



HAL
open science

Mortalité néonatale et pédiatrique du chiot : symptomatologie ante mortem et causes infectieuses

Hadrien Lecacheux

► **To cite this version:**

Hadrien Lecacheux. Mortalité néonatale et pédiatrique du chiot : symptomatologie ante mortem et causes infectieuses. Médecine vétérinaire et santé animale. 2024. dumas-04801204

HAL Id: dumas-04801204

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04801204v1>

Submitted on 25 Nov 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

MORTALITÉ NÉONATALE ET PÉDIATRIQUE DU CHIOT : SYMPTOMATOLOGIE ANTE MORTEM ET CAUSES INFECTIEUSES

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

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

LECACHEUX Hadrien

Directrice de thèse : Mme SYLVIE CHASTANT

JURY

PRESIDENTE :

Mme Caroline LACROUX

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Sylvie CHASTANT

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'ALFORT

M. Stéphane BERTAGNOLI

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire

Directeur : Professeur Pierre SANS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*

PROFESSEURS 2^{ème} CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie-Thérapeutique*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la reproduction*
Mme BIBBAL Delphine, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et toxicologie*
Mme LALLEMAND Elodie, *Chirurgie des équidés*
M. LIENARD Emmanuel, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. LYAZRHI Faouzi, *Statistiques biologiques et mathématiques*
Mme PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme PRIYMENKO Nathalie, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*
Mme BRET Lydie, *Physique et chimie biologiques et médicales*
Mme BOUHSIRA Emilie, *Parasitologie, maladies parasitaires*
M. CARTIAUX Benjamin, *Anatomie, imagerie médicale*
M. COMBARROS Daniel, *Dermatologie vétérinaire*
M. CONCHOU Fabrice, *Imagerie médicale*
Mme DANIELS Hélène, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*
Mme DAVID Laure, *Hygiène et industrie des aliments*
M. DIDIMO IMAZAKI Pedro, *Hygiène et industrie des aliments*
Mme DÛUET Jean-Yves, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
M. FERCHIOU Ahmed, *Economie et gestion des entreprises vétérinaires agricoles*
Mme FUSADE-BOYER, *Microbiologie et infectiologie thérapeutiques et résistances*
Mme GRANAT Fariny, *Biologie médicale animale*
Mme JOURDAN Géraldine, *Anesthésie, analgésie comparée*
Mme JOUSSERAND Nicolas, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme LAVOUE Rachel, *Médecine Interne*
Mme LE GRAVERAND Quentin, *Alimentation animale*
Mme LE LOC'H Guillaume, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, *Pathologie chirurgicale*
Mme MILA Hanna, *Elevage des carnivores domestiques*
M. OTAVIANO DO REGO Renato, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme PIERRON Alix, *Pharmacie-Toxicologie*
Mme VERGNE Timothée, *Santé publique vétérinaire, maladies animales réglementées*
Mme WARET-SZKUTA Agnès, *Production et pathologie porcine*

INGENIEURS DE RECHERCHE

- M. AUMANN Marcel, *Urgences, soins intensifs*
M. AUVRAY Frédéric, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*
M. CASSARD Hervé, *Pathologie des ruminants*
M. CROVILLE Guillaume, *Virologie et génomique cliniques*
Mme DIDIER Caroline, *Anesthésie, analgésie*
M. DELPONT Mattias, *Clinique Aviaire*
Mme DUPOUY GUIRAUTE Véronique, *Innovations thérapeutiques et résistances*
Mme GAILLARD Elodie, *Urgences, soins intensifs*
Mme GEFRE Anne, *Biologie médicale animale et comparée*
Mme GRISEZ Christelle, *Parasitologie et maladies parasitaires*
Mme JEUNESSE Elisabeth, *Bonnes pratiques de laboratoire*
Mme LAYSSOL-LAMOUR Catherine, *Imagerie Médicale*
Mme POUJADE Agnès, *Anatomie pathologique vétérinaire*
Mme PRESSANTI Charline, *Dermatologie vétérinaire*
M. RAMON PORTUGAL Felipe, *Innovations thérapeutiques et résistances*
M. REYNOLDS Brice, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme ROUCH BUCK Pétra, *Médecine préventive*
Mme SAADA Chloé, *Gestion intégrée de la santé des ruminants*

REMERCIEMENTS

A Madame Caroline LACROUX,
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Anatomie Pathologique, animaux d'élevage

Qui a eu la gentillesse d'accepter la présidence de notre jury de thèse,
Hommages respectueux.

A Monsieur Stéphane BERTAGNOLI,
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Pathologie infectieuse

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

A Madame Corine BOUCRAUT-BARALON,
Docteur vétérinaire et Directrice générale du *Laboratoire Scanelis,*

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour avoir contribué à l'élaboration de cette thèse,
Sincère reconnaissance.

A Madame le Professeur Sylvie CHASTANT,
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Reproduction,

Qui m'a fait l'honneur de diriger cette thèse,
Pour votre bienveillance, votre gentillesse, et votre disponibilité pour ce travail
Mes sincères remerciements.

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES FIGURES	5
TABLE DES TABLEAUX	7
TABLE DES ANNEXES	7
LISTE DES ABRÉVIATIONS	8
INTRODUCTION	9
MATÉRIELS ET MÉTHODES	11
I. Base de données initiale	11
1. Composition.....	11
2. Données cliniques	12
3. Nature des échantillons.....	13
4. Agents pathogènes recherchés	13
5. Tri et mise en forme des données	14
II. Variables	15
1. Catégories d'âge	15
2. Type racial.....	15
3. Saison de naissance	16
4. Origine géographique.....	16
5. Symptômes	16
6. Analyse statistique	18
RESULTATS.....	19
I. Description de la population.....	19
1. Caractéristiques générales de la population	19
a. Sex ratio.....	19
b. Race et format racial	19
c. Saison de naissance	20
d. Origine géographique.....	20
2. Tableau clinique <i>ante mortem</i>	21
a. Age des chiots.....	21
b. Durée d'évolution des signes cliniques	22
c. Systèmes atteints.....	23
d. Facteurs de variation de l'évolution clinique	24
II. Recherche des agents pathogènes chez les chiots morts entre 0 et 1 mois	26
1. <i>Neospora caninum</i>	26
2. <i>Brucella sp.</i>	26
3. Parvovirus de type 1 (CPV-1)	27
4. Herpes Virus Canin (CHV-1)	28

DISCUSSION	31
I. Qualité des données renseignées	31
1. Représentativité de la population étudiée	31
2. Précision des données collectées	32
II. Choix des agents pathogènes recherchés	34
1. <i>Neospora caninum</i>	34
2. <i>Brucella sp.</i>	35
3. Le parvovirus canin	36
4. L'herpès virus canin.....	37
III. Résultats obtenus.....	39
1. Présentation des signes cliniques.....	39
2. Distribution de l'âge à la mort	39
3. Taux de mortalité des agents pathogènes	40
4. Prévalence des agents pathogènes.....	41
5. Part des pathogènes spécifiques dans la mortalité néonatale.....	42
CONCLUSION	45
ANNEXES	47
BIBLIOGRAPHIE.....	55

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Tri de la base de données initiale	12
Figure 2 : Familles des signes cliniques présents dans la feuille de commémoratifs de Scanelis	16
Figure 3 : Répartition des chiots selon le format racial	20
Figure 4 : Répartition territoriale (départementale) de la provenance des chiots (n=1685)	21
Figure 5 : Répartition et effectif des chiots en fonction de l'âge à la mort– Population totale (n=1685).....	22
Figure 6 : Répartition et effectif des chiots en fonction de l'âge à la mort - Chiots morts entre 0 et 30 jours (n=953)	22
Figure 7 : Répartition des chiots en fonction de la durée des signes cliniques ante mortem (n=874)	23
Figure 8 : Répartition et effectif des symptômes dans la population de chiots ayant présenté des signes cliniques avant la mort (n=1129).....	23
Figure 9 : Répartition et effectif des chiots en fonction de la nature des signes cliniques (n=1129).....	24
Figure 10 : Proportion et effectifs des chiots symptomatiques et présentant une évolution ante mortem de moins de 5 jours en fonction de l'âge	25
Figure 11 : Proportion et effectif des chiots ayant présenté ante mortem des signes digestifs, nerveux et respiratoires en fonction de l'âge à la mort	26
Figure 12 : Distribution de l'âge à la mort des chiots positifs à CPV1 et des chiots négatifs aux 4 pathogènes ainsi que leurs effectifs	27
Figure 13 : Expression clinique ante mortem exprimés par les chiots CPV-1 positifs avec les effectifs	28

Figure 14 : Distribution de l'âge à la mort : comparaison des effectifs des chiots positifs à CHV-1 et des chiots négatifs aux 4 pathogènes29

Figure 15 : Fréquence des signes cliniques digestifs, nerveux et respiratoire exprimés par les chiots CHV-1 positifs ainsi que leur effectifs29

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Seuils de détection et de quantification des différents agents pathogènes	14
---	----

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Formulaire de demande d'analyses PCR Chien Scanelis 2024 (www.scanelis.com)	47
Annexe 2 : Spécifications des tests PCR de Scanelis, version de 2019	49
Annexe 3 : Affiche présentée lors du 1st European Symposium on Animal Reproduction (ESAR), Nantes, France, 21-23 septembre 2023.....	51
Annexe 4 : : Affiche présentée lors du congrès de l'European Society for the Study of Small Animal Reproduction (EVSSAR), Barcelone, Espagne, 28-29 Juin 2024.....	53

LISTE DES ABRÉVIATIONS

CPV-1 : Canine parvovirus 1, Canine minute virus ou Canine bocaparvovirus

CPV-1+ : Positif au parvovirus de type 1

CHV-1 : Canine Herpes virus

CHV-1+ : Positif à l'herpès virus canin de type 1

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

MALDI-TOF: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time of Flight

NEG all : Chiots négatifs aux 4 agents pathogènes (brucellose, CPV1, CHV1, néosporose)

PCR : Polymerase chain reaction

SC : signes cliniques

SIT-SAT : Site Insertion Transcription - Site Amplification Transcription

INTRODUCTION

La mortalité néonatale (de la naissance à 21 jours) et pédiatrique (de 22 jours à 6 mois) chez les chiens constitue une préoccupation majeure pour de nombreux acteurs, notamment les éleveurs, les propriétaires et les vétérinaires. Ce phénomène pose un problème de bien-être animal et entraîne des pertes économiques significatives pour les éleveurs. Il prend également de l'importance en raison de sa fréquence : le pourcentage de chiots nés vivants mourant durant les deux premiers mois de vie est de l'ordre de 15% (1–3).

