus. Chez les rongeurs et chez la chienne, la prolactine y contribue. En l'absence de gestation, le corps jaune régresse, après une période variable suivant les espèces (Gayraud 2007). Chez la femelle gestante, le corps jaune se maintient pendant toute la durée de la gestation. Il produit de la progestérone, nécessaire au maintien de la gestation. Son maintien est également permis par d'autres hormones, notamment la prolactine (Concannon 2010).

La pseudogestation se définit par une persistance du corps jaune en l'absence de gestation, associée à des modifications comportementales et/ou morphologiques comparables à celles du péripartum (Allen 1986).

Certains auteurs généralisent la pseudogestation à tout phénomène entraînant la persistance du corps jaune au-delà de la durée d'une phase lutéale, en l'absence de gestation. Si l'on considère cette définition, la pseudogestation est décrite chez de nombreux mammifères : chez les félins comme la chatte (Paape et al. 1975) ou le lynx (Jewgenow et al. 2014), certains mustélidés (Heap et Hammond 1974), les rongeurs (Smith et al. 1975), mais aussi la chèvre (Duquesnel et al. 1992). Des cas sporadiques sont décrits chez l'ours (Schulz et al. 2003) et chez certains primates (Guedes et Young 2004). Chez la femme, la pseudogestation, appelée pseudocyèse, existe chez des personnes qui pensent être enceintes, et qui présentent des signes cliniques de grossesse (aménorrhée, augmentation du volume abdominal). Les cas les plus courants surviennent dans des pays en voie de développement, en milieu rural, où les outils de diagnostic sont peu présents (Tarin et al. 2013).

Une sécrétion lactée peut se mettre en place à la fin de la pseudogestation. Elle est décrite chez la lapine, la furette et la chienne. Cette partie bibliographique s'intéresse donc à ces espèces qui présentent une lactation de pseudogestation.

## A . La pseudogestation chez deux espèces à ovulation provoquée

### I. La pseudogestation chez la lapine

La lapine présente des cycles œstraux irréguliers. L'ovulation est provoquée par un réflexe neuroendocrinien (qui fait suite à l'accouplement) ou par l'administration de GnRH (notamment utilisée en élevage pour synchroniser les inséminations artificielles). Si elle est suivie d'une fécondation, la lapine devient gestante pour une période d'environ 31 jours (Fortun-Lamothe et Bolet 1995).

Le mode de reproduction le plus utilisé en élevage actuellement est la conduite en bandes : l'ovulation est induite en même temps sur un groupe de lapines de façon à obtenir une synchronisation des ovulations puis des gestations ; l'insémination suivante se fait généralement à 11 jours post partum. La lapine d'élevage se trouve donc en lactation au moment de l'insémination, voire de la gestation suivante (Theau-Clément 2008).

Ainsi, l'insémination doit être réalisée à un moment où la lapine est réceptive, en œstrus, c'est-à-dire au moment où elle est apte à ovuler, être fécondée et mener une gestation à terme. En pratique, une lapine est dite réceptive si elle adopte une position de lordose et accepte l'accouplement avec un mâle. Cette réceptivité (Figure 1) est élevée le jour de la mise bas, puis chute à 4 jours post partum pour ensuite croître à nouveau jusqu'à après le sevrage (Fortun-Lamothe et Bolet 1995).

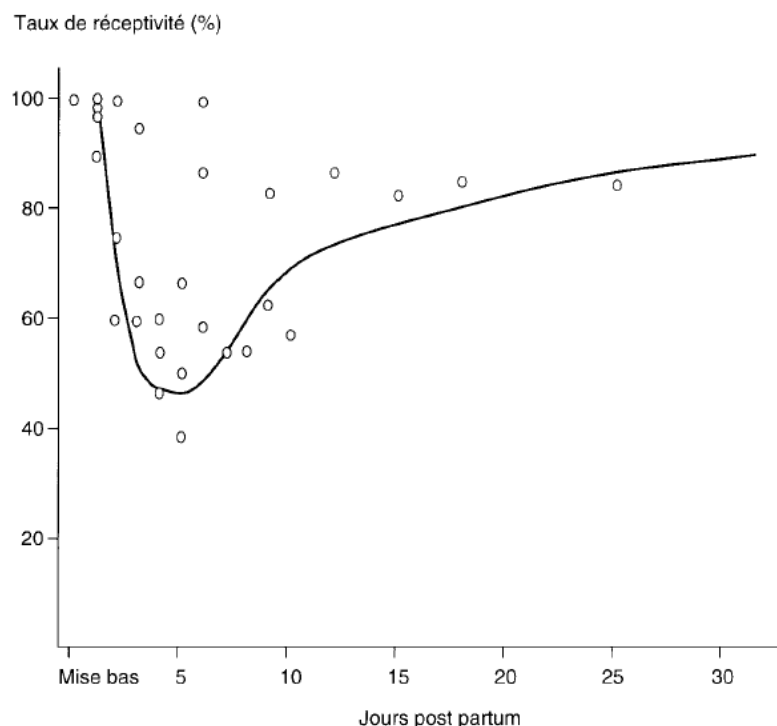


Figure 1 : Réceptivité des lapines en fonction du nombre de jours post partum, d'après Fortun-Lamothe et Bolet (1995).

La croissance folliculaire du cycle suivant se fait pendant la gestation, ce qui permet l'obtention de follicules préovulatoires en postpartum (Theau-Clément 2008b).

### 1) Description

Le phénomène de pseudogestation est très étudié chez la lapine, le plus souvent pas en tant que tel mais pour comprendre les mécanismes d'implantation embryonnaire.

Des corps jaunes ont été observés chez des lapines qui refusaient l'accouplement en période postpartum ou chez des lapines qui n'avaient jamais été mises à la reproduction. Ces corps jaunes produisent de la progestérone, que l'on peut mettre en évidence dans le sang. Au-delà de 1 ng de progestérone par mL de sang, la lapine présente un syndrome dit d'hyperprogestéronémie : elle est pseudogestante. Cette valeur est un consensus établi par les chercheurs, basé sur le fait qu'il existe une corrélation négative entre les lapines qui ont une valeur de progestéronémie supérieure à 1 ng/mL et le pourcentage de fécondation chez celles-ci en post partum (Theau-Clément, 2005).

La pseudogestation est plus courte que la gestation, et dure entre 16 et 18 jours, période pendant laquelle les valeurs en progestérone restent élevées (Boiti et al. 2006).

La comparaison des concentrations sanguines en progestérone chez les femelles pseudogestantes (Figure 2) et gestantes ne montre pas de différence jusqu'à 12 jours après l'ovulation. Les concentrations en progestérone sont maximales dix jours environ après l'ovulation, autour de 15 ng/mL. Lors de pseudogestation, la concentration diminue progressivement pour atteindre des valeurs de l'ordre de 1 ng/mL entre J16 et J18. En cas de gestation, les concentrations diminuent également après J10 mais les valeurs restent élevées, entre 4 et 7 ng/mL, jusqu'à trois jours avant la mise bas (Browning 1980).

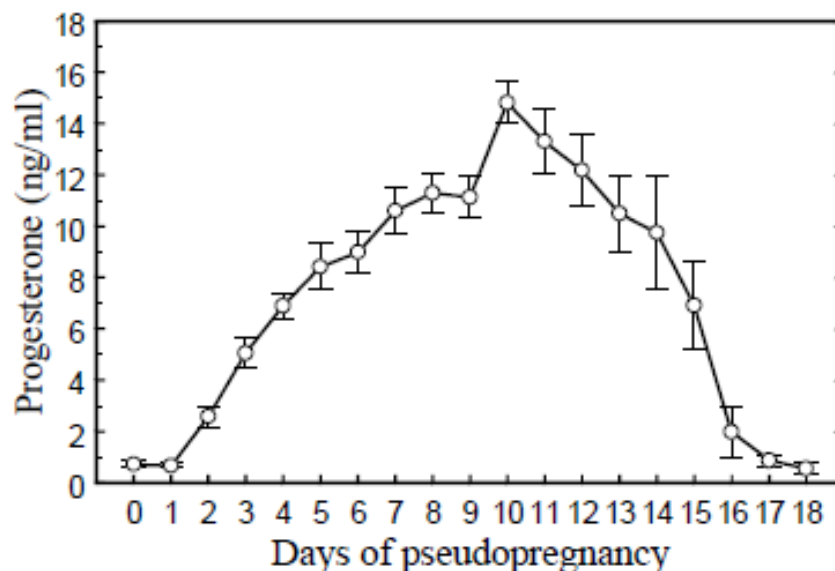


Figure 2 : Concentrations plasmatiques en progestérone durant la pseudogestation chez la lapine. La pseudogestation a été induite par injection de 0,8  $\mu$ g de GnRH. D'après Boiti et al (2006).

### a) Hypothèses hormonales

La cause exacte de ce phénomène est inconnue, mais plusieurs hypothèses ont été formulées : la plus probable serait la survenue d'une ovulation spontanée. En effet, en post partum immédiat, le jour même de la mise bas, la lapine se trouve dans une période de haute réceptivité (Figure 1) ; les stimuli extérieurs, tels que la monte par une autre femelle, peuvent facilement déclencher l'ovulation (Fortun-Lamothe et Bolet 1995; Theau-Clément 2008b).

Une autre possibilité serait la présence d'un corps jaune préexistant à durée de vie prolongée, avec un échec ou une inhibition du mécanisme de lutéolyse (les causes sont inconnues) ; ou encore une lutéinisation partielle de follicules préovulatoires (Boiti et al. 2006).

### b) Influence du stress

Une étude de cas (Carter et al. 2016) rapporte une pseudogestation chez une lapine domestique après cohabitation avec une congénère agressive. Les signes cliniques mis en évidence étaient l'arrachage des poils et la construction d'un nid après séparation d'avec l'agresseur. Une ovariohystérectomie pratiquée dans le cadre de l'étude a permis la mise en évidence de corps jaunes bilatéraux associé à une hyperplasie de la muqueuse utérine.

## 2) Signes cliniques observés

### a) Modifications comportementales

Les signes cliniques de pseudogestation sont rarement observés en élevage et peuvent être confondus avec ceux du post partum, étant donné l'enchaînement rapide des cycles. Les propriétaires de lapines de compagnie rapportent le plus souvent des comportements de nidification : dans l'étude de Salissard (2013) réalisée sur 358 femelles entières, plus de 80% des lapines pseudogestantes utilisent du foin ou leur propre poil qu'elles arrachent pour réaliser un nid (Figure 3). Des modifications mammaires telles qu'hypertrophie mammaire, voire montée de lait surviennent dans environ un tiers des cas.

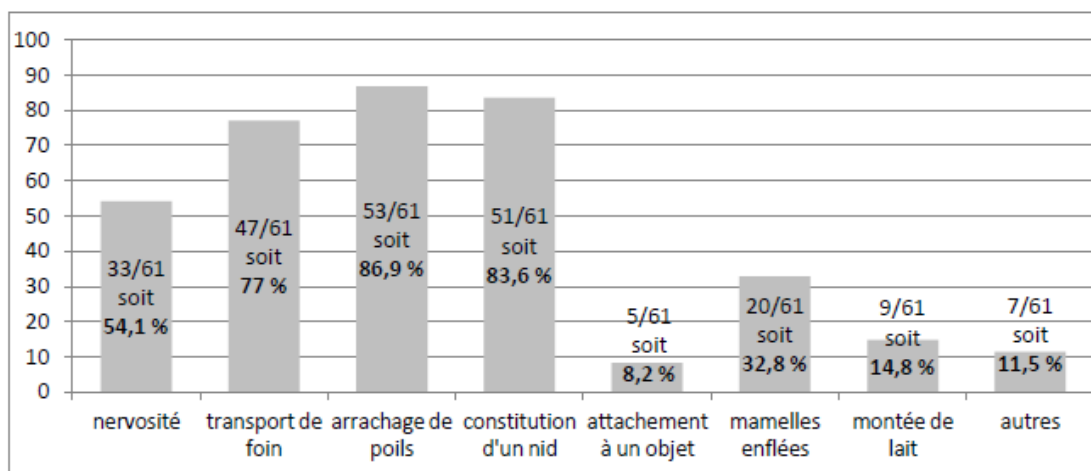


Figure 3: Fréquence des différents signes cliniques observés lors de pseudogestation chez la lapine de compagnie, d'après Salissard (2013).

### b) Modifications utérines

En œstrus, l'épithélium utérin est cylindrique (Figure 4). En début de pseudogestation, le tissu utérin subit des modifications identiques à celles qui se produisent lors de la gestation. On distingue plusieurs phases, J0 correspondant à l'induction de l'ovulation. Dans les premières 24h après induction de l'ovulation, aucun changement morphologique n'a lieu, mais de nombreux leucocytes envahissent l'épithélium. . Entre J1 et J4, la phase proliférative a lieu : l'épithélium subit de nombreuses mitoses, et devient pseudostratifié. Les glandes endométriales prolifèrent. Entre J4 et J6, la structure épithéliale se modifie à nouveau pour redevenir simple et former une seule couche cellulaire. Ce processus permet une augmentation de la surface disponible pour d'éventuelles interactions avec le trophoblaste.

Entre J6 et J8, les cellules de l'épithélium fusionnent et deviennent plurinucléées (Figure 5) ; la fusion est maximale à J7, correspondant au jour éventuel de l'implantation. Entre J8 et J13, le nombre de cellules multinucléées est maximal. Durant toute cette période de prolifération, les changements morphologiques de l'épithélium sont corrélés à l'augmentation des concentrations sanguines en progestérone (Davies et Hoffman 1970 ; Abd-Elkareem 2017).

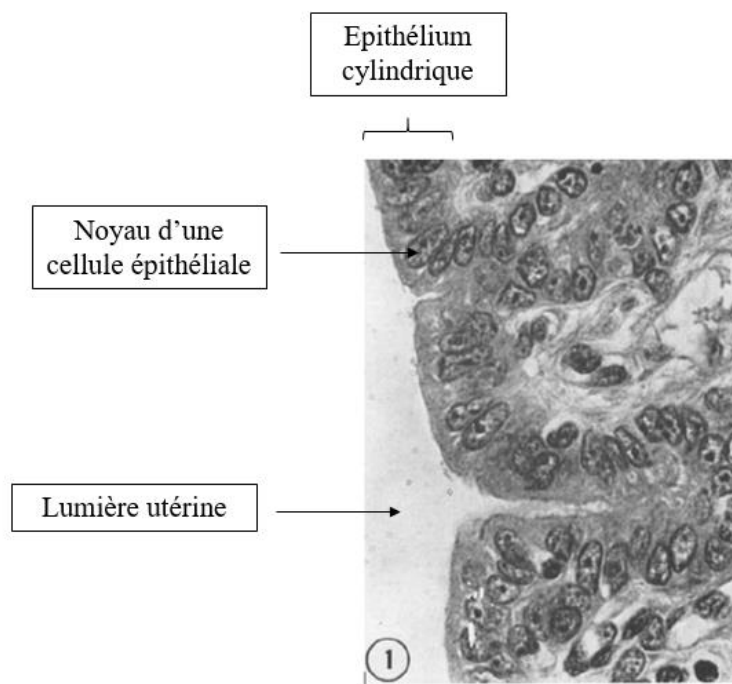


Figure 4 : Coupe histologique d'un épithélium utérin de lapine durant l'œstrus, d'après Davies et Hoffman (1970).



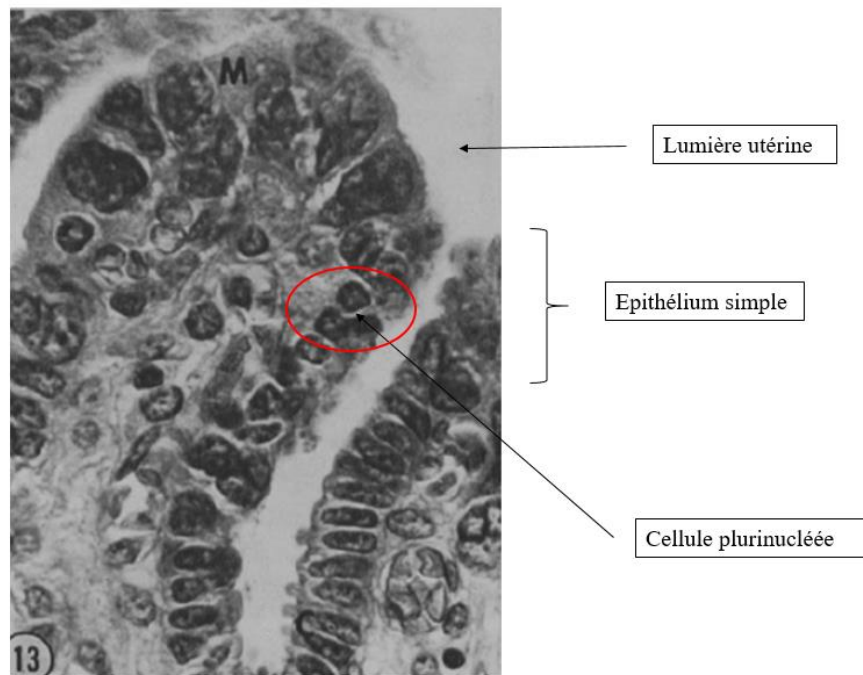


Figure 5 : Coupe histologique d'un épithélium utérin de lapine pseudogestante 8 jours après induction de l'ovulation, d'après Davies et Hoffman (1970).

Ces modifications sont identiques en gestation et pseudogestation. Cependant le processus de fusion semble plus avancé lors de la gestation. En pseudogestation, et donc en l'absence d'implantation, l'épithélium dégénère entre J14 et J16 par des phénomènes d'apoptose et de desquamation cellulaire (Figure 6). Le retour à un épithélium cylindrique et formé de cellules ciliées se fait entre J24 et J28. Ces derniers changements morphologiques sont retardés par rapport à la chute des concentrations sanguines en progestérone, et seraient plutôt corrélés à l'augmentation des concentrations en œstradiol (Busch et al 1986).

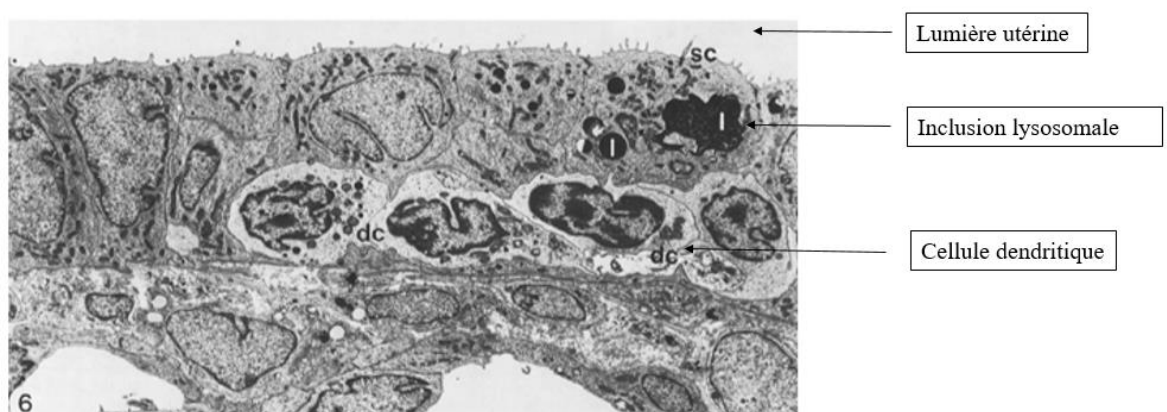


Figure 6 : Coupe histologique d'un épithélium utérin de lapine pseudogestante 20 jours après induction de l'ovulation, d'après Busch et al. (1986).

### c) Modifications mammaires

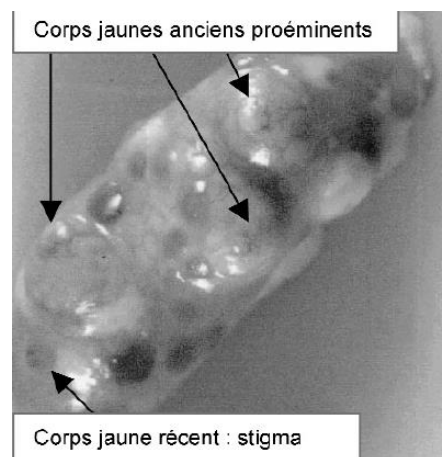
De même que pour l'endomètre utérin, l'hypertrophie mammaire qui se met en place lors de la pseudogestation est corrélée à l'augmentation des concentrations en progestérone.

Cependant, contrairement à la gestation, les mamelles se développent de façon moins importante (notamment en épaisseur). La lactation se met en place uniquement à la fin de la pseudogestation, 19 jours après l'induction de l'ovulation. La substance produite est visuellement semblable à du lait obtenu après une mise bas, et contient des globules gras (Hammond et Marshall 1914).

### 3) Prévalence

La prévalence des pseudogestations est assez importante en élevage : les premières études montrent que 21% des lapines présentent un syndrome d'hyperprogestéronémie en post partum, avant l'induction de l'ovulation (Boiti et al. 1996). Des études plus récentes mettent en évidence des valeurs similaires avec 25,9% de lapines hyperprogestéronémiques à 11 jours post partum (Theau-Clément et al. 2008).

De plus, 20% des lapines primipares inséminées entre J0 et J19 post partum présentent deux générations de corps jaunes 24 heures après l'insémination (Figure 7) : une génération de corps jaunes récents, correspondant à l'injection de GnRH, et une génération de corps jaunes plus anciens et proéminents, qui sont des corps jaunes de pseudogestation (Theau-Clément 2008b).



*Figure 7 : Présence de deux générations de corps jaunes sur un ovaire de lapine 24 heures après insémination artificielle, d'après Theau-Clément (2008).*

La prévalence de cette affection varie en fonction de la parité : 31,2% des lapines primipares sont pseudogestantes, contre 12,2% des lapines secondipares (Theau-Clément et al. 2008). Une autre étude conforte les mêmes résultats : 16% des lapines nullipares sont pseudogestantes, contre 32,5% des lapines primipares et 4% des lapines multipares. De plus, les lapines en lactation sont également plus fréquemment pseudogestantes que celles qui se trouvent hors lactation (Theau-Clément et al. 2005).

Enfin, le type de logement influence la survenue de pseudogestations : 23% des lapines logées en groupe présentent ce syndrome, alors qu'il n'est pas observé chez des lapines logées individuellement (Rommers et al. 2006). Un questionnaire diffusé auprès de 57 propriétaires et éleveurs de lapins de compagnie et portant sur 358 lapines montre que 68,4% des lapines ont présenté au moins une fois dans leur vie une pseudogestation. Celle-ci est définie dans cette étude par la présence de signes cliniques : nervosité, nidification, hypertrophie mammaire ou production du lait (les concentrations sériques en progestérone n'ont pas été mesurées). Les

mêmes tendances qu'en élevage sont retrouvées : les femelles qui cohabitent dans le même enclos sont plus à même de développer une pseudogestation. La plupart du temps, les propriétaires sont capables de rapprocher l'épisode d'un stimulus déclenchant : monte entre femelles, chevauchement par un mâle castré ou échec de saillie. La moyenne d'âge de survenue de la pseudogestation est de 1,5 ans (avec des valeurs très disparates comprises entre 3 mois et 5 ans). La durée des signes cliniques est évaluée à 6,4 jours (là encore avec une forte variabilité, entre 1,5 et 30 jours) (Salissard 2013).

