

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET**

**FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES  
DEPARTEMENT DES SCIENCES VETERINAIRES**

**Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de  
Docteur Vétérinaire**

**SOUS LE THEME**

*Comparaison entre les concentration d'igG colostrum  
et sang des jument en utlisent le kit IDR et le  
Réfractometre*

**PRESENTE PAR:**

**Mr: Abdelali Ismail**

**Mr: Djebbar Tayeb**

**ENCADRE PAR:**

**Dr : Derrar Soufiane**



## **Remerciement**

*Je remercie Allah " عز و جل" de m'avoir donné le courage, la patience et par-dessus de tout la sante de mener à réaliser ce modeste travail.*

*Bien sûr je tiens avant tout à remercier mon encadreur pour leur disponibilité, leur encouragement, leur conseil.*

*Mes remerciements vont également vers tous ceux qui m'ont permis de mener à bien mon travail: les collègues de l'institut vétérinaire et mes amis qui ont régulièrement suivi les avancées de mon travail.*

*Enfin, j'exprime toute ma reconnaissance envers mes proches, qui ont eu la tâche ardue de me supporter pendant ces 5 années parfois entrecoupées de moments difficiles !*

*Mes parents, pour leur soutien logistique et moral continu, je leur suis infiniment redevable.*

*Ma famille: pour leur aide inestimable*

## **Dédicace**

*Je dédie ce modeste travail de fin d'étude :*

*A ma Mère qui m'a tant soutenue avec ses prières et qui m'a toujours encouragé.*

*A mon Père, pour son soutien durant toute la période de mes études.*

*A mes très chères sœurs et mes frères*

*En fin je dédié ce modeste travail à ma promotion et mes enseignants .*

<b>A. Dédicaces.....</b>	<b>2</b>
<b>B. Remerciements .....</b>	<b>2</b>
<b>C. Listes des tableaux : .....</b>	<b>2</b>
<b>D. Listes de figures : .....</b>	<b>2</b>
<b>E. Introduction : .....</b>	<b>4</b>
<b>F. Chapitre I: Le Colostrum : .....</b>	<b>5</b>
A. Définitions du colostrum : .....	5
B. Définition biologique et immunologique : .....	5
C. Composition de base : .....	6
D. Composition protéique spécifique du colostrum : .....	6
E. Les immunoglobulines colostrales : .....	9
F. Formation du Colostrum : .....	9
<b>G. Chapitre II : système gastro-intestinale néonatal et développement immunitaire..</b>	<b>11</b>
A. Passage des IgG de la lumière intestinale vers la circulation sanguine .....	11
B. Établissement de la flore digestive chez le nouveau-né.....	11
C. Système immunitaire : .....	13
D. Transfert de cytokines pro-inflammatoires pour le poulain.....	13
E. Tractus gastro-intestinal.....	14
F. Naissance et jour1 : .....	14
G. Immunité passive : .....	14
H. Absorption intestinale des macromolécules : .....	15
I. Fermeture intestinale “Gut Closure” .....	15
J. Facteurs affectant le transfert passif : .....	16
K. Qualité du colostrum (facteur) : .....	16
L. Comment améliorer la qualité du colostrum.....	17
<b>H. Chapitre III: Techniques de mesures de la qualité du colostrum : .....</b>	<b>18</b>
A. Introduction : .....	18
B. Test d’immunodiffusion Radial : .....	18
C. Test ELIZA (Enzyme Linked Immunosorbant Assay) : .....	19
D. Test de turbidité au sulfate de zinc : .....	20
<b>I. Chapitre IV : Partie Experimentale .....</b>	<b>21</b>
A. Mode opératoire : .....	31
B. La Réfractométrie : .....	34

C. Procédure de mesure : .....	36
D. Attention .....	36
<b>J. Résultats et discussion : .....</b>	<b>39</b>
<b>K. Conclusion : .....</b>	<b>45</b>
<b>L. Référence : .....</b>	<b>46</b>

## *A. Listes des tableaux :*

Tableau 1: Composition en minéraux et vitamines.....	7
Tableau 2: Colotest modèle 1999, Étalonnage à l'eau sucrée (122.05 g/l) au niveau 0 .....	35
Tableau 3: Concentration des IgG colostral en fonction de l'âge des juments.....	39
Tableau 4: Concentration des IgG en fonction de la race des juments .....	41
Tableau 5: Effet de la supplémentation en SC sur le poids des poulains.....	42

## *B. Listes de figures :*

Figure 1: Structure des Ig, d'après (CAMPBELL&REECE, 2004). .....	8
Figure 2: Structures des immunoglobulines.....	8
Figure 3: Exemple de gamme étalon pour l'immunodiffusion radiale .....	19
Figure 4: Situation géographique et présentation du HARAS .....	22
Figure 5: les étapes de prélèvements.....	24
Figure 6: Pesé et répartition de la levure.....	26
Figure 7: Photo : Mélange de la levure avec l'orge mouiller.....	26
Figure 8: La boîte du kit IDR Horse IgG .....	28
Figure 9: Les standards de la gamme d'étalonnage .....	29
Figure 10: Photo : Préparation des dilutions de colostrum .....	30
Figure 11 : Les sérums des poulains .....	31
Figure 12: Photos Mode opératoire .....	33
Figure 13: Lecture des plaques IDR par le lecteur IDRing Viewer .....	34
Figure 14: Réfractomètre .....	34
Figure 15: appareil de réfractométrie .....	36
Figure 16: Photo : distribution de la levure probiotique pour les juments.....	37
Figure 17: Photo : mesure de poids à l'aide d'un ruban mètre spécial (les Haras nationaux) .	37
Figure 18: Photo : jument avec son poulain juste après la naissance.....	38
Figure 19: Concentration des IgG colostral en fonction de l'âge des juments .....	39
Figure 20: Concentration des IgG en fonction de la race des juments.....	42
Figure 21: Effet de la supplémentation en SC sur le poids des poulains .....	44

## C. Introduction :

Chez les équidés en général, le type de placenta (épithelio-chorial) ne permet pas le passage transplacentaire d'immunoglobulines (anticorps) entre la mère et son poulain pendant la gestation.

Le poulain naît donc dépourvu d'anticorps et donc incapable de se défendre vis-à-vis des agressions microbiennes. Son système immunitaire opérationnel mais immature ne lui permet de développer qu'une réponse primaire avec une phase de latence mise à profit par les pathogènes systémiques ou muqueux ; sa survie dépend alors de l'ingestion de facteurs immunitaires contenus dans le colostrum et le lait.

L'apport des nutriments et des anticorps nécessaires à une protection transitoire contre les agressions extérieures physiques et biologiques ainsi que des effecteurs physiologiques tels que des facteurs de croissance et des hormones.<sup>1</sup> La première cause de mortalité néonatale du poulain est l'échec de transfert d'immunité passive, qui représente la moitié des morts selon<sup>2</sup> et donc le défaut de transfert d'immunité est assez fréquent en élevage équin, en raison d'un :

- colostrum peu concentré en anticorps,
- un défaut d'ingestion ou d'absorption intestinale par le poulain voire une combinaison de ces facteurs. Les pertes de colostrum avant la mise-bas sont, d'après certains auteurs,<sup>3</sup> une cause majeure de défaut de transfert d'immunité. Elles sont observées chez 16 à 22% des juments selon les études.

Dans notre étude en c'est basé sur la détermination des concentrations d'IgG dans le colostrum des juments et le sang de leurs poulains.

Ainsi une comparaison entre l'effet d'une supplémentation en levure probiotique *saccharomyces cerevisiae* sur la concentration des IgG.

Le dernier paramètre est la variation du profil biochimique en fonction des juments supplémentées ou non par la levure vivante.

---

<sup>1</sup>Boudry et al 2008.

<sup>2</sup>CHAVATTE-PALMER P

<sup>3</sup>Jeffcot 1974, Mc Guire et al 1977, Rumbaugh et al 1979

## ***D. Chapitre I: Le Colostrum :***

### ***A. Définitions du colostrum :***

Le colostrum est une sécrétion lactée, de couleur jaunâtre, plus dense, plus épais et plus visqueux que le lait,<sup>4</sup> produit par les glandes mammaires de la jument dans les derniers jours de la gestation.

Il possède trois propriétés principales :

- Sa richesse en anticorps (ou immunoglobulines), éléments indispensables à la protection contre les infections. En effet, le poulain naît totalement dépourvu d'anticorps, le placenta ne laissant pas passer les anticorps de la poulinière vers le sang du fœtus pendant la gestation. Ce n'est que vers l'âge de deux mois qu'il pourra produire ses propres anticorps, capables de le protéger des agressions du milieu extérieur. En attendant, il est totalement dépendant de ceux que lui fournit sa mère par l'intermédiaire du colostrum : c'est ce que l'on appelle le transfert immunitaire passif de la jument au poulain. Il est essentiel de veiller à ce que le poulain boive le colostrum le plus tôt possible, idéalement dans les 6 heures qui suivent sa naissance, au maximum pendant ses premières 12 heures de vie ; en effet, les anticorps passent dans la circulation sanguine du poulain grâce à la perméabilité de sa paroi intestinale. Or, cette perméabilité dure moins de 24 heures...

- Ses propriétés laxatives qui aident à l'expulsion du méconium.

- Sa richesse en éléments nutritifs et en vitamines. Le lait produit ensuite par la jument est beaucoup moins riche, même s'il contient encore des anticorps.

### ***B. Définition biologique et immunologique :***

D'un point de vue physiologique, le colostrum est le mélange de sécrétions lactées et de constituants du sérum sanguin qui s'accumulent dans la glande mammaire pendant la période sèche et qui peut être récolté immédiatement avant ou après la parturition.<sup>5</sup> Le colostrum

---

<sup>4</sup>Serieys, 1993),.

<sup>5</sup>FOLLEY et OTTERBY, 1978.

normal est un liquide jaune soutenu, de consistance crémeuse et visqueuse.<sup>6</sup> Son rôle nutritif est similaire chez tous les Mammifères. Son importance immunitaire est primordiale chez les espèces dont la structure placentaire empêche le transfert des immunoglobulines de la mère au fœtus lors de la gestation (ruminants, équidés).

### **C. Composition de base :**

Le colostrum est une source des nombreux nutriments protéiques, glucidiques, lipidiques,<sup>7</sup> vitaminiques et minéraux mais également de facteurs de croissance et d'hormones tels que les *insulin-like Growth Factor* (IgF) I et II, l'insuline, les *Beta Transforming Growth Factors* (TGF)  $\beta 1$  et  $\beta 2$ <sup>8</sup> et sont libérées dans la lumière alvéolaire après enrobage par la membrane cellulaire, formant les globules lipidiques.<sup>9</sup> Une troisième voie, dite trans-cellulaire, permet aux immunoglobulines (Ig) plasmatiques<sup>10</sup> et à épithéliales.<sup>11</sup> Le contenu des vésicules est libéré dans la lumière des alvéoles par exocytose, par simple fusion des vésicules avec la membrane cellulaire.<sup>12</sup> Les gouttelettes lipidiques proviennent des mitochondries. Le colostrum se diffère d'une espèce à l'autre, et se distingue généralement du lait par son aspect, ses propriétés et son taux de cendres brutes qui est, en moyenne, supérieur.

### **D. Composition protéique spécifique du colostrum :**

Le colostrum constitue un apport énergétique et nutritionnel majeur. Vitamines (A et E, magnésium, sélénium et zinc, qui tiennent un rôle important dans la défense contre les maladies infectieuses), minéraux (oligo-éléments) protéines, lactose, matières grasses. Les leucocytes sont répartis en 40-50 % de macrophages, 22-25 % de polynucléaires neutrophiles et 22-25 % de lymphocytes. Les lymphocytes sont principalement des cellules T (88-89 %), NK (5-15 %) et des cellules B (2,5-3,5 %)

---

<sup>6</sup>SERIEYS, 1993.