En connaître la cause est un enjeu crucial pour la prise en charge adaptée des chiots survivants, pour, le cas échéant, la mise en place de mesures préventives pour les portées à venir ainsi que pour diminuer la charge mentale du propriétaire et du vétérinaire.

Le premier objectif de notre étude est d'examiner l'expression clinique *ante mortem* chez un échantillon de 1685 chiots décédés avant l'âge de 6 mois. Nous analyserons leurs symptômes pré-mortem, les systèmes affectés, la durée de l'évolution et les facteurs de variation de l'expressions clinique avant la mort.

La mortalité des chiots nouveau-nés peut être liée à de nombreux facteurs, notamment la dystocie, un comportement maternel inapproprié, des apports nutritionnels insuffisants, des anomalies congénitales ou les infections (2). Au-delà des causes infectieuses non spécifiques responsables de septicémie qui représenteraient 80% des causes de mort néonatale, le nombre de pathogènes spécifiques connus pour être responsables de mortalité néonatale est limité chez le chien (4, 5). Quatre pathogènes sont principalement connus : le parvovirus canin de type 1, l'herpès virus canin de type 1, *Brucella sp*, *Neospora caninum*.

Le parvovirus de type 1 (CPV-1) cause généralement une infection subclinique chez les chiens, mais il peut provoquer une entérite, une pneumonie, une myocardite et une lymphadénite chez les chiots âgés de 5 à 21 jours. Les chiots affectés peuvent présenter de la diarrhée, des vomissements et une dyspnée, et pleurer de manière constante. Les infections virales systémiques chez les femelles peuvent entraîner un échec de gestation, un avortement ou la mort du chiot après quelques jours de vie (6, 7).

L'herpès virus de type 1 (CHV-1) est décrit comme un agent pathogène responsable d'une maladie hémorragique généralisée mortelle chez les chiots nouveau-nés. Le CHV-1 est principalement connu comme étant un agent pathogène périnatal des chiennes gestantes et des

nouveau-nés, et secondairement comme un agent pathogène des voies respiratoires des chiots plus âgés et des chiens adultes (8–10).

La brucellose, dû à l'infection par *Brucella sp*, peut provoquer chez le chien adulte de nombreux signes cliniques comme de la léthargie, de la fièvre, de la fatigue, une perte de poids mais l'infection par *B. canis* est associée à des taux élevés de mortalité néonatale (11–13).

La néosporose est due au protozoaire *Neospora caninum*, dont les hôtes finaux sont le chien et d'autres canidés. L'infection se transmet principalement de manière verticale et peut provoquer des avortements et de la mortalité néonatale, principalement chez les bovins et mais aussi chez d'autres espèces animales comme le chien (14–17).

Le second objectif de cette étude est d'étudier la prévalence de ces quatre agents pathogènes dans le cas de mortalité néonatale (0-1 mois) chez les chiots.

Ce travail propose donc une analyse rétrospective des informations cliniques fournies par des vétérinaires sur des échantillons prélevés sur des chiots morts entre 0 et 6 mois. Après avoir présenté le matériel et les méthodes utilisés, nous décrirons la population de chiots constituant la base de données, puis les résultats des analyses PCR effectuées pour déterminer le statut infectieux de cette population vis-à-vis des quatre agents pathogènes recherchés. Enfin, ces résultats seront discutés et confrontés à la littérature existante, et les perspectives de cette étude seront abordées.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Cette première partie présente la base de données utilisée ainsi que les étapes ayant permis son obtention et son exploitation. Il s'agit d'une étude rétrospective de 1685 analyses réalisées entre 2010 et 2020 sur des chiots morts entre la naissance et 6 mois. Pour un total de 949 chiots français nés vivants et morts avant l'âge de 1 mois, une analyse par RT qPCR a été réalisée rétrospectivement sur des échantillons congelés afin de détecter *Brucella sp.*, *Neospora caninum*, CHV1 et CPV1. Cette section vise également à définir les termes utilisés par la suite pour catégoriser les chiots et les signes cliniques, ainsi que les tests statistiques employés.

I. Base de données initiale

1. Composition

Les données utilisées pour cette étude proviennent du laboratoire Scanelis (Colomiers, France). Il s'agit d'un laboratoire de recherche et d'analyses spécialisé en biologie moléculaire proposant aux vétérinaires praticiens des tests de PCR quantitative (Polymerase Chain Reaction, en temps réel) pour la détection et la quantification d'agents pathogènes chez les animaux (<https://scanelis.com/>).

La base de données initiale comportait les informations correspondant aux 2650 chiots morts pour lesquels Scanelis avait reçu une demande d'analyse entre août 2010 et novembre 2020. Nous avons fait le choix de confondre les chiots morts nés et les chiots morts avant les premières 24 h. Pour l'âge des chiots, nous avons retiré de l'étude 795 chiots dont l'âge n'était pas indiqué par le vétérinaire, soit 30% de la population brute. De plus, les chiots dont l'âge à la mort était supérieur à 6 mois, les chiots de provenance étrangère ou d'outre-mer ont été exclus. Ainsi la base de données secondaire comptait finalement 1685 chiots français morts avant l'âge de 6 mois (Figure 1).

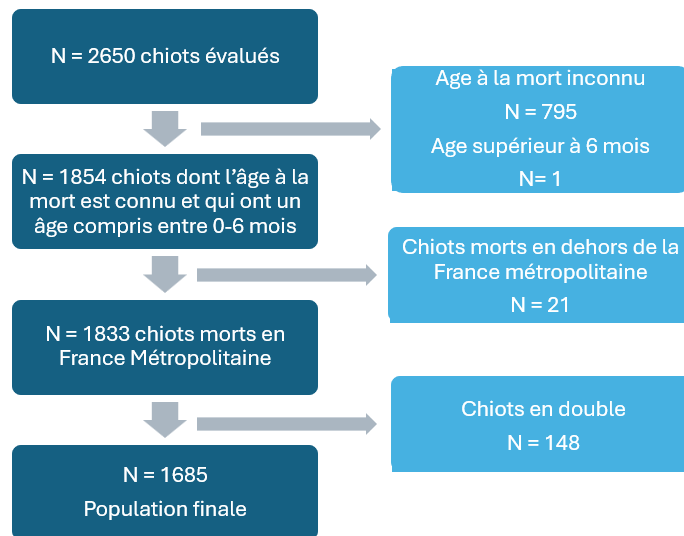


Figure 1 : Tri de la base de données initiale

2. Données cliniques

Lors de l'envoi des échantillons, les vétérinaires remplissent une fiche de demande d'analyse (Annexe 1) où ils consignent diverses informations sur l'animal. Ces données sont ensuite intégrées dans la base de données de Scanelis lorsque le laboratoire reçoit les échantillons. Ainsi, pour chaque chiot, les informations suivantes étaient disponibles dans la base de données, à condition qu'elles aient été fournies par le vétérinaire :

- Nom de l'animal
- Département et pays d'origine
- Sexe
- Âge ou date de naissance
- Race
- Statut clinique (« animal ayant présenté des signes cliniques » ou « animal asymptomatique »)
- Signes cliniques *ante mortem*
- Durée d'évolution des signes cliniques *ante mortem*

Sur la fiche de demande d'analyse (Annexe 1), les vétérinaires peuvent lister jusqu'à 51 signes cliniques, répartis en 8 catégories principales :

- Signes généraux
- Signes digestifs

- Signes nerveux
- Signes oculaires
- Signes buccaux
- Signes respiratoires
- Signes cutanés
- Troubles reproductifs

Les vétérinaires ont également la possibilité de décrire d'autres signes cliniques dans une zone de texte libre prévue à cet effet. De plus, dans la base de données, Scanelis avait enregistré :

- La date de réception du dossier
- La nature (plus ou moins détaillée) des échantillons biologiques prélevés
- Les résultats qualitatifs et quantitatifs des PCR effectuées pour détecter les agents pathogènes selon la prescription du vétérinaire.

3. Nature des échantillons

Différents types d'échantillons biologiques ont été prélevés par les vétérinaires :

- *Organes* : organe(s) de nature non précisée, poumon, rein, foie, rate, intestin (organe ou écouvillon), cœur, nœud lymphatique, encéphale, pancréas, langue et séreuse
- *Ecouvillon rectal* : prélèvements de fèces
- *Liquide biologique* : épanchement (non précisé, abdominal, pleural), sang, LCS (liquide cérébro-spinal), humeur aqueuse
- *Cellules* : cellules oro-pharyngées, cellules trachéales (trachée ou écouvillon des voies respiratoires), cellules conjonctivales, cellules cutanées (biopsie/raclage)

Du fait de leur représentation minoritaire, les liquides biologiques et cellules seront parfois regroupés dans le terme « *autres échantillons* ».