#### 4) Conséquences

Ce phénomène impacte de façon importante les performances de reproduction en élevage cynicole, car l'imprégnation progestéronique peut inhiber la sécrétion des gonadotropines et le neuroréflexe indispensables à l'ovulation. Dans les cas où l'ovulation a quand même lieu, l'imprégnation progestéronique est responsable d'effets anti-reproductifs : diminution du pourcentage de fécondation ou de mise bas. En effet, le pourcentage de mise bas après saillie chez les lapines hyperprogestéronémiques est de 9 % contre 88% chez des lapines ne présentant pas de pseudogestation (Rommers et al. 2006). La figure 8 résume l'évolution des concentrations en progestérone et de l'épithélium utérin au cours de la pseudogestation chez la lapine :

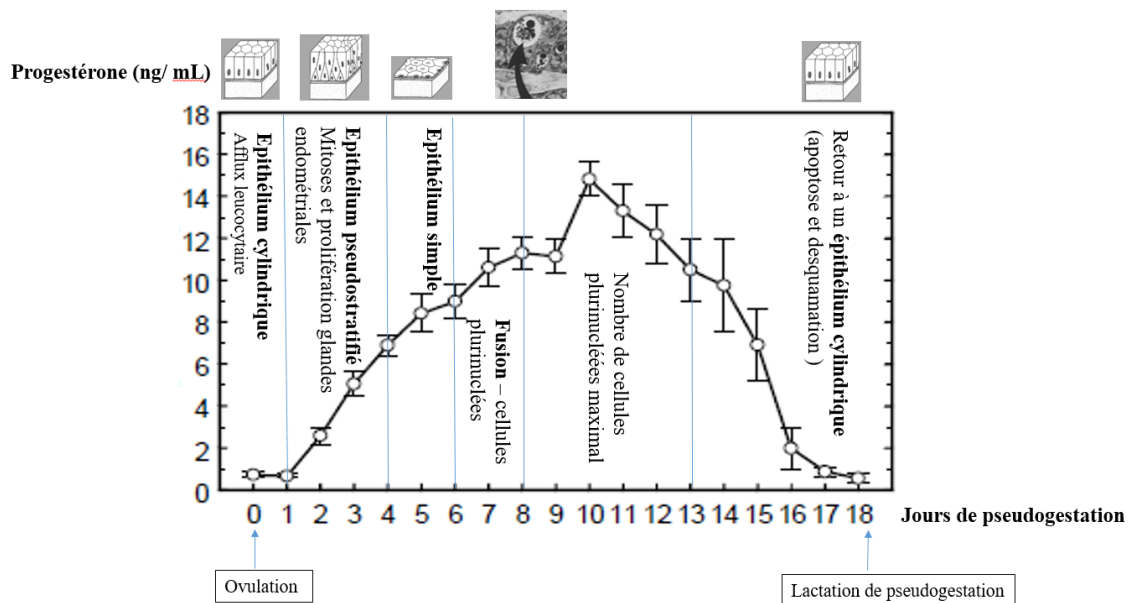


Figure 8 : Bilan - La pseudogestation chez la lapine - Concentrations en progestérone et modifications morphologiques de l'épithélium utérin.

## II. La pseudogestation chez la furette

Des cas de pseudogestation sont décrits chez les Mustélidés, principalement chez la furette domestique, mais également chez le vison et le glouton (Mead et al. 1993).

La furette présente une reproduction saisonnée en jours longs, associée à une ovulation provoquée. Elle est en œstrus permanent de fin mars à début août ; durant cette période, une cohorte folliculaire est toujours disponible, permettant l'ovulation en cas de stimulus. Comme chez la lapine, cette ovulation peut être provoquée par une stimulation du col de l'utérus lors du coït ou par l'administration d'hCG (*human Chorionic Gonadotropin*) (Lindeberg 2008).

Très peu de données sont disponibles sur la pseudogestation chez la furette, et les sources sont relativement anciennes. Sa prévalence n'est pas connue.

### 1) Description

Si l'ovulation est suivie d'une fécondation, la furette devient gestante durant 41 jours environ (39 à 42 jours). En l'absence de fécondation, le corps jaune persiste pour une durée équivalente à celle de la gestation, 40 à 42 jours : la furette est pseudogestante (Lindeberg 2008).

Les concentrations sanguines en progestérone sont identiques au cours de la gestation et de la pseudogestation (Heap et Hammond 1974). Les valeurs maximales en progestérone sont atteintes 14 jours après l'ovulation, avec des valeurs pouvant aller jusqu'à 50 ng/mL (Figure 9).

### 2) Signes cliniques observés

De même que chez la lapine, des comportements de nidification peuvent être observés. On remarque également une augmentation du volume mammaire, et une prise de poids inconstante (Blancher 2003).

### 3) Modifications utérines

Les modifications utérines sont, comme chez la lapine, identiques en pseudogestation et gestation. En anœstrus, l'épithélium utérin est cubique. Après l'ovulation il devient cylindrique puis pseudostratifié à partir de J4. De nombreuses mitoses ont lieu. Dix à douze jours après le début de l'ovulation, moment qui correspond à l'implantation dans le cas d'une gestation, les cellules épithéliales deviennent de plus en plus grandes jusqu'à se regrouper pour former un syncytium. Ces cellules plurinucléées persistent jusqu'à 25 à 30 jours après le début de la pseudogestation. Puis, 35 à 40 jours après l'ovulation, l'épithélium redevient cubique par les mêmes phénomènes cellulaires que ceux observés chez la lapine (Hammond et Marshall 1930 ; Buchanan 1966).

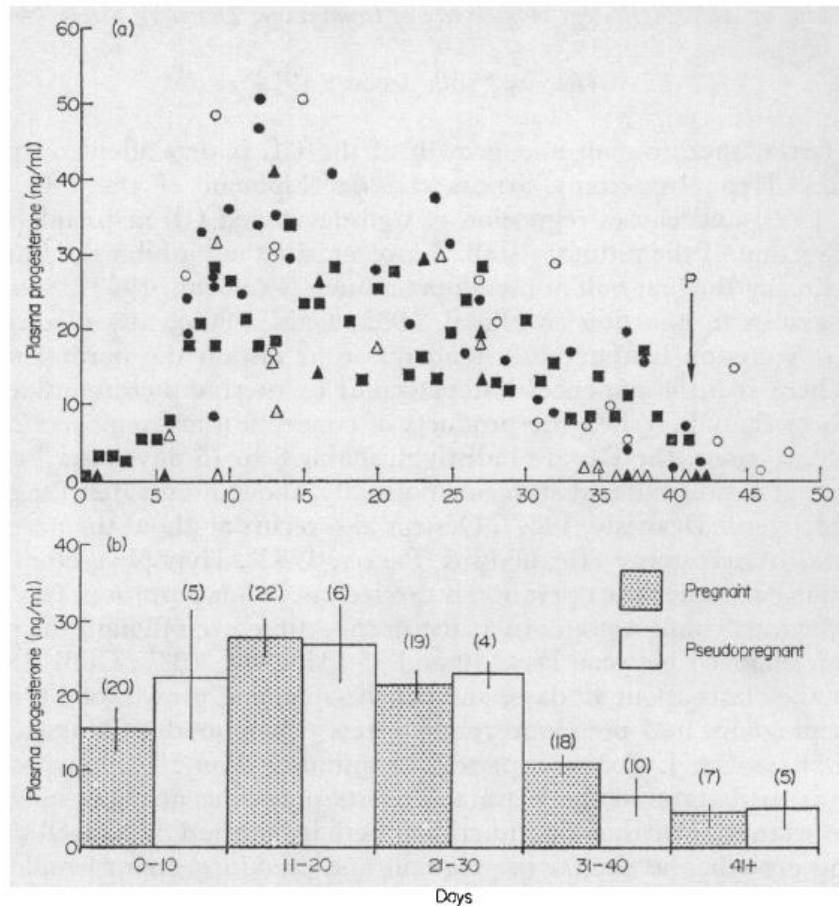


Figure 9 : Comparaison des concentrations sériques en progestérone chez des furettes gestantes (formes pleines) et pseudogestantes (formes vides). Ovulation à J0, chaque forme correspond à une technique de dosage : fluorimétrie (ronds), ELISA (carrés) et radioimmunologie (triangles). D'après Heap et Hammond (1974).

#### 4) Modifications mammaires

L'évolution du tissu mammaire est comparable en gestation et pseudogestation. Les mamelles s'hypertrophient dans un premier temps en direction de la ligne blanche ; puis à partir de la troisième semaine, l'hypertrophie se fait dans toutes les directions. Les structures alvéolaires puis la sécrétion lactée se mettent en place à la fin de la pseudogestation, cinq semaines et demi environ après l'ovulation. La durée de la pseudogestation étant la même que celle de la gestation, le développement des glandes mammaires est plus complet que chez la lapine.

Ces deux femelles à ovulation provoquée, lapine et furette, peuvent donc exprimer en fin de diœstrus une pseudogestation clinique. La principale différence entre ces deux espèces est la durée de la pseudogestation : moitié de celle de la gestation chez la lapine et durée identique à celle de la gestation chez la furette. Ainsi, chez la lapine, le développement de la glande mammaire est partiel.

## **B. La pseudogestation chez la chienne**

### **I. Particularités de la physiologie sexuelle de la chienne**

La chienne est une espèce monoœstrienne, qui ne présente qu'un seul cycle sexuel par période de reproduction. C'est une espèce à ovulation spontanée : celle-ci se produit en fin d'œstrus et survient deux jours après le pic de LH. La phase lutéale, ou diœstrus, a une durée de 50 à 80 jours, quasiment identique à la durée de la gestation (qui dure 63 jours environ). Ainsi, à chaque cycle, un corps jaune est présent pendant environ 2 mois (Concannon 2010).

De ces particularités découlent encore deux définitions de la pseudogestation, cette fois-ci propres à la chienne. On peut choisir de considérer toute chienne en diœstrus comme pseudogestante, même si aucun signe clinique n'est présent. C'est ce qui est nommé dans la littérature anglosaxonne « *covert pseudopregnancy* », pseudogestation secrète, cachée. Selon cette définition, la pseudogestation est donc un phénomène physiologique, qui se produit chez toutes les chiennes. Au cours de chaque cycle, des modifications morphologiques sont présentes, notamment au niveau du tissu mammaire ; la plupart du temps, elles passent inaperçues.

Cependant, certaines chiennes expriment des signes cliniques marqués lors du diœstrus, principalement dans sa dernière partie ; on retrouve dans la littérature le terme d'« *overt pseudopregnancy* », pseudogestation exprimée, visible (Concannon et al. 2009).

### **II. Signes associés à une pseudogestation clinique**

Peu d'études s'intéressent à la prévalence de cette affection, mais 50 à 75% des chiennes non stérilisées présenteraient au moins une fois dans leur vie une pseudogestation clinique. Parmi celles-ci, 7% présenteraient des lactations irrégulières (Gobello et al. 2001a ; Mir et al, 2013). De plus, les valeurs sont variables suivant les études, en fonction des critères choisis pour définir l'occurrence d'une pseudogestation, selon par exemple que la définition repose sur l'hypertrophie mammaire ou sur la présence d'une lactation (Razzaque et al. 2008 ; Fontbonne 2016).

La pseudogestation se manifeste par des signes comportementaux comparables à ceux de la chienne en période péripartum comme la nidification, le maternage d'objets, ou l'adoption des chiots d'une autre chienne. D'autres signes moins fréquents tels que de l'agitation, de l'anorexie, de l'agressivité ou encore le léchage de l'abdomen peuvent être présents. Ces signes apparaissent six à vingt semaines après le début de l'œstrus.

Des modifications physiques peuvent coexister et apparaissent en général dans un second temps : prise de poids, augmentation du volume mammaire, production et sécrétion de lait, et parfois des contractions abdominales mimant celles de la parturition.

D'autres signes peuvent survenir mais sont beaucoup moins fréquents : vomissements, diarrhée, polyuro-polydipsie, polyphagie (Gobello et al 2001c ; Razzaque et al. 2008 ; Fontbonne 2016). Les complications de type infectieux (mammites) sont rares : elles

surviennent dans environ 2% des cas et peuvent apparaître suite à un léchage prolongé (Fontaine et al 2017).

Le diagnostic différentiel doit d'abord se faire avec une réelle gestation : en effet, certaines chiennes peuvent produire des sécrétions lactées jusqu'à deux semaines avant la mise bas. Il faut également distinguer la pseudogestation d'un pyomètre, qui survient au même moment du cycle et peut provoquer une distension abdominale, des troubles digestifs et une polyuro-polydipsie.

### III. Causes hormonales

La pseudogestation implique des mécanismes proches de ceux de la gestation et du dioestrus, qui sont expliqués dans les deux paragraphes suivants.

#### 1) Cas d'une chienne non gestante et n'exprimant pas de signes cliniques marqués de pseudogestation

Le dioestrus peut être séparé en deux parties : une première où le corps jaune sécrète de façon importante de la progestérone, jusqu'à un plateau (15 à 80 ng/mL) entre le vingtième et le trente-cinquième jour après le pic de LH ; puis la production diminue jusqu'à des valeurs basales inférieures à 1 ng/mL environ 70 jours après le pic de LH (Figure 10).

Pendant la première phase, la progestérone en concentration importante stimule la production de GH (hormone de croissance) au niveau mammaire. Ceci permet la prolifération du tissu mammaire. La progestérone entraîne également l'hyperplasie de l'endomètre utérin et une hypertrophie des glandes endométriales. Enfin, elle est inhibitrice de la sécrétion de prolactine.

En deuxième partie de dioestrus, le corps jaune régresse : les concentrations décroissantes de progestérone permettent la levée de l'inhibition exercée sur la prolactine. En retour, cette dernière devient lutéotrope et autorise le maintien du corps jaune pendant la fin du dioestrus. La prolactine permet également la différenciation finale du tissu mammaire. Souvent, ces modifications mammaires présentes à chaque cycle ne sont que peu visibles ; elles peuvent être mises en évidence par palpation (Kooistra et Okkens 2001, 2002 ; Concannon et al. 2009).

#### 2) Cas d'une chienne gestante

##### a) Avant mise bas

Les concentrations en progestérone sont identiques chez la chienne gestante et non gestante. Cependant, la croissance et la décroissance de la progestéronémie sont plus rapides chez la chienne gestante. De plus, le catabolisme hépatique de la progestérone est plus rapide lors de la gestation; le corps jaune gestationnel produit donc l'hormone en quantité plus importante (Verstegen-Onclin et Verstegen 2008 ; Concannon 2010) (Figure 11).

La relaxine, produite par le placenta, est la seule protéine spécifique de la gestation connue chez la chienne. Elle permet le maintien de la production de progestérone par le corps jaune, et

indirectement l'augmentation de la sécrétion de prolactine (Concannon et al. 2009). La prolactinémie augmente comme chez la chienne non gestante après la première moitié de la gestation ; cependant elle continue d'augmenter jusqu'à la mise bas, et est présente dans des concentrations plus importantes qu'hors gestation. Sa valeur est maximale le jour de la parturition, supérieure à 40 ng/mL (Concannon 1986 ; Kooistra et Okkens 2001).

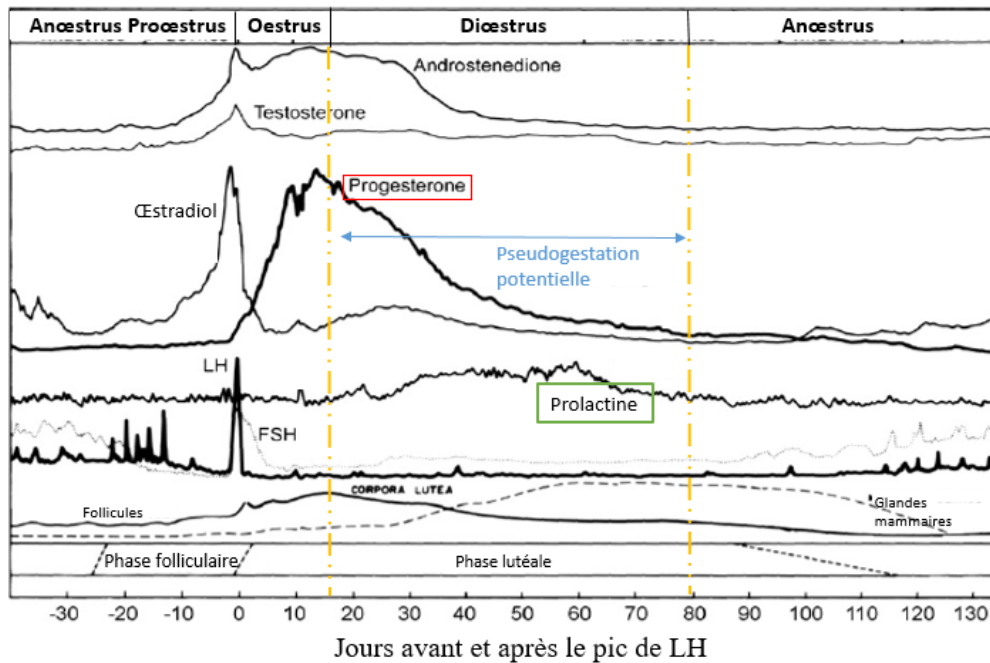


Figure 10 : Evolution des profils hormonaux chez la chienne non gestante, adapté de Concannon (2010).

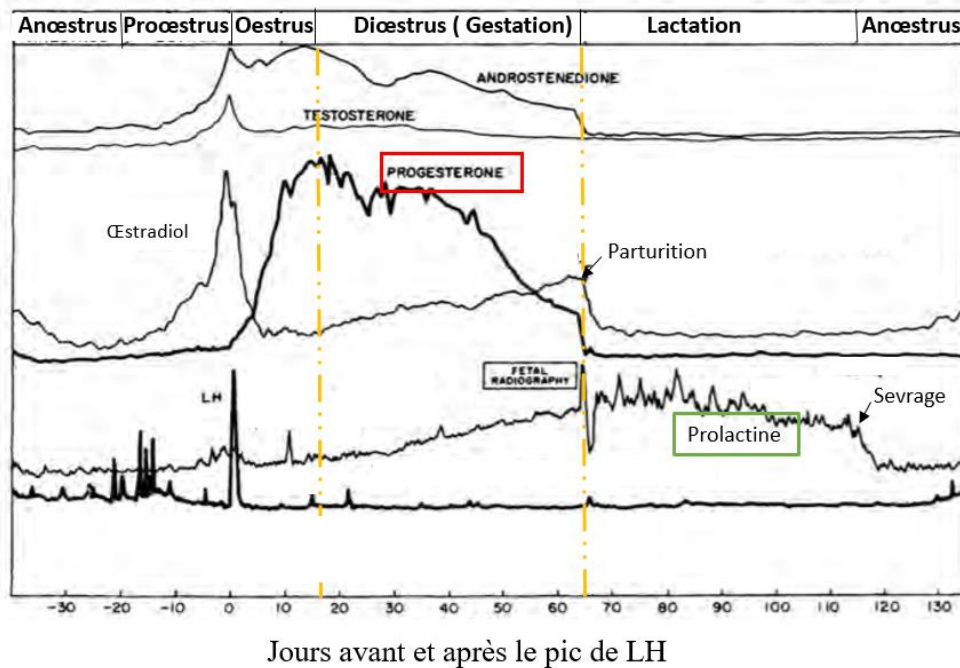


Figure 11 : Evolution des profils hormonaux chez la chienne gestante, adapté de Concannon (1986).



### b) Après mise bas

L'ocytocine permet l'éjection du lait en stimulant la contraction des cellules alvéolaires mammaires. Elle est libérée par la neurohypophyse en réponse à un stimulus mécanique comme la tétée. La prolactine permet le maintien de la lactation (Abdou 2012 ; Concannon 2010).

### 3) Cas d'une chienne présentant une pseudogestation clinique

Les mécanismes exacts de déclenchement des pseudogestations cliniques n'ont pas encore été entièrement élucidés. Une pseudogestation clinique peut se développer dans différentes circonstances : spontanément, à la fin du diœstrus, sans qu'il ne semble y avoir de facteur déclenchant ; après une ovariectomie chez une chienne en diœstrus ; à la fin d'un traitement progestatif de longue durée et enfin en réponse à des traitements anti-progestatifs (des cas sont décrits après utilisation d'aglépristone) (Fontbonne 2016).

Historiquement, les auteurs pensaient que la pseudogestation était due à une surproduction de progestérone ou à une persistance anormalement longue du corps jaune, car pseudogestation et pyomètre avaient lieu au même moment du cycle. Les études actuelles ne permettent pas de trancher sur la comparaison de la progestéronémie des chiennes gestantes et pseudogestantes : certaines mettent en évidence une progestéronémie plus élevée chez les chiennes gestantes que chez des chiennes présentant une pseudogestation clinique (Ozyurtlu et Alaçam 2006), d'autres ne montrent pas de différence significative entre les deux groupes (Gobello et al 2001d).

Par contre, le rôle de la prolactine a été clairement démontré : des chiennes présentant des signes cliniques de pseudogestation traitées avec des inhibiteurs de la prolactine (bromocriptine ou cabergoline) voient leur concentration sanguine en prolactine diminuer, corrélativement avec les signes cliniques associés à la pseudogestation (Gobello et al 2001d). Chez les chiennes non traitées, le taux de prolactine reste élevé (Figure 12).

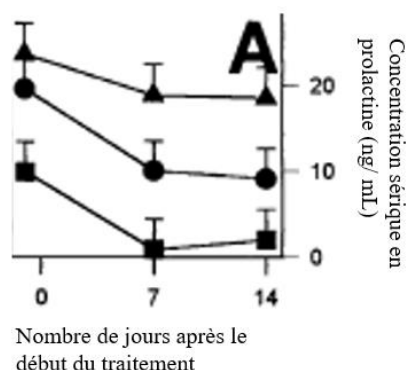
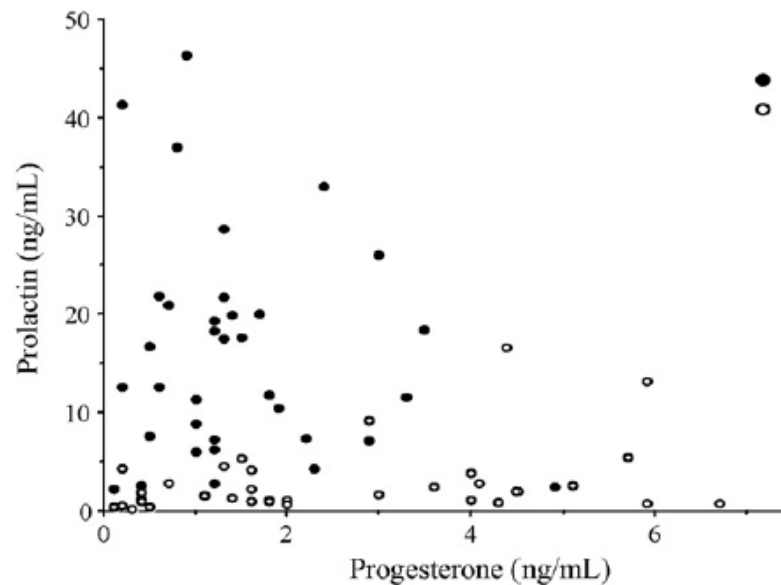


Figure 12 : Concentrations sanguines en prolactine chez des chiennes pseudogestantes entre J0 et J14 : triangles, groupe placebo ; ronds : chiennes traitées par la bromocriptine ; carrés : chiennes traitées par la cabergoline. D'après Gobello et al (2001d).

La prolactinémie des chiennes pseudogestantes se situe suivant les études entre 13,8 ng/mL et 17,70 ng/mL (Gobello et al 2001b ; Tsutsui et al. 2007), pour des valeurs comprises entre 2,9 ng/mL et 6,3 ng/mL chez des chiennes au même stade du cycle mais n'exprimant aucun signe clinique. Elle semblerait donc en moyenne être plus haute chez les chiennes pseudogestantes (Figure 13).