<sup>7</sup>GOPAL, Pramod K 2000.

<sup>8</sup>Pakkanen.

<sup>9</sup>KEENAN, THOMAS 1995.

<sup>10</sup>Klopfenstein *et al.*, 2002.

<sup>11</sup>Delouis *et al.*, 2001

<sup>12</sup> Op.cit, p

**Tableau 1: Composition en minéraux et vitamines.**

	<b>Colostrum de jument</b>	<b>Lait de jument</b>
<b>matières grasses</b>	2,85 à 2,93%	2,05 à 2,17%
<b>Matières sèche</b>	24.25 à 12.87%	10.61%
<b>vitamines A</b>	0,88 mg kg-1	0,34 mg kg-1
<b>vitamines D3</b>	0,0054 mg kg-1	0,0032 mg kg-1
<b>vitamines K3</b>	0,043 mg kg-1	0,029 mg kg-1
<b>vitamines C</b>	23,8 mg kg-1	17,2 mg kg-1
<b>vitamines E</b>	1.342 mg kg-1	1.1288 mg kg-1

### ***E. Les immunoglobulines colostrales :***

Les Ig sont des tetrapeptides (figure 01), comportant quatre chaînes protéiques identiques deux à deux :

- 2 chaînes lourdes (H = heavy) enchainement de 450 acides amines pour les IgG.

- 2 chaînes légères (L = light) enchainement de 220 acides amines.<sup>13</sup> En pratique, la forme en Y est réellement observée. Dans les molécules monomériques (IgG) les chaînes légères sont reliées aux chaînes lourdes par un pont disulfure et les chaînes lourdes sont reliées entre elles par deux ponts disulfures. Ces liaisons stables relient les sous-unités dans les molécules d'anticorps polymériques. En plus de ces liaisons disulfures intracaténaires, il existe des liaisons disulfures intracaténaires,<sup>14</sup> qui permettent la formation de boucles dans la chaîne peptidique (chacune des boucles correspond à une séquence de 60 à 70 résidus). Ces boucles sont repliées de façon compacte et forment des domaines globulaires, qui ont une structure caractéristique en feuillets beta.

---

<sup>13</sup>Campbell, et al, 2004..

<sup>14</sup>Ibid.



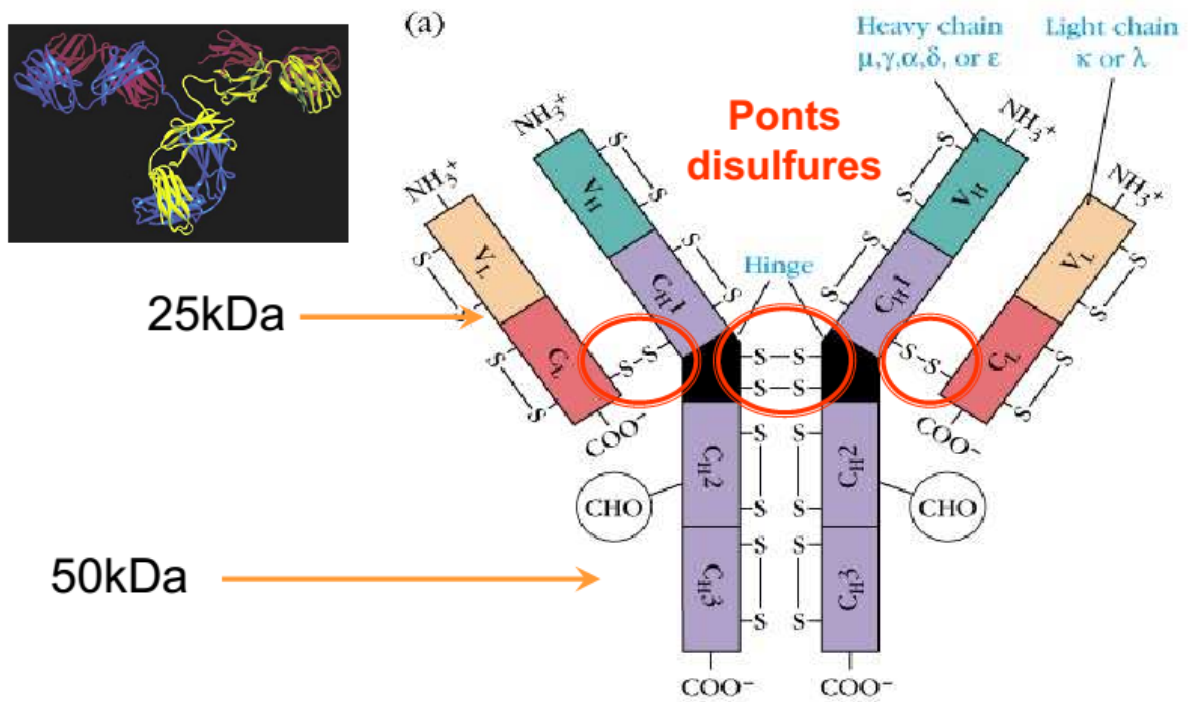


Figure 1: Structure des Ig, d'après (CAMPBELL&REECE, 2004).

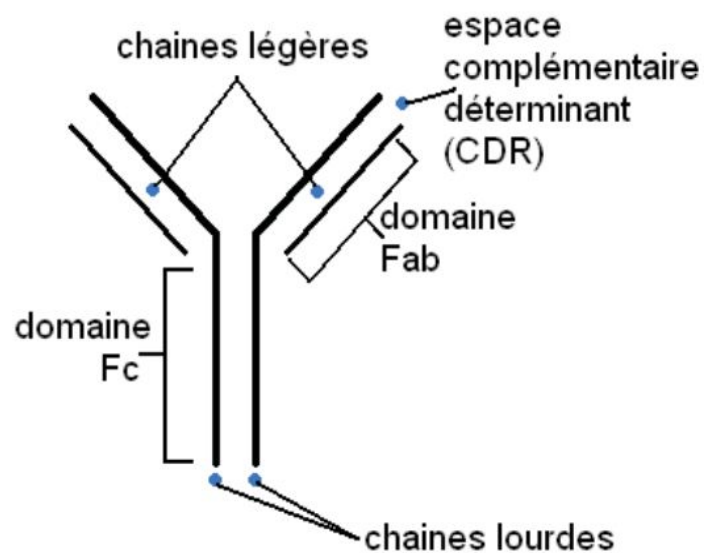


Figure 2: Structures des immunoglobulines.

La quasi-totalité des IgG, 50 à 70 % des IgM et 50 % des IgA sont issues de la filtration du sérum. Le reste (moins de 5 % des IgG, 50 % des IgA, 30 à 50 % des IgM) est le produit de la synthèse locale par les plasmocytes présents dans la glande mammaire. Le transfert des Ig sériques débute plusieurs semaines avant le part et cesse brutalement au cours des heures qui le précèdent.

Tandis que les molécules d'IgG2 passent dans la mamelle selon un mode de transport passif, les IgG1 transitent de manière sélective. Ce mécanisme explique pourquoi les concentrations en IgG1 du colostrum sont bien supérieures à celles en IgG2. Ce transfert actif des IgG1 fait intervenir un récepteur spécifique (récepteur néonatal Fc ou FcRn) hétérodimère, composé d'un homologue de la chaîne a du complexe majeur d'histocompatibilité de type I (CMH-1) nommé FCGRT et de la  $\beta$ -2-microglobuline (B2M). Ces récepteurs apparaissent après l'involution normale de la mamelle, sur la membrane basale ou intercellulaire des cellules épithéliales nouvellement formées des acini de la glande mammaire.

### ***F. Formation du Colostrum :***

La formation du colostrum dans la glande mammaire a lieu en 2 phases suivant 2 mécanismes différents. D'une part, les composants sériques sont prélevés et transférés pour s'accumuler dans la mamelle, et d'autre part, une phase sécrétoire permet l'augmentation du volume produit et la dilution des constituants sériques.

#### **1. Transsudation et translocation des immunoglobulines**

La fixation des IgG1 par leur région Fc est suivie de la formation de vésicules de transport qui vont traverser le cytoplasme pour déverser leur contenu dans la lumière alvéolaire.

Une partie des IgG, IgA et IgM est synthétisée localement par les plasmocytes d'origine sanguine présents dans le parenchyme mammaire. Les plasmocytes à IgG1 sont de loin les plus représentés (85 %), suivis des plasmocytes à IgM (13 %), alors que les plasmocytes à IgA sont peu présents (2 %).

#### **2. Facteurs hormonaux**

La colostrogenèse et la lactogenèse sont sous la dépendance d'équilibres hormonaux complexes, pas encore totalement élucidés. L'apparition de la structure lobulo-alvéolaire du parenchyme mammaire est assurée par des conditions hormonales qui impliquent, dans l'ordre, des hormones d'origines ovarienne et fœto-placentaire (œstrogènes et progestérone), puis des hormones antéhypophysaires (prolactine) et surrénaliennes (corticoïdes). Ces

conditions particulières surviennent pendant la gestation et permettent d'aboutir au développement quasi complet de la glande mammaire pour la mise bas.

Le transfert des IgG de la circulation sanguine vers la mamelle est concomitant d'une réduction du rapport progestérone/œstrogènes plasmatiques.

Dans les heures qui précèdent la mise bas, la chute de la concentration plasmatique en progestérone et l'augmentation des œstrogènes, de la prolactine et du cortisol conduisent à une réduction du transfert des IgG1 et au début de la lactogénèse.<sup>15</sup>

---

<sup>15</sup><http://www.lepointveterinaire.fr>

## ***E. Chapitre II : système gastro-intestinale néonatal et développement immunitaire.***

### ***A. Passage des IgG de la lumière intestinale vers la circulation sanguine***

La placentation épithélio-choriale de la jument n'autorise pas le passage d'anticorps au fœtus pendant la gestation. Le nouveau-né est donc quasi a gamma globulinémique. Dans un premier temps, seule l'immunité passive, transmise par le colostrum Une fois ingérées par le nouveau-né, les IgG ainsi que d'autres macromolécules présentes dans le colostrum sont absorbées intactes par pinocytose par les entérocytes de l'intestin grêle. Les IgG sont ensuite libérées par les vacuoles intracellulaires dans la circulation lymphatique par exocytose et rejoignent la circulation sanguine via le canal thoracique

### ***B.Établissement de la flore digestive chez le nouveau-né***

Le tube digestif est l'un des rares organes étant sous une exposition constante à des agents pathogènes à partir de la monde extérieur, Par conséquent, une forte barrière doit être développée pendant le temps où le poulain est encore protégé par l'immunité maternelle et jouera un rôle crucial dans le système immunitaire des chevaux dans les étapes ultérieures de sa vie.

Avec l'ingestion de lait, l'appareil digestif se développer en longueur et diamètre et augmente en la densité et la hauteur des villosités et des phénomènes de différenciation des entérocytes. Cette évolution augmente l'efficacité absorption nutritionnelle <sup>16</sup> et construit la base de la colonisation microbienne dans l'intestin.

Pendant la gestation la tube digestif des poulains est maintenu stérile jusqu'à la naissance était le nouveau-né entre en contact avec des bactéries du vagin, matière fécale et la salive des

---

<sup>16</sup>CAMPBELL, James F 2004.

mères. Il a été constaté que les lactobacilles sont les plus dominants dans le tube digestif des chevaux, qui commencent à se développer rapidement dès la naissance <sup>17</sup>.

Aussi d'autres bactéries ingérées principalement via l'allaitement sont staphylocoques, les streptocoques, les corynébactéries, Les bactéries propioniques et bifidobactéries. <sup>18</sup>

En outre, il est généralement observé que les poulains commencent souvent manger les fèces de la jument pour ingérer encore plus des bactéries bénéfiques pour établir la colonisation microbienne.