4. Agents pathogènes recherchés

Les pathogènes spécifiquement reconnus comme responsables de la mortalité néonatale chez les chiens sont rares. L'objectif de cette étude était d'évaluer la prévalence de quatre pathogènes reconnus pour leur responsabilité dans la mortalité néonatale chez les chiots, à savoir *Brucella sp.*, *Neospora caninum*, Canine herpesvirus 1 (CHV-1) et Canine Parvovirus 1 (CPV-1)(6,8,11,14). Ces quatre agents ont été recherchés par RT-qPCR dans les échantillons

fournis par les vétérinaires pour les chiots morts au cours de leur premier mois de vie.

Les limites de détection et de quantification, c'est-à-dire les seuils en dessous desquels l'agent pathogène n'est pas détectable ou sa charge pas quantifiable, sont fournies pour chaque pathogène (tableau 1).

Tableau 1 : Seuils de détection et de quantification des différents agents pathogènes étudiés

Agent pathogène	CPV1	CHV1	<i>Brucella sp</i>	<i>Neospora caninum</i>
Limite de détection (1)	12	12	18	18
Limite de quantification (2)	200	200	400	200

(1) Limite de détection en nombre de copies de séquence cible par analyse. Un résultat négatif signifie que le pathogène recherché dans le prélèvement analysé ou une quantité de ce pathogène est inférieure à la limite de détection du test.

(2) Limite de quantification en nombre de copies de séquence cible par analyse. Pour chaque résultat positif du rapport d'analyses, l'estimation quantitative est donnée à titre indicatif afin d'aider à l'interprétation du résultat qualitatif mais ne constitue pas une quantification absolue.

Source : Spécification des Tests PCR de Scanelis (<https://scanelis.com/>)

Ainsi, lors de la recherche d'un agent pathogène par PCR, trois situations peuvent se présenter :

- la charge en agent pathogène est inférieure au seuil de détection : le résultat de la PCR sera négatif.
- la charge en agent pathogène est supérieure à la limite de détection mais inférieure au seuil de quantification (Positif-LSD) : nous avons fait le choix de considérer qu'un chiot faiblement positif était tout de même mort du pathogène en question.
- Si la charge en agent pathogène est supérieure au seuil de quantification, le résultat de la PCR sera positif et le laboratoire fournira une estimation quantitative en nombre de copies de séquence cible.

5. Tri et mise en forme des données

Dans les bases de données initiales, chaque ligne du tableur représente un échantillon biologique (Figure 1). Toutefois, plusieurs échantillons biologiques peuvent avoir été prélevés et/ou analysés pour un seul et même chiot. Par conséquent, il a été nécessaire de regrouper les lignes concernant un même chiot pour lequel plusieurs échantillons ont pu être analysés et

différents agents pathogènes recherchés. Ligne par ligne, les chiots ayant plusieurs échantillons ont été identifiés et les données ont été consolidées sur une même ligne.

Dans certains cas, une ligne du tableur correspondait à un mélange d'échantillons biologiques provenant de plusieurs animaux (une portée par exemple). Ces échantillons ont été analysés en "pool", c'est-à-dire que le matériel biologique des différents animaux a été combiné pour réaliser une seule recherche par PCR. Ces échantillons ont été exclus de la base car il était impossible d'attribuer les résultats à un seul chiot (Figure 1).

Finalement, chaque ligne dans le tableur de la base d'analyse correspond à un seul animal, pour lequel il est possible d'avoir plusieurs échantillons biologiques, séparés ou mélangés.

II. Variables

1. Catégories d'âge

Les informations concernant l'âge des chiots sont souvent approximatives : en effet, certains vétérinaires avaient bien indiqué l'âge des chiots en jours, tandis que d'autres avaient seulement fourni la date de naissance. Pour le reste de la population, la date de naissance n'était pas renseignée et seul l'âge exprimé en jours, semaines ou mois était disponible.

Afin de faciliter l'exploitation des données, il a donc fallu calculer l'âge des chiots au moment de leur décès en fonction de la date d'envoi des prélèvements. Les chiots ont ensuite été répartis en cinq catégories d'âge au moment de leur mort : 0 jour, 1-7 jours, 8-21 jours, 22-60 jours et plus de 61 jours.

2. Type racial

Le vétérinaire pouvait indiquer la race du chiot mais il n'y avait pas de propositions donc le texte était libre. Il pouvait s'agir d'une race reconnue par la Centrale Canine ou simplement d'un croisé. Pour faciliter l'étude de la population, nous avons créé la variable « Format racial » qui permet de classer les chiots dans 4 catégories : Mini (moins de 10kg attendu à l'âge adulte), Medium (entre 10 et 25 kg attendu à l'âge adulte), Maxi (entre 25 et 45 kg attendu à l'âge adulte) et Giant (supérieure à 45 kg attendu à l'âge adulte) (19). Pour les races croisées il était parfois spécifié le nom d'une race était parfois spécifié (par exemple : « croisé border collie ») dans ce cas nous prenons le format racial de la race mentionnée.

3. Saison de naissance

Les chiots ont été répartis en fonction de leur saison de naissance, définies ainsi :

- Hiver : décembre, janvier, février ;
- Printemps : mars, avril, mai ;
- Été : juin, juillet, août ;
- Automne : septembre, octobre, novembre ;

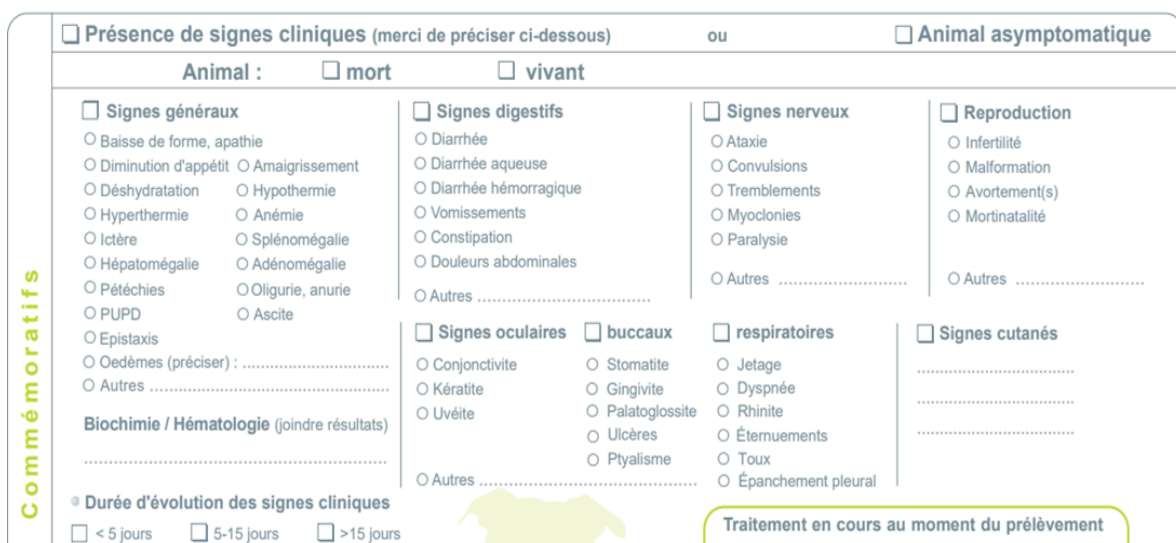
Lorsque la date de naissance n'était pas renseignée, la saison de naissance a été déterminée en soustrayant l'âge renseigné à la date de réception du dossier.

4. Origine géographique

Les vétérinaires avaient la possibilité d'indiquer le code postal lors de l'envoi des échantillons. Cela nous a permis de visualiser la provenance de tous nos échantillons et de créer une carte du territoire montrant leur répartition géographique.

5. Symptômes

La feuille de commémoratifs proposée par Scanelis (annexe 1) contient sept familles de symptômes (Figure 2) : symptômes généraux, digestifs, nerveux, respiratoires, oculaires, cutanés et génitaux. Cependant nous avons décidé de ne pas tenir compte des signes génitaux qui faisaient référence à la mère et non aux chiots.



Le formulaire est divisé en deux sections principales : "Présence de signes cliniques (merci de préciser ci-dessous)" et "Animal asymptomatique".

La section "Présence de signes cliniques" est subdivisée en "Animal : mort" et "vivant".

Les symptômes sont classés en sept familles :

- Signes généraux** : Baisse de forme, apathie ; Diminution d'appétit ; Déshydratation ; Hyperthermie ; Ictère ; Hépatomégalie ; Pétéchies ; PUPD ; Epistaxis ; Oedèmes (préciser) ; Autres.
- Signes digestifs** : Diarrhée ; Diarrhée aqueuse ; Diarrhée hémorragique ; Vomissements ; Constipation ; Douleurs abdominales ; Autres.
- Signes nerveux** : Ataxie ; Convulsions ; Tremblements ; Myoclonies ; Paralyisie ; Autres.
- Reproduction** : Infertilité ; Malformation ; Avortement(s) ; Mortinatalité ; Autres.
- Signes oculaires** : Conjonctivite ; Kératite ; Uvéite ; Autres.
- Signes buccaux** : Stomatite ; Gingivite ; Palatoglossite ; Ulcères ; Ptyalisme ; Autres.
- Respiratoires** : Jetage ; Dyspnée ; Rhinite ; Éternuements ; Toux ; Épanchement pleural.
- Signes cutanés** : (cases vides)

Il y a également des sections pour "Biochimie / Hématologie (joindre résultats)", "Durée d'évolution des signes cliniques" (avec cases pour < 5 jours, 5-15 jours, > 15 jours) et "Traitement en cours au moment du prélèvement".