*Figure 13 : Concentrations en prolactine et en progestérone chez des chiennes pseudogestantes (ronds noirs) et chez des chiennes en diæstrus n'ayant jamais présenté de signes de pseudogestation, d'après Tsutsui et al (2007).*

Cependant, de grandes variations interindividuelles sont notées. Certaines chiennes avec des valeurs de prolactine basses peuvent développer une pseudogestation avec des signes cliniques très marqués, et inversement, comme on peut le voir sur la figure 13 (Tsutsui et al. 2007). La valeur absolue de la prolactinémie n'est pas toujours corrélée à l'intensité des signes observés. Une augmentation forte de la prolactinémie suite à une décroissance abrupte des concentrations en progestérone semble favoriser l'apparition d'une pseudogestation clinique, mais là encore uniquement chez certaines chiennes (Gobello et al. 2001a). On ne sait donc pas si c'est plutôt la valeur absolue ou la cinétique de la prolactinémie qui est en cause.

Outre les variations quantitatives de la prolactine, sur le plan qualitatif, il existe plusieurs formes de prolactine circulante chez la chienne. L'utilisation de la chromatographie révèle l'existence de 4 fragments de tailles différentes. Néanmoins, ils sont présents en proportion comparable que les chiennes soient pseudogestantes ou non (Gobello et al. 2001b).

Une explication à cette variabilité importante en ce qui concerne les concentrations en progestérone et prolactine chez les chiennes pseudogestantes serait une différence de sensibilité à la prolactine suivant les chiennes. Certaines races seraient prédisposées, le beagle notamment, mais aucune étude ne comporte assez de chiennes pour mettre en évidence des différences interraciales. Une explication à cette différence de sensibilité serait que certaines races ont une phase lutéale plus courte, pouvant entraîner une décroissance abrupte en progestérone

responsable de la pseudogestation. Enfin, il semble exister une prédisposition individuelle : les chiennes ayant un historique de pseudogestation auraient une probabilité plus importante de développer à nouveau une pseudogestation clinique (Gobello et al, 2001c).

#### **IV. Causes comportementales**

Certains auteurs évoquent une origine sociale à la pseudogestation, un comportement vestigial qui permettrait de nourrir la portée d'une autre femelle (Van der Weyde et al. 2015). L'étude des cycles sexuels chez les canidés non domestiqués montre l'existence d'un tel phénomène : chez les loups éthiopiens par exemple, chez lesquels les œstrus sont synchronisés au sein de la meute, certaines femelles subordonnées sont capables en diœstrus d'allaiter les louveteaux du couple dominant (Van Kesteren et al. 2013). Toutefois, il semblerait que la pseudogestation clinique soit moins fréquente chez des chiennes élevées en communauté en chenil que chez des chiennes vivant seules chez des particuliers (Fontbonne 2016).

#### **V. Prise en charge des chiennes présentant des signes marqués ou persistants**

##### 1) Mesures hygiéniques

Le plus fréquemment, les signes observés se résolvent spontanément en deux à quatre semaines, sans nécessiter aucune prise en charge. Dans un premier temps, des mesures hygiéniques simples peuvent être prises. Si la chienne n'entretient pas la lactation par du léchage, celle-ci cesse spontanément. Le port d'une collerette peut permettre de résoudre ce problème. Les nids construits peuvent être défaits et les objets qui sont maternés retirés.

##### *a) Effet d'une restriction alimentaire à court terme*

Hermo et al ont pratiqué en 2009 une restriction alimentaire sur des chiennes pseudogestantes pendant 8 jours : les chiennes recevaient 50% de leurs besoins énergétiques pendant 2 jours, puis 40% pendant 3 jours, puis 30% pendant 2 jours. Après 5 jours, 75% des chiennes restreintes présentent des signes cliniques diminués (contre 25% des chiennes qui recevaient une ration complète). Après huit jours, 100 % des chiennes restreintes avaient des signes cliniques diminués contre 25% des témoins. Les concentrations sanguines en prolactine sont restées identiques dans les deux groupes au cours de l'étude. Une restriction alimentaire à court terme ne permet donc pas une résolution complète de la pseudogestation, mais une diminution des signes cliniques observés (Hermo et al. 2009).

##### *b) Effet d'une restriction alimentaire à long terme*

Lawler et al (1999) se sont également intéressés à cette restriction pratiquée sur une plus longue durée : des chiennes labradors âgées de 6 semaines ont été restreintes à 75% de leur besoin énergétique pendant plusieurs années. Toutes les chiennes non restreintes (14) ont présenté au moins une fois dans l'étude une pseudogestation clinique, contre seulement 9 chiennes restreintes (64 %). De plus, 10 chiennes non restreintes (71 %) ont présenté plusieurs épisodes de pseudogestation contre 50% des chiennes restreintes.

## 2) Traitement médical

### a) Régulation de la synthèse et de la sécrétion de la prolactine

La prolactine est une hormone produite par l'hypophyse. Sa synthèse et sa sécrétion sont régulées au niveau central (hypothalamus) et périphérique (gonades et thyroïde). Le contrôle hypothalamique est principalement inhibiteur et se fait via différents neurotransmetteurs : la dopamine, qui, en se liant aux récepteurs dopaminergiques de type D2 de l'antéhypophyse, inhibe la sécrétion de prolactine ; l'acide gamma aminobutyrique (*GABA*) inhibe quant à lui la synthèse de la prolactine. D'autres ont un effet positif sur la sécrétion de prolactine, comme la sérotonine ou la TRH (*Thyrotropin Releasing Hormon*) (Touraine et Goffin 2005) (Figure 14).

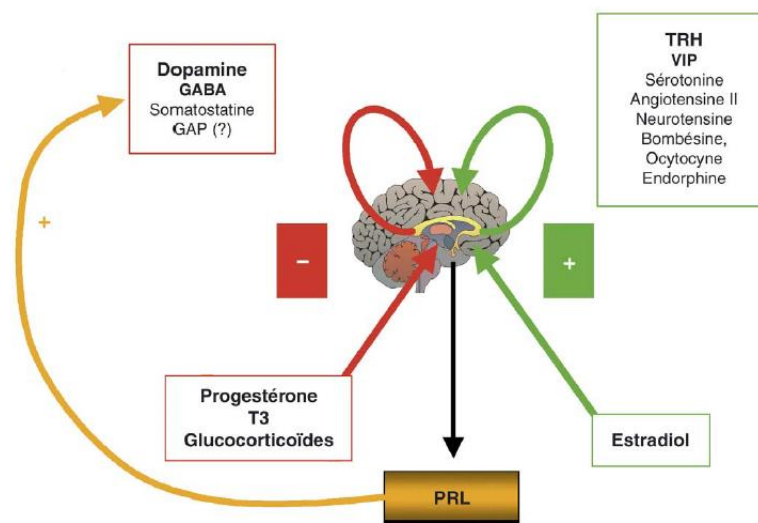


Figure 14 : Régulation de la synthèse et de la sécrétion de prolactine (*GABA* : acide gamma amino-butyrique ; *GAP* : *Gonadotropin releasing hormone Associated Peptid* ; *TRH* : *Thyroxin Releasing Hormon* ; *VIP* : *Vaso-Intestinal Peptid*). D'après Touraine et Goffin (2015).

### b) Molécules disponibles

Différentes molécules sont actuellement utilisées en médecine vétérinaire. Ce sont des alcaloïdes de l'ergot, qui sont des antagonistes de la prolactine.

- **Cabergoline**

La cabergoline est un agoniste de la dopamine qui possède une action centrale sur l'antéhypophyse de longue durée, jusqu'à plusieurs jours après l'arrêt du traitement. Elle doit être administrée à la dose de 5 µg/kg/jour pendant 5 à 10 jours par voie orale. Les effets secondaires qui peuvent se manifester sont des vomissements, relativement rares (observés chez moins de 5% des chiennes), car elle franchit peu la barrière hémato-méningée. Différentes spécialités vétérinaires sont disponibles sous forme buvable : Galastop®, Finilac® et Kelactin® (Mallem 2016).

Plusieurs études s'intéressent à l'efficacité de la cabergoline dans la résolution des symptômes de la pseudogestation : en 1988, Arbeiter et al comparent l'efficacité de deux voies d'administration de la cabergoline : une administration orale à 5 µg/kg une fois par jour pendant 5 jours et des injections sous cutanées aux doses de 5 µg/kg, 2,5 µg/kg ou 1,5 µg/kg une fois par jour pendant la même durée. Les efficacités des deux voies d'administration sont comparables (hypertrophie et sécrétion mammaires sont complètement résolues 10 jours après le début du traitement) mais la voie sous cutanée entraîne des effets émétisants très fréquents (65,7 % des chiennes vomissent à la première injection contre 3% des chiennes traitées par voie orale) (Arbeiter et al. 1988).

L'utilisation de la cabergoline par voie orale à la dose de 5 µg/kg pendant 5 jours permet selon les propriétaires une résolution complète des signes cliniques dans 75 % des cas au cinquième jour du traitement (étude menée sur 26 chiennes). Les concentrations sanguines en prolactine diminuent dans 80 % des cas entre le début et la fin du traitement (Harvey et al. 1997).

Bastan et al (1998) évaluent l'efficacité de la cabergoline dans l'arrêt de la sécrétion lactée chez 22 chiennes pseudogestantes. Les critères utilisés pour caractériser la pseudogestation sont l'aspect des mamelles (présence ou non d'une hypertrophie) et le type de sécrétion lactée (lait, liquide séreux ou absence de sécrétion). Les chiennes ont été traitées à la dose de 5 µg/kg de cabergoline par voie orale pendant 4 jours. Après ces 4 jours, 95,5 % des chiennes ne présentent plus de sécrétion lactée ni d'hypertrophie mammaire, et 6 jours après le début du traitement, plus aucune chienne ne présente de modifications mammaires. En ce qui concerne les signes comportementaux observés lors de pseudogestation, les chiennes retrouvent un comportement normal 6 jours après le début du traitement (Bastan et al. 1998).

Enfin, une étude comparée de l'efficacité de la bromocriptine, un autre alcaloïde de l'ergot, et de la cabergoline à un traitement placebo montre des résultats similaires. Après un traitement de 7 jours les animaux sont répartis en trois groupes : 0 correspondant à des glandes mammaires au repos et sans sécrétion ; I à une hypertrophie mammaire accompagnée d'une sécrétion séreuse ; et II à une hypertrophie mammaire accompagnée d'une sécrétion lactée. Sept jours après le début du traitement, 50% des chiennes traitées avec de la cabergoline ont atteint le grade 0 (contre 0% dans le groupe placebo), et 90% l'ont atteint à 14 jours (contre toujours 0% dans le groupe placebo) (Figure 15) (Gobello et al, 2001b).

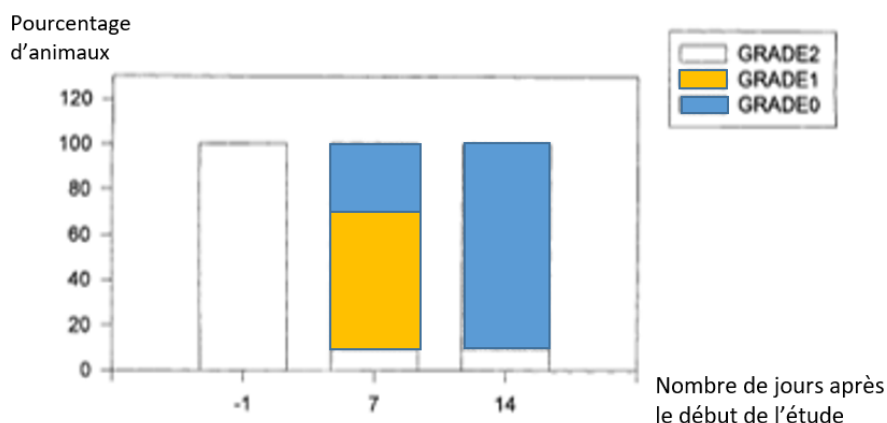


Figure 15 : Réponse clinique des chiennes pseudogestantes à la cabergoline 7 et 14 jours après le début du traitement, d'après Gobello et al (2001d).

- **Méteergoline**

La méteergoline est un inhibiteur compétitif de la sérotonine (elle vient se fixer sur ses récepteurs), et possède donc elle aussi une action centrale, mais de plus courte durée ; elle doit ainsi être utilisée deux fois par jour à cause de son élimination rapide. La dose recommandée est de 0,1 mg/kg, pendant 7 à 10 jours par voie orale. Une seule spécialité vétérinaire est disponible, dans deux dosages différents : le Contralac 5® et le Contralac 20®. A cause de son action antisérotoninergique, elle ne doit pas être utilisée chez des chiennes présentant des modifications comportementales importantes. Les effets secondaires émétisants sont peu fréquemment observés (moins de 10% des chiennes vomissent lors du traitement) (Mallem 2016).

Une seule étude s'intéresse à l'efficacité de la méteergoline sur les chiennes pseudogestantes : Castex et al (2002) ont administré de la méteergoline à la dose de 0,1 mg/kg deux fois par jour pendant 10 jours à 14 chiennes. Le groupe témoin (10 chiennes) recevait un placebo. Les chiennes ont été réparties en différents grades suivant le type de sécrétions lactées observées à J7 et J14 (les mêmes grades que ceux utilisés dans l'étude de Gobello et al en 2001 (b) sur l'efficacité de la cabergoline). Toutes les chiennes étaient en grade II avant le début du traitement. Sept jours après le début du traitement, 8 chiennes sur les 14 traitées avec la méteergoline étaient passées en grade 0, et 5 en grade I (aucune en grade 0 et 3 en grade I pour le groupe témoin) ; 14 jours après le début du traitement, 10 chiennes traitées étaient passées en grade 0, et 3 d'entre elles en grade I (aucune en grade 0 et 5 en grade I pour le groupe contrôle). Des effets secondaires d'hyperexcitation et des nausées ont été observés sur une des chiennes traitées, mais n'ont pas conduit à l'arrêt du traitement (Figure 16) (Castex et al 2002).

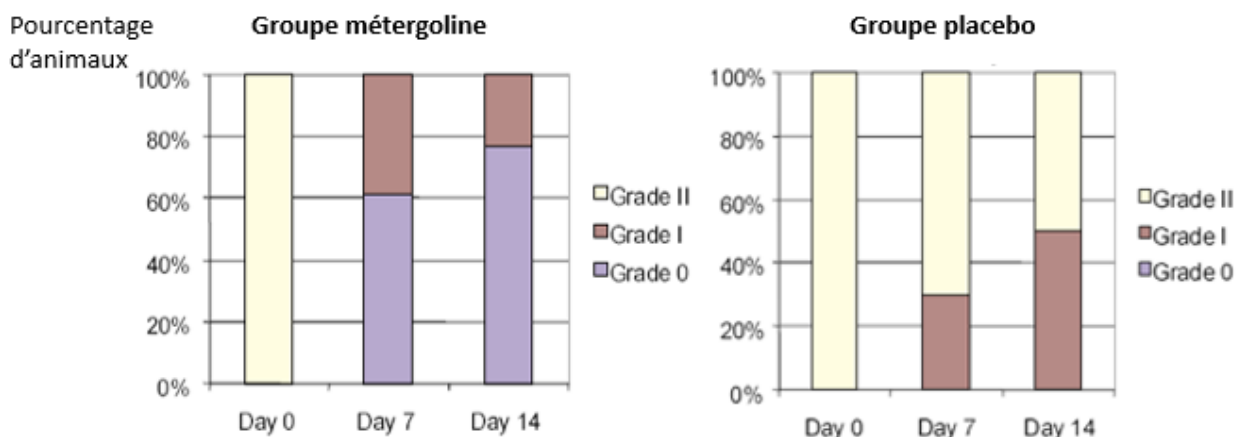


Figure 16 : Comparaison de l'évolution des signes cliniques chez les chiennes ayant reçu de la métergoline et celles ayant reçu un placebo, 7 et 14 jours après le début du traitement (grade 0 : glandes mammaires au repos ; grade I : hypertrophie mammaire et sécrétion séreuse ; grade II : hypertrophie mammaire et sécrétion lactée). D'après Castex et al (2002).

- **Cabergoline ou métergoline ?**

Aucune étude ne s'intéresse à la comparaison de l'efficacité de ces deux molécules. Le choix entre l'une ou l'autre doit se faire en tenant compte de l'anamnèse et des commémoratifs de l'animal communiqués par le propriétaire, ainsi que de l'examen clinique réalisé sur l'animal. Ainsi, chez une chienne anxieuse ou agressive, on préférera utiliser la cabergoline. De plus, cette dernière semble mieux tolérée et provoquer des effets secondaires uniquement transitoires, mais qui sont variables en fonction des animaux.

Le choix peut également se faire en fonction de la facilité de l'observance : pour certains propriétaires, il est plus compliqué d'administrer un produit deux fois par jour qu'une seule fois. Les spécialités à base de cabergoline sont disponibles uniquement sous forme buvable, ce qui peut être parfois plus difficile à administrer qu'un comprimé.

Enfin, on pourrait imaginer associer les deux traitements dans des cas réfractaires, en raison de leurs modes d'action différents, mais aucune étude ne s'y est intéressé pour l'instant (Mir et Fontbonne 2013).

- **Bromocriptine**

La bromocriptine est une molécule qui était utilisée dans le traitement des lactations de pseudogestation il y a quelques dizaines d'années. Elle possède le même mode d'action que la cabergoline. Son utilisation a été abandonnée en raison de son fort effet émétisant : environ 20% des chiennes présentaient des vomissements importants nécessitant l'utilisation de métoclopramide environ une heure et demie après l'administration de bromocriptine par voie orale (Janssens 1986 ; Gobello et al 2001b).

### *c) Autres traitements*

Avant l'arrivée de ces molécules sur le marché, les stéroïdes étaient utilisés dans le traitement de la pseudogestation. Ceux-ci participent au développement de la glande mammaire, mais à forte dose ils ont un effet inhibiteur de la sécrétion de prolactine. Ils occasionneraient également une diminution de la sensibilité des tissus à la prolactine (Razzaque et al. 2008).

- **Utilisation des progestagènes**

Les progestagènes utilisés dans les années 80 étaient principalement l'acétate de mégestrol et la proligestone (Allen 1986). Ils permettent l'arrêt des signes cliniques de pseudogestation mais une récurrence des signes après l'arrêt du traitement est fréquente. De plus, leur utilisation conduit à une augmentation de l'incidence d'affections utérines telles que le pyomètre et l'hyperplasie glandulokystique. L'incidence des tumeurs mammaires est également augmentée, ce qui a conduit à déconseiller leur utilisation pour cette affection (Razzaque et al. 2008 ; Fontbonne 2016).

- **Utilisation des œstrogènes et des androgènes**

De même, certains œstrogènes étaient utilisés, tels que l'œstradiol ou le benzoate d'œstradiol. Ils permettent l'arrêt des signes cliniques temporairement, mais on observe également des récurrences. Comme pour la progestérone, l'incidence du pyomètre est augmentée, ainsi que l'incidence des tumeurs ou de l'aplasie médullaire. Certains androgènes comme la testostérone permettent l'arrêt de la lactation. Les effets secondaires de masculinisation sont très marqués. Œstrogènes et androgènes ne sont plus utilisés aujourd'hui (Razzaque et al. 2008 ; Fontbonne 2016).

- **Utilisation de l'homéopathie**

L'administration de 8 granules de Thuja D30 3 fois par jour chez des chiennes pseudogestantes permet la résolution des signes cliniques chez les 30 chiennes de l'étude après 14 jours de traitement en moyenne. Quinze jours après le début du traitement, 67 % des chiennes ne présentaient plus de signes cliniques contre 13 % du groupe témoin qui recevait un placebo. La durée maximale du traitement a été de trois semaines (Özyurtlu et Alaçam 2005).

- **Prise en charge des troubles comportementaux**

Dans de très rares cas, des troubles comportementaux marqués peuvent nécessiter une prise en charge médicale dans les cas où la chienne est agressive ou difficile à contenir. Une sédation légère peut être pratiquée, toutefois l'usage des phénothiazines comme l'acépromazine doit être évité, car ces molécules bloquent la libération de la dopamine et favorisent la libération de la prolactine (Gobello et al 2001a ; Touraine et Goffin 2005).

- **Stérilisation**

Seule la stérilisation de la chienne permet la suppression définitive de la source progestéronique et évite ainsi les récurrences. La stérilisation doit être réalisée en anœstrus et en l'absence de lactation. En effet, si elle est pratiquée en diœstrus, la suppression brutale de la source de progestérone (les ovaires) peut déclencher une pseudogestation.



#### *d) Cas de chiennes réfractaires au traitement*

Il existe des cas dans lesquels les chiennes sont réfractaires au traitement : c'est le cas lors de mauvaise observance du traitement, à cause par exemple des effets émétisants. Dans ce cas-là, un anti-émétique d'action périphérique, le métoclopramide (Emeprid®) peut être prescrit. Ce peut être le cas également lorsque la lactation est entretenue par stimulation mécanique : la chienne ou un autre animal lèche ou tète les mamelles, ce qui entretient la sécrétion de prolactine.

D'autres causes hormonales peuvent favoriser le maintien de la lactation : la stérilisation lors du diœstrus provoque une suppression brutale de la progestérone et favorise la sécrétion de prolactine. L'hypothyroïdie est une maladie métabolique qui peut également permettre l'entretien de la lactation, puisque l'effet inhibiteur des hormones thyroïdiennes sur la sécrétion de prolactine n'est plus présent. Enfin, une imprégnation œstrogénique due à des kystes ovariens folliculaires, des tumeurs des cellules de la granulosa hormonosécrétantes, ou encore une exposition à des crèmes œstrogéniques utilisées par les propriétaires peuvent entraîner l'entretien de cette lactation.

En médecine humaine, des microadénomes hypophysaires peuvent entraîner la sécrétion constante de prolactine et donc une galactorrhée. Leur existence n'a pour l'instant pas été explorée en médecine vétérinaire (Mir et al 2013).

## **VI. Effet des pseudogestations sur les tumeurs mammaires**

Plusieurs études s'intéressent au lien entre pseudogestation et tumeurs mammaires. Chez l'Homme et chez les Rongeurs, il est prouvé que les hormones stéroïdiennes et la prolactine ont une action synergique dans la prolifération néoplasique des glandes mammaires (Queiroga et al. 2005).

### 1) Lien entre prolactine, pseudogestation et tumeurs mammaires

Chez la chienne, le rôle de la prolactine et des pseudogestations dans les tumeurs mammaires est encore discuté. Certaines études montrent que le risque de développer une tumeur mammaire est identique chez une chienne pseudogestante et une chienne non stérilisée (Schneider et al 1969). Verstegen- Onclin et Verstegen (2009) ont montré que parmi 174 chiennes qui présentaient des tumeurs mammaires, 96 (soit 55%) présentaient également une lactation de pseudogestation (contre 44,8 % de prévalence des tumeurs mammaires chez les chiennes ne présentant pas de pseudogestation). Parmi ces chiennes, 79% avaient déjà présenté au moins un épisode de lactation de pseudogestation auparavant (Verstegen et Onclin et Verstegen 2009).

De plus, les chiennes chez lesquelles on observe des tumeurs mammaires ont un taux de prolactine circulante plus élevé que des chiennes non affectées à stade du cycle équivalent: 5,6 ng/L contre 3,0 ng/L chez les témoins. Cette prolactine est fabriquée localement dans la glande

mammaire : chez les chiennes présentant cette affection, les taux de prolactine tissulaires sont de l'ordre de 50 ng/g contre 2,4 ng/g chez les témoins (Queiroga et al. 2005).