Le développement de bactéries bénéfiques, probiotiques dans l'intestin du poulain et la développement d'une forte couche de mucus, un mécanisme de protection directe contre la croissance et la diffusion des agents pathogènes nuisibles. Un effort constant d'équilibre entre bénéfique et nuisible potentielle pathogènes commence à assurer la santé à long terme. Cet équilibre cependant peut interrompu par des facteurs externe.

La colonisation microbienne est nécessaire non seulement pour des processus métaboliques, sert aussi à la fermentation et la production des éléments nutritifs, mais il dit que le tube digestive liée à la système immunitaire, la liaison représente environ 80% de la système immunitaire en général. Comme déjà mentionné un système digestif en bonne santé contient des millions de bactéries bénéfiques à la fois, ainsi que des agents pathogènes potentiels. Une telle présence constante d'agents pathogènes et donc antigènes peuvent être considérés comme un «EDUCATEUR» pour le système immunitaire des nouveau-nés. Il a été trouvé que les lymphocytes sont très actifs dans le système digestif, où ils peuvent à la fois prendre en charge le rôle de l'antigène présentant les cellules, les cellules plasmatiques de traitement des anticorps et des cellules présentatrices d'antigène détruire.

Les bactéries stimulent le tissu lymphoïde associé aux intestin , qui est fortement présente dans un réseau complexe de ganglions lymphatiques en

les navires à produire et à «éduquer» les lymphocytes aux antigènes spécifiques<sup>19</sup>.

Ce micro flore être ingérés principalement par la nourriture permet ainsi au système de produire constamment des anticorps (en particulier IgA) , et rendre le système immunitaire adaptatif.

---

<sup>17</sup> Eadie et al., 1970

<sup>18</sup> Mackie et al., 1999

<sup>19</sup> Nikles, 1991

Cette production constante de les lymphocytes et les anticorps ne sont pas seulement limités à l'appareil digestif, mais se propage à travers les tissus lymphoïde et le sang vers tout le corps. Cette interaction entre bénéfique et nuisible les bactéries et la formation constante du système immunitaire par cette microflore souligne l'importance d'une colonisation microbienne adéquate et saine dans le début de la vie des poulains

### ***C. Système immunitaire :***

Poulains commencent à développer leurs fonctions immunitaires innées et adaptatives partiellement pendant la gestation, mais de façon plus significative après la naissance lorsqu'ils sont exposés à l'environnement organisms.<sup>20</sup>

Le colostrum est une source essentielle de composantes immunitaires pour les poulains nouveau-nés, dont le plus important est IgG. L'absorption d'IgG inadéquates dans une défaillance partielle ou totale de transférer des immunoglobulines au nouveau-né, entraînant une augmentation de la susceptibilité aux maladies infectieuses. Même avec suffisamment d'IgG, les poulains sont sensibles à certains agents pathogènes qui affectent rarement les chevaux adultes, tels que *Rhodococcus equi*.

### ***D. Transfert de cytokines pro-inflammatoires pour le poulain***

Cette recherche a déterminé que "les concentrations de TNF-alpha sériques étaient élevés dans des échantillons de après le téter , mais essentiellement indétectable dans les échantillons avant téter , comme la concentration de TNF-alpha dans le sérum de sujet avant téter prédit la concentration dans le colostrum." 1 Les données suggèrent que "TNF-alpha est transféré au poulain par absorption de colostrum et peuvent jouer un rôle dans l'immunité précoce. Il est possible que le transfert de cytokines pro-inflammatoires dans le colostrum aide à la vigilance et la protection immunitaire avant que le poulain peut efficacement élaborer une réponse immunitaire. TNF-alpha a un rôle clé dans l'état septique en raison de ses propriétés pro-inflammatoires puissants.

---

<sup>20</sup>Maria Julia Felipp,

Le potentiel pour les effets immunomodulateurs pour cytokines est la spéculation à ce stade, mais il peut aider la réponse immunitaire du nouveau-né. "Une réponse que nous ne savons pas l'ampleur d'un effet».

### ***E. Tractus gastro-intestinal***

Le cheval est un herbivore monogastrique (un seul estomac) ; cela signifie qu'il fait partie de la famille des non-ruminants, au même titre que l'âne ou le lapin. Par rapport à un herbivore ruminant (la vache par exemple, ou encore le mouton), le système digestif du cheval est caractérisé par un petit estomac (7 % du volume total) et un grand intestin.<sup>21</sup>

### ***F. Naissance et jour 1 :***

Les poulains naissent habituellement après une gestation de 11 mois chez la jument, généralement seuls, beaucoup plus rarement par deux, les poulains naissent du ventre de leur mère reliés à un placenta et dans une sorte de poche qui se déchire à la naissance. Ils tètent leur mère avant les 3 à 4 premières heures qui suivent la naissance pour absorber le colostrum, qui renforce leurs défenses immunitaires et les aide à supporter le choc thermique.<sup>22</sup> Le poulain tète sa mère deux à quatre fois par heure durant sa première semaine de vie. Les poulains sont également réputés pour leur capacité à se dresser très vite sur leurs jambes après la naissance, et à pouvoir galoper dans les heures qui suivent. Cette particularité est héritée de leurs ancêtres les chevaux sauvages, qui étaient la proie de nombreux prédateurs et qui devaient donc fuir rapidement.

### ***G. Immunité passive :***

La placentation épithéliochorial de la jument empêche le transfert d'immunoglobulines (Ig) au niveau utérin au fœtus. Par conséquent, la protection contre les agents pathogènes opportunistes environnementaux est fournie au poulain par l'ingestion d'Ig dans le colostrum dès que possible après la naissance. Le transport Ig de la glande mammaire par le colostrum et à travers l'intestin du poulain nouveau-né est médiée par un récepteur exprimé de manière

---

<sup>21</sup>« Que mange votre cheval ? », (<http://www.equinfo.org/alimentation/>)

<sup>22</sup>Martin-Rosset 1990, p. 104.

transitoire spécifique IgG, appelé récepteur néonatale Fc (FcRn), qui est conservée à travers les mammifères ,Comme la capacité du poulain à absorber les Igs dans leurs forme intact se dissipe et le colostrum de la jument se transforme en lait 12-24 h après le poulinage, le transfert passif en temps opportun est important pour la prévention de la septicémie et la survie néonatale . Cependant, d'autres composants immunitaires telles que des cellules maternelles et des cytokines immunitaires maternelles sont également transférés vers le nouveau-né avec le colostrum et jouent probablement un rôle important dans l'induction immunitaire néonatale, la protection contre les agents pathogènes dans l'amorçage et le développement du système immunitaire.

## **H. *Absorption intestinale des macromolécules :***

Les protéines et macromolécules, comme les immunoglobulines, sont absorbés à partir de colostrum non sélectif et sans digestion significative au cours d'une période limitée après la naissance. Maximum l'absorption se produit peu après la naissance et baisse progressivement au cours des premières heures de vie jusqu'à ce que, par 24 heures, l'absorption plus rapide.<sup>23</sup> Il a été largement recommandé que le colostrum devrait être consommé par les poulains dans les 12 heures de naissance. l'absorption peut être considérablement réduit dans les 6 h après naissance, la possibilité pour l'absorption intestinale des immunoglobulines peut être prolongée si le l'ingestion de grandes molécules peut être retardée.<sup>24</sup>

## **I. *Fermeture intestinale "Gut Closure"***

la barrière intestinale ne sera plus perméable aux IgG : on parle de fermeture intestinale ou « gut closure ». Cette fermeture semble d'autant plus précoce que le colostrum est riche. Elle n'est pas retardée si une ingestion préalable de lait ou de solution glucosée a eu lieu. De façon schématique, il existe une sorte de compétition dans le temps entre la fermeture intestinale couplée au passage des IgG et la multiplication/adhésion des bactéries sur les entérocytes (essentiellement E. coli). Pendant la période où l'intestin du poulain absorbe les immunoglobulines, il n'existe pas de sélection des particules ingérées au niveau de la paroi digestive. Ainsi, après la naissance, lorsque le poulain cherche la mamelle et lèche la jument,

---

<sup>23</sup>. JEFFCOTT, L. 1972

<sup>24</sup>J Nutr 1962



les murs et les parois du box, il ingère des bactéries qui peuvent avoir accès à la circulation sanguine ou lymphatique.<sup>25</sup>

]Le lavage de la jument plusieurs fois 32avant le poulinage, le changement de box au début du travail, la désinfection du périnée et de la mamelle de la jument après le poulinage et l'administration immédiate au biberon de 50 à 100 ml de colostrum de bonne qualité sont par ailleurs conseillés pour les élevages dans lesquels l'incidence de septicémie néonatale est élevée.<sup>26</sup>

### ***J. Facteurs affectant le transfert passif :***

Un mauvais transfert de l'immunité passive peut survenir si le nouveau-né n'a pas accès précocement, et en quantité suffisante à un colostrum de bonne qualité.

Une mère négligente ou inexpérimentée (primipare par exemple), en l'absence de surveillance de la part de l'éleveur, ne permet pas au poulain de téter précocement le colostrum et donc de réaliser un bon transfert de l'immunité passive.

Une augmentation des concentrations sériques en Ig est associée à une réduction du risque de mortalité entre 2 et 14 jours d'âge.<sup>27</sup>

Le transfert de l'immunité passive dépend donc de plusieurs facteurs, liés à la mère, au nouveau-né mais aussi à leur environnement.

### ***K. Qualité du colostrum (facteur) :***

La jument produit en moyenne 1,5 à 3 litres de colostrum. La production débute 2 à 4 semaines avant le poulinage avec un pic de fabrication dans les 48 heures qui le précèdent. Son taux d'IgG décline très rapidement au cours des 12 premières heures qui suivent le poulinage. Le colostrum est naturellement jaune et épais : si ce n'est pas le cas, il est pauvre en anticorps, mais l'inverse n'est pas vrai. Un colostrum pauvre en IgG en contient moins de 30 à 40 g/L ce qui correspond à des valeurs respectives de 1,06 pour le colostromètre, 16° pour le réfractomètre à alcool ou 23% pour le réfractomètre à sucre [35]. La mesure du taux d'IgG du colostrum permet d'apprécier le risque d'un déficit immunitaire chez le poulain et donc de proposer une complémentation colostrale précoce. Cette mesure permet aussi de

---

<sup>25</sup>Madigan J.E.Further 1998.

<sup>26</sup>Ibid.

<sup>27</sup>Christley, et al., 2003.

sélectionner les juments pouvant être prélevées pour la réalisation d'une banque de colostrum, sous réserve de commémoratifs d'isoérythrolyse. Chez une jument dont le colostrum s'avère de bonne qualité (IgG > 70 g/L ce qui équivaut à une densité supérieure à 1,09 au colostromètre), une fois que son poulain a tété plusieurs fois convenablement, environ un tiers de litre peut être prélevé pour la constitution de la banque.

## ***L. Comment améliorer la qualité du colostrum***

### **Surveiller la ration de la poulinière**

La ration de la poulinière doit être adaptée en qualité et en quantité à la gestation puis à l'allaitement. La qualité des aliments consommés par la jument retentit forcément sur celle de sa production lactée. Afin d'obtenir un colostrum, puis un lait de bonne qualité, la jument sera légèrement suralimentée durant les trois derniers mois de sa gestation, avec des compléments riches en protéines de bonne qualité, équilibrés au niveau des acides aminés essentiels. Il faut aussi surveiller l'équilibre phosphocalcique de la ration et l'apport en vitamines liposolubles A, D3 et E. Attention toutefois à ne pas provoquer un engraissement excessif de la jument: l'accumulation de graisses au niveau du bassin peut rendre le poulinage difficile.