Figure 2 : Familles des signes cliniques présents dans la feuille de commémoratifs de Scanelis

A l'intérieur de chaque famille, le vétérinaire renseignait précisément la nature du ou des symptômes observés avant la mort du chiot. En raison de la trop grande diversité (51 symptômes possibles au total), nous avons travaillé à l'échelle de la famille de symptômes (présence/absence) et nous avons retenu six grandes familles de symptômes :

- Symptômes généraux : il s'agit de signes non spécifiques tels que la baisse de forme ou la diminution d'appétit, par exemple. Ces signes ne permettent pas au vétérinaire d'établir un diagnostic précis. Cette catégorie comprend 18 signes cliniques, tels que la baisse de forme, diminution de l'appétit, déshydratation, etc.
- Symptômes digestifs : les chiots ont présenté avant leur décès une symptomatologie à dominante digestive, comme la diarrhée, les vomissements, les douleurs abdominales ou la constipation.
- Symptômes respiratoires : les chiots ont présenté avant leur décès une symptomatologie à dominante respiratoire, telle que la dyspnée, les signes respiratoires supérieurs (écoulement nasal, toux, éternuements).
- Symptômes neurologiques : les chiots ont présenté avant leur décès une symptomatologie à dominante neurologique, comme l'ataxie, les convulsions, les tremblements et/ou la paralysie/parésie.
- Symptômes oculaires : les chiots ont présenté avant leur décès une symptomatologie à dominante oculaire, comme des conjonctivites, des uvéites.
- Symptômes cutanés : les vétérinaires avaient la liberté d'inclure ici tout symptôme cutané pertinent.

De nombreux chiots n'avaient pas de données renseignées dans chaque catégorie de symptômes. Nous avons donc décidé que si une donnée n'était pas renseignée, cela signifiait que le chiot n'avait pas présenté ce type de symptôme.

6. Analyse statistique

L'ensemble de l'exploitation des données et des représentations graphiques a été réalisé grâce au logiciel Microsoft Excel 2020 et à ses fonctions et formules de base. Les outils de filtre et de tri ont été utilisés, ainsi que la fonction de tableaux croisés dynamiques.

L'étude statistique a été réalisée avec le logiciel R studio (2021) (www.rstudio.com) et a permis de réaliser l'analyse de la variance (à deux facteurs sans répétition d'expérience) ou ANOVA et l'analyse multivariée.

Les résultats sont exprimés sous la forme moyenne \pm écart-type.

Les effets statistiques de l'âge de décès sur différentes variables ont été évalués grâce à la réalisation d'un test de Khi^2 à trois degrés de liberté.

Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives pour des valeurs de p inférieures à 0,05.

RESULTATS

Les résultats de cette thèse ont été présentés et discutés lors de plusieurs manifestations scientifiques internationales. Ils ont notamment été exposés au congrès ESAR à Nantes en septembre 2023 (annexe 3), ainsi qu'au congrès EVSSAR, qui s'est tenu à Barcelone en juin 2024 (annexe 4). De plus, une première présentation orale a eu lieu en 2022 lors d'un webinaire organisé par NeoCare à l'école vétérinaire de Toulouse.

I. Description de la population

La population étudiée comportait 1685 chiots nés en France, morts entre 0 et 6 mois, dont les échantillons biologiques ont été reçus par le laboratoire Scanelis entre août 2010 et novembre 2020. En se focalisant seulement sur les années complètes (du 01/01 au 31/12), c'est-à-dire de 2011 à 2019, la base de données avait enregistré en moyenne $165 \pm 18,5$ morts par an.

1. Caractéristiques générales de la population

a. Sex ratio

Pour 37,6 % des chiots, le sexe n'a pas été renseigné par le vétérinaire. Dans la population pour laquelle l'information est disponible ($n = 1051$), le sex ratio est de 0,53 (nombre de mâles/ nombre total de chiots).

b. Race et format racial

Parmi les 1685 chiots étudiés, 82% étaient de race connue, 1% étaient des croisés et pour 17% de la population, la race n'avait pas été renseignée. Au total, 140 races étaient représentées. Les chiots se répartissaient en termes de format racial (18) en 35,4% de Mini, 30,2% de Medium, 22,9% de Maxi et 11,5% de Giant ($n=1380$ chiots).

Nous avons comparé notre population de chiots à celle des chiots ayant reçu un pedigree (20) entre 2010 et 2020 par la Société Centrale Canine pour les 20 races les plus représentées en France (Figure 3), soit 1 158 834 chiots.

La distribution entre les quatre formats raciaux est différente entre les deux populations (test du χ^2 ; $p < 0,001$) avec une surreprésentation des chiots de format Mini et Giant dans notre base de données.

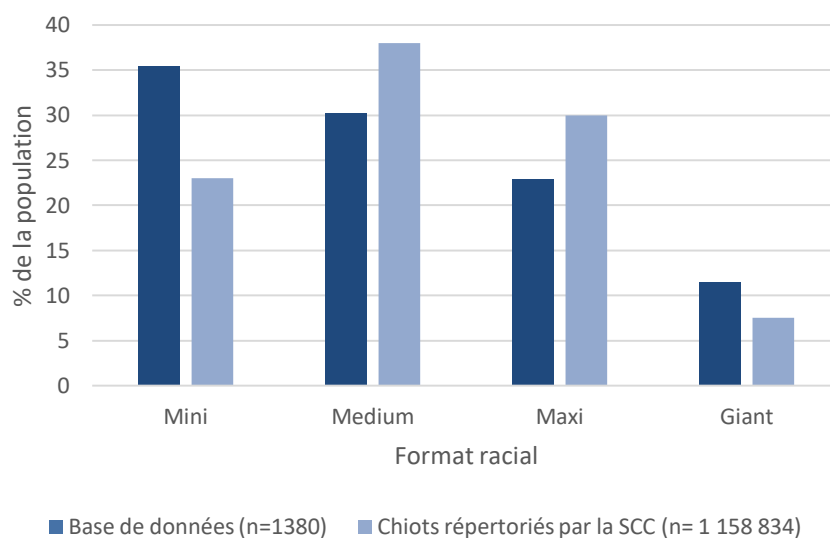


Figure 3 : Répartition des chiots selon le format racial

c. Saison de naissance

On ne constate pas d'effet significatif de la saison sur le nombre de cas de chiots morts reçus. En effet, 19% des cas ont été reçus au printemps, 24% en été, 30% en automne et 26% en hiver ($p > 0,05$).

d. Origine géographique

Au vu de la carte (Figure 4), notre population est globalement bien répartie sur tout le territoire : la population de chiots analysée provient de 93 départements français différents. En tête, le Pas-de-Calais (62) avec 80 chiots (4,7% de la population), la Haute-Garonne (31) avec 47 chiots (2,8% de la population) et la Mayenne (53) avec 44 chiots (2,6% de la population).

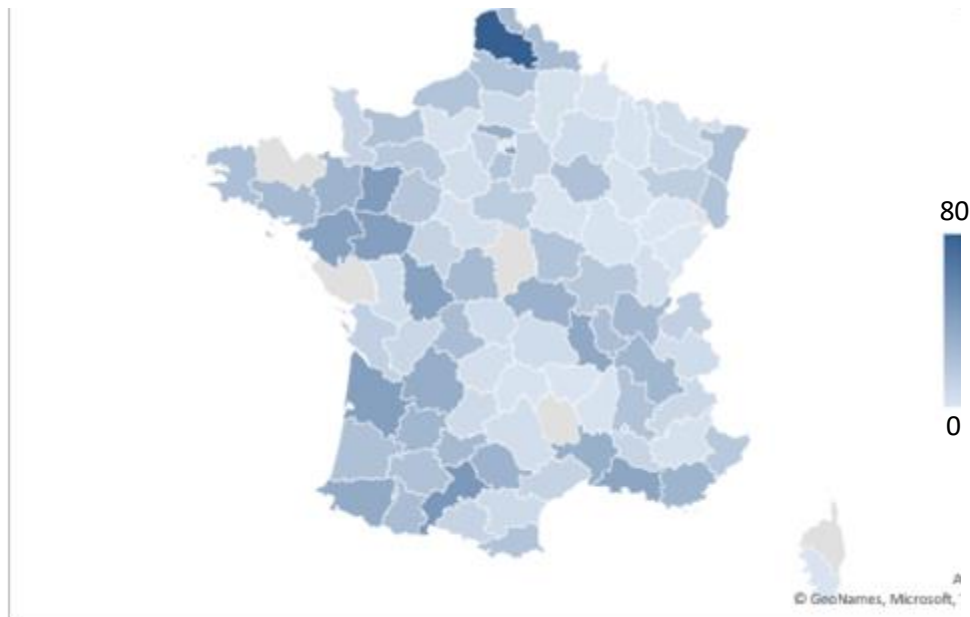


Figure 4 : Répartition territoriale (départementale) de la provenance des chiots (n=1685)

2. Tableau clinique *ante mortem*

Chaque partie traitée par la suite n'a pas bénéficié du même nombre de données renseignées par les vétérinaires. En ce qui concerne les informations de la base de données initiale, 57% des chiots n'avaient pas de données remplies pour la case « signes généraux ». De même, la case « signes digestifs » n'a pas été complétée pour 71% des chiots, et 90% des dossiers n'incluaient pas d'informations sur les « signes respiratoires ». Enfin, pour ce qui est de la durée des signes cliniques, 52% des chiots de la base de données initiale n'ont pas été renseignés.

a. Age des chiots

Parmi les 1685 chiots morts entre 0 et 6 mois, plus de la moitié (56%) sont morts durant le premier mois de vie, 32% des chiots sont morts durant la première semaine de vie (Figures 5 et 6).