Pour expliquer ce lien, Murrel (1991) formule l'hypothèse que l'accumulation intramammaire des sécrétions lactées, marquée lors de pseudogestation, provoque une distension alvéolaire importante. Celle-ci entraînerait une compression vasculaire favorisant une anoxie tissulaire ainsi que la formation des radicaux superoxydes libres carcinogènes. En lactation de pseudogestation, le lait stagne dans les alvéoles et sa dégradation est locale (absence de traite ou d'allaitement), ce qui expliquerait que les carcinogènes s'accumulent dans les tissus. Tous ces mécanismes semblent concourir à une transformation néoplasique du tissu mammaire (Murrel 1991).

## 2) Effet de la cabergoline sur les tumeurs mammaires

Verstegen-Onclin et al (2009) ont également étudié l'effet d'un traitement de cabergoline (voie orale, 5 µg/kg pendant 7 à 10 jours) sur des chiennes présentant des tumeurs mammaires. Chez 87% des chiennes traitées, la cabergoline permet une diminution significative de la taille des glandes mammaires, associée à une diminution de la sécrétion lactée et des troubles comportementaux (contre 0% chez les témoins) (Figure 17).

De plus, le traitement permet une meilleure visualisation de nodules mammaires de petite taille : après l'administration de cabergoline, des nodules de 0,2 à 1,3 cm qui n'avaient pas été observés avant le traitement ont été mis en évidence chez 12,5% des chiennes traitées.

Enfin, la cabergoline permet une diminution de la taille des tumeurs mammaires chez 23% des chiennes, passant de  $0,7 \pm 0,3$  cm avant traitement à  $0,3 \pm 0,15$  cm après le traitement. L'exérèse est jugée plus facile par les chirurgiens chez ces chiennes traitées, grâce à une diminution de l'engorgement mammaire ainsi qu'une détection plus aisée des lésions (Figure 18).

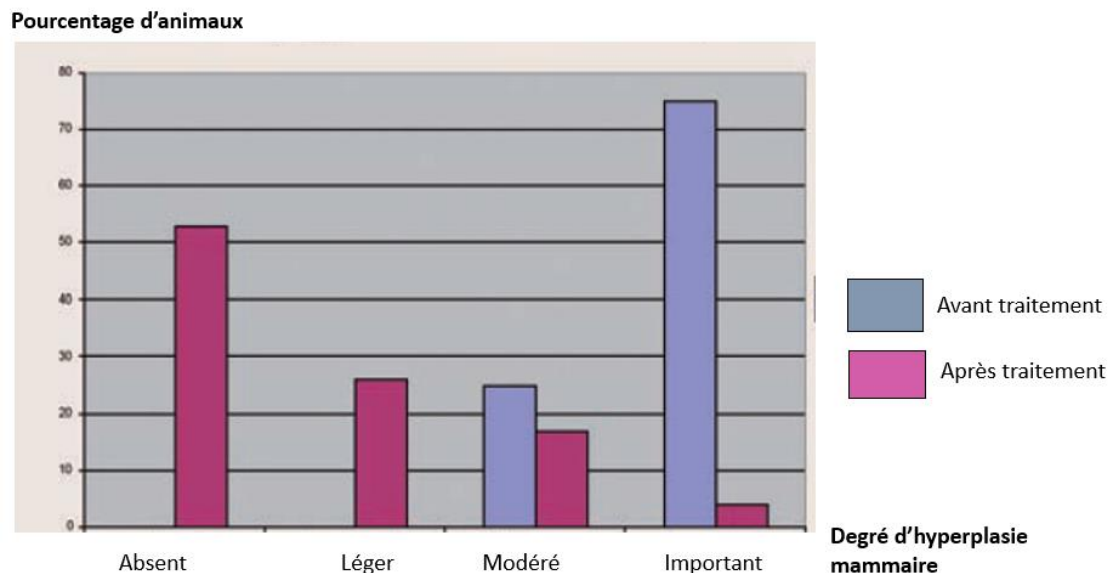
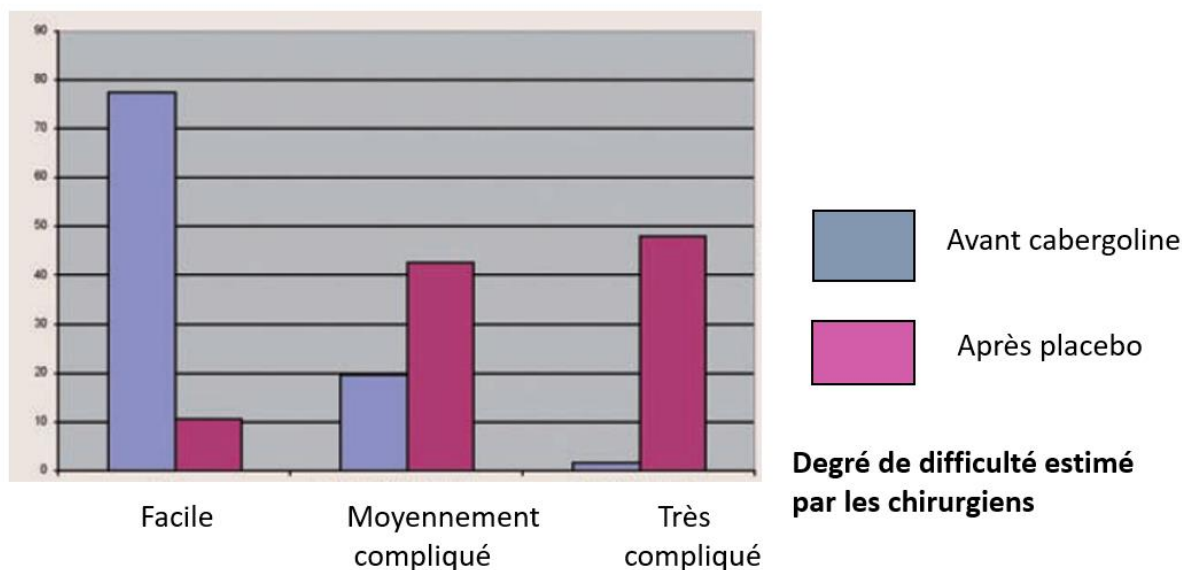


Figure 17 : Degré d'hyperplasie mammaire avant et après traitement avec de la cabergoline chez des chiennes présentant des tumeurs mammaires, d'après Verstegen et Onclin (2004).

### Pourcentage d'animaux



*Figure 18 : Degré de difficulté estimé par les chirurgiens pour le retrait des tumeurs mammaires avant et après traitement avec de la cabergoline, d'après Verstegen et Onclin (2004).*

Les données sont encore incomplètes en ce qui concerne les mécanismes de la pseudogestation chez les espèces étudiées, malgré la prévalence importante de cette affection, notamment chez la chienne. Plutôt que de considérer la pseudogestation chez la chienne comme une pathologie, nous avons choisi de revenir à sa fonction physiologique chez les canidés, à savoir l'alimentation des jeunes. L'objectif de notre étude est de déterminer la qualité immunologique du lait de pseudogestation pour explorer son intérêt en tant que substitut colostrale, évalué à travers sa concentration en immunoglobulines G, ou lacté, évalué via la concentration en immunoglobulines A.

# **ETUDE EXPERIMENTALE**

## **A. Matériels et méthodes**

### **I. Population**

L'étude a été réalisée sur 31 chiennes, toutes présentées en consultation de reproduction à l'ENVT entre 2014 et 2017, et présentant une lactation de pseudogestation.

Les races représentées sont les suivantes : Labrador (1), Staffordshire Bull Terrier (1), Berger belge malinois (2), Jack Russel Terrier (2), Bouledogue français (1), Berger australien (1), Carlin (2), Basset Hound (1), Cocker Anglais (1), Teckel (2), Berger de Beauce (1), Rottweiler (1), Setter Anglais (1), Border Collie (1), Bruno du Jura (1), Bull Terrier (1), Jagd Terrier (1), Yorkshire Terrier (1), Braque d'Auvergne (1). Huit chiennes croisées ont également été incluses dans l'étude.

Au cours de la consultation, les propriétaires étaient questionnés sur la date des dernières chaleurs, et sur la parité de la chienne.

Les chiennes ont été réparties en formats raciaux à partir de leur poids réel : petit (moins de 15kg), moyen (15 à 25 kg) et grand (plus de 25kg). Elles ont été également réparties en fonction de leur âge : jeune (moins de 2 ans), adulte (2 à 6 ans) et âgée (plus de 6 ans).

### **II. Prélèvements**

Si la production mammaire le permettait, le lait était collecté par paire de mamelle (soit au maximum 5 tubes par chienne). Sinon, un seul tube était collecté par chienne. Les tubes étaient ensuite stockés à -20°C. Les échantillons ont été répartis en trois catégories suivant leur couleur : ceux de couleur jaune (qui ressemblent à du colostrum), ceux de couleur blanche (qui ressemblent à du lait) et ceux de couleur marron.

### **III. Dosage des immunoglobulines**

Après décongélation à température ambiante, les immunoglobulines (Ig) G et A présentes dans les sécrétions mammaires ont été dosées par la technique ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).

#### 1) Principe général

L'ELISA est une technique immunoenzymatique qui permet de doser une protéine spécifique (ici une immunoglobuline G ou A) dans un liquide biologique (le lait de pseudogestation). La méthode utilisée est l'ELISA de type « sandwich » : la protéine à doser est prise entre deux anticorps (Figure 19).

L'étape de coating permet de saturer les puits en anticorps anti-immunoglobulines, dits anticorps de capture. Lors du dépôt de la solution à doser, les immunoglobulines présentes vont se lier spécifiquement à ces anticorps. Ensuite, un autre anticorps lié à une enzyme de révélation

(ici la peroxydase) est déposé, et de la même façon se fixe aux immunoglobulines de la solution. Les lavages successifs permettent d'éliminer tous les produits non fixés. Enfin, l'enzyme de révélation est activée pour permettre une lecture colorimétrique. Ceci permet de quantifier les immunoglobulines présentes dans la solution, par comparaison avec la gamme standard établie avec des concentrations connues en immunoglobulines G et A.

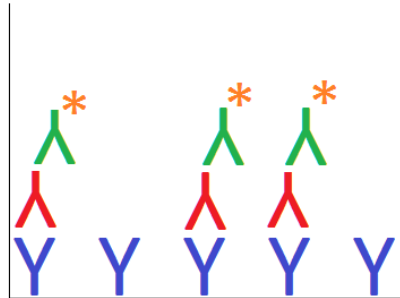


Figure 19 : Principe de l'ELISA "sandwich" ; en bleu, anticorps de capture ; en rouge, immunoglobulines à doser ; en vert et orange, anticorps de révélation.

## 2) Protocole

Les kits utilisés sont le « Dog IgG ELISA Quantification Set » (référence : E40-118) et le « Dog IgA ELISA Quantification Set » (référence : E40-104), du fournisseur Bethyl Lab (Montgomery, USA).

- *Préparation des échantillons*

Les échantillons sont décongelés à température ambiante le matin de la manipulation. Ils sont ensuite centrifugés pendant 30 minutes à 20 000 g à 4°C, pour permettre la séparation des phases.

Macroscopiquement, les échantillons sont de couleur variable, du jaune très clair au marron très foncé (Figure 20).

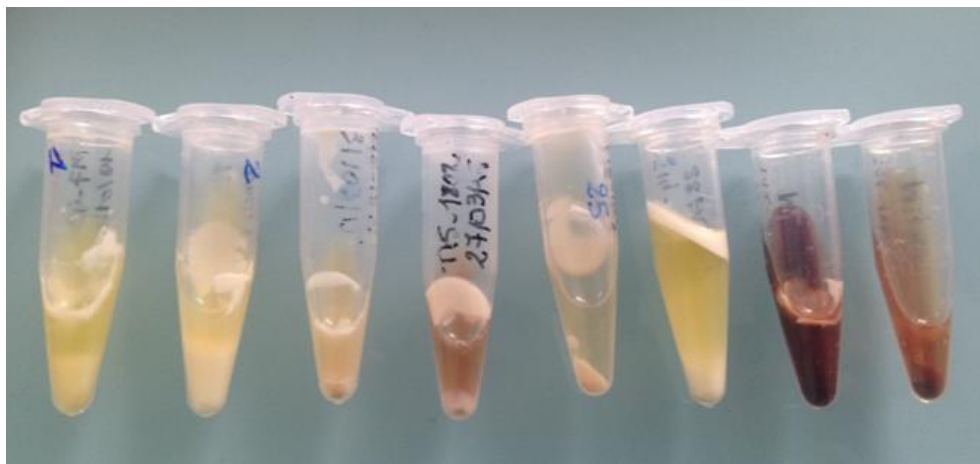


Figure 20 : Aspect des échantillons après centrifugation.

Vingt échantillons de colostrum (collectés 24 post partum) et 9 de lait de chienne (collectés 7 jours post partum) issus d'une autre étude ont été dosés en même temps que les laits de pseudogestation. L'objectif était de comparer les concentrations obtenues à celles des laits de pseudogestation.

Les échantillons sont dosés à la dilution 1/400 000<sup>e</sup> pour les IgG et 1/100 000<sup>e</sup> pour les IgA. Les échantillons pour lesquels la quantité d'IgA était trop faible pour être dosée à cette dilution ont été redosés à la dilution 1/50 000<sup>e</sup>. Les colostrums sont dosés à la dilution 1/400 000<sup>e</sup> pour les IgG et 1/100 000<sup>e</sup> pour les IgA ; les laits sont dosés à la dilution 1/100 000<sup>e</sup> pour les IgG et IgA.

- *Préparation de la gamme standard*

Deux gammes standard sont réalisées à partir d'un sérum de chien de référence dosé à 31 ng/mL d'IgG et à 1,5 ng/mL d'IgA (*référence : RS 10-105*). La première varie de 500 ng/mL à 7,8 ng/mL (IgA) et la deuxième varie de 1000 ng/mL à 15,6 ng/mL (IgG).

- *Coating*

Le coating est réalisé à partir d'une solution d'anticorps polyclonal purifié spécifique de l'immunoglobuline canine testée (G ou A), concentrée à 10 µL/mL. 100 µL sont déposés dans chaque puit. La plaque est ensuite incubée pendant 1 heure à température ambiante.

- *Lavage*

Cinq lavages sont effectués (200 µL par puits) avec une solution de PBS-Tween 20 à 0,05%. Le liquide est éliminé des puits en tapotant la plaque sur du papier absorbant.

- *Post-coating*

La plaque est saturée avec 200 µL par puits d'une solution de PBS-BSA 1%. Elle est ensuite incubée 30 minutes à température ambiante.

- *Lavage (comme décrit précédemment)*

- *Dépôt des échantillons et du standard*

100µL d'échantillon ou de standard sont déposés par puits. Chaque échantillon est dosé deux fois, et les deux dernières colonnes sont réservées à la gamme standard. Dans les derniers puits (H11 et H12), 100µL de dilueur sont déposés comme témoin négatif (Figure 21).

- *Lavage (comme décrit précédemment)*

- *Dépôt des anticorps de révélation*

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

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	<b>32</b>	<b>32</b>	<b>48</b>	<b>48</b>	<b>30</b>	<b>30</b>	<i>8c</i>	<i>8c</i>	<u>6l</u>	<u>6l</u>	500ng/mL	500ng/mL
B	<b>21</b>	<b>21</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<i>9c</i>	<i>9c</i>	<u>7l</u>	<u>7l</u>	250ng/mL	250ng/mL
C	<b>29</b>	<b>29</b>	<b>19</b>	<b>19</b>	<b>53</b>	<b>53</b>	<i>10c</i>	<i>10c</i>	<u>8l</u>	<u>8l</u>	125ng/mL	125ng/mL
D	<b>49</b>	<b>49</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>26</b>	<b>26</b>	<i>11c</i>	<i>11c</i>	<u>9l</u>	<u>9l</u>	62,5ng/mL	62,5ng/mL
E	<b>22</b>	<b>22</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<i>2c</i>	<i>2c</i>	<i>14c</i>	<i>14c</i>	<u>10l</u>	<u>10l</u>	31,25ng/mL	31,25ng/mL
F	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>16</b>	<b>16</b>	<i>5c</i>	<i>5c</i>	<i>17c</i>	<i>17c</i>	<u>14l</u>	<u>14l</u>	15,6ng/mL	15,6ng/mL
G	<b>45</b>	<b>45</b>	<b>20</b>	<b>20</b>	<i>6c</i>	<i>6c</i>	<u>2l</u>	<u>2l</u>	<u>17l</u>	<u>17l</u>	7,8ng/mL	7,8ng/mL
H	<b>51</b>	<b>51</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<i>7c</i>	<i>7c</i>	<u>5l</u>	<u>5l</u>	<u>17l</u>	<u>17l</u>	BLANC	BLANC

Figure 21 : Exemple de répartition des échantillons et de la gamme étalon pour une plaque ELISA IgG (en gras, échantillons de lait de pseudogestation ; en italique, échantillons de colostrum ; en souligné, échantillons de lait). Les colonnes 11 et 12 contiennent la gamme étalon.

- *Lavage (comme décrit précédemment)*
- *Révélation*

100 µL d'une solution de TMB (3,3', 5,5'-Tétraméthylbenzidine), un substrat de la peroxydase, sont déposés dans chaque puits. La révélation se fait dans le noir, à température ambiante, pendant 15 min.

- *Arrêt de la révélation*

100µL d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentré à 0,18 M sont déposés dans chaque puits, ce qui permet de stopper la réaction enzymatique de révélation (Figure 22).

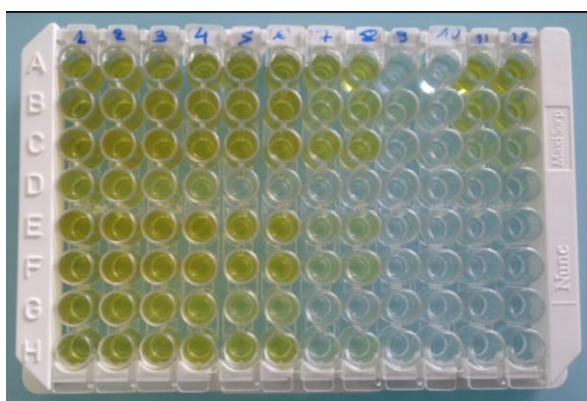


Figure 22 : Plaque ELISA après l'arrêt de la révélation.

- *Lecture*

La plaque est introduite dans le spectrophotomètre (*VersaMax ELISA Microplate Reader*, Molecular Devices Corporation, Sunnyvale, USA ; laser émettant à 450nm) qui réalise une mesure d'absorbance et indique une valeur de densité optique pour chaque puits. Le logiciel Sofmax est utilisé pour convertir les densités optiques obtenues en concentration à partir de la gamme standard (Figure 23).

L'utilisation de l'équation obtenue permet de retrouver les concentrations des échantillons dans les puits à partir des densités optiques. Un facteur de correction de la dilution permet de connaître les concentrations réelles des échantillons.

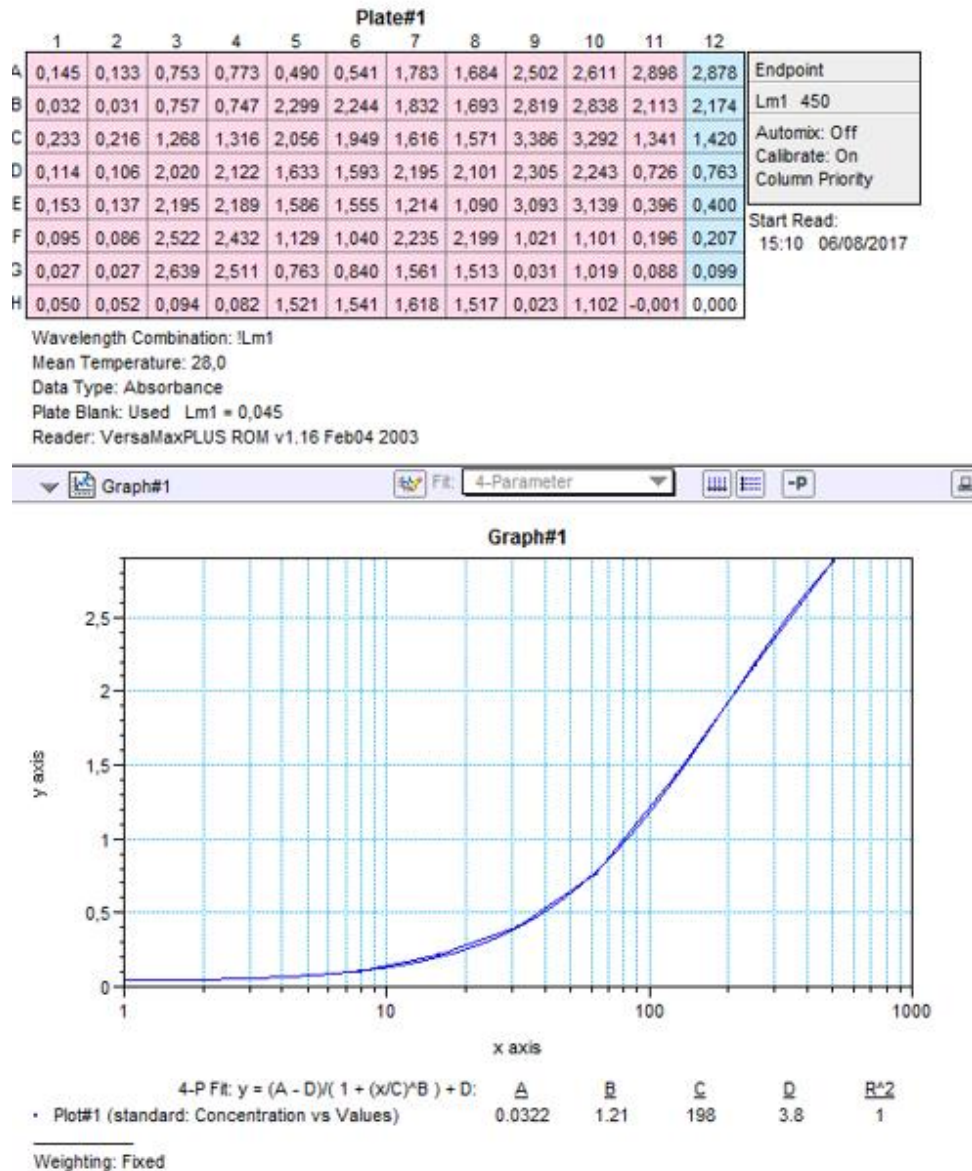


Figure 23 : Valeurs et graphe obtenus après lecture des densités optiques par le spectrophotomètre.

### 3) Principe d'interprétation des valeurs

- Validité du standard

Le standard est considéré comme valide si le coefficient de variation entre les valeurs théoriques et les valeurs obtenues est de moins de 15%. Sinon, la plaque doit être refaite.



- *Interprétation des échantillons*

Les échantillons interprétables sont ceux pour lesquels la densité optique est comprise entre les deux densités optiques limite de la gamme standard. Si ce n'est pas le cas, l'échantillon doit être redosé à une dilution supérieure ou inférieure. De plus, si le coefficient de variation des deux valeurs obtenues pour un même échantillon est de plus de 10%, l'échantillon doit être dosé à nouveau.

