

Etude de l'efficacité de sérocolostrums bovins sur le transfert de l'immunité passive du poulain

Par :

- A. J.E. Jimenez-Lopez^{a,b}, J.M Betsch^c, N. Spindler^c, S. Desherces^d, E. Schmitt^d, J.L. Maubois^{a,b}, J. Fauquant^{a,b}, S. Lortal^{a,b}
- ^aINRA, UMR1253 Science et Technologie du Lait et de l'Œuf, F-35000 Rennes, France
- ^bAgrocampus Ouest, UMR1253 Science et Technologie du Lait et de l'Œuf, F-35000 Rennes, France
- ^cClinique vétérinaire équine de Méheudin, F- 61150 Ecouché, France
- ^dIMV Technologies, F-61300 L'aigle, France

Résumé

L'échec du transfert de l'immunité passive par le colostrum maternel chez les poulains est responsable de 10 à 12 % du taux de mortalité néonatale. Une des raisons est le manque de colostrum de bonne qualité immunologique avec des taux d'immunoglobulines (IgG) élevées. Dans le cadre de cette étude, des sérocolostrums bovins très riches en immunoglobulines ont été administrés à des poulains en substitut ou en complément du colostrum maternel de mauvaise qualité immunologique, dans les 7 heures suivant la naissance. Les taux d'immunoglobulines bovines et équines des sérums de poulains ont été mesurés, les taux d'absorption et les temps de ½ vie des immunoglobulines ont été calculés et l'état de santé clinique des animaux a été suivi durant 45 à 60 jours. Parmi les trois sérocolostrums testés, un seul a permis d'obtenir des taux d'immunoglobulines sériques supérieures à 8 gkg⁻¹ à 24 heures avec des teneurs en IgG de 12 à 16 gkg⁻¹. La présence d'une fraction peptidique spécifique dans ce sérocolostrum pourrait jouer un rôle dans le transfert des immunoglobulines. Le temps de ½ vie des IgG bovines est plus faible (4-5 jours) que les IgG équines (24 jours), mais la diminution rapide des concentrations en IgG bovines semble partiellement compensée par une synthèse endogène des IgG équine plus précoce. Le sérocolostrum bovin n'a pas permis d'éviter des pathologies spécifiques aux chevaux telles que la rhodococcose. Cependant les poulains ayant contracté cette infection ont tous été guéris par un traitement antibiotique adapté. Cette étude a montré que l'utilisation d'un sérocolostrum bovin en complément d'un colostrum équin de mauvaise qualité immunologique pourrait être une bonne solution pour limiter l'échec du transfert de l'immunité passive.

Mots clés : immunoglobulines, sérocolostrum bovin, immunité passive, poulains

Summary

The failure in passive transfer of maternal antibodies present in colostrum leads to a rate of mortality close to 10 to 12 % by current infections. One of the main reasons responsible for this failure is the lack of good immunological quality colostrum with high immunoglobulin (IgG) concentrations. In this work, three different bovine serocolostrums with high immunoglobulin concentrations were given to foals, either in substitute or in association with an equine colostrum with low immunoglobulin levels, during the 7 hours after foaling. The bovine and equine IgG levels in serum were followed, the IgG absorption coefficient and the half-time of IgG were calculated and the animal diseases were followed. Only one bovine serocolostrum allowed to get an IgG level in foal serums higher than 8 gkg⁻¹ at 24 hours old with an IgG concentrations in serum of 12 to 16 gkg⁻¹. A specific peptidic fraction of this serocolostrum could play a role in the IgG transfer through the immature intestinal epithelium. The bovine serocolostrum does not avoid specific infections with *Rhodococcus equi* but these infections have been absolutely recovered by adapted antibiotic treatment. The half time of bovine IgG (4-5 days) is shorter than the equine ones (24 days) but the fast decrease in bovine IgG seems partially being compensated by the earlier endogeneous production of the foals. This study showed that the bovine serocolostrum given in association with a poor equine colostrum could be able to limit the failure in passive transfer.

Key-words : immunoglobulins, bovin serocolostrum, passive immunity, foals

Introduction

Les poulains naissent agammaglobulinémiques (sans immunoglobulines = anticorps), leur survie dépend donc du transfert de l'immunité passive par le colostrum maternel. L'échec du transfert de l'immunité passive, pour des raisons tant liées aux juments (mort, refus d'allaiter, qualité et quantité de colostrum insuffisante) qu'aux poulains (défaut de tétée, défaut d'absorption du colostrum...) est responsable de 10 à 12 % des infections néonatales mortelles, ce qui représente une perte économique conséquente de par les soins engagés et la perte des animaux. Ce taux de mortalité souligne plusieurs points critiques, à la fois pratiques et scientifiques, récurrents au sein de la filière équine. D'un point de vue pratique, il ressort :

- la difficulté à disposer de colostrum équin de réserve : il n'y a, à ce jour, pas de banque nationale de colostrum équin qui permettrait de fournir les éleveurs en cas de besoin et seul un dépannage de proximité aléatoire existe.
- la difficulté à utiliser des succédanés de colostrum coûteux (concentrés plasmatiques, extraits de colostrums) nécessitant pour certains une administration par voie intra-veineuse et dont la nature exacte (origine, composition) et la réelle efficacité ne sont pas clairement connues.

Au niveau scientifique, ce taux de mortalité souligne un manque de connaissance :

- des causes de la sécrétion des colostrums de mauvaise qualité immunologique
- des mécanismes impliqués dans le transfert, à travers l'intestin du nouveau né, des immunoglobulines conférant l'immunité passive.