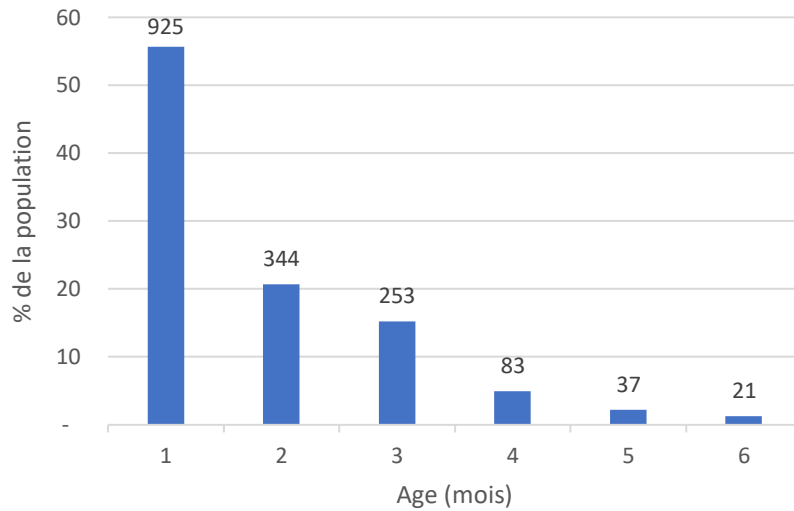


Figure 5 : Répartition et effectif des chiots en fonction de l'âge à la mort – Population totale (n=1685)

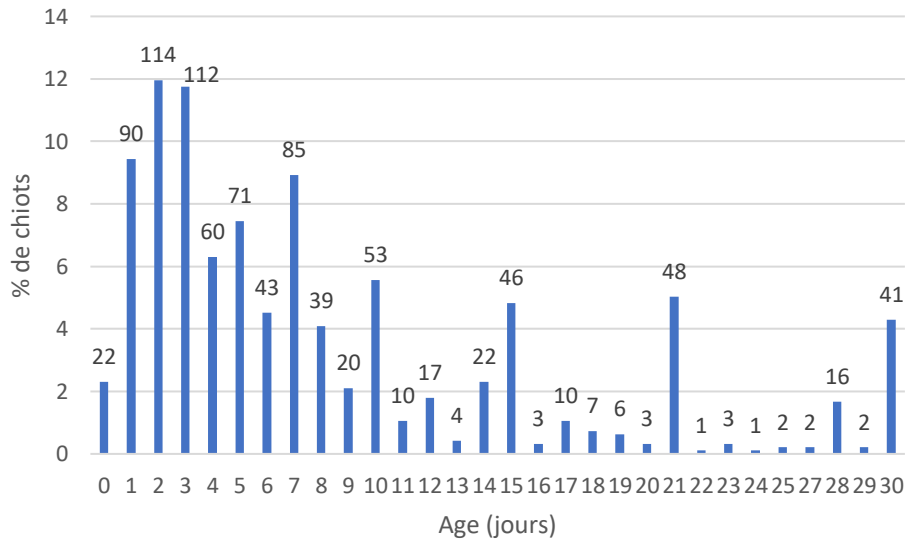


Figure 6 : Répartition et effectif des chiots en fonction de l'âge à la mort - Chiots morts entre 0 et 30 jours (n=953)

b. Durée d'évolution des signes cliniques

Parmi les 1685 chiots, aucun symptôme *ante mortem* n'a été rapporté pour 32,9% des chiots. Parmi les individus déclarés symptomatiques (n=1129), la durée d'évolution des signes cliniques n'a été indiquée que pour 874 (77%) d'entre eux.

Une très large majorité (85%) des chiots morts ayant présenté des signes cliniques ont eu une durée d'évolution inférieure à 5 jours (Figure 7).

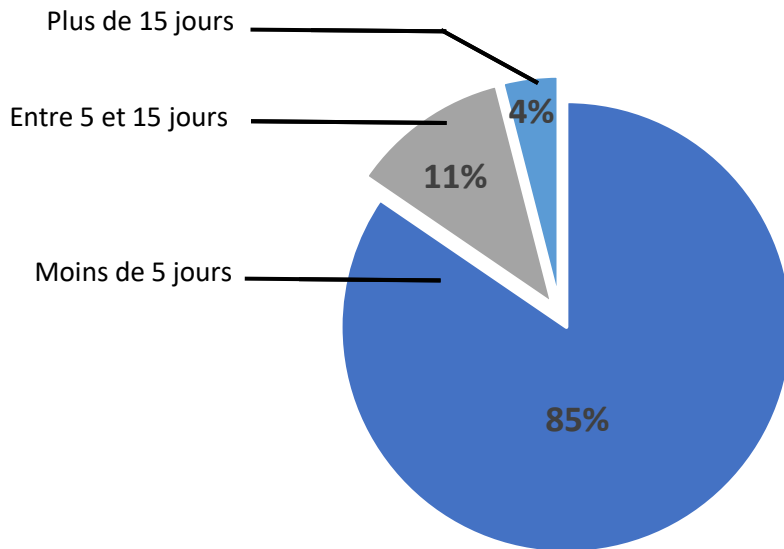


Figure 7 : Répartition des chiots en fonction de la durée des signes cliniques ante mortem (n=874)

c. Systèmes atteints

Parmi les 6 familles de symptômes analysées (généraux / respiratoires / digestifs / oculaires / cutanés / nerveux), les chiots présentent en moyenne $1,14 \pm 1,0$ systèmes touchés avant la mort. Les signes cliniques généraux sont ceux qui concernent le plus de chiots, puisque parmi les chiots dont la description clinique est renseignée (n=1129), 80 % ont présenté des signes cliniques généraux (associés ou non à d'autres signes cliniques) (Figure 8).

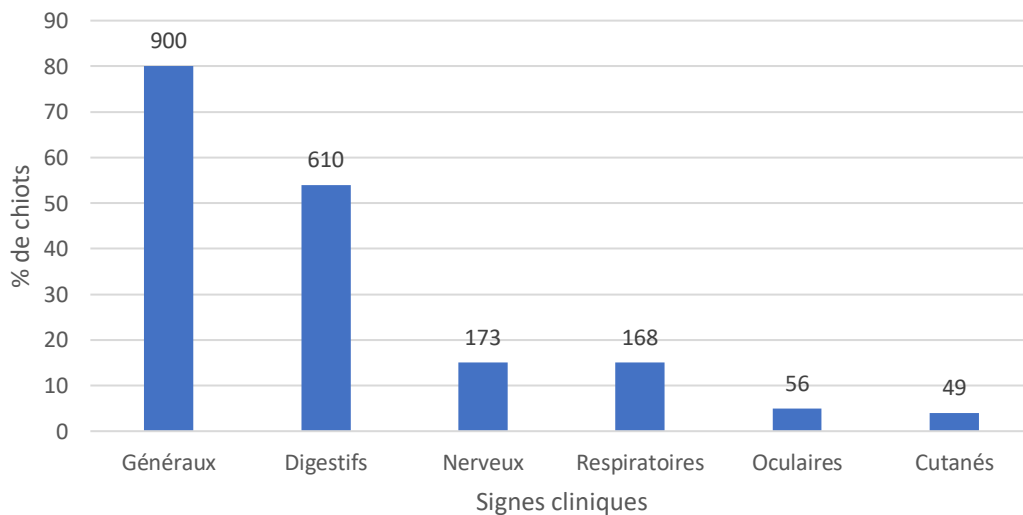


Figure 8 : Répartition et effectif des symptômes dans la population de chiots ayant présenté des signes cliniques avant la mort (n=1129)

Avant de mourir, certains chiots ont montré des atteintes concomitantes à quatre systèmes différents. Cependant, pour 43,5 % des chiots (n = 491/1129) dont la description clinique est disponible, un seul système était affecté avant le décès (Figure 9).

La figure 9 illustre les associations entre les différents symptômes. L'association la plus courante est la combinaison de signes généraux et digestifs. La présence de signes généraux, de signes digestifs, ou des deux, représente environ 65% de la population symptomatique (Figure 9).