- *Variations inter et intra plaque*

Pour s'assurer de la reproductibilité de la manipulation, les coefficients de variation interplaque (moyenne des coefficients de variation entre deux plaques différentes) et intraplaque (moyenne des coefficients de variation à l'intérieur d'une même plaque) ont été calculés. Pour les IgA, le coefficient de variation intraplaque est de 3,77% et le coefficient de variation interplaque est de 6,07%. Pour les IgG, le coefficient de variation intraplaque est de 0,03% et le coefficient de variation interplaque est de 4,52%.

- *Analyse statistique des données*

Pour analyser les facteurs de variation des concentrations en IgG et IgA du lait de pseudogestation, plusieurs tests ont été réalisés :

- Corrélation linéaire : âge de la chienne, poids de la chienne, corrélation entre IgA et IgG pour un même échantillon ;
- ANOVA et T-test : influence du format racial, de la catégorie d'âge, du moment du cycle, de l'aspect des sécrétions, comparaison avec les concentrations en immunoglobulines des échantillons de lait et de colostrum.

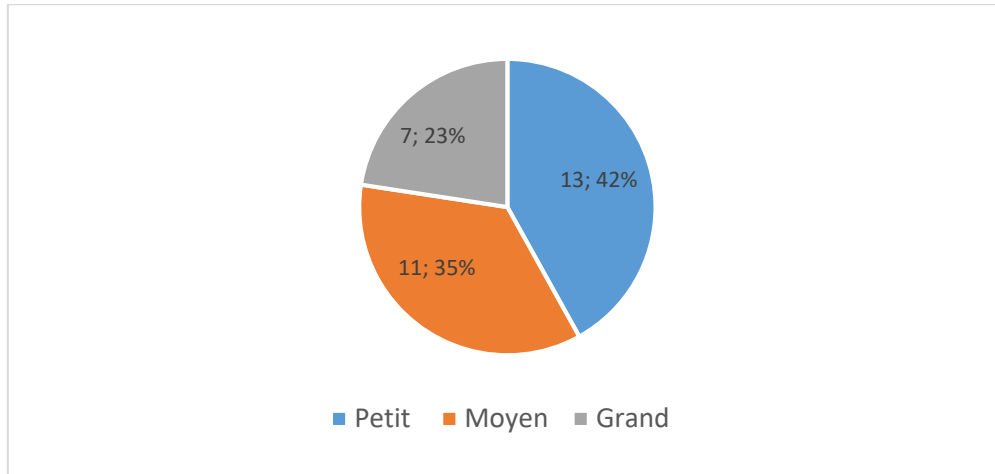
Les résultats sont présentés sous la forme de moyenne  $\pm$  écart-type.

## **B .Résultats**

### **I. Description de la population**

#### 1) Format racial

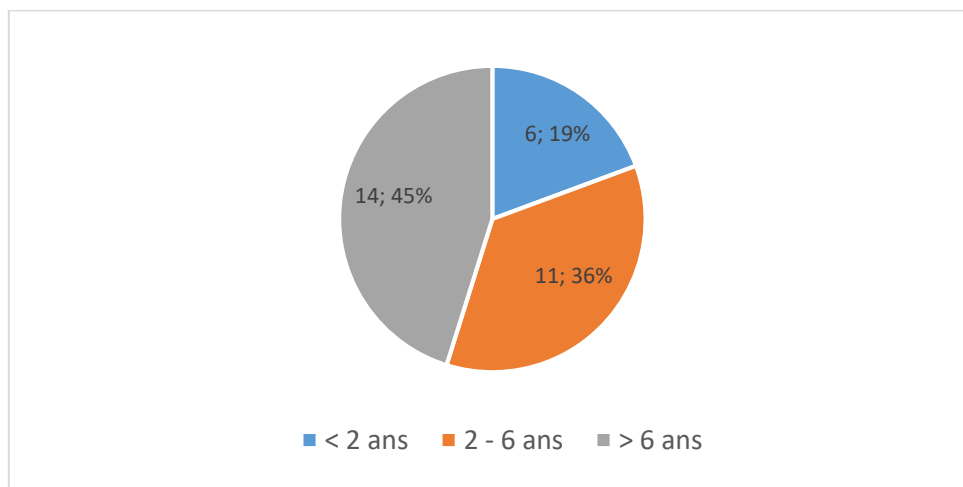
Parmi les 31 chiennes incluses dans l'étude, 13 sont d'un petit format racial, 11 sont d'un format racial moyen et 7 sont d'un format racial grand (Figure 24).



*Figure 24 : Répartition des chiennes selon leur format racial (n = 31). La première valeur représente le nombre de chiennes incluses dans la catégorie, la deuxième le pourcentage correspondant.*

#### 2) Catégories d'âge

Parmi les 31 chiennes, 6 ont moins de deux ans, 11 ont entre 2 et 6 ans et 14 ont plus de 6 ans (Figure 25).



*Figure 25 : Répartition des chiennes par catégorie d'âge (n = 31). La première valeur représente le nombre de chiennes incluses dans la catégorie, la deuxième le pourcentage correspondant.*

### 3) Parité

La parité est connue pour 15 chiennes uniquement, elles sont toutes nullipares.

### 4) Moment du cycle

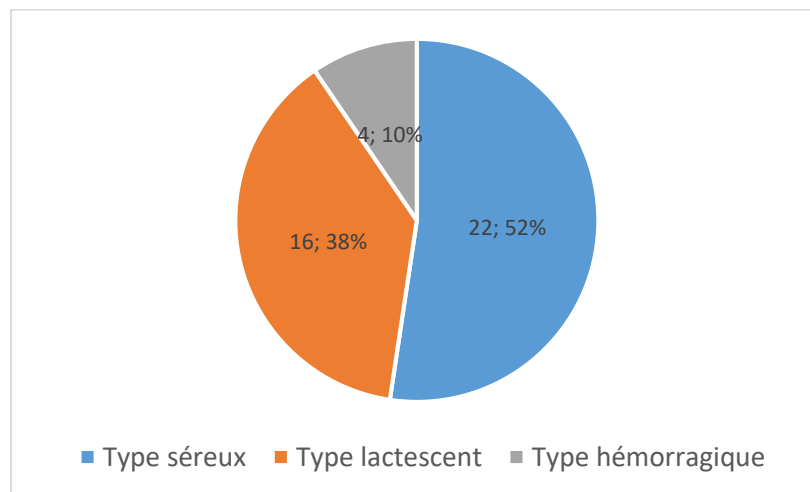
La période des dernières chaleurs est connue pour 23 chiennes. Elle permet de déterminer à quel moment du cycle survient la lactation de pseudogestation. Pour 18 chiennes (73%), elle survient pendant le diœstrus. Pour les 5 restantes, elle survient en anœstrus.

### 5) Prélèvements par paire de mamelles

Seules 5 chiennes de notre étude (16%) ont pu être prélevées pour plusieurs paires de mamelles.

### 6) Aspect des sécrétions

Parmi les 42 échantillons dosés, 22 sont de type séreux, 16 sont de type lactescent, et 4 sont de type hémorragique (Figure 26).



*Figure 26 : Répartition des échantillons selon leur couleur (n = 42). La première valeur représente le nombre de prélèvements inclus dans la catégorie, la deuxième le pourcentage correspondant.*

## II. Concentrations en immunoglobulines dans le lait de pseudogestation

### 1) Concentration moyenne en IgA

La concentration moyenne en IgA dans les 42 échantillons de lait de pseudogestation est de  $11,6 \pm 9,9$  g/L, avec une valeur minimale de 1,6 g/L et une valeur maximale de 50,3 g/L (Figure 27). La figure 28 montre les répartitions des valeurs selon les quartiles ainsi que la médiane : 50% des valeurs se situent entre 5,3 et 15,6 g/L, avec une médiane de 8,4 g/L.

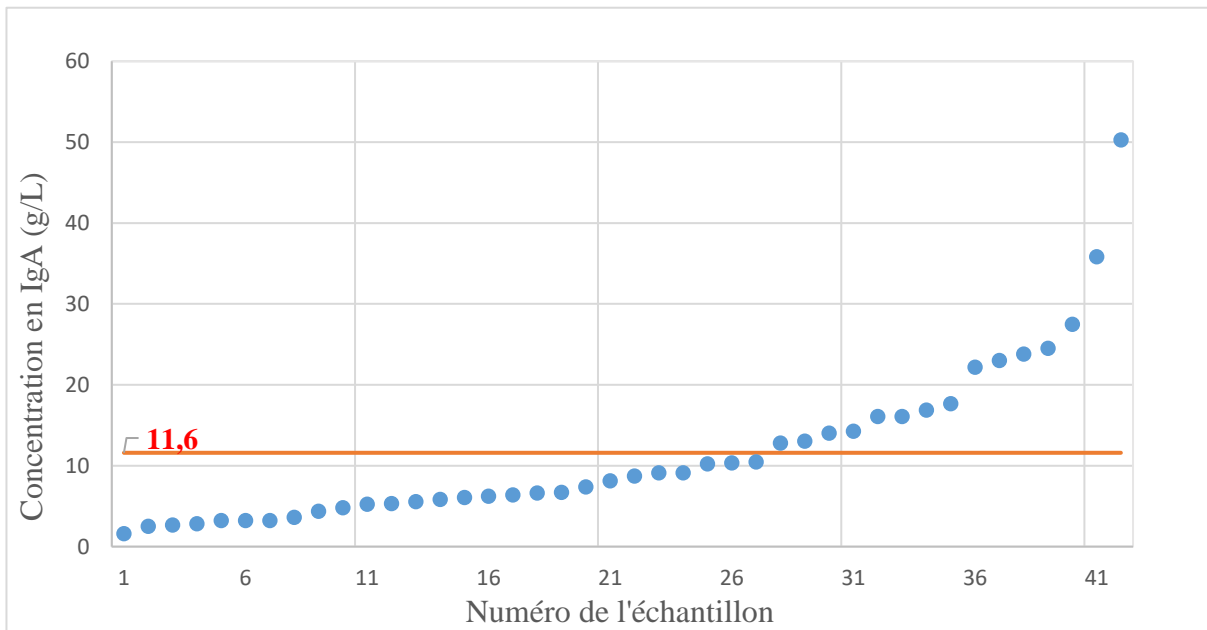


Figure 27 : Concentrations en IgA dans les laits de pseudogestation pour chaque échantillon ( $n = 42$ ). La ligne horizontale représente la moyenne.

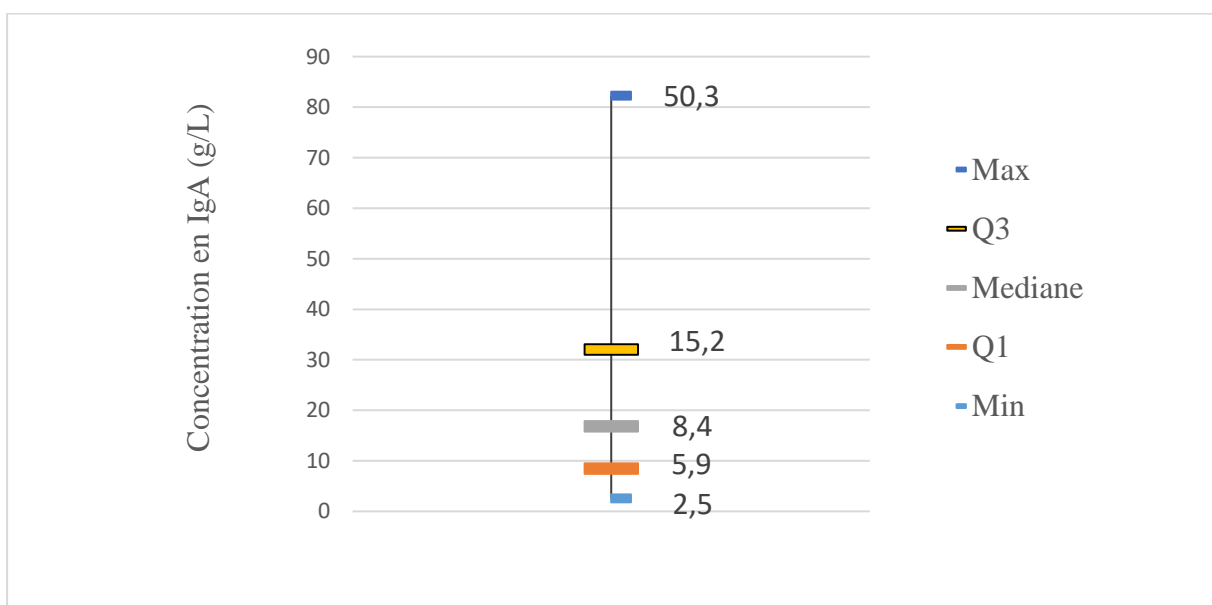


Figure 28 : Distribution des concentrations en IgA des laits de pseudogestation ( $n = 42$ ).

## 2) Concentration moyenne en IgG

La concentration moyenne en IgG dans les 41 échantillons dosés est  $24,2 \pm 15,5$  g/L, avec une valeur maximale de 62,7g/L et une valeur minimale de 1,9 g/L (Figure 29). La figure 30 montre les répartitions des valeurs selon les quartiles ainsi que la médiane : 50% des valeurs se situent entre 13,7 et 28,5 g/L, avec une médiane de 19,2 g/L.

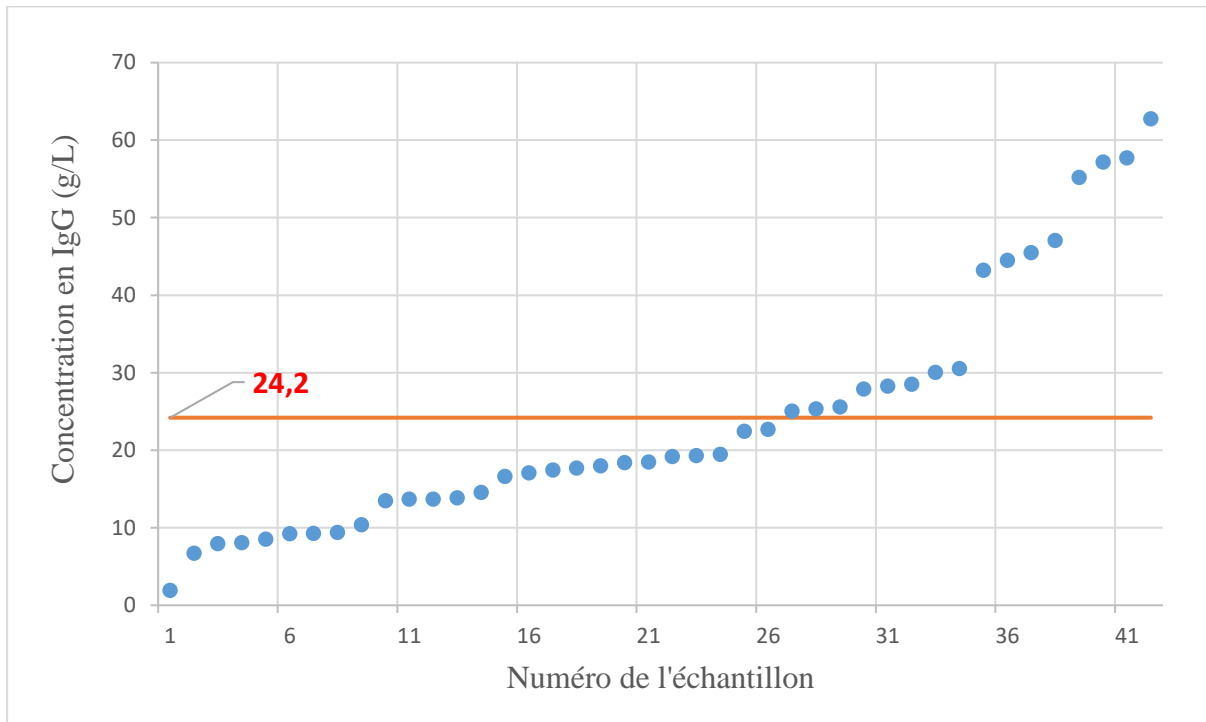


Figure 29 : Concentrations en IgG dans les laits de pseudogestation pour chaque échantillon ( $n = 41$ ). La ligne horizontale représente la moyenne.

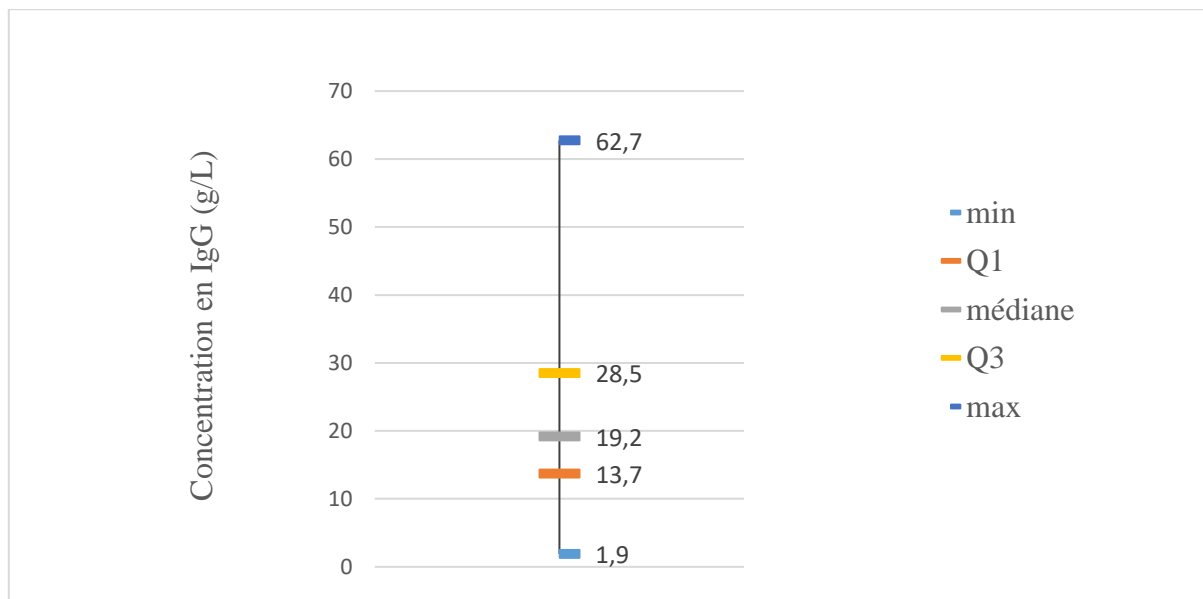


Figure 30 : Distribution des concentrations en IgG des laits de pseudogestation ( $n = 41$ ).

### 3) Corrélation entre concentration en IgG et IgA pour un même échantillon

Il existe une corrélation positive entre le taux d'IgA et le taux d'IgG dans le lait de pseudogestation. Pour un même échantillon de lait, plus le taux d'IgA est élevé, plus le taux d'IgG est lui aussi élevé ( $p = 0,0015$  ;  $r = 0,48$ ) (Figure 31).

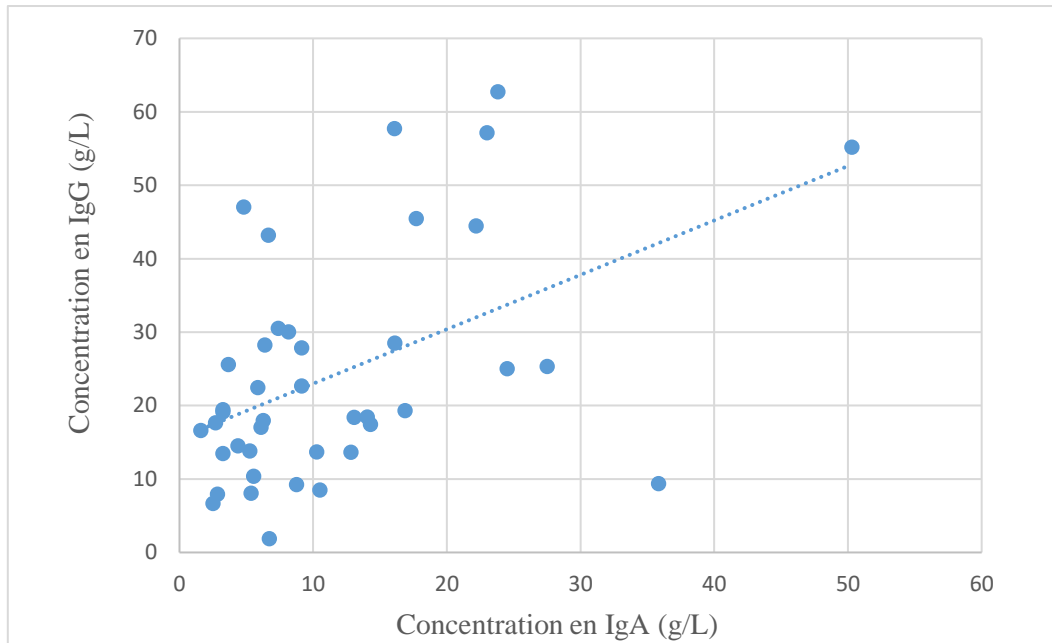


Figure 31 : Corrélation entre les concentrations en IgG et IgA du lait de pseudogestation ( $n = 41$  ;  $p = 0,015$  ;  $r = 0,48$ ).

### 4) Facteurs de variation de la concentration en immunoglobulines

#### a) Format racial

Il n'existe pas de corrélation entre le poids de la chienne et les concentrations en IgA et en IgG dans le lait de pseudogestation ( $p = 0,03$  et  $r = 0,32$  pour les IgA ;  $p = 0,23$  et  $r = 0,19$  pour les IgG) (Figures 32 et 33).

La figure 34 montre les valeurs moyennes en IgA et IgG pour chaque format racial. La concentration en IgA varie avec le format racial ( $p = 0,01$ ) et est significativement plus élevée chez les chiennes de grand format que chez celles de petit format.

La concentration en IgG ne varie pas suivant le format racial ( $p = 0,35$ ).

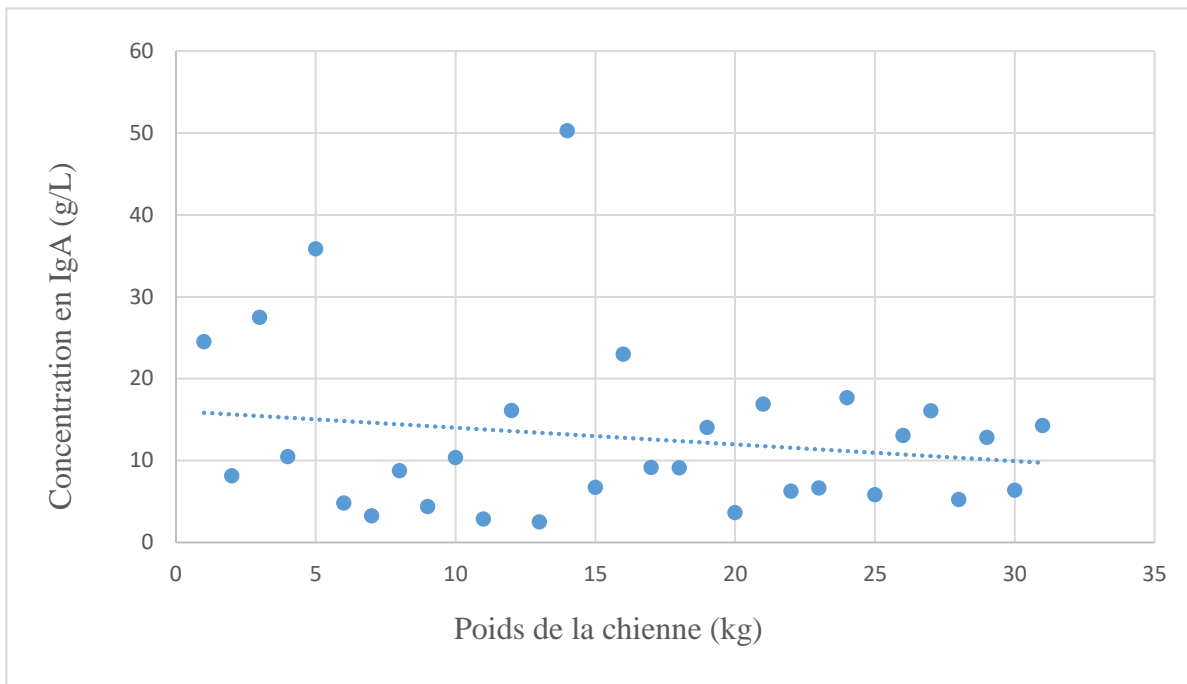


Figure 32 : Concentration en IgA en fonction du poids de la chienne ( $n = 42$  ;  $p = 0,03$  ;  $r = 0,32$ ).