Le colostrum est un pré-lait constitué de globules gras et de cellules somatiques (cellules du système immunitaire, cellules épithéliales...) en suspension dans une phase aqueuse contenant des vitamines, des sels minéraux, du lactose et des protéines. Ces dernières sont classées en deux catégories : les micelles de caséines considérées comme des colloïdes en suspension de diamètre moyen 100 nm et les protéines dites solubles telles que les immunoglobulines G₁ (IgG₁) de diamètre moyen 5-10 nm. Les principales particularités du colostrum par rapport à un lait sont sa grande richesse en IgG₁ avec des concentrations qui peuvent dépasser 80 gL⁻¹ sur les premières traitees, sa plus forte proportion en facteurs de croissance ou encore en protéines bactériostatiques telle que la lactoferrine. Les performances du transfert de l'immunité passive sont classiquement ramenées aux concentrations des IgG₁ obtenues dans le plasma du poulain sur les premières 24 heures. Il est communément admis que l'immunité passive confère une protection systémique efficace au poulain lorsque le taux d'IgG₁ plasmatique est supérieur à 8 gL⁻¹ entre 24 et 36 heures après la naissance. La teneur en IgG pour assurer une protection minimale ne doit pas être inférieure à 4 gL⁻¹. Pour optimiser les chances d'obtenir un taux plasmatique suffisant, le colostrum doit être « riche » en IgG₁ ([IgG₁] > 60 gL⁻¹) et celui-ci doit être administré dans les toutes premières heures de vie (12 heures), avant le renouvellement de l'épithélium intestinal : « gut closure » de l'intestin. A ce stade, les IgG₁ contenues dans le colostrum sont alors transférées à travers les entérocytes de l'intestin grêle, encore immatures, par un mécanisme de pinocytose (Jeffcott, 1972 ; Jochims *et al.*, 1994).

L'utilisation du colostrum bovin comme succédané (en remplacement) de colostrum équin pour les poulains est une problématique récurrente depuis de nombreuses années (Holmes et Lunn, 1991 ; Lavoie *et al.*, 1989 ; Le Blanc, 1991). Le colostrum bovin, disponible en grande quantité, est une source d'IgG de grand intérêt bien que non spécifiques à l'espèce équine. L'administration de colostrum entier à des poulains est décrite comme une solution acceptable (Holmes et Lunn, 1991 ; Lavoie *et al.*, 1989) mais celui-ci ne constitue pas un succédané attractif pour les éleveurs. En effet, le taux de ½ vie des IgG bovines est environ 3 fois plus faible que celui des IgG équines (Holmes et Lunn, 1991 ; Lavoie *et al.*, 1989), ce qui conduit à un déficit en IgG plasmatiques plus précoce chez des poulains ayant consommé le colostrum bovin. Néanmoins, cet argument est à nuancer car il semble que ce déficit puisse être compensé partiellement par une synthèse endogène des IgG équines plus précoce et plus rapide (Holmes et Lunn, 1991). Un autre aspect limitant son utilisation est la non spécificité des IgG bovines aux pathogènes équins tel que *Rhodococcus equi*, bactérie couramment impliquée dans les infections néonatales. Cependant, il existe une grande variété de pathogènes communs aux deux espèces (*E. coli* ; *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*...) qui sont responsables de la majorité des infections néonatales du poulain. D'un point de vue pratique, les colostrums entiers ou écrémés bovins disponibles présentent souvent des taux d'IgG relativement bas (≈ 40 g L⁻¹), ce qui nécessite l'administration de grandes quantités de colostrum (3-4 L) pour atteindre un taux plasmatique satisfaisant et constitue donc un frein à son utilisation en élevage. De plus, si le colostrum bovin peut être utilisé en tant que succédané, il n'est pas envisageable de l'administrer en complément d'un colostrum équin « pauvre » en immunoglobulines (0-30 gkg⁻¹), car le colostrum bovin seul est un aliment complet et riche. Ainsi, à défaut d'être une solution idéale, il apparaît que l'utilisation d'une fraction colostrale bovine enrichie en IgG, facteurs de croissance et molécules bioactives qui peut être à la fois administrée en substitut et en

complément d'un colostrum équin pauvre semble être une alternative intéressante pour apporter une régularité dans la protection immunitaire qui fait défaut à l'allaitement maternel.

Jusqu'alors, les procédés d'extraction de la fraction enrichie en IgG, redistribuaient les IgG dans une phase aqueuse simple telle que l'eau saline. Les IgG ainsi préparées présentent un défaut d'absorption intestinale conséquent (Balfour et Comline, 1962 ; Grongnet *et al.*, 1986), expliqué par l'élimination de facteurs solubles promoteurs de l'absorption. Ces facteurs, non identifiés à ce jour, seraient des molécules peptidiques de bas poids moléculaire, présentes naturellement dans la phase aqueuse du colostrum (Balfour et Comline, 1962).

Ainsi, l'objectif de ce travail est de préparer une fraction de colostrum bovin, le sérocolostrum, dépourvu de matière grasse et de caséines et enrichi sélectivement en IgG₁, facteurs de croissance et autres molécules bioactives permettant de conférer une immunité passive aux poulains. Ce sérocolostrum devra contenir l'ensemble des molécules de bas poids moléculaires supposées avoir un rôle dans l'absorption intestinale, ce qui permettra son utilisation aussi bien en complément de colostrum équin qu'en substitut. En identifiant plus précisément ces promoteurs, il est possible de mieux comprendre leur mode d'action et les mécanismes impliqués dans l'absorption intestinale et la « gut closure » de l'intestin, et ainsi permettre une meilleure gestion de la prise colostrale du nouveau né.

Dans le cadre de cette étude, trois sérocolostrums sont préparés par opération à membrane selon un procédé de fractionnement permettant de conserver la totalité ou une fraction des molécules de bas poids moléculaire. Ces sérocolostrums sont administrés à des poulains et des veaux afin de déterminer au cours du temps le taux d'IgG₁ du sérum des nouveaux nés. Le temps de ½ vie et le taux d'absorption intestinale des IgG₁ sont également calculés. Cette étude permettra à la fois de sélectionner le sérocolostrum qui donnera les meilleurs résultats en terme d'absorption d'immunoglobulines mais également de tenter d'identifier, en comparant les compositions des sérocolostrums, la fraction peptidique ayant un rôle dans l'absorption intestinale. Les résultats sur les veaux ne sont pas présentés dans le cadre de cet article, mais les résultats obtenus sur les poulains sont discutés en considérant les premiers résultats déjà obtenus au cours des essais cliniques sur veaux.