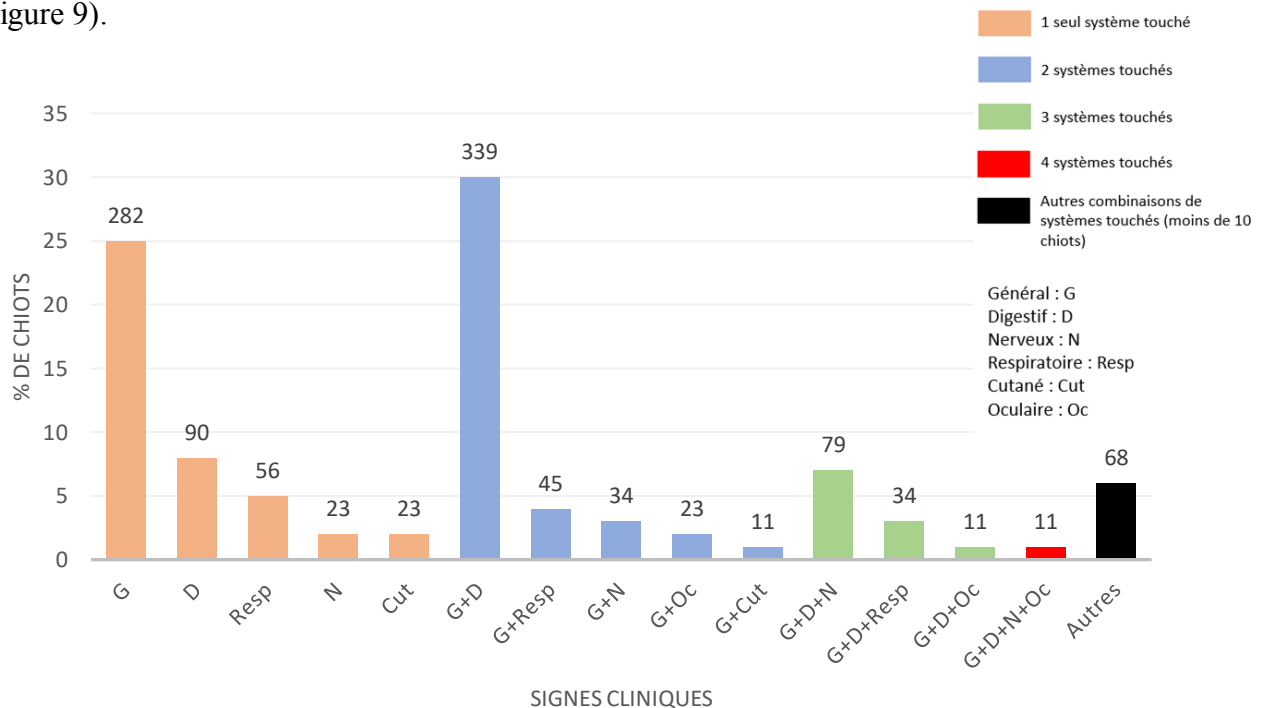


Figure 9 : Répartition et effectif des chiots en fonction de la nature des signes cliniques (n=1129)

d. Facteurs de variation de l'évolution clinique

Une analyse multivariée a permis d'évaluer l'influence de l'âge du chiot, son sexe, son format racial ainsi que la saison de naissance sur 4 paramètres de l'évolution clinique :

- Présence de signes cliniques
- Durée d'évolution des signes cliniques
- Présence de signes respiratoires
- Présence de signes digestifs

Seul l'âge a un effet sur la présence ou non de symptômes et sur la durée des signes cliniques (Figure 10).

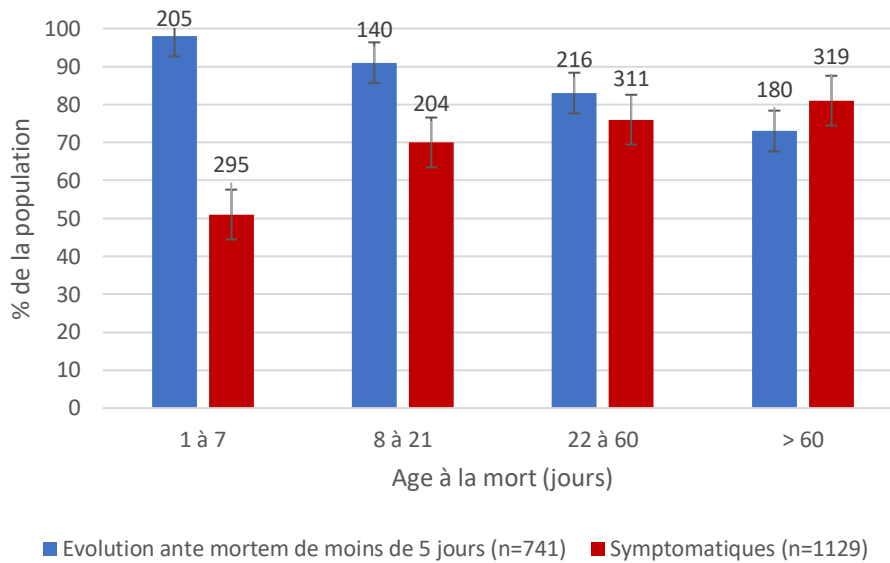


Figure 10 : Proportion et effectifs des chiots symptomatiques et présentant une évolution ante mortem de moins de 5 jours en fonction de l'âge

À mesure que l'âge au moment de la mort augmente, la proportion de chiots présentant des symptômes augmente également. Environ 50 % des chiots présentent des symptômes *ante mortem* lorsqu'ils meurent au cours de leur première semaine de vie, contre près de 80 % après un mois (test du Khi² ; p < 0,001). De plus, les jeunes chiots ont une tendance plus marquée à développer des formes aiguës, caractérisées par une durée des signes cliniques inférieure à 5 jours. Plus de 95 % des chiots mourant entre 1 et 7 jours d'âge présentent ces formes aiguës, comparativement à 75 % des chiots âgés de plus de 61 jours (test du Khi² ; p = 0,025) (Figure 10).

Pour l'étude des systèmes touchés, nous avons décidé de nous concentrer uniquement sur les systèmes digestif, respiratoire et neurologique. En effet, le nombre de données disponibles pour les systèmes oculaire et cutané est insuffisant (respectivement 5,1% et 4,4% de la population des chiots symptomatiques *ante mortem*), tandis que la proportion de la population présentant des signes généraux est trop importante (> 80 %).

Un effet de l'âge sur la fréquence de l'atteinte d'un système n'a été mis en évidence que pour le système digestif (test du Khi² ; p < 0,001). Aucun effet de l'âge n'a été observé sur la fréquence des signes respiratoires ou neurologiques (Figure 11).

Environ 12 % des chiots âgés de 1 à 7 jours présentent des signes digestifs avant la mort, contre environ 33 % des chiots âgés de 22 à 60 jours. La proportion de chiots manifestant des signes digestifs avant la mort augmente avec l'âge.

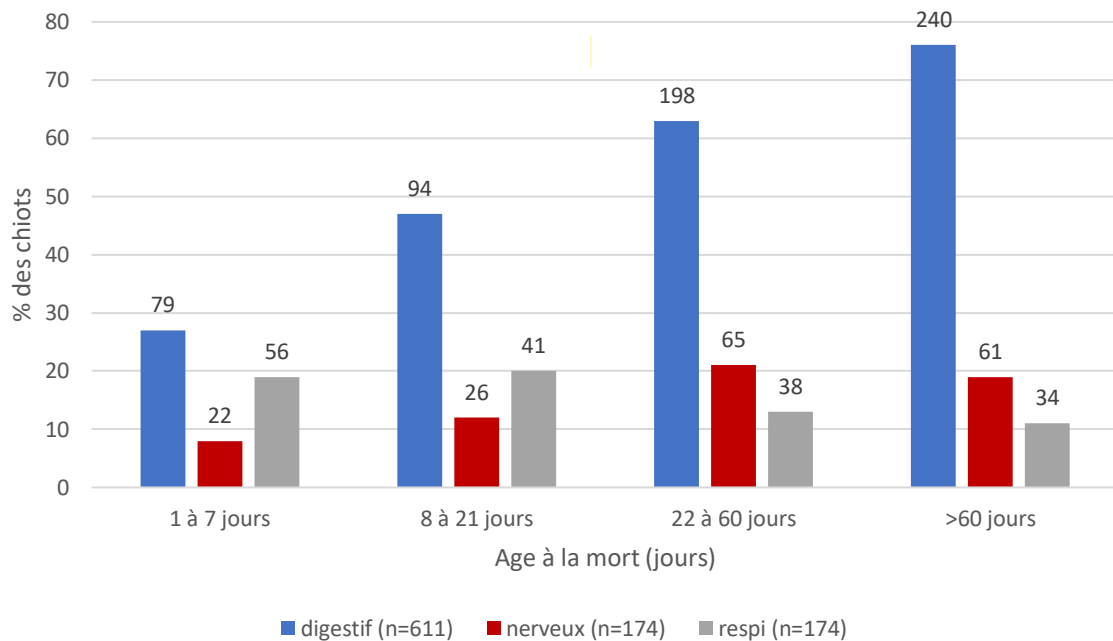


Figure 11 : Proportion et effectif des chiots ayant présenté ante mortem des signes digestifs, nerveux et respiratoires en fonction de l'âge à la mort

II. Recherche des agents pathogènes chez les chiots morts entre 0 et 1 mois

Quatre agents pathogènes ont été recherchés systématiquement chez les chiots morts au cours du premier mois de vie, soit 949 chiots : *Neospora caninum*, *Brucella sp*, le parvovirus de type I (CPV1) et l'herpès virus canin (CHV1),.

1. *Neospora caninum*

Parmi les 817 échantillons dans lesquels *Neospora caninum* a été recherché, un seul échantillon est revenu positif. Ainsi la prévalence dans notre population est de 0,1 %.

2. *Brucella sp*

Parmi les 831 échantillons dans lesquels *Brucella sp* a été recherchée, aucun échantillon n'est revenu positif. Ainsi la prévalence dans notre population est de 0,0 %.