### **Eviter les changements « de dernière minute »**

Pour que les anticorps présents dans le colostrum soient adaptés aux microbes de l'environnement, il faut que la jument soit présente dans cet environnement depuis au moins trois semaines. On évitera donc de « déménager » la jument durant le dernier mois de gestation, sous peine de diminuer l'efficacité de l'immunisation du poulain à naître.

### **Vacciner la jument**

Pour que la protection soit complète, il faut renforcer la vaccination de la jument 2 à 6 semaines avant le poulinage, afin de permettre un passage maximum d'anticorps au poulain nouveau-né viable colostrum. Cette façon de procéder permettra de plus d'attendre que le poulain soit âgé de 6 mois pour le vacciner. On est alors certain que son système immunitaire est compétent.<sup>28</sup>

---

<sup>28</sup>[www.haras-nationaux.fr](http://www.haras-nationaux.fr)

## ***F. Chapitre III: Techniques de mesures de la qualité du colostrum :***

### ***A. Introduction :***

Le poulain naît dépourvu d'immunoglobulines (anticorps), éléments indispensables à sa protection contre les infections. Avant d'avoir fabriqué ses propres anticorps (2 mois environ), sa protection est assurée par les anticorps contenus dans le colostrum (premier lait de la jument), la qualité et la durée de la protection du poulain (transfert de l'immunité) est fonction de la concentration des anticorps dans le sang du poulain, à 24 heures, il doit être supérieur ou égal à 8 g/l, lorsque cette concentration de 8 g/l n'est pas atteinte, on a un déficit du transfert de l'immunité qui entraîne un risque plus important pour le poulain d'avoir une infection dans ses deux premiers mois de vie<sup>29</sup>

### ***B. Test d'immunodiffusion Radial :***

Il s'agit d'une technique de dosage quantitative qui permet de déterminer la concentration en protéines ou en antigènes dans un échantillon en mesurant le diamètre de l'anneau de précipitation formé par les complexes anticorps-antigènes (figure 1).

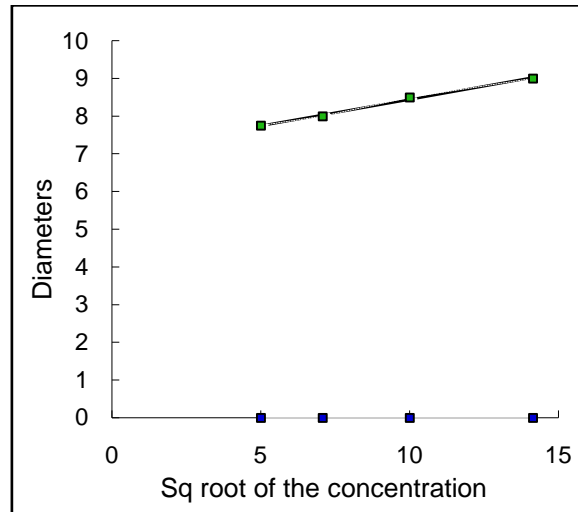
L'échantillon à tester est placé dans un gel d'agarose contenant les anticorps dirigés contre l'élément à doser (ici, des anticorps anti-IgG). Au fur et à mesure que les IgG du colostrum diffusent dans le gel, les anticorps anti-IgG se lient aux IgG et forment un anneau de précipitation, dont le diamètre est proportionnel à la quantité initiale d'IgG.

La courbe étalon permet alors de lire le résultat de manière précise (figure 2).

A ce jour, l'immunodiffusion radiale est la méthode de référence pour le dosage des IgG dans le sérum ou dans le colostrum des juments. Cette technique est très précise, mais longue (18 à 24h), ce qui rend son utilisation difficile au pied de l'animal. Un kit est commercialisé par IDBiotech

---

<sup>29</sup> Les lettres d'information des Haras nationaux



**Figure 3: Exemple de gamme étalon pour l'immunodiffusion radiale**

### ***C. Test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbant Assay) :***

Le test ELISA ou enzyme-linked immuno assay est un test qui permet la mesure des immunoglobulines colostrales en particulier les immunoglobulines G. Le principe de ce test est également basé sur la réaction antigène-anticorps. Le colostrum à doser est d'abord dilué dans une solution saline, Une petite quantité est prélevée et déposée au fond des puits de la plaque de microtitration, La plaque est alors incubée une heure à environ 37°C pour la fixation de l'échantillon à la microplaque. On ajoute en suite les anticorps anti-immunoglobulines. L'ensemble est incubé une heure à environ 37°C. Les puits sont en suite rincés. A ce complexe antigène-anticorps, on peut rajouter des anticorps marqués (conjugué). Après lavage, on ajoute un substrat chromogène. La force du signal du substrat chromogène dépend de la quantité d'antigène soit ici la quantité d'immunoglobulines colostrales, La concentration est évaluée à partir d'une gamme standard préétablie.<sup>30</sup>

---

<sup>30</sup>SHEARER MH, CORBITT SD, STANLEY JR et al. 1997.

#### **D. *Test de turbidité au sulfate de zinc :***

Le test de turbidité au sulfate de zinc utilise une solution de sulfate de zinc qui a la propriété de précipiter les immunoglobulines présentes dans le sérum, On mélange 0,1 ml du sérum à tester avec 6 ml d'une solution contenant 208 mg/l de sulfate de zinc. Le mélange incube ensuite pendant une heure à température ambiante. Plus la turbidité est importante, plus l'échantillon testé est riche en immunoglobulines. Inversement, l'absence ou la diminution de la quantité de précipité formé indique un défaut de transfert passif des immunoglobulines. Ce test est qualitatif et une estimation semi-quantitative de la quantité d'immunoglobulines peut être obtenue par des méthodes spectro-photométriques.<sup>31</sup>

---

<sup>31</sup>FECTEAU et PALMER, 1996 ; PARISH, 1996.

## *E.Chapitre IV : Partie Experimentale*

### **OBJECTIFS DE L'ETUDE EXPERIMENTALE :**

Après l'étude bibliographique en relation avec le travail expérimental réalisée dans la première partie, cette deuxième partie a pour but :

- 1- Evaluer la concentration en immunoglobuline (IgG1) dans le colostrum des juments et le sérum de leurs poulains.
- 2- Le suivi de la croissance des poulains.

Plusieurs espèces sont concernées par cette évaluation mais compte tenu de l'importance économique et des pertes engendrées par le non transfère de l'immunité colostrale dans les élevages équins, seuls les chevaux ont été choisis pour cette étude.

### **Matériel et méthode :**

**Lieu**

**de**

**travail :**

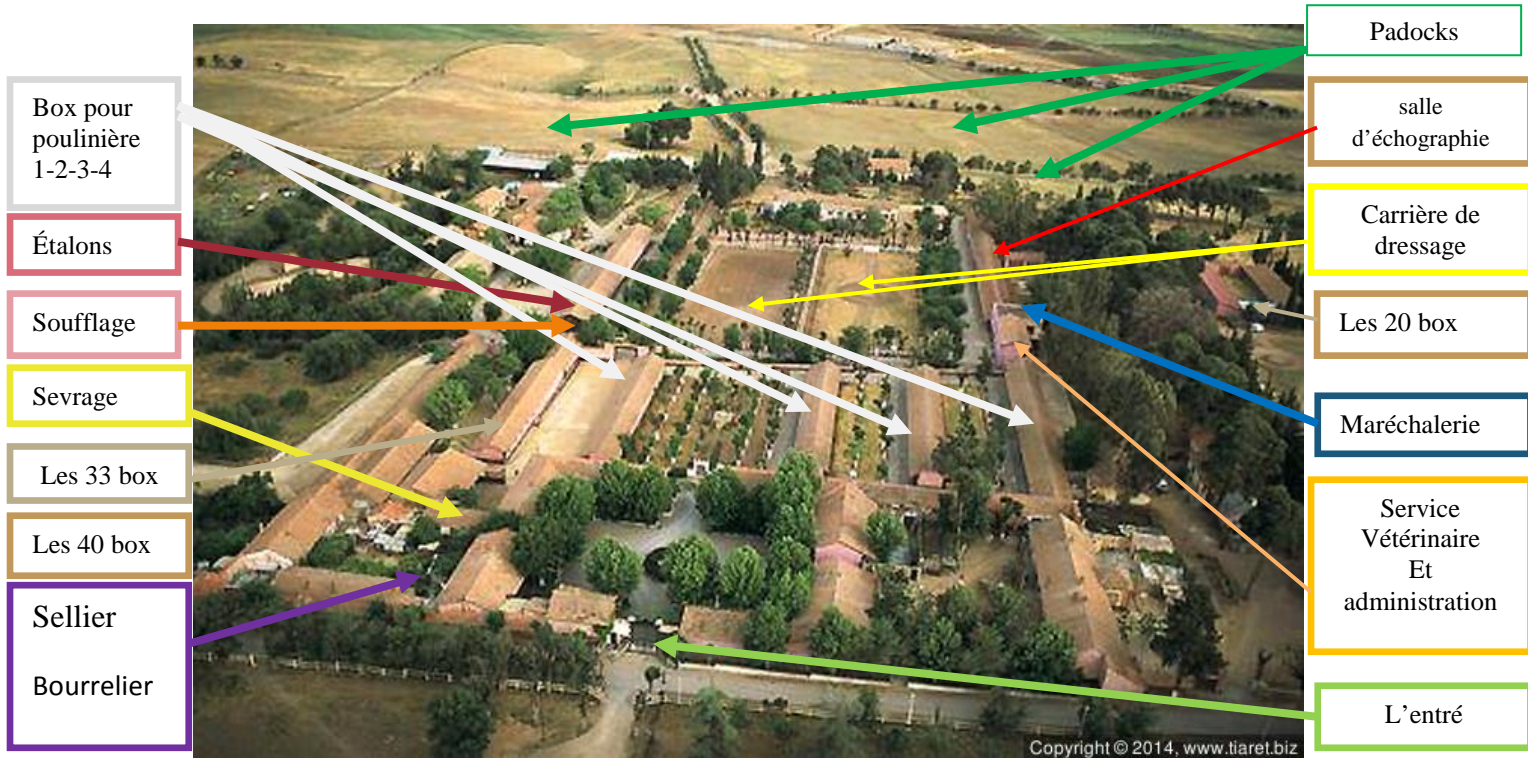
L'étude c'est réaliser au niveau du « HARAS NATION AL CHAOUCHAOUA » ou Jumenterie de Tiaret, organisme inscrit depuis 1995, au patrimoine historique du pays.

LA JUMENTERIE C'est avant tout l'histoire d'une jumenterie qui remonte à 1874. C'est aussi l'histoire d'un patrimoine génétique, dont la source remonte à 1852. La jumenterie de Tiaret, c'est surtout la pureté des souches et la consistance du patrimoine génétique du pur sang Arabe. Le Haras de Tiaret reste incontestablement un des plus anciens producteurs de chevaux arabes en occident depuis 1878, bien avant même la création des stud-books anglais, égyptiens, et polonais. La jumenterie, reste une source d'archive généalogique remontant à plus d'un siècle, constitue un réservoir historique certain, pour les chercheurs, historiens, scientifiques et tout amoureux du cheval en général.

Son statut et celui d'une ferme pilote autonome, avec une vocation d'élevages équins, majoritairement le pur-sang Arabe, suivi du Barbe, Arabe-barbe, Anglo-arabe.(280 chevaux).

Une grande superficie qui avoisine les 741Hectares et un personnel de 57 ouvriers. La production équine annuel est de : 60 Poulains /AN.

## Situation géographique et présentation du HARAS



**Figure 4: Situation géographique et présentation du HARAS**

### **Animaux et période de l'expérimentation :**

L'expérimentation est déroulée en deux ans consécutifs 2013/2014 et 2014/2015 sur un effectif de 90 juments entre la première année et la deuxième.