1. Matériel et méthodes

1.1. Préparation et composition des sérocolostrums

Les trois sérocolostrums sont préparés à l'UMR₁₂₅₃ STLO (Rennes, Agrocampus ouest, France) à partir de colostrums bovins issus des premières et deuxièmes traites récoltées sur des troupeaux de vaches de race Prim'Holstein. Le colostrum est réceptionné congelé. Après décongélation à basse température (30°C), le colostrum de mélange subit une succession de traitements technologiques à une température ne dépassant pas 40°C permettant l'élimination de la matière grasse et des micelles de caséines et la concentration sélective des immunoglobulines. Les sérocolostrums ainsi obtenus présentent des différences de composition en terme de minéraux, lactose, azote non protéique, peptides et protéines. La composition des 3 sérocolostrums est donnée tableau 1 et figure I.

Tableau 1 : Principaux constituants des sérocolostrums
Table 1: Main constituents of the serocolostrums

Sérocolostrum	1	2	3
IgG ₁ (gkg ⁻¹)	98	114	116
protéines solubles totales (gkg ⁻¹)	154	173	178
azote non protéique (gkg ⁻¹)	1,9	3,4	3,6
calcium (mgkg ⁻¹)	64	1170	1030
magnésium (mgkg ⁻¹)	118	210	200
lactose (gkg ⁻¹)	5	30	31

Les méthodes analytiques pour déterminer les différents composés présentés dans le tableau ci-dessus sont détaillées dans la section matériel et méthodes (1.3)

Le profil protéique global des 3 sérocolostrums est présenté sur la figure I. Ce chromatogramme a pour but de comparer rapidement les profils protéiques des 3 sérocolostrums. Il n'a pas été réalisé de courbes d'étalonnage pour connaître les poids moléculaires. Néanmoins, les protéines/peptides de bas poids moléculaire correspondent aux temps d'élution les plus élevés. Le sérocolostrum 1 est fortement déminéralisé et délactosé par rapport aux sérocolostrums 2 et 3. Il est également moins riche en

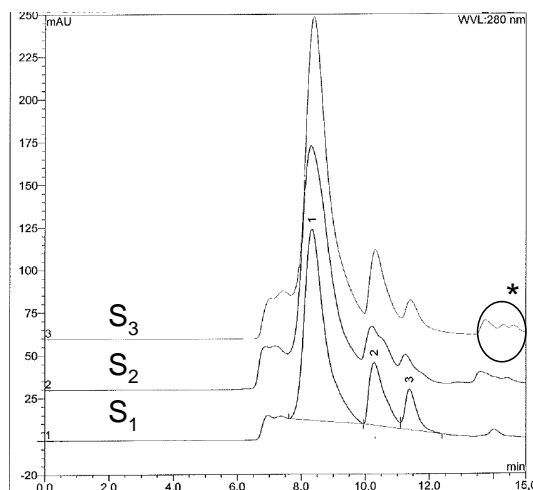
protéines et peptides et avec une nette diminution de la fraction de petites molécules azotées (Tableau 1 et Figure I). Les sérocolostrums 2 et 3 présentent des compositions minérales similaires et proches de celle du colostrum bovin mis en œuvre dans la fabrication de ces produits. Cependant dans le sérocolostrum 3, il existe une fraction peptidique supplémentaire (Figure I, *).

Figure I : Profils protéiques des 3 sérocolostrums (S₁, S₂, S₃) obtenu en chromatographie d'exclusion.

* Dans S₃, présence de nouveaux peptides dans les bas poids moléculaires

Figure I: Global proteic composition of the 3 serocolostrums analyzed by exclusion chromatography.

* For S₃, some new peptides of low molecular weigh are visible



Au cours des essais cliniques, les sérocolostrums administrés en substitut sont disponibles sous format liquide stérile (filtration sous $2 \cdot 10^5$ Pa, filtres Millipores, $0,22 \mu\text{m}$) conditionnés en flacons de 250 ml. Une partie du sérocolostrum 3 a été lyophilisé (Lyophilisateur CIRP SERAIL CS 10) pour être administré en complément de colostrum équin « pauvre ($21,3 \pm 2,3 \text{ gkg}^{-1}$) ou « très pauvre » ($3,2 \pm 2 \text{ gkg}^{-1}$). Le lyophilisat est resolubilisé dans les colostrums environ 2 heures avant administration. Le mélange ainsi reconstitué présente une teneur en immunoglobulines bovines équivalente au sérocolostrum liquide correspondant ($\text{IgG}_{1\text{bovine}} = 116 \text{ gkg}^{-1}$) et une teneur en immunoglobulines équines connue.

Les colostrums équins utilisés dans le cadre de cette étude ont été préparés à partir des colostrums des juments impliquées dans les essais cliniques. Après les poulinages, chaque jument est traitée, les colostrums individuels sont dosés au réfractomètre à alcool (Chavatte *et al.*, 1998) puis congelés en flacon de 250 ml. Lorsque les quantités de colostrum congelé sont suffisantes, les flacons individuels sont décongelés au bain marie à 35°C , puis poolés et recongelés. 10 ml de ce pool de colostrum est envoyé à l'INRA UMR STLO pour la vérification de la teneur en IgG_1 par méthode immunochimiques (Cf matériel et méthode 1.3). Trois pools de colostrums sont ainsi préparés : les colostrums « pauvres » et « très pauvres » qui seront administrés en complément du sérocolostrum 3 et un colostrum riche ($\text{IgG}_1 = 75,5 \pm 1,6 \text{ gkg}^{-1}$) pour le lot témoin.