3. Parvovirus de type 1 (CPV-1)

Parmi les 870 échantillons dans lesquels le parvovirus de type 1 a été recherché, 46 échantillons sont revenus positifs. Ainsi la prévalence dans notre population est de 5,3 %. La population de chiots positifs (CPV1+) compte 36% de femelles, 28% de mâles et pour 36% de chiots CPV1+, le sexe n'a pas été renseigné.

Pour les populations de chiots positifs au parvovirus canin de type 1 (CPV1+) et à l'herpès virus canin de type 1 (CHV1+), nous avons choisi d'inclure uniquement les chiots positifs au pathogène concerné et négatifs pour les trois autres agents pathogènes. Ces deux groupes ont ensuite été comparés à une troisième population de chiots négatifs pour les quatre agents pathogènes (NEG all), qui comptait 699 individus, soit 74 % de l'ensemble des chiots décédés testés entre 0 et 1 mois. Parmi ces chiots témoins, 71 % ont présenté des signes cliniques, dont 74 % ont montré une durée d'évolution des signes cliniques inférieure à 5 jours.

La population de chiots morts positifs au parvovirus est globalement similaire à la population témoin de chiots négatifs aux 4 agents pathogènes (NEG all) (Figure 12). En comparant nos deux groupes de chiots, l'un positif uniquement au parvovirus (CPV1+) et l'autre négatif aux quatre agents pathogènes (NEG all), nous n'avons pas trouvé de différence significative concernant l'âge au décès entre ces deux groupes. Les chiots CPV1+ ne semblent donc pas mourir plus jeunes que les chiots morts d'une autre cause que les 4 agents pathogènes recherchés.

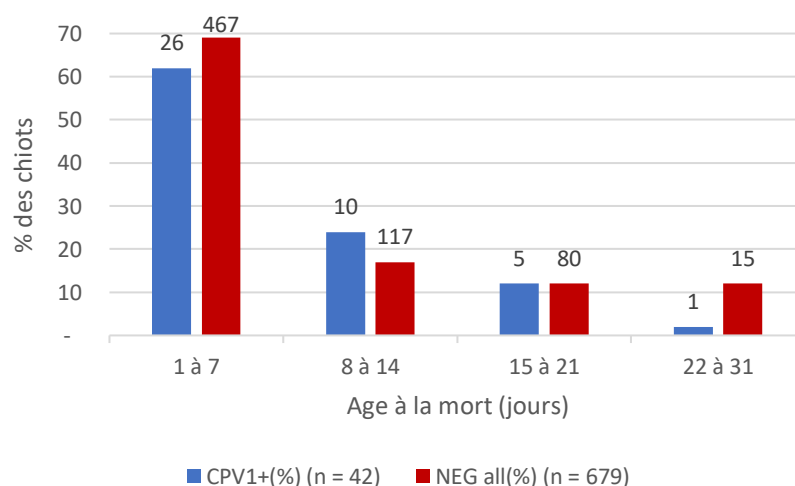


Figure 12 : Distribution de l'âge à la mort des chiots positifs à CPV1 et des chiots négatifs aux 4 pathogènes ainsi que leurs effectifs

Notre population totale de chiots décédés entre 0 et 1 mois et positifs au parvovirus comptait 46 individus. Parmi eux, seuls deux chiots étaient positifs à la fois pour le parvovirus et l'herpès virus de type 1. Nous avons choisi d'étudier uniquement les chiots exclusivement positifs au parvovirus (CPV1+) et testés négatifs pour les trois autres agents pathogènes. Dans cette population de chiots exclusivement CPV1+ (n=42), 81 % ont présenté des signes cliniques avant de mourir : 29 % (n=12) ont également montré des signes digestifs, 21 % (n=9) ont présenté des signes respiratoires, et 7 % (n=3) ont manifesté des signes nerveux (Figure 13). Les chiots positifs au CPV1 présentent significativement plus de signes respiratoires (21 %) par rapport aux chiots négatifs pour les quatre agents pathogènes (10 %) ($p < 0,05$; test du Khi2).

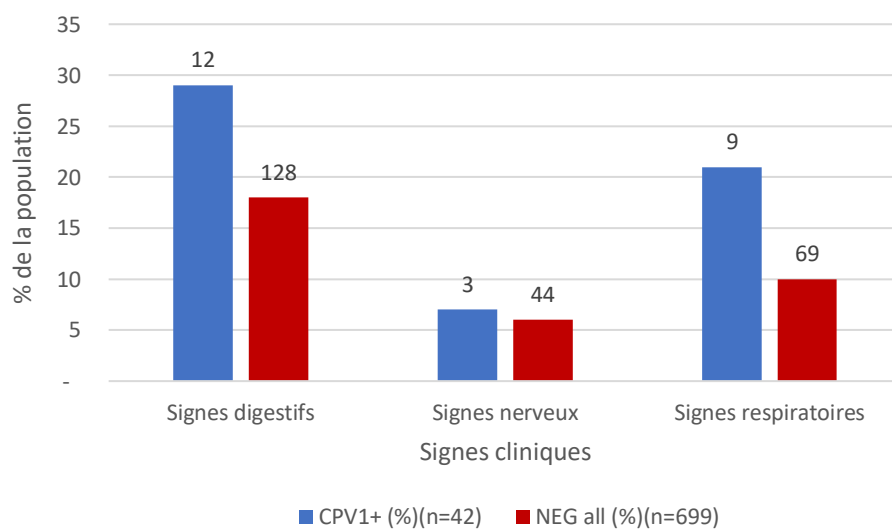


Figure 13 : Expression clinique ante mortem exprimés par les chiots CPV-1 positifs avec les effectifs

La durée des signes cliniques avant le décès a été renseignée pour 60 % (n=25) des chiots uniquement positifs au CPV1. Parmi ces chiots, 96 % (24/25) ont présenté des signes cliniques aigus, d'une durée de moins de 5 jours, contre 93 % des chiots négatifs pour les quatre agents pathogènes ($p > 0,05$).

4. Herpes Virus Canin (CHV-1)

L'Herpesvirus a été trouvé dans 83 échantillons parmi les 909 échantillons dans lesquels il a été recherché, soit une prévalence de 9,1%. La population de CHV1+ compte 12% de femelles, 33% de mâles et pour 55% de chiots CHV1+ le sexe n'a pas été renseigné par le vétérinaire.

Le taux de mortalité des chiots exclusivement CHV1+ semble relativement stable durant les trois premières semaines de vie, en moyenne il y a $20 \pm 4,5$ morts par catégorie d'âge. En

revanche, la mortalité des chiots négatifs aux quatre agents pathogènes (NEG all) diminue au cours des premières semaines, passant de 69 % la première semaine à 12 % à la troisième semaine. L'âge à la mort des chiots CHV1+ diffère de celui des chiots négatifs aux 4 pathogènes ($p < 0,001$; Khi 2 ; Figure 14).

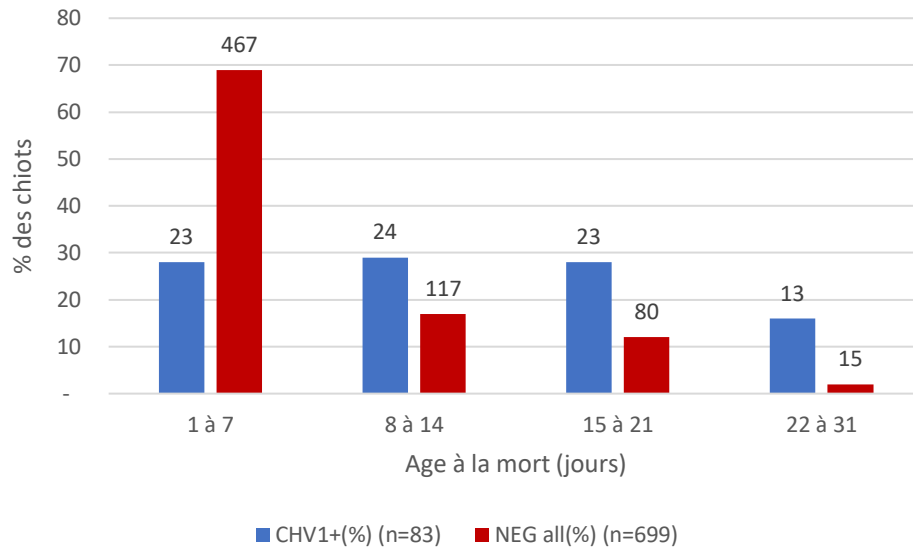


Figure 14 : Distribution de l'âge à la mort : comparaison des effectifs des chiots positifs à CHV-1 et des chiots négatifs aux 4 pathogènes

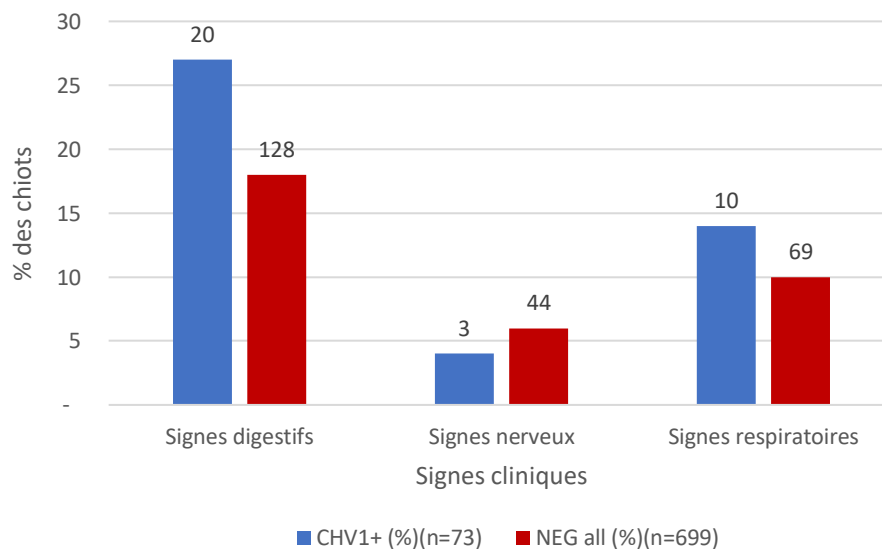


Figure 15 : Fréquence des signes cliniques digestifs, nerveux et respiratoire exprimés par les chiots CHV-1 positifs ainsi que leur effectifs