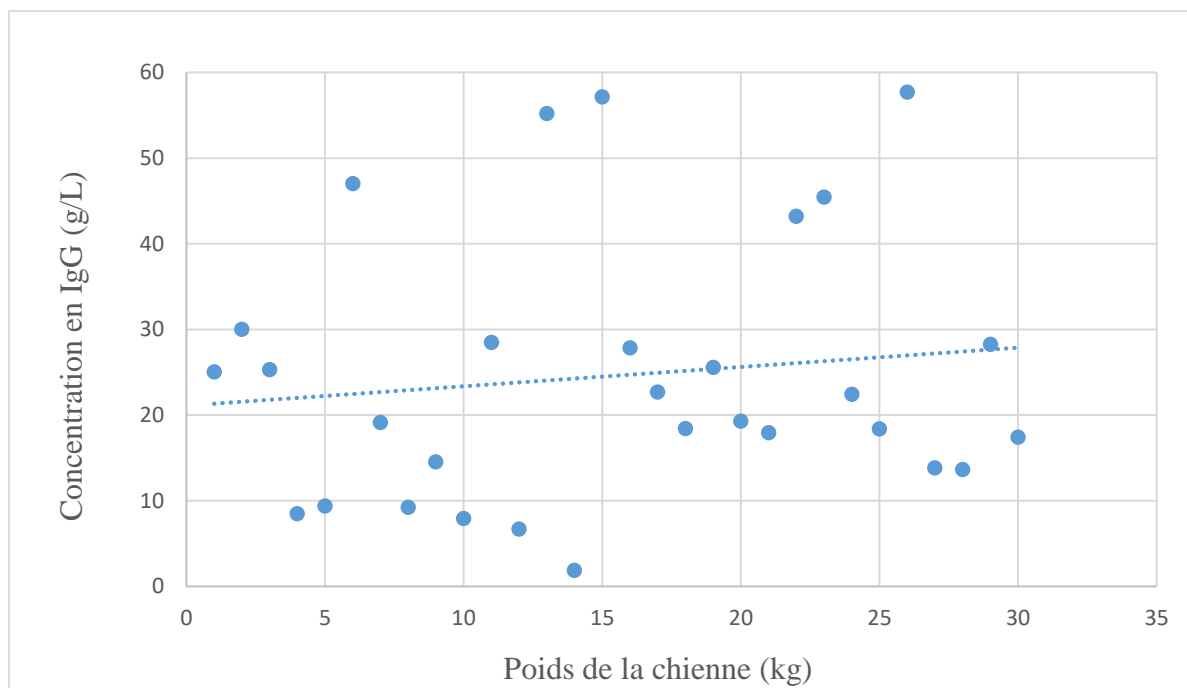


Figure 33 : Concentrations en IgG en fonction du poids de la chienne ( $n = 41$  ;  $p = 0,23$  ;  $r = 0,19$ ).

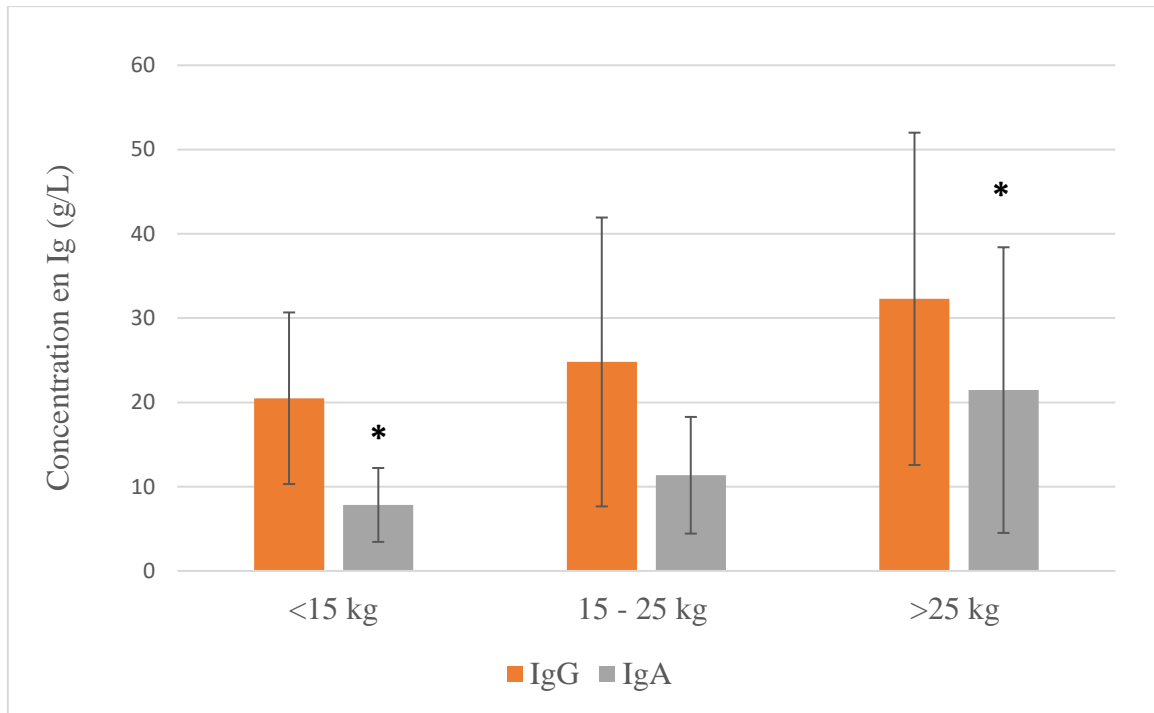


Figure 34 : Concentrations en IgA et IgG (moyenne  $\pm$  écart type) suivant le format raciel ( $n = 42$  pour les IgA et  $n = 42$  pour les IgG ;  $p = 0,01$  pour les IgA et  $p = 0,35$  pour les IgG). L'étoile montre que les catégories petit format raciel et grand format raciel sont différentes pour les IgA ( $p = 0,01$ ).

#### b) Âge

L'âge de la chienne est corrélé positivement mais faiblement à la concentration en IgA dans le lait de pseudogestation ( $p = 0,003$  ;  $r = 0,44$ ). A l'inverse, il n'est pas corrélé à la concentration en IgG dans le lait de pseudogestation ( $p = 0,7$  ;  $r = 0,06$ ) (Figures 35 et 36).

La figure 37 montre les valeurs moyennes en IgA et IgG pour chaque tranche d'âge. Les concentrations en IgA sont significativement différentes suivant la catégorie d'âge à laquelle appartient la chienne ( $p = 0,04$ ) : en effet, les concentrations en IgA sont significativement plus élevées chez les chiennes âgées de plus de 6 ans que chez les chiennes âgées de moins de deux ans.

La concentration en IgG ne varie pas suivant la catégorie d'âge ( $p = 0,15$ ).



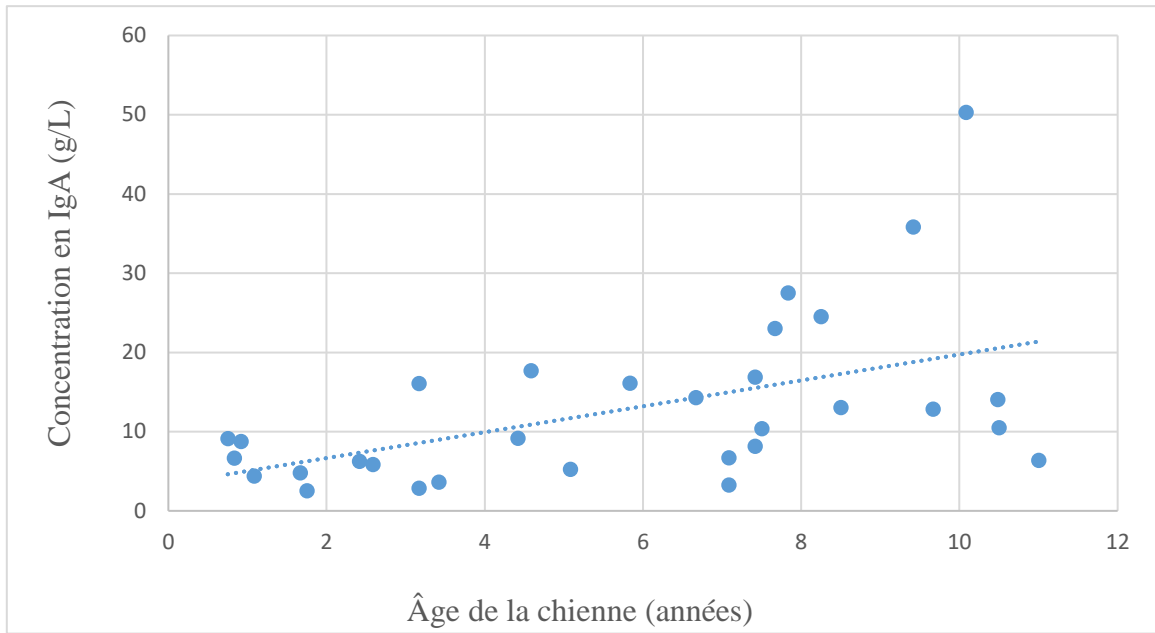


Figure 35 : Concentration en IgA en fonction de l'âge de la chienne ( $n = 42$  ;  $p = 0,03$  ;  $r = 0,44$ ).

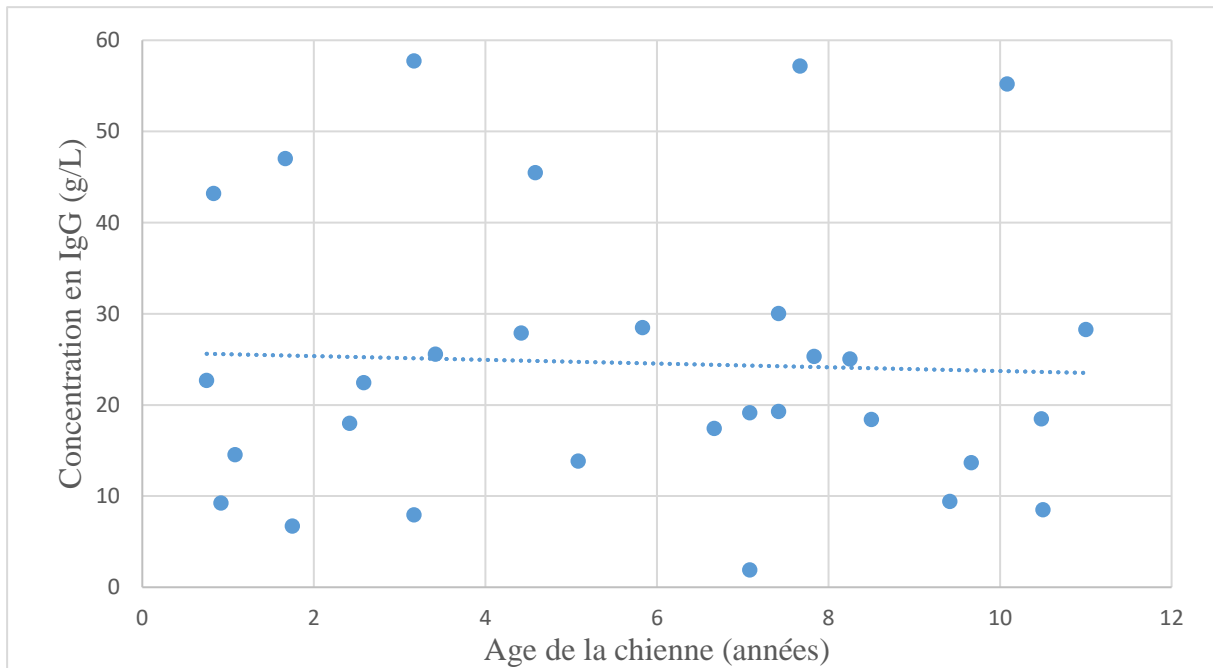


Figure 36 : Concentration en IgG en fonction de l'âge de la chienne ( $n = 41$  ;  $p = 0,7$  ;  $r = 0,06$ ).

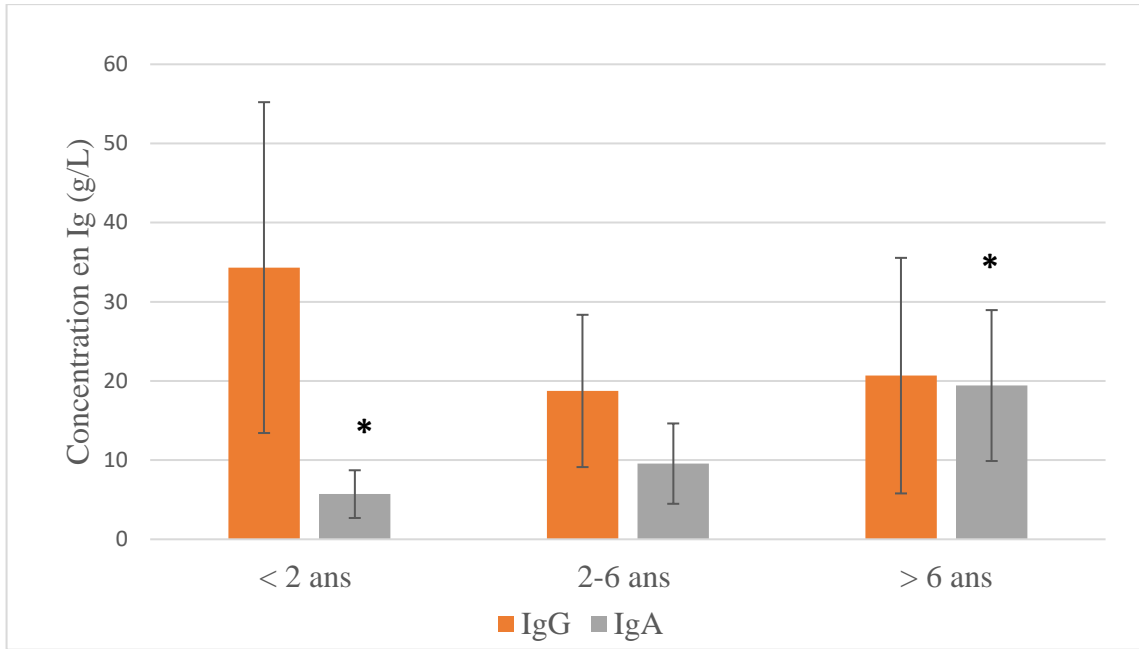


Figure 35 : Concentrations moyennes en IgA et IgG (moyenne  $\pm$  SD) suivant les catégories d'âge ( $n = 42$  pour les IgA et  $n = 41$  pour les IgG ;  $p = 0,01$  pour les IgA et  $p = 0,15$  pour les IgG). L'étoile montre que les catégories moins de deux ans et plus de 6 ans sont différentes pour les IgA ( $p = 0,04$ ).

c) Moment du cycle

Le moment du cycle (diœstrus ou anœstrus) n'a pas d'influence sur les concentrations en immunoglobulines dans le lait de pseudogestation ( $p = 0,66$  pour les IgA et  $0,57$  pour les IgG). (Figure 38).

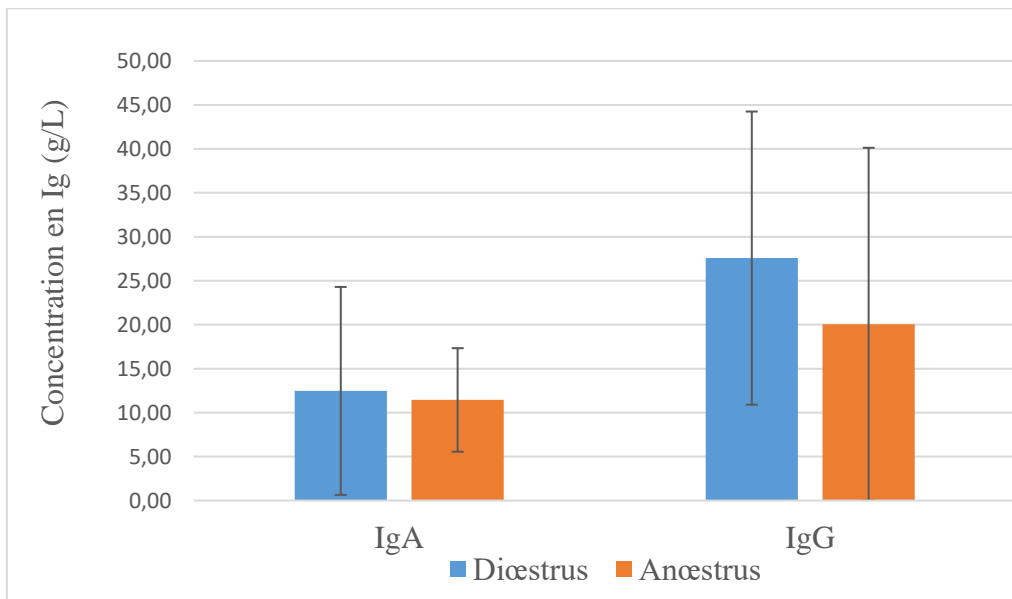


Figure 36 : Concentrations en immunoglobulines (moyenne  $\pm$  SD) en fonction du moment du cycle ( $n = 41$ ).

d) *Paire de mamelles*

Les tableaux 1 et 2 montrent les concentrations en immunoglobulines pour les chiennes chez lesquelles des prélèvements par paire de mamelles ont été possibles.

*Tableau 1 : Concentration en IgA par paires de mamelles (g/L) :*

	M1	M2	M3	M4	M5
Chienne 1		8,7	6,1	5,5	
Chienne 2			10,4	1,6	
Chienne 3		23,0	2,7	7,4	23,8
Chienne 4		14,0	22,2		
Chienne 5	23,8	5,3	10,3	3,2	3,2

*Tableau 2 : Concentration en IgG par paires de mamelles (g/L) :*

	M1	M2	M3	M4	M5
Chienne 1		9,3	17,1	10,4	
Chienne 3		57,2	17,7	30,5	62,7
Chienne 4		18,5	44,3		
Chienne 5	19,3	8,1	13,7	19,5	13,5

Il existe une très grande variabilité intrachienne en ce qui concerne les concentrations en immunoglobulines par paires de mamelles : par exemple, pour la chienne n°3, la moyenne des concentrations est de  $11,0 \pm 10,8$  g/L pour les IgA et de  $42,0 \pm 21,5$  g/L pour les IgG, avec des coefficients de variation de 0,75 et 0,51 respectivement. Parmi ces chiennes, aucune paire de mamelles produisant plus d'immunoglobulines que les autres n'a pu être mise en évidence.

e) *Aspect des sécrétions*

Il n'existe pas de différence significative entre l'aspect des sécrétions de pseudogestation et la concentration en IgA, cependant une tendance est observée ( $p = 0,051$ ) : la concentration en IgA semble être plus élevée dans les échantillons de type hémorragique que dans les échantillons de type séreux.

L'aspect du lait de pseudogestation n'a pas d'influence sur les concentrations en IgG ( $p = 0,47$ ) (Figure 39).

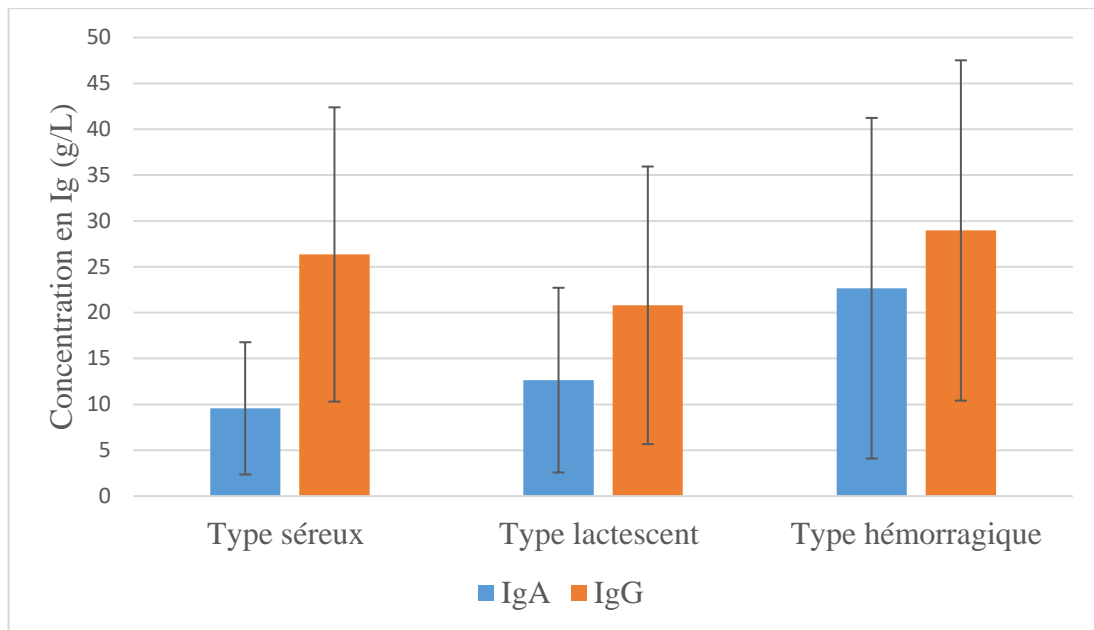


Figure 37 : Concentrations moyennes en IgA et IgG en fonction de l'aspect des sécrétions de pseudogestation ( $n = 42$  pour les IgA et  $n = 41$  pour les IgG ;  $p = 0,051$  pour les IgA et  $0,47$  pour les IgG).

##### 5) Comparaison avec les concentrations en immunoglobulines des laits et des colostrums

Pour le colostrum, les concentrations moyennes obtenues sont de  $18,0 \pm 12,0$  g/L pour les IgG (pour 21 échantillons dosés) et de  $10,6 \pm 3,5$  g/L pour les IgA (pour 9 échantillons dosés). Pour le lait, les concentrations moyennes obtenues sont de  $2,0 \pm 1,3$  g/L pour les IgG (pour 9 échantillons dosés) et de  $7,6 \pm 4,2$  g/L pour les IgA (pour 9 échantillons dosés).

La teneur en IgA dans le lait de pseudogestation n'est pas significativement différente de celle obtenue dans le lait et le colostrum de chienne ( $p = 0,44$ ). La teneur en IgG dans le lait de pseudogestation est significativement différente de celle obtenue dans le lait de chienne ( $p < 0.0001$ ). Ainsi, la concentration en IgG dans le lait de pseudogestation est plus élevée que dans les laits des chiennes. Enfin, la teneur en IgG dans le lait de pseudogestation n'est pas significativement différente de celle obtenue dans le colostrum ( $p = 0,12$ ) (Figure 40).