1.2. Essais cliniques

Les essais cliniques se sont déroulés sur 2009 (5 poulains) et 2010 (15 poulains) à la clinique vétérinaire équine de Méheudin (CVEM, Ecouché). Les poulains utilisés dans le cadre de ces essais cliniques sont nés spontanément de juments poney Schetland ou Welsh présentes sur site entre 3 jours et 1 mois avant parturition. Après les poulinages, il y a reconnaissance maternelle puis les animaux sont séparés de leur mère et placés en box de néonatalogie. Les poulains reçoivent le produit entre la 2^{ème} et 7^{ème} heure de vie au biberon. Pour les lots de 2010, si les poulains ne tètent pas correctement le produit, une sonde nasogastrique à demeure est installée puis le produit est administré au rythme de 60 à 130 ml par heure (en fonction du poids de l'animal) jusqu'à la 7^{ème} heure. Les poulains sont remis sous la mère entre 12 et 24 heures, lorsque le colostrum a fait place au lait. A 3 jours, ils sont ensuite transférés au paddock « Terre » ou « Herbe » avec leur mère. Les lots d'animaux en fonction du produit administré et le nombre de poulains par lot sont décrits dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Nombre de poulains et lots réalisés lors des essais cliniques menés en 2009 et 2010
 Table 2: Numbers of foals and groups during clinical experiments performed in 2009 and 2010

Nombre de poulains	Lots	
	2009	2010
5	S ₁	
3		S ₂
4		S ₃ CEP
3		S ₃ CETP
3		TCER
2		TTN

Lots : S₁ : sérocolostrum bovin 1 administré en substitut ; S₂ : sérocolostrum bovin 2 administré en substitut, S₃CE : sérocolostrum bovin 3 administré en complément du colostrum équin pauvre (S₃CEP) ou très pauvre (S₃CETP) ; TCER : témoin ayant reçu le colostrum équin poolé riche ; TTN : poulains ayant tété naturellement leur mère

Les poulains du lot S1 (essai 2009) ont un poids de naissance entre 11 et 22 kg ; ils ont reçu entre 55 et 75 g d'immunoglobulines bovines en fonction de la quantité tétée. Les poulains des lots S2, S3CE et TCER (lots 2010) ont un poids de naissance variant entre 11 et 34 kg, ils ont reçu une quantité d'IgG1 bovines (S2, S3CE) ou équines (TCER) de 4,1 g/kg de poids vifs (PV). Les poulains des lots S3CE ont reçu une quantité d'IgG équines de $0,9 \pm 0,1$ gkg⁻¹ PV pour le lot S3CEP et $0,14 \pm 0,05$ gkg⁻¹ PV pour le lot S3CETP. Dans la suite de cette étude, il n'est pas fait de distinction entre les lots S3CEP et S3CETP car les résultats obtenus pour ces 2 lots sont similaires. Ces 2 lots sont donc regroupés sous le lot S3CE.

Une prise de sang est effectuée sur les poulains à la naissance (t=0) puis à t = 12 h, 18h, 24h. Une prise de sang est ensuite réalisée une fois par jour à la même heure durant 15 jours, puis tous les 2 jours jusqu'à 30 jours, tous les 4 jours jusqu'à 45 jours et une fois par semaine au-delà de 45 jours. Les teneurs en IgG₁ des sérums sont déterminées par méthode immuno-chimique (cf matériel et méthodes 1.3) à l'UMR STLO. Les animaux malades ont reçu tous les soins appropriés. Un seul poulain est mort dans le groupe S1.

1.3. Analyses physico-chimiques

Le dosage des immunoglobulines équines et bovines dans les colostrums, sérocolostrums et sérums sanguins est réalisé par la technique d'immunodiffusion radiale (Mancini *et al.*, 1965) à partir de kits de dosage fournis par la société ID Biotech (Issoire, France).

La méthode de Kjeldahl est utilisée pour déterminer la teneur en protéines solubles totales et en azote non protéique des sérocolostrums. La teneur en protéines solubles est déterminée après précipitation à l'acide acétique 10 % (p/v) des caséines résiduelles à leur point iso-électrique (pH = 4,6) et la teneur en azote non protéique est déterminée après précipitation de l'ensemble des protéines par l'acide trichloroacétique (15 % p/v).

La détermination des teneurs en calcium et magnésium est réalisée par spectroscopie d'absorption atomique (AA300, Varian France, Les Ulis).

La teneur en lactose est estimée par spectroscopie infra-rouge (lactoscope C4, Delta instruments).

La composition protéique globale est analysée par chromatographie d'exclusion sur colonne TSK SW 2000 (éluant K₂HPO₄ 0,1 M, Na₂SO₄, 0,1 M, Azide 0,5 gL⁻¹, pH 6,7) équipée d'un détecteur UV (longueur d'onde de détection 280 nm).

1.4. Calculs

- Le temps de ½ vie des immunoglobulines équines et bovines est déterminé à partir des courbes de régression linéaire Ln (IgG_{sérum sanguin}) = f(temps) tracées entre 2 et 15 jours. Le temps de ½ vie est donné par l'équation suivante

$$t_{1/2} = \text{Ln}(2) / p \quad (1)$$

Avec p la pente de la régression linéaire.

- Le coefficient d'absorption des immunoglobulines est déterminé selon l'équation suivante :

$$A = \text{IgG}_T / \text{IgG}_I \times 100 \quad (2)$$

Avec IgG_T, la quantité d'IgG₁ absorbée et IgG_I la quantité totale d'IgG₁ ingérée

$$\text{IgG}_T = \text{Poids animal} \times 0,07 \times [\text{IgG}_{1\text{sang}}] \times 2 \times 0,01 \quad (3)$$

Le facteur (Poids animal x 0,07) correspond au poids liquidien de l'animal, $[IgG_{1_{sang}}]$ est la teneur en IgG_1 dosée dans le sérum des poulains à 24 heures, le facteur 2 correspond à la distribution du volume liquidien entre l'intra et l'extravasculaire qui se répartit en 1 :1, 0,01 est un facteur correctif. Classiquement, la concentration en IgG_1 considérée dans l'équation 3 est celle obtenue à 48 heures, néanmoins le temps de $\frac{1}{2}$ vie des IgG bovines étant beaucoup plus faible que les IgG équines, il nous a semblé préférable de considérer cette concentration à 24 heures.