Le choix des juments de l'expérimentation est réaliser selon une répartition équilibré en deux groupes de femelles ; 42 juments gestantes pour l'année 2013/2014 et 48 juments gestantes pour l'année 2014/2015 dont 31 juments Pur-sang arabe, 12 juments Arabe barbe et 05 juments Anglaises d'une moyenne d'âge de  $9,225 \pm 4,385$  ans avec des valeurs MAX de

19 ans et Min de 3ans, et d'une moyenne de poids de  $479,8 \pm 33,691$  Kg variant de MAX 561 Kg et Min de 420 Kg.

Dans notre expérimentation nous avons choisi de traiter plusieurs races (pur-sang Arabe, barbe, pur-sang Anglais) pour essayer d'incriminer l'effet race sur les paramètres étudiés.

### **La période pré expérimentale :**

La période pré expérimentale a duré environ un mois et a servi à adapter les animaux aux conditions expérimentales (introduction de la levure probiotique graduellement). Ces juments ont fait l'objet d'un suivi régulier et périodique de l'état sanitaire (vaccination anti rabique, parage, et déparasitage tous les 03 mois), et une surveillance de l'évolution de la gestation par la réalisation d'examen échographiques à partir du 14<sup>ème</sup> jour post saillie.

### **Le schéma expérimental**

#### **L'expérimentation est répartie en trois volets :**

- **Le premier volet :** Consiste à étudier le dosage des IgG1 dans le colostrum des juments et le plasma de leurs poulains en l'évaluant avec deux méthodes différentes l'immunodiffusion radiale (IDR) et le Réfractomètre.
- **Le second volet:** Une comparaison entre deux lots de juments pour étudier l'effet de la supplémentation en levure probiotique chez ces dernières en peripartum, sur la concentration en IgG1 dans le colostrum et le sérum des poulains et leurs croissances durant les six premiers mois de leur vie.

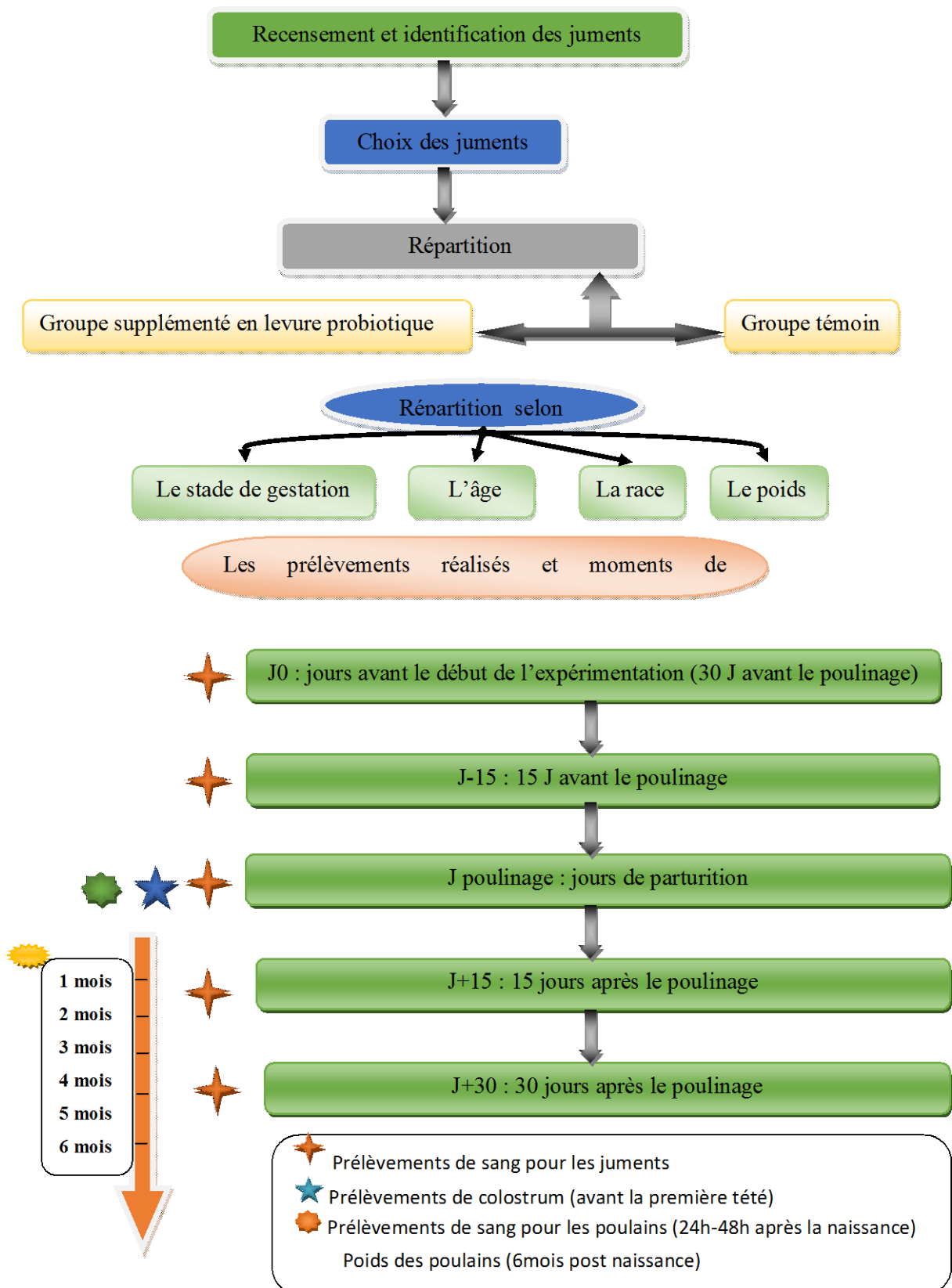
Nous comparons deux traitements expérimentaux et deux levures différentes :

1. Un lot témoin recevant un aliment classique sans aditif (ration de base).
  2. Un lot levure recevant le même aliment que le lot témoin mais supplémenté avec la levure probiotique *saccharomyces cerevisiae*.
- **Le troisième volet :** Une comparaison entre deux lots de juments pour étudier l'effet de la supplémentation en levure probiotique chez ces dernières en peripartum, sur la croissance des poulains.

La durée de la supplémentation est de 12 semaines s'étalant des quatre dernières semaines précédant la date probable du part jusqu'à la 8<sup>ème</sup> semaine postpartum.

Le diagramme expérimental et les mesures effectuées sont récapitulés dans le schéma suivant :





**Figure 5: les étapes de prélèvements**

## **Alimentation :**

Pour l'alimentation on a préféré laisser le système comme auparavant la ration n'était pas calculée selon les besoins des animaux des deux lots.

Les juments ont été nourries avec le même aliment concentré (orge mouiller) à raison de 3Kg matin et 3Kg le soir supplémenté (lot levure) ou non (lot témoin) avec la levure probiotique.

La quantité de fourrage distribuée (foin d'avoine) est identique pour les deux lots une botte / 5 jument. La distribution quotidienne des aliments concentrés aux juments des deux lots se fait de manière manuelle deux fois par jour à la même heure le matin à 08<sup>h</sup>:30, et l'après midi à 16<sup>h</sup>:00.

En plus de la ration journalière, de 10h à 15h :30 les juments partent aux prés (paddocks) pour faire de l'exercice et un broutage d'herbe.

## **Modalité de la supplémentation en levure probiotique :**

Les probiotiques utilisés dans cet essai sont :

- La souche de levure, *Saccharomyces cerevisae souche* (CNCM I-1077) (concentré de levure vivante sous micro-encapsulée adaptée pour aliments granulés) fabriqué par : société industrielle LALLEMAND- France importer par la société VETAM – Sétif-Algérie. Commercialisée sous le nom de Levucell® SC 10ME titan.

Il s'agit de concentré de levure sèche active développé spécifiquement pour la nutrition et la santé des animaux contenant  $10.10^9$  UFC/g de levures *Saccharomyces cerevisae*(CNCM I-1077). La dose préconisée par le fabricant pour l'espèce équine est 2g/cheval/jour (300g/T\*) (\*selon l'ingéré, le stade physiologique et la phase de croissance).

- La souche de levure spécifique ruminant, *Saccharomyces cerevisae souche NCYC Sc 47* (concentré thermostable de levure vivante) fabriqué par : société industrielle LESAFRE- France, commercialisée sous le nom de BIOSAF® HEAT RESISTANT CONCENTRATE OF LIVE YEAST (LESAFRE, FEED ADDITIVES, France).

Il s'agit de concentré de levure sèche active développé spécifiquement pour la nutrition et la santé des animaux contenant  $1.10^{10}$  UFC/g de levures *Saccharomyces cerevisae*. La dose préconisée par le fabricant est variable selon l'espèce et le stade physiologique de l'animal.

Dans notre expérimentation nous avons fixé une dose de 10g par jument et par jour pour la souche BIOSAF® et une dose de 2g par jour pour la souche Levucell®.

Pour s'assurer de la prise totale et complète de la dose fixé par chaque une des juments supplémentées, le probiotique (*Saccharomyces cerevisae Sc 47*) à été fractionné en doses de 10g et 30g pour le probiotique (*Saccharomyces cerevisae*CNCM I-1077) en utilisant une

balance de précision type Sartorius Basic et des sachets en plastique approprié, sachant bien que la levure était présentée sous un emballage de 1Kg pour la souche Levucell® et un emballage de 5Kg pour la souche BIOSAF®.

- *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 était mélangé avec 15 volumes d'orge mouiller et distribuer avec la ration du soir pour les juments supplémentées (01 sachet /15 jument / jour).
- *Saccharomyces cerevisiae* Sc 47 était mélangé directement avec la ration du soir pour les juments supplémentées (01 sachet / jument / jour).
- 



**Figure 6: Pesé et répartition de la levure**



**Figure 7: Photo : Mélange de la levure avec l'orge mouiller**

#### **Abreuvement :**

Pendant tout la période de l'étude expérimentale, les juments été approvisionnées en eau potable fraîche et renouvelée de source en trois points différents :

- Au niveau de leurs stalles avec accès à l'abreuvoir automatique

- Au niveau de l'abreuvoir collectif juste avant leurs sorties aux paddocks.
- Au niveau des paddocks dans plusieurs points.

### **Les prélèvements réalisés :**

#### **Prélèvement de sang :**

##### **a- Les poulains :**

Les prélèvements sanguins pour les poulains ont été réalisés au niveau de la veine jugulaire dans des tubes de prélèvements à l'héparinate de lithium pour le dosage de la concentration des IgG1 et l'évaluation du transfert de l'immunité passive chez ces derniers après la naissance environ 24 à 48h pour l'ensemble.

Dans notre expérimentation nous avons choisi de traiter plusieurs races (pur-sang Arabe, barbe, pur-sang Anglais) pour essayer d'incriminer l'effet race sur les paramètres étudiés.

#### **Prélèvements de colostrum :**

Just après le poulinage et avant la tété de poulains nouveau nés environ 20 ml de colostrum était prélevé dans des pots stériles et étiquetés de 50 ml, pour une éventuelle analyse des immunoglobulines (IgG1).

Les pots de colostrum ont été identifiés (nom de la jument, et date du prélèvement) transportés dans une glacière au laboratoire de reproduction, là où seront congelés à -20 °C jusqu'aux analyses.

##### **Les analyses réalisées :**

#### **L'immunodiffusion radiale (IDR) :**

L'immunodiffusion radiale est décrite comme la méthode de choix pour quantifier les immunoglobulines. Le HORSE IgG TEST s'applique donc tout particulièrement aux études sur le transfert passif de l'immunité chez les poulains.

#### **Domaine d'application :**

Le HORSE IgG TEST s'applique aux :

Colostrums de jument

Sérums et plasmas de chevaux et de poulains

Ce test est utilisé à des fins de recherche uniquement.