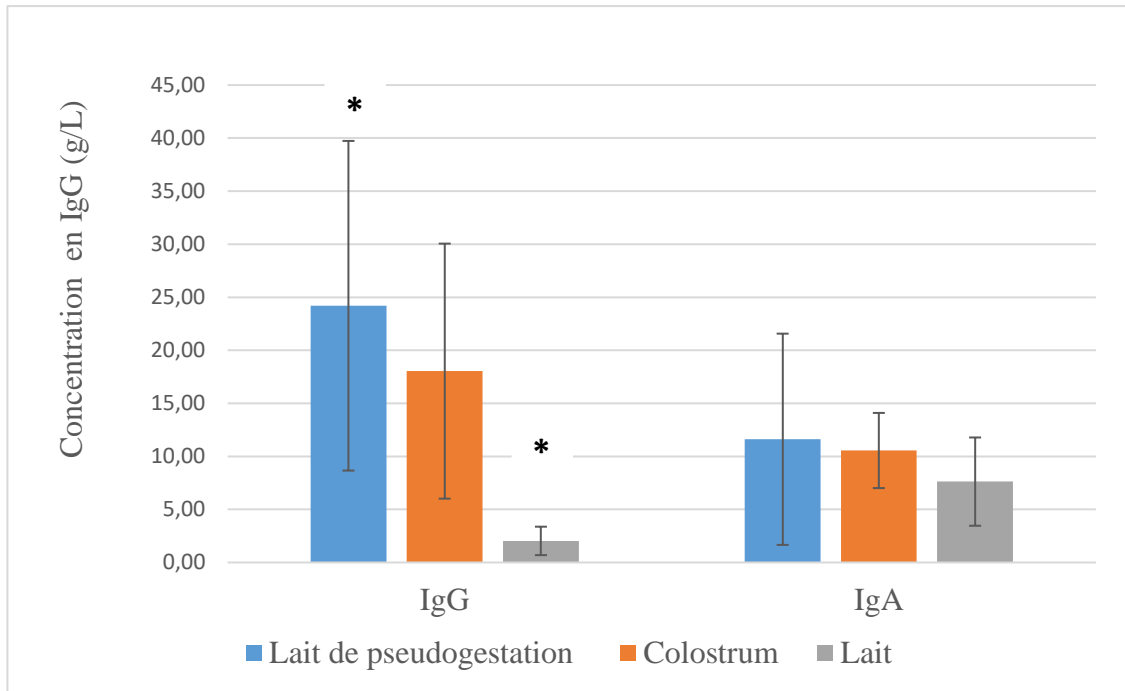


Figure 38 : Concentrations moyennes en IgA et IgG dans les laits de pseudogestation, les colostrums et les laits ( $n = 42$  et  $41$  pour les laits de pseudogestation ;  $n = 9$  pour les laits et colostrum sauf pour les IgG des colostrums où  $n = 21$  ;  $p = 0,12$  pour les IgA ;  $p < 0,0001$  pour les IgG). L'étoile montre que les concentrations en IgG du lait de pseudogestation et du lait sont différentes ( $p < 0,0001$ ).

### III. Discussion

#### 1) Limites de l'étude

##### *a) Population étudiée*

Les 31 chiennes incluses dans l'étude appartiennent à 19 races différentes, et 7 d'entre elles sont croisées. On compte une grande variété des races et des âges représentés. On peut ainsi espérer avoir un échantillon représentatif de l'espèce canine. Cependant, il est impossible de mettre en évidence des différences inter- raciales du fait des faibles effectifs de chaque race.

Nous avons choisi de répartir les chiennes de l'étude en trois formats raciaux : petit (< 15kg) ; moyen (15 – 25kg) et grand (> 25 kg). Cependant, le nombre de chiennes incluses dans chaque catégorie n'est pas le même. C'est la même chose pour la répartition en catégories d'âge (moins de 2 ans, 2 à 6 ans, plus de 6 ans). Ainsi, les chiennes de grand format racial ou les chiennes de moins de deux ans sont peu représentées. Enfin, aucune chienne de très grand format racial (> 40 kg) n'est présente dans notre étude.

Nous nous sommes heurtés à plusieurs difficultés concernant l'historique des chiennes : il est difficile pour les propriétaires de situer précisément le moment des chaleurs, soit parce qu'ils ne s'en rappellent pas car cela remonte à plus de deux mois, soit parce que certaines chiennes les expriment peu.

D'autres paramètres auraient également pu être renseignés : la parité des chiennes n'a pas été systématiquement renseignée, ce qui ne permet pas de faire un traitement statistique des valeurs. De plus, il aurait été intéressant de savoir s'il s'agissait du premier épisode de lactation de pseudogestation, ou s'il s'agissait d'une récurrence. Connaître la parité et le nombre de pseudogestations présentées par les chiennes aurait permis de savoir si ces paramètres ont une influence sur la qualité immunologique du lait de pseudogestation.

##### *b) Echantillonnage*

#### ▪ Moment de prélèvement

Au moment du prélèvement, la durée depuis laquelle la lactation de pseudogestation est installée n'est pas connue. Le plus souvent celle-ci constitue le motif de consultation, mais elle peut durer depuis plusieurs jours sans que le propriétaire ne s'en soit rendu compte. Certaines fois, elle constitue une découverte fortuite au cours de la consultation de préstérilisation, et là encore il est impossible de déterminer depuis combien de temps elle est présente. A priori, les chiennes n'ont pas été traitées avant notre prélèvement.

#### ▪ Prélèvement par paires de mamelles

Les prélèvements pour plusieurs paires de mamelles ont été possibles uniquement pour 5 chiennes, ce qui ne permet pas un traitement statistique des données. De plus, pour les chiennes prélevées sur une seule paire de mamelles, la mamelle concernée n'est pas connue.

Ceci aurait permis de savoir si le numéro de mamelle influence les concentrations en immunoglobulines du lait de pseudogestation.

- Aspect des sécrétions

Nous avons choisi de classer les échantillons selon leur aspect : type séreux, type lactescent ou type hémorragique. Cette analyse est très subjective, et certaines fois il est difficile de déterminer à laquelle des deux premières catégories appartient l'échantillon. Dans l'espèce bovine, les éleveurs utilisent un pèse-colostrum qui leur permet d'obtenir de façon rapide et peu coûteuse une idée de la qualité immunologique du colostrum. En effet, la densité du colostrum est corrélée positivement à sa concentration en protéines et plus particulièrement en immunoglobulines G (Morin et al, 2001). C'est ce qui nous a conduit à classer nos échantillons selon leur aspect pour déterminer si un prélèvement de type colostrale (séreux dans notre étude) contenait plus d'immunoglobulines que ceux des deux autres types. Connaître la densité de nos échantillons aurait permis d'être plus précis sur cette analyse.

De plus, chez les chiennes présentant des mammites cliques ou subcliniques, la concentration en IgA des sécrétions mammaires peut augmenter (Chastant-Maillard et Mila), c'est ce qui nous a conduit à comparer les concentrations en immunoglobulines des échantillons de type sérohémorragique à celles des autres échantillons.

*c) Dosage des immunoglobulines*

Des échantillons de lait et de colostrum de chienne ont été dosés en même temps que les laits de pseudogestation. Il aurait été intéressant d'utiliser le même nombre d'échantillons de colostrum et de lait que d'échantillons de lait de pseudogestation, pour avoir une meilleure représentativité dans le traitement statistique. Enfin, pour obtenir une comparaison parfaite, il aurait fallu doser du colostrum, du lait, et du lait de pseudogestation provenant de la même chienne, chose quasiment impossible.

Seules deux classes d'immunoglobulines (G et A) ont été dosées dans le lait de pseudogestation. Ce sont les deux immunoglobulines majoritaires dans les deux autres types de sécrétions lactées : les IgG participent à l'immunité systémique tandis que les IgA participent à l'immunité locale digestive. Cependant, comme la composition immunologique du lait de pseudogestation est complètement inconnue, il aurait été intéressant de doser les IgM, voire les IgE, respectivement minoritaires et absentes du colostrum canin (Chastant-Maillard et Mila 2016).

## 2) Résultats

*a) Qualité immunologiques des sécrétions de pseudogestation*

Les sécrétions de pseudogestation possèdent une valeur immunologique : en effet, des immunoglobulines des classes A et G ont été mises en évidence dans chacun des 42 échantillons dosés. Pour les IgA, la moyenne des concentrations obtenues est de  $11,6 \pm 9,9$  g/L ; pour les IgG, elle est de  $24,2 \pm 15,5$  g/L.

Le colostrum est la première sécrétion lactée produite après la mise-bas, qui persiste jusqu'à 24 à 48 heures plus tard (Chastant-Maillard et Mila 2016). Il contient 20 à 30 g/L d'IgG (Chastant-Maillard et al. 2017). Il contient également des IgA mais en quantité moins importante, environ 10 g/L 24 heures après la mise bas. Macroscopiquement, c'est une sécrétion jaunâtre, épaisse ( $d = 1,060$ ) et plus visqueuse que le lait (Abdou 2012).

Le tableau 3 résume les concentrations moyennes en IgA et IgG du colostrum de chienne dans la littérature (Schäfer-Somi et al 2005 ; Bertieri 2012 ; Mila et al. 2015 ; Albaret 2016).

*Tableau 3 : Valeurs en IgG du colostrum obtenues dans la littérature, d'après Schäfer et Somi et al (2005) ; Bertieri (2012) ; Mila et al (2015) et Albaret (2016) :*

<b>Auteurs</b>	<b>Moment du prélèvement</b>	<b>Concentration en IgG (g/L)</b>	<b>Concentration en IgA (g/L)</b>
Schäfer -Somi et al, 2005	H24	19,3 ± 20,9	9,9 ± 4,3
	H48	13,5 ± 9,4	6,0 ± 1,7
Bertieri, 2012	H24	26,5 ± 6,8	17,7 ± 3,8
	H48	12, 1 ± 2,0	9,5 ± 1,7
Mila et al, 2015	H24	20,8 ± 8,1	
Albaret, 2016	H24	17,3 ± 10,4	11,9 ± 6,2
	H48	10,8 ± 11,6	9,2 ± 9,1

Les valeurs moyennes pour les 20 colostrums dosés dans notre étude sont de  $18,0 \pm 12,0$  g/L pour les IgG et de  $10,5 \pm 3,5$  g/L pour les IgA, ce qui coïncide avec les valeurs obtenues dans la littérature pour un colostrum prélevé 24 heures après la mise-bas.

La sécrétion lactée suit la sécrétion colostrale. La transition se fait entre le deuxième et le troisième jour post partum. Le lait est blanchâtre, de densité inférieure au colostrum ( $d = 1,030$ ). Il contient environ 10 g/L d'IgA, tandis que la concentration en IgG chute progressivement pour atteindre 1 à 3 g/L après deux semaines de lactation (Chabanne 2006 ; Albaret 2016). Le tableau 4 résume les concentrations moyennes en IgA et IgG du lait de chienne disponibles dans la littérature.

*Tableau 4 : Valeurs moyennes en IgG et IgA pour le lait obtenues dans la littérature, d'après Schäfer- Somi et al (2005) ; Bertieri (2012) et Albaret (2016) :*

<b>Auteurs</b>	<b>Moment du prélèvement</b>	<b>Concentration en IgG (g/L)</b>	<b>Concentration en IgA (g/L)</b>
Schäfer -Somi et al, 2005	J14	2,0 ± 2,1	2,0 ± 2,1
Bertieri, 2012	J14	0,6 ± 0,1	6,4 ± 0,9
Albaret, 2016	J14	2,6 ± 2,9	10,9 ± 7,4



Les valeurs moyennes pour les 9 échantillons de lait dosés dans notre étude est de  $2,0 \pm 1,3$  g/L pour les IgG et de  $7,6 \pm 4,2$  g/L pour les IgA, ce qui coïncide avec les valeurs obtenues dans la littérature pour un lait prélèvement 14 jours après la mise-bas.

#### *b) Comparaison des laits de pseudogestation au lait et au colostrum canins*

La moyenne des concentrations en IgG des laits de pseudogestation est de  $24,2 \pm 15,5$  g/L. Cette valeur est comparable à celle d'un colostrum prélevé 24 heures après la mise-bas. De plus, la comparaison avec les échantillons de colostrum dosés au cours de notre étude montre que les concentrations obtenues ne sont pas significativement différentes entre les deux types de sécrétions. Par contre, la comparaison avec les échantillons de lait montre une différence significative : la concentration en IgG des échantillons de pseudogestation est donc semblable à celle d'un colostrum et significativement plus élevée que celle d'un lait prélevé à J14.

Aggouni (2016) a montré qu'au-dessus de 12,4 g/L d'IgG, un colostrum est de bonne qualité immunologique, au sens où le risque pour un chiot qui le consomme d'être en déficit de transfert d'immunité diminue significativement. Plus de 80% de nos échantillons (34/42) sont au-dessus de cette valeur. Ainsi, on peut envisager l'utilisation du lait de pseudogestation comme substitut colostrale, pour sa valeur immunologique.

La moyenne des concentrations en IgA dans les échantillons de pseudogestation est de  $11,6 \pm 9,9$  g/L. Cette valeur se rapproche des celles obtenues dans la littérature à la fois pour un colostrum prélevé 48h après la mise-bas et à la fois pour une sécrétion lactée prélevée 14 jours après mise-bas. La comparaison avec les échantillons de lait et de colostrum dosés ne montre pas de différence significative entre lait de pseudogestation et l'une ou l'autre des sécrétions. Le lait de pseudogestation constitue donc également un substitut lacté de bonne valeur immunologique.

Le peu de valeurs obtenues pour des paires de mamelles différentes pour la même chienne montre une très grande variabilité intrachienne ; celle-ci est également retrouvée pour les concentrations en IgG du colostrum, avec un coefficient de variation de 42 %. De même, aucune paire de mamelle produisant une sécrétion plus concentrée en IgG n'avait pu être mise en évidence (Mila et al, 2015).

#### *c) Facteurs de variation des concentrations en immunoglobulines dans les sécrétions lactées*

Il existe une variabilité très importante des concentrations obtenues pour les IgG et les IgA, quel que soit le type de sécrétion. Plusieurs facteurs de variation influencent les concentrations en immunoglobulines des sécrétions colostrales : la concentration en IgG augmente significativement avec l'âge de la chienne (Bertieri 2012 ; Albaret 2016) ; elle peut également augmenter significativement avec la format racial de la chienne (Albaret 2016) ; aucun lien n'a pour l'instant été établi avec la parité ou la taille de la portée.

Dans notre étude, une seule corrélation a pu être mise en évidence : la concentration en IgA dans le lait de pseudogestation augmente significativement avec l'âge de la chienne. De plus, les chiennes de grand format racial ont une concentration en IgA significativement plus élevée que celles de petit format racial, et les chiennes de plus de 6 ans ont une concentration en IgA significativement plus élevée que celles de moins de deux ans. Ces différences n'avaient pas été mises en évidence dans les prélèvements de colostrum. Une étude comportant plus d'échantillons serait donc indiquée pour confirmer ces variations.

Aucune différence significative concernant le format racial ou la catégorie d'âge n'a été mise en évidence pour les IgG, contrairement au colostrum.

Le moment du cycle auquel le prélèvement est réalisé n'a pas mis en évidence de différence dans les concentrations en IgG ou IgA du lait de pseudogestation.

Concernant l'aspect des sécrétions, on observe uniquement une tendance : les prélèvements de type hémorragique seraient plus concentrés en IgA que ceux de type séreux. La couleur foncée de ces échantillons peut témoigner d'une mammite subclinique chez la chienne prélevée (présence de bactéries dans le lait sans signes cliniques associés). Ceci aurait pu être vérifié en réalisant une culture bactériologique du lait de pseudogestation ou en dosant l'enzyme lactate déshydrogénase (LDH). En effet, dans l'espèce bovine, l'activité de cette enzyme et donc sa concentration sanguine est augmentée chez des animaux qui présentent des mammites subcliniques (Chagunda et al, 2006). De plus, chez des chiennes présentant ces mammites subcliniques, la stagnation du lait à l'intérieur des alvéoles mammaires pourrait entraîner une augmentation des concentrations en immunoglobulines. Etant donné le faible nombre d'échantillons de type hémorragique dans notre étude, il faudrait confirmer cette tendance par un plus grand nombre de prélèvements.

#### *d) Lien entre concentration en IgG et IgA dans le lait de pseudogestation*

Pendant les sécrétions lactées post partum, les profils en IgG et IgA s'inversent : en phase colostrale, les IgG sont majoritaires ; elles diminuent progressivement lors de la sécrétion lactée pour laisser place à une augmentation des IgA (Heddle et Rowley 1975 ; Albaret 2016) (Figure 41).

Notre travail ne permet pas d'obtenir une cinétique des concentrations en immunoglobulines au cours de la pseudogestation, mais il existe une corrélation positive entre concentrations en IgG et IgA. Ainsi, un prélèvement riche en IgG le sera aussi en IgA.

La moyenne des concentrations en  $IgG / (IgG + IgA)$  dans nos prélèvements est de 67,8%, avec un minimum de 20,0 % et un maximum de 91,3%. Cette valeur correspond dans la littérature à un colostrum prélevé 24 heures post partum. Pour les  $IgA / (IgG + IgA)$ , la valeur moyenne de nos prélèvements est de 30 %, avec un minimum de 8,7% et un maximum de 79,2 %. Cette valeur correspond à un prélèvement réalisé également 24h post partum.

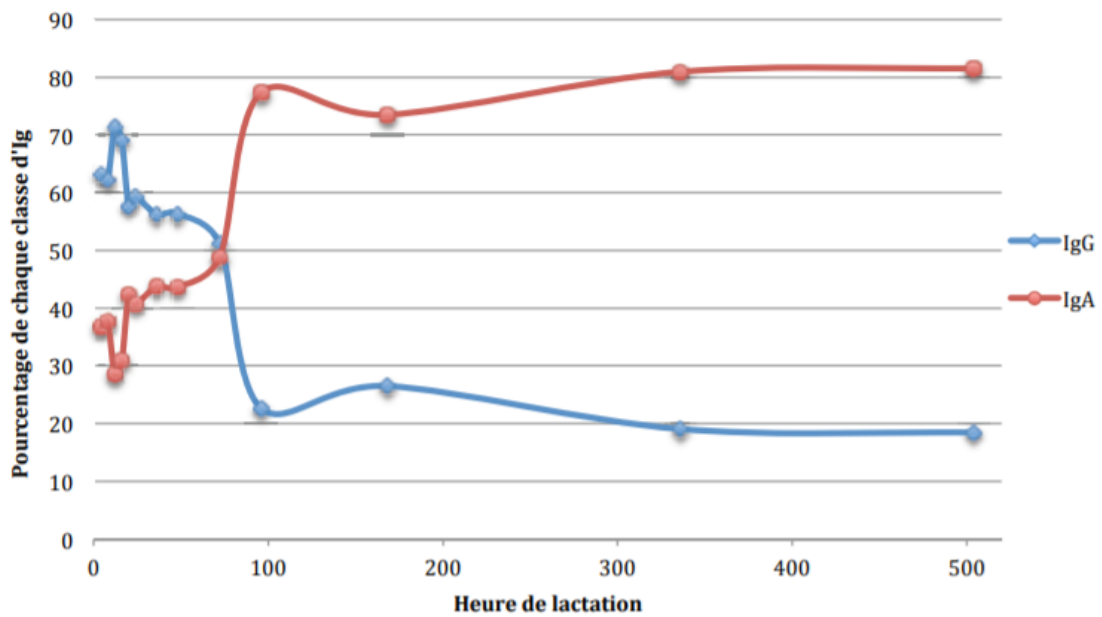


Figure 39 : Pourcentage des différentes classes d'Ig (G et A) au cours de la lactation chez la chienne, d'après Albaret (2016).

#### e) Origine des immunoglobulines dans les sécrétions lactées

Les immunoglobulines G sont les immunoglobulines sériques majoritaires. Elles sont produites par les plasmocytes dans les organes lymphoïdes. Dans le sérum de la chienne, elles sont présentes à une concentration comprise entre 70 et 200 g/L (Chabanne 2006). Pendant la gestation, des récepteurs FcRn (Fragment constant Receptor neonatal) prennent en charge ces IgG provenant de la circulation sanguine dans les cellules épithéliales des alvéoles mammaires. Les immunoglobulines G sont ainsi stockées dans la mamelle en fin de gestation, puis transportées dans les sécrétions mammaires. Seule une petite partie des IgG est synthétisée localement dans la glande mammaire (Kuo et al. 2010).

Le colostrum se met en place dans les alvéoles mammaires au cours des deux à quatre dernières semaines avant la mise-bas, suite au processus de mammogénèse contrôlé notamment par la prolactine. Celui-ci est d'abord très riche en IgG, puis par effet de dilution, les sécrétions deviennent de moins en moins concentrées en IgG. Les immunoglobulines A sont produites localement dans le tissu mammaire (Abdou 2012).

Dans les sécrétions de pseudogestation, cette effet dilution ne semble pas être présent puisque le lait ne s'écoule pas : la chienne n'allait pas et n'est pas traite. Ceci pourrait expliquer ces concentrations importantes à la fois en IgA et en IgG. Le processus hormonal qui conduit à la mammogénèse et à la lactogénèse en pseudogestation est comparable à celui qui survient lors de la gestation ; on peut donc imaginer une production identique des sécrétions lactées, qui restent stockées à l'intérieur de l'acinus mammaire.

Le lait de pseudogestation a une concentration en IgG proche de celle du colostrum lors de la première traite. En cas de répétitions des prélèvements, il reste à établir si cette sécrétion aurait le même comportement que le colostrum, c'est-à-dire une chute rapide des concentrations en IgG.

## IV. Perspectives

### 1) Valeur énergétique des sécrétions de pseudogestation

Le colostrum et le lait possèdent en plus de leur valeur immunologique une valeur énergétique importante qui permet de couvrir les besoins du chiot dès sa naissance. Leur composition énergétique est différente : le colostrum est très riche en protéines (deux fois plus qu'un lait récolté deux semaines après la mise bas), légèrement plus riche en lipides (plus 10% par rapport au lait), et deux fois moins riche en glucides que le lait (Chastant-Maillard et Mila 2016) (Tableau 5).

L'apport énergétique colostrale est lui aussi associé aux chances de survie dans une portée : les chiots présentant une glycémie inférieure à 0,92 g/L à 24 heures de vie présentent un risque plus important de mortalité (Mila, 2015).

Ainsi, après avoir constaté la valeur immunologique du lait de pseudogestation, il serait intéressant d'établir sa valeur énergétique.

*Tableau 5 : Compositions énergétiques du colostrum et du lait à J3 et J14, d'après Chastant et Mila (2016).*

<b>Nutriments</b>	<b>Colostrum</b>	<b>Lait à J3</b>	<b>Lait à J14</b>
Protéines (g/L)	143	102,3	66,8
Lipides (g/L)	132,2	137,2	118,5
Lactose (g/L)	16,6	29,3	39,9
Calcium (mg/L)	1,363	1,366	1,95
Phosphore (mg/L)	935	914	1,175
Energie (kcal/L)	1,831	1,761	1,493

Il serait également intéressant de doser des anticorps spécifiques que l'on retrouve dans le colostrum comme celui dirigé contre le parvovirus canine de type 2 (CPV2). En effet, la prévalence du CPV2 dans les diarrhées des chiots est d'environ 70%, et la plupart des anticorps protecteurs sont apportés au chiot via le colostrum et permettent sa protection jusqu'à la vaccination. Des chiennes pseudogestantes vaccinées pourraient permettre un apport en anticorps spécifiques via le lait de pseudogestation (Mila et al, 2014).