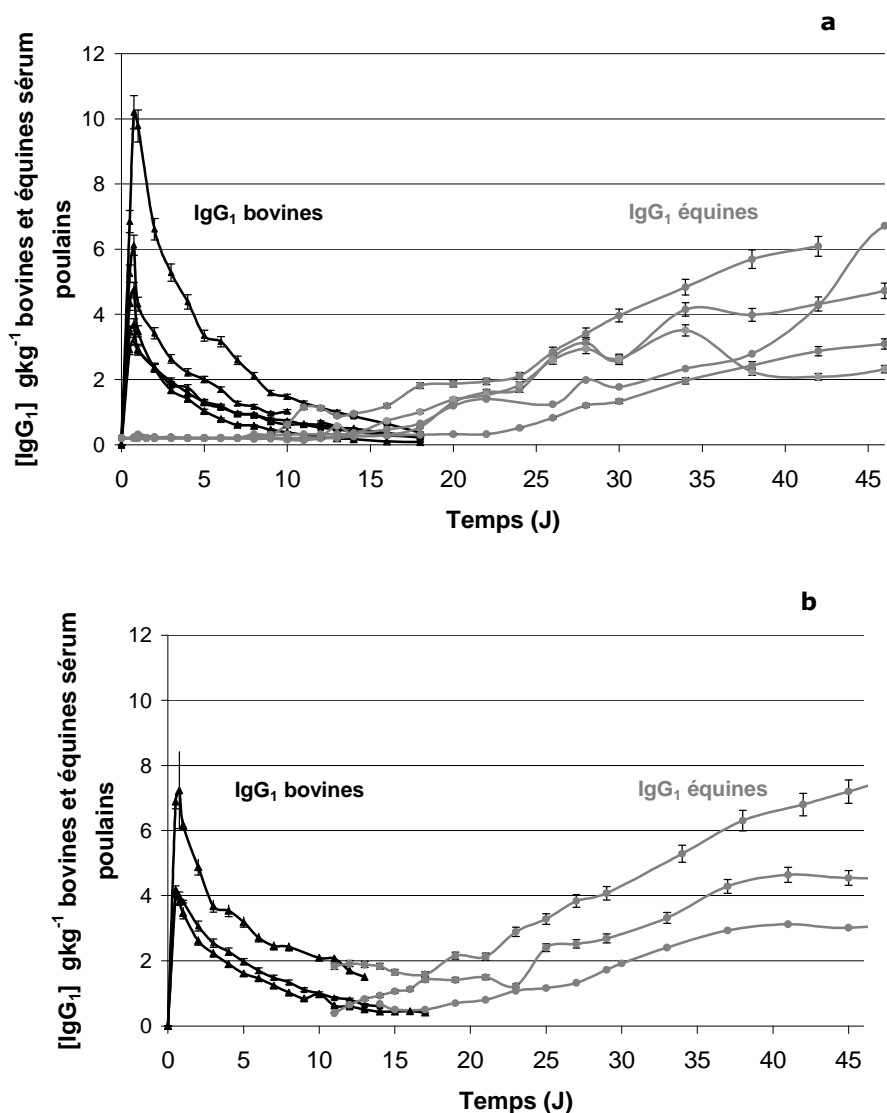
La quantité IgG_1 est calculée en multipliant le volume de produit administré et la concentration en IgG_1 dans ce même produit.

2. Résultats

2.1. Taux d' IgG_1 sériques chez les poulains, temps de $\frac{1}{2}$ vie et taux d'absorption

La figure II présente les taux d' IgG_1 sériques bovines et équines des 8 poulains lors de l'administration du sérocolostrum bovin S_1 (a) et S_2 (b) en substitut.

Figure II : Evolution des IgG_1 bovines et équines au cours du temps dans le sérum de 5 poulains ayant reçu soit le sérocolostrum 1 (a) soit le sérocolostrum 2 (b) en substitut.
 Figure II: Bovine and equine IgG concentrations in the serum of the 5 foals during the firsts weeks of life after feeding with the sérocolostrum 1 (a) and serocolostrum 2 (b).



Sur l'ensemble des cinétiques des IgG réalisées (Figure II et III), le taux maximum d'immunoglobulines (pic d'absorption) se situe entre 18 et 24 heures. Ces résultats confirment ce qui a déjà été observé par d'autres auteurs (Chavatte-Palmer *et al.*, 2001; Grongnet *et al.*, 1986; Lavoie *et al.*, 1989).

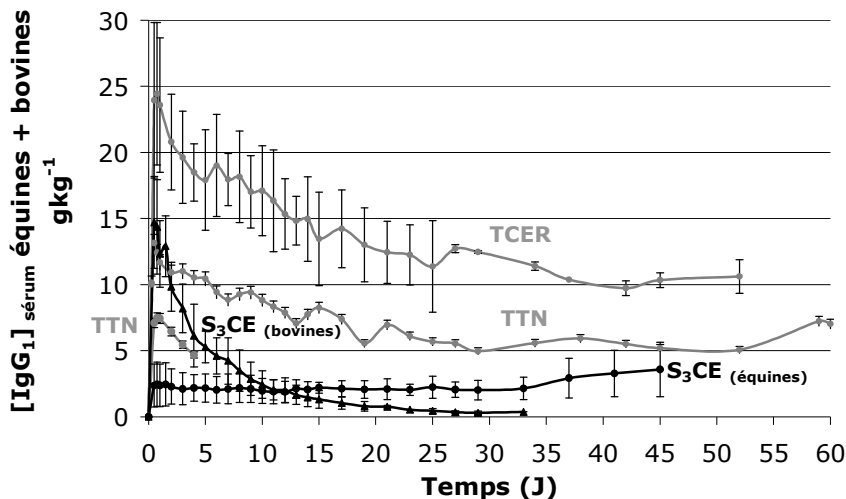
Le lot S₁ (Figure II a) a reçu des quantités d'IgG₁/kg de poids vif différentes entre les 5 animaux impliqués dans ce lot. La concentration d'IgG₁ bovine au pic d'absorption varie entre 3,2 et 10,2 gkg⁻¹. Ces variations de concentration, bien que dépendantes de facteurs individuels, sont corrélées à la quantité d'IgG administrée : le poulain ayant reçu une dose de 5,7 g d'IgG₁ bovines /kg de poids vif présente la plus forte concentration en IgG₁ au pic d'absorption; les poulains ayant reçu une dose d'IgG₁ entre 3,4 et 3,7 g / kg PV ont un taux moyen d'IgG₁ de 4,5 gkg⁻¹ au pic d'absorption. Cette corrélation a permis de choisir la dose de 4,1 g d'IgG₁/kg PV à administrer pour les essais cliniques qui ont suivi (lots S₂, S₃CE, TCER). Cette dose correspond à un taux d'IgG₁ acceptable au pic d'absorption (> 5 gkg⁻¹) pour un volume raisonnable de produit à administrer.