#### **Principe :**

Le test est basé sur la technique d'immunodiffusion radiale.

Les plaques HORSE IgG sont constituées d'un gel d'agar contenant un antisérum dirigé spécifiquement contre les immunoglobulines (Ig) de cheval. Les puis aménagés dans les plaques permettent de déposer 15µl des standards et des échantillons à analyser. Pendant l'étape de diffusion, les Ig de cheva, lorsqu'elles sont présentes dans les échantillons, réagissent avec l'antisérum et forme un disque de précipitation autour du puis de dépôt.

La surface de chaque précipité est proportionnelle à la concentration en IG de cheval dans l'échantillon. A partir des diamètres mesurés pour les points de gamme dont la concentration en Ig est connue, une droite de régression linéaire est établie est utilisée pour calculer la concentration en Ig de chaque échantillon.

### Composition du kit :

10 plaques IDRing® HORSE IgG TEST- 10 puis par plaque

Tampon de dilution des échantillons: SRID Buffer concentré 5 fois – 1 flacon de 30 ml

Standards de concentration 200, 100, 50 et 25µl/ml en Ig de cheval – prêts-à-l'emploi – 4 microtubes.



**Figure 8: La boîte du kit IDR Horse IgG**

### Réactifs et équipements requis :

#### Réactifs :

Acide acétique glacial (grade de pureté analytique)

Eau déionisée

Eau physiologique (0,15M NaCl) ou tampon PBS (pH 7,0 à 7,5)

#### Équipements et consommables :

Tubes jetables de 2ml et/ou de 5ml pour la dilution des échantillons

Micropipette de précision, 50 - 1000µl et connes jetables adaptés

Boîte humide : boîte plastique à couvercle hermétique dans le fond est garni d'un buvard saturé d'eau

Etuve thermostatée réglée à 35°C ± 5°C

Papier absorbant

Système de visualisation et d'acquisition numérique IDRing® Viewer ou mini lecteur de plaque IDRing® Viewer-S

Logiciel d'analyse d'image et de traitement des données IDRing® Meter ou feuille de calcul de type tableur Excel®

### Préparation des réactifs :

- ♣ Sortir le nombre de plaques nécessaires ainsi que les standards.
- ♣ Laisser remonter les réactifs à température ambiante avant utilisation.
- ♣ Homogénéiser chaque flacon manuellement avant utilisation.
- ♣ Ne pas mélanger les réactifs provenant de lots différents.



Figure 9: Les standards de la gamme d'étalonnage

### Préparation du tampon de dilution SRID Buffer :

Dans un flacon propre diluer 30 ml de SRID Buffer 5X dans 120 ml d'eau déionisée ou distillée. Homogénéiser. Après dilution, le SRID Buffer 1X peut être conservé 3 mois entre +2 et +8°C.

### Préparation d'une solution d'acide acétique à 2% (v/v)

Environ 5ml de solution d'acide acétique à 2% (v/v) sont nécessaires pour la révélation d'une plaque.

Préparer extemporanément cette solution en ajustant le volume nécessaire en fonction du nombre de plaques à révéler.

Pour obtenir 100ml de cette solution, ajouter 2 ml d'acide acétique glacial à 98 ml d'eau déionisée ou distillée. Homogénéiser.

Veiller à porter les équipements de protection individuelle adaptés lors de la préparation et la manipulation de cette solution.

### **Préparation des échantillons :**

Les échantillons doivent être analysés sous 72 h après prélèvement (conservés à +2°C/+8°C) ou peuvent être congelés à -20°C jusqu'à analyse.

Laisser remonter les échantillons à température ambiante avant préparation.

### **Colostrums :**

Bien homogénéiser l'échantillon avant dilution.

Dilution au 1/600 :

- ♣ Effectuer une première dilution au 1/100 (dilution 1) en introduisant 50 µl de l'échantillon dans 4950 µl d'eau physiologique ou tampon PBS.
- ♣ Diluer ensuite au 1/6 en introduisant 100 µl de la dilution 1 dans 500 µl de tampon de dilution SRID Buffer 1X.

Etant donné la variabilité de la concentration en IgG dans les colostrums, le facteur de dilution est indicatif et doit être ajusté en fonction des conditions locales.



**Figure 10: Photo : Préparation des dilutions de colostrum**

## Sérums ou plasmas :

Dilution au 1/150

- ♣ Effectuer une première dilution au 1/50 (dilution 1) en introduisant 50  $\mu$ l de l'échantillon dans 2450  $\mu$ l d'eau physiologique ou tampon PBS.
- ♣ Diluer ensuite au 1/3 en introduisant 100  $\mu$ l de la dilution 1 dans 200  $\mu$ l de tampon de dilution SRID Buffer 1X.

Etant donné la variabilité de la concentration en IgG dans les sérums, le facteur de dilution est indicatif et doit être ajusté en fonction des conditions locales.



**Figure 11 : Les sérums des poulains**

## E. Mode opératoire :

Amener tout les réactifs à température ambiante avant utilisation.

Homogénéiser chaque flacon de standards avant utilisation.

1. Préparer tous les réactifs et les échantillons comme indiqué dans les paragraphes précédents.
2. Identifier chaque plaque avec un numéro d'identification interne. Préparer un schéma de dépôt afin de garantir la traçabilité des opérations effectuées et permettre



l'interprétation ultérieure des résultats. Pour cela, il est possible d'utiliser le logiciel IDR ing ®Meter ou le schéma de dépôt proposé.

3. Dans chaque plaque, déposer 15µl des standards de la gamme d'étalonnage comme indiqué ci-dessous :

Puits n°1 : standard 200µg/ml  
Puits n°2 : standard 100µg/ml  
Puits n°3 : standard 50µg/ml  
Puits n°4 : standard 25µg/ml

Déposer 15µl des échantillons dans les puits n°5 à 10.

Remplir avec 15µl d'eau déionisée les puits non utilisés.

Fermer le couvercle de la plaque

4. Placer la plaque à plat dans une boîte hermétique humide. Disposer l'ensemble dans une étuve réglée à  $35^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  et laisser diffuser entre 16 et 24 heures.
5. Remplir la plaque avec environ 5ml de la solution d'acide acétique à 2% et laisser agir 1 minute à température ambiante.
6. Vider chaque plaque et rincer en remplissant/vidant 2 fois la plaque avec de l'eau déionisée. Remplir à nouveau avec environ 5ml d'eau déionisée et laisser agir entre 10 et 15 minutes à température ambiante.
7. Prendre un cliché numérique de chaque plaque à l'aide du système IDR ing ®Viewer. Réaliser l'analyse d'image et procéder aux mesures des précipités à l'aide du logiciel IDR ing ®Meter.

Une procédure simplifiée consiste à mesurer visuellement les diamètres des précipités à l'aide du système IDR ing ®Viewer-S.





**Figure 12: Photos Mode opératoire**

**Résultats :**

- ♣ La droite d'étalonnage est obtenue en portant en ordonnées les diamètres de précipités mesurés pour chaque standard et en abscisse la racine carrée de leur concentration, décrite par l'équation de régression linéaire du type :

$$y = a \sqrt{x} + b \text{ ou}$$

**y** est le diamètre des précipités

**x** est la concentration des standards

**a** est la pente

**b** est l'ordonnée à l'origine

- ♣ La droite d'étalonnage est générée automatiquement par le logiciel IDR ing @Meter. En l'absence de ce logiciel, il est également possible d'utiliser les fonctions graphiques d'un tableur de type Excel pour calculer les résultats.
- ♣ Le coefficient de corrélation  $r$  doit être supérieur ou égal à 0,99.

La concentration de chaque échantillon est calculée automatiquement par le logiciel IDR® ing Mater. Une feuille de résultats indiquant les concentrations de chaque échantillon est éditée.

Les résultats peuvent être exportés en format Excel®.

- ♣ Si un échantillon donne un précipité dont le diamètre est supérieur au standard le plus concentré, diluer l'échantillon et le réanalyser.



Figure 13: Lecture des plaques IDR par le lecteur IDRing Viewer

## F. La Réfractométrie :

*Description de l'appareil*

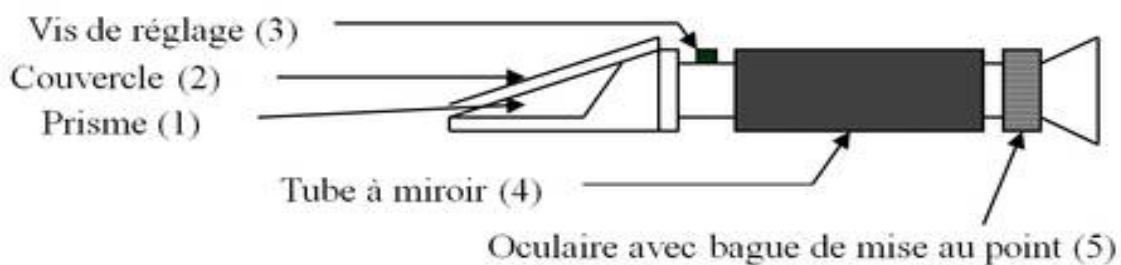
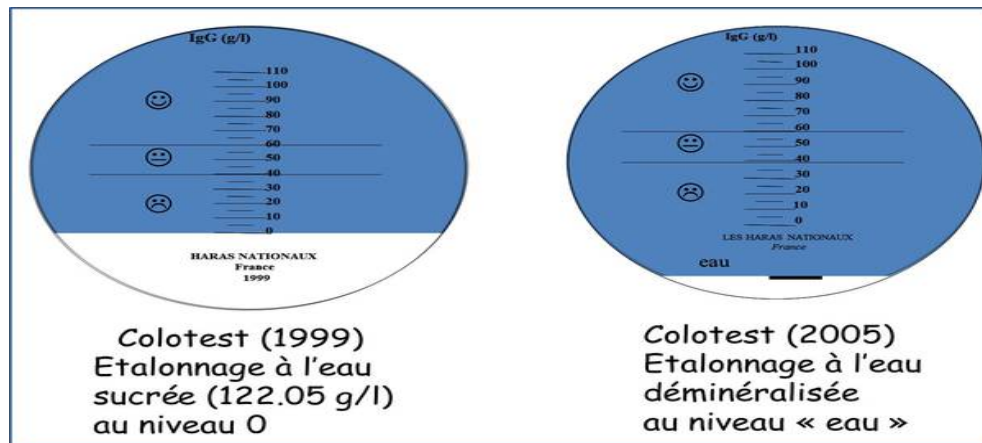


Figure 14: Réfractomètre

Etalonnage de l'appareil

### A faire à chaque début de saison de poulinage

Pointer l'extrémité avant du réfractomètre en direction de la lumière, coller l'œil sur l'oculaire et mettre au point avec la bague (5) jusqu'à visualisation nette de la graduation de mesure.



**Tableau 2: Colotest modèle 1999, Étalonnage à l'eau sucrée (122.05 g/l) au niveau 0**

Modèle 1999	Modèle 2005
Solution d'étalonnage : eau sucrée 122.05 g/l de sucre de cuisine dans de l'eau du robinet	Solution d'étalonnage : eau déminéralisée
Soulever le couvercle (2) et verser une à deux gouttes d'eau sucrée sur le prisme (1), rabattre le couvercle et ajuster le niveau sur « 0 » à l'aide du tournevis fourni et de la vis (3) située sur le dessus de l'appareil	Soulever le couvercle (2) et verser une à deux gouttes d'eau sur le prisme (1), rabattre le couvercle et ajuster le niveau sur « eau » à l'aide du tournevis fourni et de la vis (3) située sur le dessus de l'appareil

## Utilisation



**Figure 15: appareil de réfractométrie**

### **G. Procédure de mesure :**

**1/ Soulever le couvercle (2). Essuyer délicatement** la surface du prisme avec du papier absorbant.

**2/ Après avoir trait du colostrum de la jument** sur 1 des deux mamelles, dans un petit réceptacle propre, prélever du colostrum (**1 à 2 ml**) à l'aide d'une seringue à usage unique.