### 2) Utilisation d'une chienne pseudogestante en cas de déficit colostrale

Etant donné la valeur immunologique établie du lait de pseudogestation, l'utilisation d'une chienne pseudogestante peut se justifier pour apporter aux chiots des immunoglobulines avant la fermeture de leur barrière intestinale. Elle peut être utilisée de deux façons : soit directement

en adoptant la portée concernée (s'ajoute alors l'atout comportemental de l'éducation) mais cette solution sera peu fréquemment possible ; soit en contribuant à une banque de lait de pseudogestation (selon le même principe qu'une banque de colostrum). Cette deuxième possibilité présente l'avantage que la qualité sanitaire du lait de pseudogestation pourrait être contrôlée.

Si la chienne n'a jamais été traitée, nos résultats laissent penser que la concentration en IgG est très importante dans le lait de pseudogestation. Assez probablement, comme dans une lactation classique, la concentration en IgG va peu à peu diminuer au profit des IgA. La lactation pourrait être entretenue par la tétée.

Des chiennes pseudogestantes pourraient donc être utilisées à la fois pour un apport en IgG en phase colostrale et pour un apport en IgA en phase lactée. S'il s'avère que le lait de pseudogestation permet un apport énergétique correct, on pourrait l'utiliser seul ; dans le cas inverse, il faudrait l'associer avec du lait maternisé pour l'apport énergétique.

Une étude montrant l'évolution des concentrations en IgG et IgA chez la chienne pseudogestante tétée reste toutefois à mener.

### 3) Quels risques pour la femelle pseudogestante ?

Les conséquences de l'entretien de ce type de lactation sur une femelle pseudogestante ne sont pas connues. Le risque de tumeurs mammaires évoqué par Murrel (1991) semble être lié à la stagnation du lait dans les alvéoles ; ainsi, si la chienne allaite une portée, le risque semble diminué puisque le lait s'évacue au fur et à mesure. Là encore, une étude serait à mener pour comparer le risque de prolifération néoplasique mammaire chez des chiennes pseudogestantes traitées ou non.

### 4) Quels risques pour les chiots ?

Certaines précautions devront être prises dans l'utilisation de ce lait de pseudogestation : d'abord, l'absence de mammite clinique ou subclinique chez la chienne, ainsi que l'absence de toxines bactériennes dans le lait concerné.

## **CONCLUSION**

La pseudogestation est un phénomène qui s'observe chez de nombreuses espèces, mais qui reste relativement peu étudié, notamment dans l'espèce canine. Chez la chienne non gestante, une lactation peut survenir à la fin du diœstrus. Plutôt que de l'aborder comme une pathologie, nous avons voulu savoir si le lait de pseudogestation possédait une valeur immunologique.

Notre étude a montré que cette sécrétion est riche en immunoglobulines de type G et de type A. Ces concentrations importantes en IgG permettent d'envisager l'utilisation du lait de pseudogestation en tant que substitut colostrale ou lacté, de deux façons différentes : soit en mettant la chienne en contact direct avec la portée pour qu'elle l'allait ; soit en conservant ses sécrétions sous forme congelée pour une utilisation future.

De nombreuses études restent encore à mener notamment en ce qui concerne l'évolution de ces concentrations en immunoglobulines au cours de la traite, la quantité que la chienne est capable de produire, l'innocuité du maintien de ces sécrétions de pseudogestation pour les chiots et du maintien de la pseudogestation pour la chienne.

## **BIBLIOGRAPHIE**

ABD - ELKAREEM, M., 2017. Morphological, histological and immunohistochemical study of the rabbit uterus during pseudopregnancy. *Journal of cytology and histology*, n° 8 (1), pp. 1-7.

ABDOU, H., 2012. Physiologie de la production et composition chimique du colostrum des grands mammifères domestiques : généralités. *Annales de Médecine Vétérinaire*, n° 156, pp. 87-98.

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*, n° 4060, Toulouse.

ALBARET, A., 2016. Composition immunologique des sécrétions lactées chez la chienne. *Thèse de doctorat vétérinaire*, n° 4082, Toulouse.

ALLEN, EW., 1986. Pseudopregnancy in the bitch: the current view on etiology and treatment. *Journal of Small Animal Practice*, n° 27, pp. 419-424.

ARBEITER, K., BRASS, W., BALLABIO, R. et JOCHLE, W., 1988. Treatment of pseudopregnancy in the bitch with cabergoline, an ergoline derivative. *Journal of Small Animal Practice*, n° 29, pp. 781-788.

BASTAN, A., FINIDK, M., ERUNAL, N., ASLAN, S. et KILICOGLU, C., 1998. The use of cabergoline for treatment of pseudopregnancy in dogs with the purpose of suppressing lactation. *Reproduction of Domestic Animals*, n° 33, pp. 49-53.

BERTIERI, MB., 2012. Etude de la concentration en immunoglobulines des sécrétions mammaires de la chienne. *Thèse de doctorat vétérinaire*, Toulouse.

BLANCHER, C., 2003. Le fureton, de la conception à la puberté, *Thèse de doctorat vétérinaire*, n° 150, Lyon.

BOITI, C., BESENFELDER, U., BRECCHIA, G., THEAU-CLÉMENT, M. et ZERANI, M., 2006. Reproductive physiopathology of the rabbit doe. *Recent advances in rabbit sciences*, L. Maertens et P. Coudert. Ilvo ; Melle, Belgique, pp. 3-20.

BUCHANAN, G., 1966. Reproduction in the ferret (*Mustela furo*) - Uterine histology and histochemistry during pregnancy and pseudopregnancy. *American Journal of Anatomy*, n° 118, pp. 195-216.

BUSCH, L.C., WINTERHAGER, E. et FISCHER, B., 1986. Regeneration of the uterine epithelium in later stages of pseudopregnancy in the rabbit. *Anatomy and Embryology*, vol. 174, n° 1, pp. 97-104.

CARTER, C., ADAMS, J., CZARRA, J. et COAN, P., 2016. An incidence of pseudopregnancy associated with the social enrichment of rabbits (*Oryctolagus cuniculi*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, vol 55, n° 1, pp. 98-99.



- CHABANNE, L., 2006. Immunologie clinique du chien et du chat. Elsevier-Masson. Abrégés Vétérinaires, Issy-les-Moulineaux.
- CHAGUNDA, M., LARSEN, T., BJERRING, M., INGVARTSEN, K., 2006. L-lactate déshydrogenase and N-acétyl- $\beta$ -D-glucosaminidase activities in bovine milk as indicators of non-specific mastitis, *Journal of Dairy Research*, vol 73, pp. 431-440.
- CHASTANT-MAILLARD, S., AGGOUNI, C., ALBARET, A., FOURNIER, A. et MILA, H., 2017. Canine and feline colostrum. *Reproduction in Domestic Animals*, n° 52, pp. 148-152.
- 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*, vol 47, pp. 190-193.
- CHASTANT-MAILLARD, S. et MILA, H., 2016. Le colostrum de la chienne. *Veterinary Focus*, vol. 26, n° 1, pp. 32-38.
- COINUS, S., 2014. Composition nutritionnelle et immunologique du colostrum canin. *Thèse de doctorat vétérinaire*, n° 4093, Toulouse.
- CONCANNON, PW., 1986. Canine pregnancy and parturition. *Reproduction and periparturient care*, n° 195, pp. 453-475.
- CONCANNON, PW., 2010. Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal Reproduction Science*, vol 124, pp. 1-11.
- CONCANNON, PW., CASTRACANE, VD., TEMPLE, M. et MONTANEZ, A., 2009. Endocrine control of ovarian function in dogs and other carnivores. *Animal Reproduction Science*, vol. 6, n° 1, pp. 172-193.
- 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*, vol. 83, n° 4, pp. 766-771.
- DAVIES, J. et HOFFMAN, LH., 1970. Studies of the progesterational endometrium of the rabbit. *American Journal of Anatomy*, n° 137, pp. 423-446.
- DUQUESNEL, R., PARISOT, D., PIROT, G., MIALOT, JP., SABOUREAU, L., ETIENNE, P., DELAVAL, J., GUÉRAUD, JM., PRENGERE, E. et DE MONTIGNY, G., 1992. La pseudogestation chez la chèvre. *Annales de Zootechnie*, vol. 41, pp. 407-415.
- FONTBONNE, A., 2016. Troubles of lactation in the bitch, *Summer School ECAR*, Liège, Belgique, 25-27 août 2016.
- FORTUN-LAMOTHE, L. et BOLET, G., 1995. Les effets de la lactation sur les performances de reproduction chez la lapine. *INRA Productions animales*, vol 8(1), pp. 49-56.
- GOBELLO, C., BASCHAR, H., CASTEX, G., DE LA SOTA, RL. et GOYA, RG., 2001a. Diœstrus ovariectomy: a model to study the role of progesterone in the onset of canine pseudopregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility supplement*. 2001a, n° 57, pp. 55-60.

- GOBELLO, C., COLOMBANI, M., SCAGLIA, H., DE LA SOTA, R. et GOYA, RG., 2001b. Heterogeneity of circulating prolactin in the bitch. *Reproduction, Nutrition, Development.*, vol. 41, n° 6, pp. 505-511.
- GOBELLO, C., DE LA SOTA, RL. et GOYA, RG., 2001c. A review of canine pseudocyesis. *Reproduction in Domestic Animals*, vol. 36, pp. 283-288.
- GOBELLO, C., DE LA SOTA, RL. et GOYA, RG., 2001d. Study of the change of prolactin and progesterone during dopaminergic agonist treatments in pseudopregnant bitches. *Animal Reproduction Science*, vol. 66, n° 3-4, pp. 257-267.
- GUEDES, D. et YOUNG, R., 2004. A case of pseudo-pregnancy in captive brown howler monkey (*Alouatta guariba*). *Folia Primatologica*, n° 75, pp. 335-338.
- HAMMOND, J. et MARSHALL, F.H.A, 1914. The functional correlation between the ovaries, uterus, and mammary glands in the rabbit, with observations in the œstrus cycle. *Proceedings of the Royal Society of London*, vol. 87, pp. 422-440.
- HAMMOND, J. et MARSHALL, F.H.A, 1930. Œstrus and pseudopregnancy in the ferret. *Proceedings of the Royal Society of London*, vol. 105, n° 740, pp. 607-630.
- HARVEY, M.J.A, CAUVIN, A., DALE, M., LINDLEY, S. et BALLABIO, R., 1997. Effect and mechanisms of the anti-prolactin drug cabergoline on pseudopregnancy in the bitch. *Journal of Small Animal Practice*, n° 38, pp. 336-339.
- HEAP, RB. et HAMMOND, J., 1974. Plasma progesterone levels in pregnant and pseudopregnant ferrets. *Journal of Reproduction and Fertility*, vol. 39, pp. 142-152.
- HEDDLE et ROWLEY, 1975. Dog immunoglobulins: immunochemical characterization of dog serum, parotid saliva, colostrum, milk and small bowel fluid. *Immunology*, vol. 29, n° 1, pp. 185-195.
- HERMO, G., GEREZ, PG., DRAGONETTI, AM. et GOBELLO, C., 2009. Effect of a short-term restricted food intake on canine pseudopregnancy. *Reproduction in Domestic Animals*, n° 44, pp. 631-633.
- INDREBO, A., TRANGERUD, C. et MOE, L., 2007. Canine neonatal mortality in four large breeds. *Veterinary Scandinavia*, vol. 49, n° 1.
- JANSSENS, LA., 1986. Treatment of pseudopregnancy with bromocriptin, an ergot alkaloid. *The Veterinary Record*, n° 119, pp. 172-174.
- JEWGENOW, K., PAINER, J., AMELKINA, O., DEHNHARD, M. et GOERIZ, F., 2014. Lynx reproduction - Long lasting life cycle of corpora lutea in a feline species. *Reproductive Biology*, n° 14, pp. 83-88.
- JONES, CM., JAMES, RE., QUICKLEY, JD. et MCGUILLIARD, ML., 2004. Influence of pooled colostrum or colostrum replacement on IgG and evaluation of animal plasma in milk replacer. *Journal of Dairy Science*, n° 87, pp. 1806-1814.

- KOOISTRA, H. S. et OKKENS, A. C., 2001. Secretion of prolactin and growth hormone in relation to ovarian activity in the dog. *Reproduction in Domestic Animals*, vol. 36, n° 3-4, pp. 115–119.
- KOOISTRA, H. S et OKKENS, A. C, 2002. Secretion of growth hormone and prolactin during progression of the luteal phase in healthy dogs: a review. *Molecular and Cellular Endocrinology*, vol. 197, n° 1–2, pp. 167-172.
- KUO, T., BAKER, K., YOSHIDA, M., QIAO, SW., AVESON, VG., LENCER, WI. et BLUMBERG, RS., 2010. Neonatal Fc Receptor: from immunity to therapeutics. *Journal of Clinical Immunology*, n° 30, pp. 777-789.
- LAWLER, DF., JOHNSTON, SD., KELTNER, DG., BALLAM, JM., KEALY, RD., BUNTE, T., LUST, G., MANTZ, SL. et NIE, RC., 1999. Influence of restricted food intake on œstrus cycles and pseudopregnancies in dogs. *American Journal of Veterinary Research.*, vol. 60, n° 7, pp. 820-825.
- LINDEBERG, H., 2008. Reproduction of the female ferret (*Mustela putorius furo*). *Reproduction in Domestic Animal*, vol. 43, n° 2, pp. 150-156.
- MARTINET, J. et HOUDEBINE, L., 1993. Biologie de la lactation. INRA Editions, INSERM, Paris.
- MALLEM, Y., 2016. Bénéfices et risque de la cabergoline versus la métergoline lors de lactation de pseudo-gestation. *Le Point Vétérinaire*, n° 369, pp. 16.
- MEAD, RA., BOWLES, M., STARYPAN, G. et JONES, M., 1993. Evidence for pseudopregnancy and induced ovulation in captive wolverines (*Gulo gulo*). *Zoo Biology*, n° 12, pp. 353-358.
- MILA, H., 2015. Neonatal period in the dog : immunological and nutritional determinants for survival. *Thèse pour l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse*.
- 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*, n° 116, pp. 209-213.
- MILA, H., FEUGIER, A., GRELLET, A., ANNE, J., GONNIER, M., MARTIN, M., ROSSIG, L. et CHASTANT-MAILLARD, S., 2015. Immunoglobulin G concentration in canine colostrum: evaluation and variability. *Journal of Reproductive Immunology*, vol. 112, pp. 24-28.
- MILA, H., GRELLET, A., CONSTANTINA, D., FEUGIER, A., DECARO, N., BUONAVOGLIA, C., CHASTANT-MAILLARD, S., 2014. Protection against canine parvovirus type 2 infection in puppies by colostrum-derived antibodies. *Journal of Nutritional Science*, vol 3, pp. 1-4.
- MIR et FONTBONNE, 2013. Gestion d'une lactation de pseudogestation réfractaire aux traitements anti-laiteux chez la chienne. *Le Point Vétérinaire*, n° 334, pp. 6-9.

- MORIN, DE., CONSTABLE, PD., MAUNSELL, FP., MCCOY, JC., 2001. Factors associated with colostral specific gravity in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, n°84, pp. 937-943.
- MURREL, T.G.C, 1991. Epidemiological and biochemical support for a theory on the cause and prevention of breast cancer. *Medical Hypothesis*, vol. 36, n° 4, pp. 389-396.
- NIELEN, ALJ., GAAG, I., KNOL, BW. et SCHUKKEN, Y.H, 1998. Investigation of mortality and pathological changes in a 14-month birth cohort of boxer puppies. *The Veterinary Record*, vol. 142, pp. 602-606.
- ÖZYURTLU, N. et ALAÇAM, E., 2005. Effectiveness of homeopathy for the treatment of pseudopregnancy in bitches. *Turkish Journal of Veterinary and animal science*, vol. 29, n° 3, pp. 903-907.
- OZYURTLU, N. et ALAÇAM, E., 2006. Evaluation of vaginal smears, and progesterone and relaxin levels in pregnant, and overt and covert pseudopregnant bitches. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*. 2006. N° 30, pp. 465-470.
- PAAPE, SR., SHILLE, VM., SETO, H. et STABENFELDT, GU., 1975. Luteal activity in the pseudopregnant cat. *Biology of Reproduction*, n° 13, pp. 470-474.
- QUEIROGA, FL., PÉREZ - ALENZA, MD., SILVAN, G., PENA, L., LOPES, C. et ILLERA, JC., 2005. Role of steroid hormones and prolactin in canine mammary cancer. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, n° 94, pp. 181-187.
- QUICKLEY, JD., KOST, CJ. et WOLFE, TM., 2002. Absorption of protein and IgG in calves fed a colostrum supplement or replacer. *Journal of Dairy Science*, vol. 85, pp. 1243-1248.
- RAZZAQUE, WAA., HUSAIN, K., AGARWAL, S. et KUMAR, S., 2008. False pregnancy in bitch. *Veterinary World*, vol. 1, n° 3, pp. 92-95.
- ROMMERS, J., BOITI, C., JONG, I. et BRECCIA, G., 2006. Performance and behaviour of rabbit does in a group-housing system with natural mating or artificial insemination. *Reproduction Nutrition Development*. 2006. Vol. 46, n° 6, pp. 677-687.
- SALISSARD, M., 2013. La lapine, une espèce à ovulation provoquée ; Mécanismes et dysfonctionnement associé: la pseudogestation. *Thèse de doctorat vétérinaire*, Toulouse.
- 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*, vol. 78, n° 2, pp. 143-150.
- SCHNEIDER, R., DORN, CR. et TAYLOR, DON., 1969. Factors influencing mammary cancer development and postsurgical survival. *Journal of the National Cancer Institute*, vol 43, n°6, pp. 1249-1261.
- SCHULZ, LC., NELSON, RA., PYTER, LH. et BAHR, JM., 2003. Induction of pseudopregnancy in the American Black Bear (*Ursus Americanus*). *Journal of Experimental Zoology*, vol. 298A, pp. 162-166.

- TARIN, J., HERMMENEGILDO, C., GARCIA-PEREZ, M. et CANO, A., 2013. Endocrinology and physiology of pseudocyesis. *Reproductive Biology and Endocrinology*, vol. 11, n° 39, pp. 1-12.
- THEAU- CLÉMENT, M., 2008, Facteurs de réussite de l'insémination chez la lapine et méthodes d'induction de l'œstrus. *INRA Productions Animales*, n° 21 (3), pp. 221-230.
- THEAU- CLÉMENT, M., BOLET, G., FORTUN-LAMOTHE, L., BRECCHIA, G. et BOITI, C., 2008. High plasmatic progesterone levels at insemination depress reproductive performance of rabbit does, 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy.
- THEAU-CLÉMENT, M., BOITI, C. et BRECCHIA, G., 2005. Characterisation of pseudopregnant rabbit does at the moment of artificial insemination. Preliminary results, Rapport du meeting scientifique de Palerme.
- TIZARD, I., 2013. *Veterinary Immunology, Ninth Edition*. Elsevier, Texas A & M University.
- TONNESSEN, R., BORGE, K., NODTVEDT, A. et INDREBO, A., 2012. Canine perinatal mortality: a cohort study of breeds. *Theriogenology*, n° 77, pp. 1788-1801.
- TOURAINÉ, P. et GOFFIN, V., 2005. Physiologie de la prolactine. *Endocrinologie*, vol. 2, pp. 50-76.
- TSUTSUI, T., KIRIHARA, N., HORI, T. et CONCANNON, PW., 2007. Plasma progesterone and prolactin concentrations in overtly pseudopregnant bitches: a clinical study. *Journal of Theriogenology*, n° 87, pp. 1032-1038.
- VAN DER WEYDE, LK., MARTIN, GB., BLACKBERRY, MA., GRUEN, V., HARLAND, A. et PARIS, MC., 2015. Reproductive hormonal patterns in pregnant, pseudopregnant and acyclic captive African wild dogs (*Lycaon pictus*). *Animal Reproduction Science*, n° 156, pp. 75-82.
- VAN KESTEREN, F., PARIS, M., MACDONALD, DW., MILLAR, R., ARGAW, K., JOHNSON, PJ., FARSTAD, W. et SILLERO -ZUBIRI, C., 2013. The physiology of cooperative breeding in a rare social canid; sex, suppression and pseudopregnancy in female Ethiopian wolves. *Physiology & Behaviour*, vol. 122, pp. 39-45.
- VERSTEGEN-ONCLIN, K. et VERSTEGEN, J., 2008. Endocrinology of pregnancy in the dog: A review. *Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology*, vol. 70, n° 3, pp. 291-299.
- VERSTEGEN, J. et ONCLIN - VERSTEGEN, K., 2009. Mammary tumors and prolactin. *Small Animal Oncology*, vol. 14, n° 5, pp. 1-3.



**NOM** : ABRARD

**Prénom** : Marine

**Titre** : *Etude de la qualité immunologique du lait de pseudogestation chez la chienne*

**Résumé** : La pseudogestation est un évènement qui survient chez la chienne non gestante à la fin du diœstrus, et qui peut s'accompagner d'une lactation. Les immunoglobulines A et G ont été dosées par ELISA dans 42 échantillons de lait de pseudogestation. En parallèle, 10 échantillons de colostrum (prélevés 24 heures post partum) et 9 échantillons de lait (prélevés 14 jours post partum) ont été dosés par la même technique. La concentration moyenne en IgA était de  $11,6 \pm 9,9$  g/L pour les laits de pseudogestation, contre  $10,5 \pm 3,5$  g/L pour les colostrums et  $7,6 \pm 4,2$  g/L pour les laits. Pour les IgG, les concentrations étaient respectivement de  $24,2 \pm 15,5$  g/L,  $18,0 \pm 12,0$  g/L et  $2,0 \pm 1,3$  g/L. La concentration en IgA augmente significativement avec l'âge de la chienne dans le lait de pseudogestation. Les chiennes de grand format racial ont une concentration en IgA supérieure aux chiennes de petit format racial ; de même, les chiennes de plus de 6 ans ont une concentration en IgA supérieure à celles de moins de deux ans. Quatre-vingt pour cent de ces sécrétions peuvent être apparentées à un lait ou un colostrum de bonne qualité immunologique, ce qui permet d'envisager l'utilisation du lait de pseudogestation en tant que substitut colostrale.

**Mots clés** : pseudogestation / immunoglobuline / lait / colostrum / chien

---

**SECOND NAME** : ABRARD

**First name** : Marine

**Title** : *Study of the immunological quality of the secretions of pseudopregnancy in the bitch*

**Summary** : Pseudopregnancy occurs in the non pregnant bitch at the end of diœstrus, and can go along with a lactation. Immunoglobulins A and G were dosed by ELISA in 42 samples of milk of pseudopregnancy. At the same time, 10 samples of colostrum (collected 24h post partum) and 9 samples of milk (collected 14 days post partum) were dosed using the same method. The mean concentration in IgA was of  $11,6 \pm 9,9$  g/L for the milk of pseudopregnancy, versus  $10,5 \pm 3,5$  g/L for the colostrums et  $7,6 \pm 4,2$  g/L for the milks. Concerning the IgG, the concentrations were respectively  $24,2 \pm 15,5$  g/L,  $18,0 \pm 12,0$  g/L et  $2,0 \pm 1,3$  g/L. The IgA concentration increases significantly with the age of the bitch in the milk of pseudopregnancy. Large breed type bitches have an higher IgA concentration than small breed type bitches ; likewise bitches older than 6 have an higher IgA concentration than bitches aged than less of two years. Eighty pourcent of these secretions can be apparented to one milk or one colostrum of good immunological value, which permits to consider the use of the milk of pseudopregnancy as an colostrale substitute.

**Keywords** : pseudopregnancy / immunoglobulin / milk / colostrum / dog