Les animaux des lots S₂, S₃CE et TCER ont tous reçus une dose de 4,1 g d'IgG₁/kg PV. Pour le lot S₂ (Figure II b), 2 poulains présentent un taux maximum d'IgG autour de 4 gkg⁻¹ et 1 poulain un taux maximum de 7,2 gkg⁻¹. Les différences entre poulains peuvent s'expliquer par la variabilité de la capacité d'absorption entre individus. Entre les lots S₁ et S₂, il n'y a pas de différence notable entre les cinétiques des concentrations en IgG, les concentrations en IgG₁ sont faibles et décroissent très rapidement. Les coefficients d'absorption des IgG bovines sont faibles et équivalents entre les 2 lots : pour le lot S₁ l'absorption varie entre 12 et 24 % et pour le lot S₂ l'absorption varie entre 11 et 20%.

Les concentrations d'IgG₁ bovines chutent très rapidement après le pic d'absorption et la concentration minimale d'IgG₁ (trou immunitaire) se situe aux environs de 12-17 jours pour les lots S₁, S₂ et S₃CE. Le temps de ½ vie moyen des immunoglobulines bovines est de 4,1 ± 0,7 jours pour le lot S₁ et 5,6 ± 0,9 jours pour le lot S₂. Ces valeurs sont plus faibles ou proches de ce qui a déjà été décrit dans la littérature (Holmes et Lunn, 1991; Lavoie *et al.*, 1989). La synthèse endogène des IgG₁ équine débute entre 15 et 20 jours et le taux d'IgG₁ équine dépasse 4 gkg⁻¹ après 45 jours en moyenne (Figures II et III, lots S₁, S₂ et S₃CE).

Figure III : Evolution des IgG₁ bovines et équines au cours du temps dans le sérum des poulains pour les lots S₃CE, TTN, TCER (tableau 2).

Figure III: Bovine and equine IgG concentration in the serum of the foals during the firsts weeks of life for the groups S₃CE, TTN and TCER (Table 2).



Entre les lots S₁/S₂ et S₃CE, il y a une augmentation du taux d'IgG maximum puisque le lot S₃CE, présente un taux d'IgG bovine maximal moyen de 14,7 ± 3,5 gkg⁻¹ et un taux d'IgG₁ totale (bovine+équine) de 17,1 ± 5,1 gkg⁻¹ correspondant à un taux d'absorption respectivement de 40 ± 10 % et 35 ± 6 %. Entre les lots S₁/S₂ et S₃CE il y a donc une augmentation de 142 % de l'absorption des immunoglobulines bovines, les sérums des poulains des lots S₃CE présentent des teneurs en IgG₁ 3 fois plus élevées au maximum d'absorption que les lots S₁ et S₂, avec des teneurs en IgG₁ bien au dessus de la limite de 8 gkg⁻¹ qui sert de référence à 24 heures. Si l'on compare le lot S₃CE aux poulains ayant reçus des IgG équine (lots TCER et TTN), on remarque que les teneurs en IgG₁ totale du groupe S₃CE

sont globalement plus élevées que les teneurs en IgG₁ équine des 2 poulains ayant tétés naturellement leur mère. Par contre les poulains ayant reçu le colostrum équin riche de façon contrôlée présentent le taux d'IgG₁ le plus élevé avec un maximum autour de $24,5 \pm 5,6$ gkg⁻¹ d'IgG₁ au pic d'absorption. Ces animaux présentent un taux d'absorption moyen de 77 ± 5 %. La décroissance des IgG₁ chez les animaux ayant reçu les IgG équine est beaucoup plus lente que pour les IgG bovines, le temps de 1/2 vie des IgG₁ équine a été calculé à $24,3 \pm 3,7$ jours, ce qui correspond aux résultats connus dans la littérature (Lavoie *et al.*, 1989). Il est à noter que pour le lot TCER, les taux d'IgG équine ne descendent jamais en dessous de 10 gkg⁻¹ sur les 55 premiers jours, ce qui constitue selon les références classiques un taux plasmatique suffisant pour assurer une bonne protection systémique. Par contre les animaux ayant tété naturellement ont des taux d'IgG à 5 gkg⁻¹ voire < 5 gkg⁻¹, ce taux plasmatique est bas pour assurer une bonne protection immunitaire efficace en attendant la production endogène du poulain.

2.2. Etat clinique des animaux

Le tableau 3 répertorie le nombre de poulains malades en fonction des lots et du lieu de pâturage des animaux.