**3/ Verser 1 ou 2 gouttes** du colostrum à tester sur la surface du prisme (10ul).

**4/ Abaisser le couvercle** et le **presser légèrement**. Le colostrum doit couvrir toute la surface du prisme.

**5/ Orienter le prisme vers une source de lumière** et **lire** dans l'oculaire sur l'échelle correspondante le **taux d'IgG en g/l du colostrum**.

**6/ Après chaque mesure, nettoyer** tout le liquide adhérant à la surface du prisme et sur le couvercle avec du papier absorbant humecté d'eau déminéralisée.

### **H. Attention**

Il s'agit d'un instrument d'optique de précision, à manipuler doucement. Éviter les chocs, surtout en cas de transport.

L'appareil permet une mesure fiable à une température comprise entre 10 et 30°C.

Ne pas laver à grandes eaux l'instrument de manière à éviter toute entrée d'eau dans le tube de l'instrument. Ne pas plonger l'appareil dans un liquide.

Ne pas toucher, ni rayer les surfaces optiques.

Le conserver dans sa boîte et dans un endroit sec à plus de 10°C.



**Figure 16: Photo : distribution de la levure probiotique pour les juments**



**Figure 17: Photo : mesure de poids à l'aide d'un ruban mètre spécial (les Haras nationaux)**



**Figure 18: Photo : jument avec son poulain juste après la naissance**

## ***F.Résultats et discussion :***

**Tableau 3: Concentration des IgG colostral mesurée par le Réfractomètre & IDR**

	<b>juments</b>	<b>réfractomètre</b>	<b>IDR</b>	<b>conc ug/ml</b>	<b>age</b>
1	léticia	8	7,75	15118,9	8
2	noudjoud	8	7,25	1234,6	6
4	cyara	14	7,75	15118,9	12
9	khalifa	9	6,5	9331,1	9
10	nouria	17	8,25	44429	6
11	ouarda	8	6,125	19742,8	5
12	malikat chaouchaoua	8	8,25	44429	7
14	iraquia	18	7,75	15118,9	11
15	dabladja	16	7,5	6248,5	16
16	rimeh	14	6,5	9331,1	3
17	l'hendia	13	7,75	1234,6	8
20	kamelia	11	7	1240	9
21	quissa	9	9	117317,2	4
25	labiba	6,25	6,75	2775,8	8
28	julia	6,25	6,5	9331,1	10
19	quilada	17	8,5	73360,1	4
30	opera	6,75	6,75	2775,8	5
27	fatra	9,25	9,25	149326	14
26	kafaza	11,5	11,5	610944,7	9
23	boussada	10,75	10,75	422364,1	18
24	lemassa	11	11	481369,9	8
29	hania	13	13	1092229,2	12
22	ouarda	10	10	268491,2	5
7	rokhsa	15	10	268491,2	3
5	lounjana	23	11	481367,9	8
6	malizia	8	9	117317,2	6
13	fayrouz	11	9,75	224913,1	14
3	bousra	14	9	117317,2	18
8	khedaouj	16	9	117317,2	9
18	daouha	>30	5	129647,4	13

Dans le présent tableau on a pu faire une comparaison entre le test de référence (IDR) immuno diffusion radial et le réfractomètre pour le dosage des IgG1 au niveau du colostrum

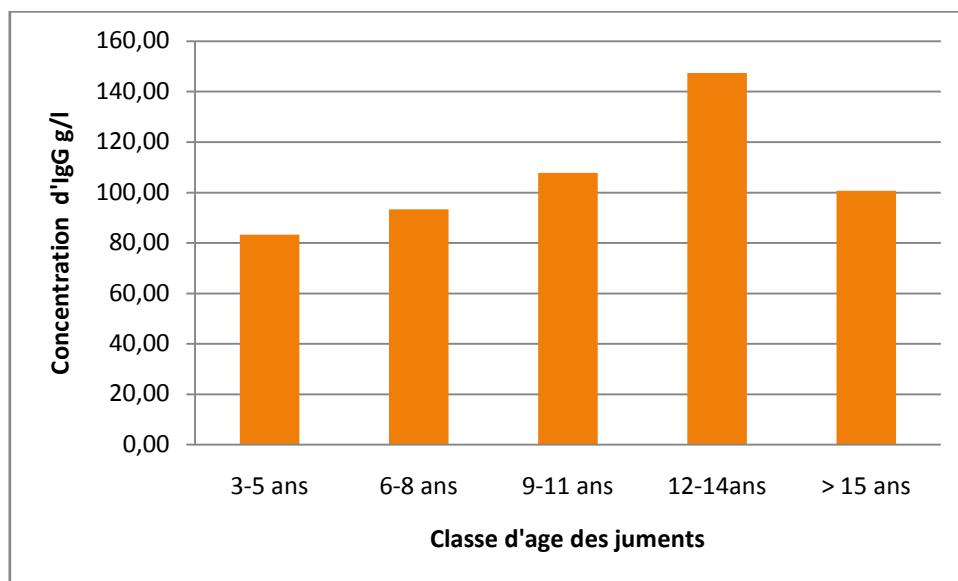


des juments du HARAS national de Chaouchaoua Tiaret, les valeurs ressorties étaient comme suit :

Les valeurs du test IDR varient de 12,4 g/l à 180 g/l et celles du réfractomètre varient entre 6,25 jusqu'à >30

**Tableau 4: Concentration des IgG colostral en fonction de l'âge des juments**

juments	3-5 ans	6-8 ans	9-11 ans	12-14ans	> 15 ans
	115	151	93,3	151,1	117,3
	93,3	123,4	151	149,3	122,3
	117,1	44,4	12,4	182,2	62,4
	73,36	44,4	93	124,9	
	27,75	12,3	180	129,6	
	73,36	27,7	117,3		
		160			
		117			
		160			
<b>moyenne</b>	<b>83,31</b>	<b>93,36</b>	<b>107,83</b>	<b>147,42</b>	<b>100,67</b>

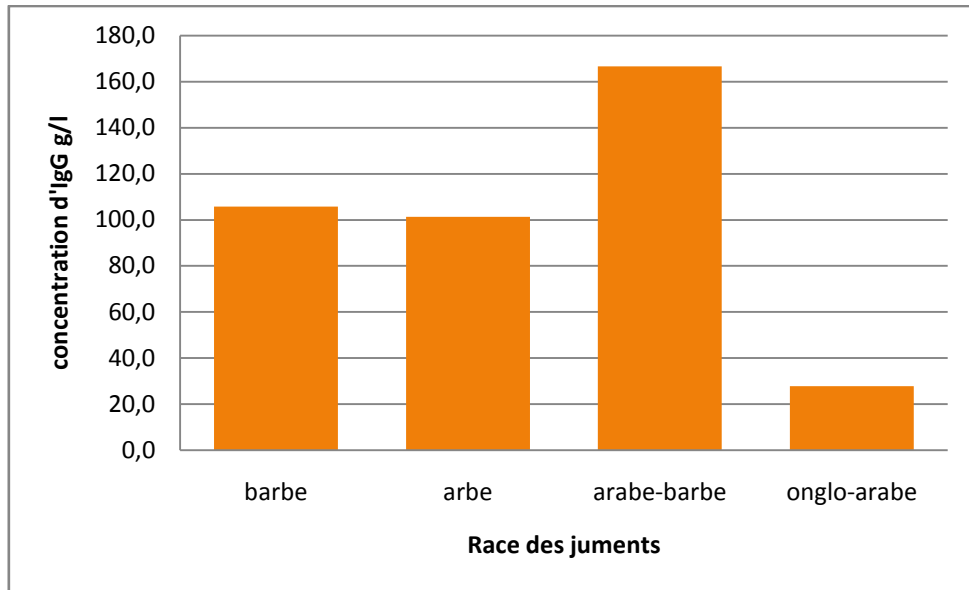


**Figure 19: Concentration des IgG colostral en fonction de l'âge des juments**

Après répartition des résultats selon l'âge des juments expérimentales, les valeurs les plus basses ont été rapportées chez les juments jeunes dans la classe de 3-5 ans (83,31 g/l) et les concentrations les plus hautes sont celles des juments dans la classe d'âge de 12-14 ans (147,42 g/l) avec des valeurs moyennes qui se situent entre le reste des classes et qui varient entre (93,36 et 107,67 g/l)

**Tableau 5: Concentration des IgG en fonction de la race des juments**

juments	barbe	arabe	arabe- barbe	onglo-arabe
ourda	115			
quilada	73,36			
mounira	44,4			
malizia	117			
cyara	151,1			
boussra	117,3			
boussada	122,3			
rimeh		93,3		
quissa		117,1		
rokhsa		73,36		
noudjoud		123,4		
m. chaouchaoua		44,4		
l'hendia		12,3		
labiba		27,7		
lemassa		160		
lounjana		160		
khalifa		93,3		
iraquia		151		
kamélia		12,4		
julia		93,3		
kafaza		180		
khedaouj		117,3		
fatra		149,3		
fayrouz		124,9		
daouha		129,6		
dabladja		62,4		
léticia			151	
haniya			182,2	
opéra				27,75
<b>moyenne</b>	<b>105,8</b>	<b>101,3</b>	<b>166,6</b>	<b>27,8</b>



**Figure 20: Concentration des IgG en fonction de la race des juments**

En est partie plus loin avec la concentration des IgG1 colostrals par une comparaison entre les concentrations selon les races des juments et les résultats était comme suit :

Pour les arabes barbe une concentration très élevé (166.6 g/l) mais cette valeur n'est pas significative puisque le nombre de juments était insuffisant par rapport aux autres races.

Les deux races barbe et arabe ont montré une concentration presque similaire (105.8 g/l et 101.3 g/l respectivement).

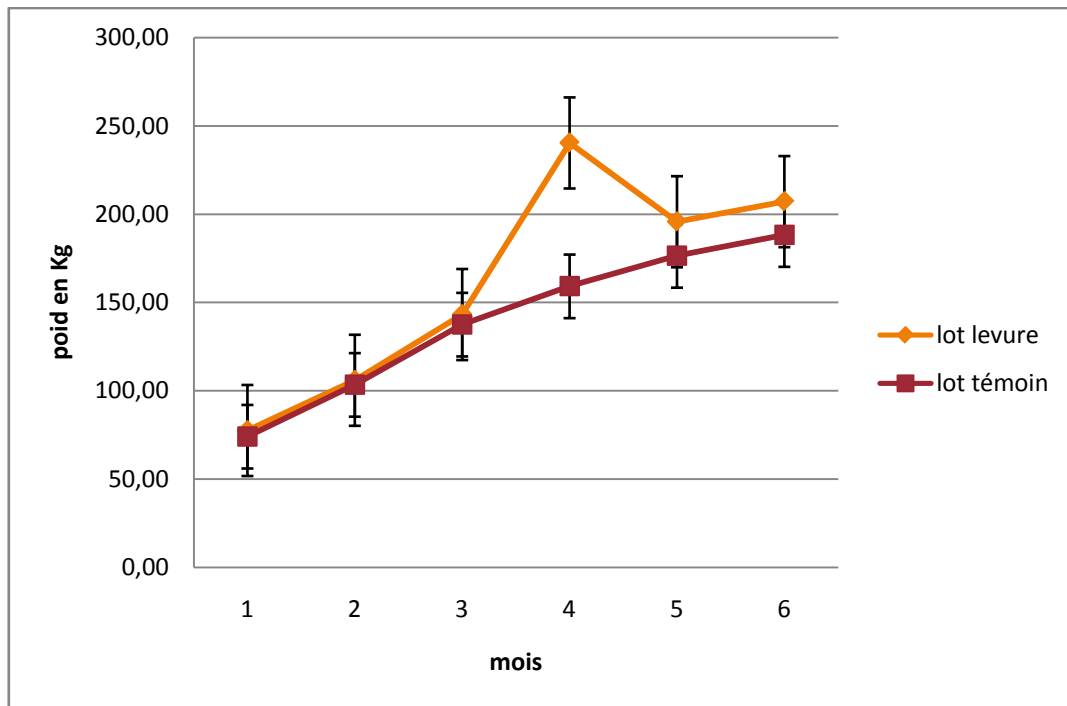
Or les valeurs les plus basses étaient observées chez les juments Anglo arabes (27.8 g/l) cela ne peut être la valeur exacte car le nombre de juments est minime pour conclure