Tableau 3 : Nombre de poulains malades en fonction des lots et du lieu de pâturage
Table 3: Numbers of ill foals as a function of group and the land for raising

Lots	Paddock Terre	Paddock Herbe	Total malades	Total animaux/ lot
S ₁	3	0	3	5
S ₂	2	0	2	3
S ₃ CE	4	1	5	6
TCER	1	0	1	3
TTN	0	0	0	2
Total malades	10	1		
Total animaux/ paddock	11	6		

Dans l'ensemble, les animaux ont présenté des diarrhées sans gravité dans les premiers jours. Les pathologies déclarées sont dans 7 cas sur 10 des rhodococcoses (2, 2 et 3 respectivement pour les lots S₁, S₂, S₃CE). Il y a eu 2 bronchopneumonies (lot S₃CE et TCER) et une arthrite septique (lot S₃CE). La ponette décédée appartenait au lot S₁; elle est morte des suites d'une infection par un streptocoque après morsure par un de ses congénères. Ce décès n'est pas en lien avec un mauvais transfert d'immunité passive.

A la vue de ces résultats (Tableau 3), les animaux ont été globalement plus malades dans le paddock « Terre » que le paddock « Herbe ». Une étude statistique est en cours pour montrer et quantifier l'impact du lieu de pâturage sur le nombre de pathologies déclarées. Les paddocks « Terre » sont beaucoup plus anciens que les paddocks « Herbes » qui étaient neufs au démarrage de l'étude. La présence antérieure de chevaux adultes malades dans les paddocks « Terre » associée à une difficulté d'assainissement en dépit d'un nettoyage régulier expliquent vraisemblablement les nombreuses infections à *Rhodococcus equi* (bactéries présentes dans les crottins et donc le sol).

Discussion

Dans le cadre de cette étude, le transfert des IgG₁ a été suivi sur 17 poulains après administration de 3 sérocolostrums bovins ou de colostrums équine dans différentes conditions.

Les sérocolostrums 1 et 2 présentent un défaut d'absorption des immunoglobulines bovines par rapport au sérocolostrum 3. Le sérocolostrum 3 a été administré en complément de colostrum équin « pauvre » ou « très pauvre ». Bien que le colostrum équin ait très probablement eu un rôle dans l'absorption des IgG bovines, il est possible que le sérocolostrum 3 permette à lui seul une augmentation de l'absorption des IgG bovines en comparaison aux sérocolostrums 1 et 2. Cette hypothèse ne pourra être définitivement validée qu'après administration aux poulains du sérocolostrum 3 en l'absence de colostrum équin (essais prévus en 2011). Ceci étant, les premiers résultats obtenus sur les veaux (résultats en cours) montrent une augmentation de près de 40 % des taux d'immunoglobulines sériques lors de l'utilisation du sérocolostrum 3 en substitut par rapport au sérocolostrum 2 également administré en substitut (validation définitive de ce résultat en cours), ce qui semble montrer le rôle possible de la fraction peptidique présente dans le sérocolostrum 3. Cette fraction peptidique pourrait faire partie des facteurs promoteurs de l'absorption intestinale qui ont déjà été mis en évidence certains auteurs. En effet, certains auteurs (Balfour et Comline, 1962; Grongnet *et al.*, 1986; Grongnet *et al.*, 1996) ont noté

que des IgG extraites du colostrum bovin et remises en suspension en solution saline présentaient un défaut d'absorption par absence des certains facteurs promoteurs de l'absorption intestinale. Les auteurs Balfour et Comline (Balfour et Comline, 1962) ont extrait une fraction peptidique de bas poids moléculaire du colostrum bovin. Cette fraction en association avec le phosphate inorganique et le glucose-6-phosphate (composés naturellement présents dans la phase aqueuse du lait et du colostrum) et ajoutée à l'extrait d'immunoglobulines permettraient d'augmenter le transfert des IgG. Dans le cadre de notre étude, la comparaison des différentes fractions peptiques entre les sérocolostrums 2 et 3 par des méthodes de protéomique pourrait permettre l'identification de cette fraction, ce qui pourrait apporter des éléments de réponses quant au rôle et mécanismes de fonctionnement de ces facteurs pour palier de façon plus efficace à l'échec du transfert de l'immunité passive.

Dans le cadre des essais cliniques réalisés dans cette étude, il ressort plusieurs éléments concernant la relation entre état sanitaire des poulains, taux sériques et spécificité des immunoglobulines :

- tout d'abord, malgré un faible taux d'IgG sériques dans certains lots de poulains, le taux de mortalité est faible (1 mort sur 17 poulains). L'ensemble des produits administrés dans le cadre de ces essais ont permis la survie de plus de 94 % des poulains (avec des soins adaptés si besoin). Le seul poulain mort a présenté une infection à streptocoque peu en rapport avec un échec du transfert de l'immunité passive.
- la pathologie déclarée majoritairement est la rhodococcose. Elle n'est apparue que sur des poulains ayant reçu le sérocolostrum bovin, soulignant un des défauts majeurs de l'administration d'IgG non spécifiques. Néanmoins, l'ensemble des poulains atteints se sont rétablis complètement par un traitement antibiotique spécifique. De plus, il est fort probable que dans un environnement différent d'une clinique vétérinaire équine présentant une très forte pression de pathogènes spécifiques du cheval, les nombre de cas de rhodococcoses aurait été beaucoup plus faible.
- le faible temps de $\frac{1}{2}$ vie des IgG bovines est partiellement compensé par une synthèse endogène d'IgG équines plus précoce. En effet, l'augmentation des IgG équines par synthèse endogène débute dès 20 jours et devient significative (IgG équines $> 4 \text{ gkg}^{-1}$) dès 45 jours de vie chez des poulains ayant reçu le sérocolostrum bovin. D'après la littérature (Drogoul *et al.*, 2006), la synthèse endogène des poulains ayant reçu le colostrum maternel ne débute que vers 45 jours et ne devient effective que vers 75 jours. Ces résultats confirment ce qui a déjà été observé par certains auteurs (Holmes et Luun, 1991) et montrent la capacité d'adaptation du système immunitaire du poulain en présence d'un déficit précoce en immunoglobulines G.
- le colostrum est un milieu riche et complexe dont la composition totale est loin d'être connue. Il apporte différents éléments impliqués dans l'immunité passive, dans l'immunité locale intestinale notamment par de fortes teneurs en protéines bactériostatiques telles que la lactoferrine et le lysozyme mais aussi dans la « gut closure » de l'intestin. D'après Madigan (Madigan, 1998), la « gut closure » de l'intestin pourrait être accélérée par des facteurs présents dans le colostrum, ce qui réduit la fenêtre de temps propice à l'infiltration de pathogènes à travers l'intestin et donc permet de réduire les probabilités d'infections néonatales. De ce fait, le recours à des produits proches du colostrum y compris d'espèces différentes permettrait de retrouver ces éléments qui ne sont pas forcément présents dans les succédanés de colostrum tels que les plasmas équins.

Conclusion

Actuellement, il n'existe aucune solution réellement efficace de remplacement du colostrum maternel chez le poulain. Dans le cadre de ce travail, il ressort que l'utilisation du sérocolostrum bovin « 3 » en complément d'un colostrum équin insuffisamment riche en immunoglobulines semble une bonne alternative pour apporter une régularité dans la protection immunitaire en augmentant les taux d'immunoglobulines G totales dans les premiers jours de vie. Les poulains ayant reçu ce produit présentent des taux d'immunoglobulines dans le sérum de $12 \text{ à } 14 \text{ gkg}^{-1}$ à 24 heures de vie ce qui constitue un taux acceptable puisque classiquement la limite minimum permettant de conclure à une protection systémique efficace est de 8 gkg^{-1} d'immunoglobulines dans le sérum à 24 heure. Même si les immunoglobulines bovines ne sont pas spécifiques et présentent un temps de $\frac{1}{2}$ vie beaucoup plus faible que les immunoglobulines équines, tous les animaux ont survécu et pour ceux qui ont été malades, des traitements classiques d'antibiotiques ont permis la guérison. De plus le temps de $\frac{1}{2}$ vie plus faible des immunoglobulines bovines est partiellement compensé par une synthèse endogène plus précoce des immunoglobulines équines en comparaison avec des animaux ayant reçu du colostrum équin. L'ensemble de ces éléments tend à montrer que ce sérocolostrum bovin est une solution intéressante pour limiter l'échec du transfert de l'immunité passive chez le poulain. L'absorption des immunoglobulines à travers un intestin immature est un phénomène complexe corrélé à de nombreux facteurs présents dans le colostrum. Une étude à venir sur l'effet de l'administration du sérocolostrum 3 en l'absence de colostrum

équien devrait permettre de préciser le rôle de la fraction peptidique contenue dans le sérocolostrum bovin 3 et pourrait apporter des éléments de compréhension sur les mécanismes impliqués dans l'absorption intestinale.

Remerciements

Dans le cadre de cette étude, nous remercions B. Robert, E. Beaucher, M. Piot et G. Tanguy pour la précieuse aide analytique apportée ainsi que J.P. Servant pour son précieux apport. Nous remercions également la région Basse-Normandie pour le financement accordé à la réalisation de ce projet.

Références

- Balfour, E., and R. S. Comline. 1962. Acceleration of the absorption of unchanged globulin in the new-born calf by factors in colostrum. *Journal of Physiology*. 160, 234-257.
- Chavatte, P., F. Clément, R. Cash, and J. F. Grongnet. 1998. Field determination of colostrum quality by using a novel, practical method. *American Association of Equine Practitioners Proc* 44, 206-208.
- Chavatte-Palmer, P., C. Duvaux- Ponter, G. Arnaud, M. Piot, J. L. Maubois, J. F. Grongnet, L. Brugère, and F. Clément. 2001. Absorption of IgG in the foal : efficiency of a freeze-dried colostrum immunoglobulin product; effect of the 1st suckling time. *52ème réunion annuelle de la FEZ in Proceedings*, 1-7.
- Drogoul, C., F. Clement, M. Ventorp, and M. Orlandi. 2006. *Equine colostrum production and utilisation: basic and applied aspects*. 120:203-219.
- Grongnet, J. F., G. T. dosSantos, M. Piot, and R. Toullec. 1996. Influence of some food additives on IgG plasma concentrations in newborn calves fed an immunoglobulin solution extracted from colostrum. *Lait* 76(3), 303-309.
- Grongnet, J. F., E. Grongnet-Pinchon, D. Levieux, M. Piot, and J. Lareynie. 1986. Newborn Calf Intestinal- Absorption of Immunoglobulins Extracted from Colostrum. *Reproduction Nutrition Development* 26(2B), 731-743.
- Holmes, M. A., and D. P. Lunn. 1991. A Study of Bovine and Equine Immunoglobulin Levels in Pony Foals Fed Bovine Colostrum. *Equine Veterinary Journal* 23(2), 116-118.
- Jeffcott, L. B. 1972. Passive immunity and its transfer with special reference to the horse. *Biological Reviews* 47, 439-464.
- Jochims, K., F. J. Kaup, W. Drommer, and M. Pickel. 1994. An Immunoelectron Microscopic Investigation of Colostral Igg Absorption Across the Intestine of Newborn Calves. *Research in Veterinary Science* 57(1), 75-80.
- Lavoie, J. P., M. S. Spensley, B. P. Smith, and J. Mihalyi. 1989. Absorption of bovine colostrum immunoglobulins G and M in newborn foals. *American Journal Veterinary Research* 50(9), 1598-1603.
- Leblanc, M. M. 1991. Is Bovine Colostrum A Suitable Alternative Source of Immunoglobulins for Newborn Foals. *Equine Veterinary Journal* 23(2), 78-80.
- Madigan, J. E. 1998. Further observations on the pathogenesis of septicemia in the neonatal foal and methods of prevention in stable horses compared to environmental and behavioural infection. Prevention strategy utilized in wild horse. *Neonatal septicemia Workshop 2*, 12-13.
- Mancini, G., A. O. Carbonara, and J. H. Heremans. 1965. Immunological quantitation of antigens by single radioimmunochemical quantitation. *Immunochemistry* 2, 235-259.