**Tableau 6: Effet de la supplémentation en SC sur le poids des poulains**

1er mois	2ème mois	3ème mois	4ème mois	5ème mois	6ème mois
93,5	143	197	215	228,5	237,5
80	102,5	129,5	179	197	219,5
84,5	107	143	170	183,5	201,5
75,5	98	134	165,5	183,5	197
93,5	102,5	170	188	219,5	224
80	120,5	143	174,5	188	206
66,5	89	138,5	170	206	206
71	93,5	138,5	161	183,5	201,5
62	89	129,5	152	183,5	201,5
80	98	134	156,5	192,5	183,5
80	102,5	129,5	179	197	219,5
89	120,5	161	183,5	215	225
80	98	138,5	170	201,5	210,5
84,5	102,5	143	183,5	197	210,5

71	102,5	125	156,5	174	192,5
48,5	71	111,5	143	170	174
71	89	129,5	161	183,5	215
71	111,5	143	179	197	210,5
80	125	152	170	197	197
89	125	152	183,5	206	206
62	98	138,5	165,5	210,5	206
93,5	143	170	192,5	192,5	212,5
77,55	105,98	143,20	240,36	195,75	207,14
<b>11,25</b>	<b>17,16</b>	<b>18,02</b>	<b>309,07</b>	<b>14,21</b>	<b>13,71</b>

66,5	89	138,5	170	206	206
53	50	48,5	62	84,5	80
89	107	129,5	156,5	183,5	192,5
71	107	143	161	174	201,5
66,5	93,5	138,5	170	183,5	201,5
71	147	156,5	179	188	210,5
93,5	138,5	165,5	197	192,5	210,5
53	102,5	125	152	161	170
89	125	228,5	183,5	188	206
93,5	116	161	170	183,5	192,5
57,5	89	125	138,5	161	179
71	57,5	80	120,5	138,5	143
98	120,5	147,5	183,5	206	215
71	102,5	143	179	197	206
75,5	107	143	170	197	206
57,5	107	143	170	188	206
98	111,5	129,5	138,5	161	174,5
93,5	125	129,5	152	161	183,5
52	93,5	143	161		183,5
62	80	129,5	170	188	206
71	102,5	129,5	152	174,5	170
75,5	102,5	147,5	165,5	188	197
<b>74,02</b>	<b>103,36</b>	<b>137,48</b>	<b>159,16</b>	<b>176,40</b>	<b>188,20</b>
<b>15,01</b>	<b>22,11</b>	<b>31,76</b>	<b>27,06</b>	<b>26,30</b>	<b>29,24</b>



**Figure 21: Effet de la supplémentation en SC sur le poids des poulains**

Le suivi des poulains pendant les six mois post natale à montrés une différence significative entre le lot supplémentation en levure probiotique *saccharomyces cerevisiae* et le lot témoin de l'ordre de 309.07 Kg & 159.16 Kg respectivement au quatrième mois post poulinage.

Cette différence de poids à chuter le 5 ème mois a cause du manque d'alimentation suite à la coïncidence de cette période avec le mois de Juillet-Aout

## ***G. Conclusion :***

Le colostrum naturel, véritable produit de transition entre la vie fœtale et la vie post-natale, est une source cruciale de nutriments et de facteurs immunitaires permettant au poulain d'acquérir une résistance contre les infections néonatales. En outre, la qualité du transfert de l'immunité passive peut aussi avoir une influence sur les performances zootechniques des animaux à long terme.

Le prise colostrale insuffisante reste la première cause de mauvais transfert d'immunité passive chez le cheval, où la mortalité néonatale, souvent liée à des infections dues à un déficit immunitaire.

Il faut maximiser le potentiel des juments reproductrices, optimiser la protection du poulain à la naissance ne peut se faire qu'en limitant les risques qui peuvent se lier au moment de la gestation.

L'apport d'un supplément nutritionnel comme les levures (, *Saccharomyces cerevisiae*) bien adapté permettra d'améliorer le statut immunitaire de la jument pour contribuer à un passage de l'immunité passive (jument et poulain) de bonne qualité, Il faut utiliser cette méthode après chaque poulinage pour que le poulain reçoive la quantité adéquate de colostrum, Ainsi si le transfert d'immunité passive s'effectue correctement, le poulain sera moins sensible aux maladies.

Si le colostrum de la jument n'est pas de bonne qualité, il sera alors préférable d'utiliser du colostrum congelé. En effet, à l'aide de ce dispositif, il est possible de se constituer une banque de colostrum congelé de très bonne qualité a administré ultérieurement

## H. Référence :

1. ARNAUD-HAOND, Sophie, VONAU, Vincent, ROUXEL, Catherine, *et al.* Genetic structure at different spatial scales in the pearl oyster (*Pinctada margaritifera cumingii*) in French Polynesian lagoons: beware of sampling strategy and genetic patchiness. *Marine Biology*, 2008, vol. 155, no 2, p. 147-157
2. CHAVATTE-PALMER, Pascale, HEYMAN, Y., RICHARD, C., *et al.* Clinical, hormonal, and hematologic characteristics. *Biology of reproduction*, 2002, vol. 66, no 6, p. 1596-1603
3. MELLOR, D. J. et STAFFORD, K. J. Animal welfare implications of neonatal mortality and morbidity in farm animals. *The veterinary journal*, 2004, vol. 168, no 2, p. 118-133.
4. SANAA, M., POUTREL, B., MENARD, J. L., *et al.* Risk factors associated with contamination of raw milk by *Listeria monocytogenes* in dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 1993, vol. 76, no 10, p. 2891-2898
5. FOLEY, J. A. et OTTERBY, D. E. Availability, Storage, Treatment, Composition, and Feeding Value of Surplus Colostrum: A Review 1, 2. *Journal of Dairy Science*, 1978, vol. 61, no 8, p. 1033-1060
6. SANAA, M., POUTREL, B., MENARD, J. L., *et al.* Risk factors associated with contamination of raw milk by *Listeria monocytogenes* in dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 1993, vol. 76, no 10, p. 2891-2898
7. P. R Kulkarni,., and N. V. Pimpale. "Colostrum-a review." *Indian Journal of Dairy Science* 42, no. 2 (1989): 216-224. Nowak, Raymond, and Pascal Poindron. 2006. 'From Birth to Colostrum: Early Steps Leading to Lamb Survival'. *Reproduction Nutrition Development* 46 (4): 431-446
8. PAKKANEN, R. et AALTO, J. Growth factors and antimicrobial factors of colostrum. *International Dairy Journal*, 1997, vol. 7, no 5, p. 285-297
9. Thomas W., Keenan, and S. T. U. A. R. T. Patton. "The milk lipid globule membrane." *Handbook of milk composition* (1995): 5-50
10. KLOPFENSTEIN, Dieter R., TOMISHIGE, Michio, STUURMAN, Nico, *et al.* Role of phosphatidylinositol (4, 5) bisphosphate organization in membrane transport by the Unc104 kinesin motor. *Cell*, 2002, vol. 109, no 3, p. 347-358
11. BÉNARD, Sophie, RIVIÈRE, Eric, YU, Pei, *et al.* A photochromic molecule-based magnet. *Chemistry of materials*, 2001, vol. 13, no 1, p. 159-162.
12. Op.cit, p
13. CAMPBELL, James F. et ARBOGAST, Richard T. Stored-product insects in a flour mill: population dynamics and response to fumigation treatments. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2004, vol. 112, no 3, p. 217-225.
14. Ibid
15. <http://www.lepointveterinaire.fr>
16. CAMPBELL, James F. et ARBOGAST, Richard T. Stored-product insects in a flour mill: population dynamics and response to fumigation treatments. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2004, vol. 112, no 3, p. 217-225

17. WHITELAW, F. G., EADIE, J. Margaret, MANN, S. O., *et al.* Some effects of rumen ciliate protozoa in cattle given restricted amounts of a barley diet. *British Journal of Nutrition*, 1972, vol. 27, no 02, p. 425-437.
18. KATONA, István, SPERLÁGH, Beáta, SÍK, Attila, *et al.* Presynaptically located CB1 cannabinoid receptors regulate GABA release from axon terminals of specific hippocampal interneurons. *The Journal of neuroscience*, 1999, vol. 19, no 11, p. 4544-4558.
19. MACKIE, Roderick I., SGHIR, Abdelghani, et GASKINS, H. Rex. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *The American journal of clinical nutrition*, 1999, vol. 69, no 5, p. 1035s-1045
20. WOOLASTON, R. R., KANOWSKI, P. J., et NIKLES, D. G. Genotype-environment interactions in *Pinus caribaea* var. *hondurensis* in Queensland, Australia. II: Family X site interactions. *Silvae genetica*, 1991, vol. 40, no 5-6, p. 228-232.
21. FERRER, Juan Martínez, BUEY, María Luisa Dueñas, PARRA, Antonio Fernández, *et al.* El aprendizaje lectoescritor en el medio bilingüe aragonés: repercusiones escolares de la diglosia. *PRevista de Investigación Educativa*, 1990, vol. 8, no 15, p. 7-18.
22. « Que mange votre cheval ? », (<http://www.equinfo.org/alimentation/>)
23. BOZZOLO, G., BOUILLIER-OUDOT, M., DE BOISSESON, E., *et al.* Influence des performances zootechniques sur les caractéristiques des tissus adipeux d'agneaux de bergerie, sevrés précocement et alimentés avec un régime à forte concentration énergétique. *Ann. Zootech*, 1990, vol. 39, p. 77-94.
24. Jeffcott LB. Passive immunity and its transfer with special reference to the horse. *Biol Rev* 1972;47:439-464
25. Payne LC, Marsh CL. Gammaglobulin absorption in the baby pig: the non-selective absorption of heterologous globulins and factors influencing absorption time. *J Nutr* 1962; 76:151-158.
26. Madigan J.E. Further observations on the pathogenesis of septicemia in the neonatal foal and methods of prevention in stabled horses compared to environmental and behavioural infection. Prevention strategies utilised in wild horses. In: Neonatal Septicemia Workshop2, Boston, 1998; 2-13
27. Ibid
28. CHRISTLEY, R. M., MORGAN, K. L., PARKIN, T. D. H., *et al.* Factors related to the risk of neonatal mortality, birth-weight and serum immunoglobulin concentration in lambs in the UK. *Preventive Veterinary Medicine*, 2003, vol. 57, no 4, p. 209-226.
29. <sup>1</sup>[www.haras-nationaux.fr](http://www.haras-nationaux.fr)
30. SHEARERMH, CORBITTSD, STANLEYJR *et al.* 1997
31. KENNEDY, Ronald C., SHEARER, Michael H., et HILDEBRAND, William. Nonhuman primate models to evaluate vaccine safety and immunogenicity. *Vaccine*, 1997, vol. 15, no 8, p. 903-908.
32. FECTEAU, Shirley, MOTTRON, Laurent, BERTHIAUME, Claude, *et al.* Developmental changes of autistic symptoms. *Autism*, 2003, vol. 7, no 3, p. 255-268.