Parmi les 83 chiots testés positifs pour l'herpès virus de type 1, 73 étaient uniquement positifs au CHV1 et négatifs pour les trois autres pathogènes. Nous avons dû retirer 10 chiots CHV1+

de l'étude. Parmi eux, 2 étaient également positifs au parvovirus de type 1, tandis que les 8 autres n'avaient pas été testés pour les 4 pathogènes. Dans ce groupe (n=73), 77 % des chiots ont présenté des signes cliniques avant leur décès. Parmi ceux-ci, 27 % (n=20) ont montré des signes digestifs, 14 % (n=10) des signes respiratoires, et 4 % (n=3) des signes nerveux (Figure 15). Les valeurs de p obtenues pour ces trois types de signes cliniques sont supérieures à 0,05, indiquant que les chiots exclusivement CHV1+ ne présentent pas significativement plus fréquemment de signes respiratoires, nerveux ou digestifs que la population témoin (NEG all).

La durée des signes cliniques avant le décès a été renseignée pour 63 % (n=46) des chiots positifs au CHV1. Parmi ces chiots, 96 % (44/46) ont présenté des signes cliniques pendant moins de cinq jours, contre 93 % (365/391) des chiots négatifs aux quatre agents pathogènes. Ainsi, les chiots exclusivement CHV1+ n'ont pas une durée d'évolution des signes cliniques plus courte que les chiots négatifs pour les quatre pathogènes.

DISCUSSION

Les résultats présentés ici seront analysés pour déterminer la représentativité de la population étudiée par rapport à la situation en France. Nous discuterons également des limites rencontrées, notamment celles liées à la méthode de collecte des données. Ensuite, nous comparerons les résultats obtenus aux rares données disponibles dans la littérature. Enfin, nous mettrons en lumière l'intérêt de la technique de PCR pour ce type d'étude et les perspectives envisagées.

I. Qualité des données renseignées

1. Représentativité de la population étudiée

La population étudiée comprend au total 1685 chiots morts âgés de 0 à 6 mois, dont 1484 sont morts entre 2011 et 2019 (années complètes). Pendant cette même période (de 2011 à 2019 inclus), la Centrale Canine a enregistré environ 2 070 000 pedigrees de chiots (19). Le taux de mortalité des chiots (mortinatalité + mortalité jusqu'à l'âge de 2 mois) étant d'environ 13,4 % en France (1), on peut donc estimer à environ 277 380 le nombre de chiots morts au cours de leurs deux premiers mois de vie parmi la population de race pure sur cette même période. Ce chiffre sous-estime donc le nombre total de chiots effectivement morts en France. Ainsi, la population étudiée (1685 chiots) ne représente qu'une très faible proportion (au maximum 0,01%) de la population française de chiots (de race pure) nés vivants et morts avant l'âge de 6 mois. Ce faible effectif peut s'expliquer de plusieurs façons. Premièrement, les données proviennent d'un seul laboratoire d'analyse. Pour obtenir un effectif plus important de chiots, il aurait pu être intéressant de collecter ces données auprès de plusieurs laboratoires en France. Cependant, peu de laboratoires prennent le temps d'enregistrer toutes les données renseignées sur les formulaires de demande d'analyse, permettant ainsi leur exploitation ultérieure. Deuxièmement, il s'agit uniquement de chiots décédés qui ont été amenés chez un vétérinaire, où les propriétaires ont accepté de financer la recherche de la cause de la mort. Ces étapes dans le processus diagnostique peuvent limiter le nombre de chiots morts inclus dans cette étude. De plus, le coût élevé des tests (environ 55 € pour la détection d'un agent pathogène par PCR et 30 € par agent supplémentaire, soit un total de 145 € pour la recherche des quatre agents pathogènes dans notre étude) peut également expliquer le faible nombre de données disponibles.

2. Précision des données collectées

Les informations relatives aux chiots décédés étudiés proviennent exclusivement des déclarations des vétérinaires, c'est-à-dire des informations qu'ils ont consignées sur les formulaires de demande d'analyse. Ainsi, la précision des données dépend largement de la rigueur des vétérinaires lors du remplissage de ces formulaires et de la qualité de l'interrogatoire mené auprès du propriétaire. La quantité et la qualité des informations qu'ils ont pris le temps de fournir ont directement influencé l'exploitabilité de cette base de données. Par exemple, des détails tels que la race, l'âge ou même le sexe des chiots n'étaient pas toujours spécifiés. Pour 37,6% des chiots de la population brute étudiée (n=634), le sexe est indéterminé ou non renseigné par le vétérinaire. Cette proportion de chiots au sexe indéterminé est particulièrement élevée chez les chiots âgés de 0 à 1 mois (51,3% des chiots morts dans cette tranche d'âge) et diminue progressivement avec l'âge (27% entre 1 et 2 mois, 15,4% entre 2 et 3 mois, et 12,1% au-delà de 3 mois). On peut également ajouter que les vétérinaires ont souvent utilisé des approximations pour estimer l'âge des chiots, en indiquant parfois leur âge en semaines alors qu'une notation en jours aurait été plus précise. Cela se reflète dans la Figure 6, où le nombre de chiots morts à 15, 21 et 30 jours est plus élevé que pour les autres âges. Ces imprécisions s'expliquent probablement par le peu d'importance donné à ces informations par le vétérinaire en termes de diagnostic étiologique.

En raison de l'absence de certaines données (âge, sexe, etc.), cette étude a été réalisée sur une partie restreinte de la base de données initialement fournie par Scanelis. À l'origine, cette base incluait les informations de plus de 2650 chiots français pour lesquels des vétérinaires avaient demandé la recherche d'agents infectieux par PCR. Cependant, en raison des nombreuses incertitudes concernant certains chiots, comme le statut (mort/vivant) du chiot parfois non renseigné, il a été nécessaire d'exclure ces chiots dont les données étaient incertaines. De plus, pour certains chiots, toutes les rubriques des familles de signes cliniques n'étaient pas remplies. Il arrivait souvent que seule la case "signes généraux" soit cochée, tandis que les autres restaient vides. Par conséquent, il était impossible de déterminer avec certitude si le chiot présentait uniquement des signes cliniques généraux. Il a donc été supposé qu'un chiot sans information sur un symptôme spécifique était considéré comme négatif pour ce symptôme. Parmi les 2650 chiots de la base de données initiale, seuls 4 avaient les 6 familles de signes cliniques étudiés correctement renseignés par le vétérinaire.

Concernant l'information sur la durée des signes cliniques, parmi les animaux identifiés comme symptomatiques par le vétérinaire dans la base de données brute, 29 % (438/1519) n'avaient pas d'information sur la durée de leurs symptômes. À l'inverse, la base de données brute contenait également 151 chiots (5,7%) pour lesquels le vétérinaire avait renseigné une durée d'évolution, mais sans préciser que le chiot était symptomatique avant son décès.

Ainsi, l'exclusion de certains chiots a été décidée pour garantir la qualité et la précision de la base de données en ne conservant que les chiots décédés pour lesquels des informations suffisantes étaient disponibles pour une analyse fiable. Pour améliorer la précision de cette étude, il aurait été souhaitable d'obtenir des informations plus détaillées de la part des vétérinaires, telles que l'âge des chiots en jours (plutôt que des estimations comme « environ 0,5 mois » pour certains chiots), une indication systématique de la présence ou de l'absence de symptômes, et des détails complets sur les signes cliniques. En particulier, il aurait été utile de préciser si les chiots étaient symptomatiques avant de remplir la section « signes cliniques », qui était parfois la seule partie complétée par les vétérinaires. Il aurait également été nécessaire de fournir des informations sur la durée des symptômes et de spécifier les types de signes réellement observés (diarrhée, vomissements, constipation, etc.). Cela aurait permis une analyse plus approfondie de l'influence de l'âge sur la présentation des symptômes cliniques, leur durée d'évolution, et les systèmes principalement affectés (digestif, respiratoire, nerveux, etc.).

1. Les types d'échantillons

En ce qui concerne les échantillons que les vétérinaires devaient envoyer pour effectuer des PCR, le laboratoire Scanelis fournissait une liste des prélèvements nécessaires dans sa feuille de demande d'analyse (Annexe 1). Cependant, pour plus d'un chiot sur quatre dans la base de données brute (25,2%), les échantillons envoyés comprenaient des organes dont la nature n'était pas précisée ("organes", "biopsie", "broyat d'organes", "organes + sang"). Les informations sur le nombre d'organes et leur nature étaient donc manquantes, probablement parce que les vétérinaires ont envoyé des organes sans spécifier leur type. Cela représente une perte d'information importante pour la population de chiots. En effet, la détection de pathogènes dans plusieurs organes aide à évaluer la virulence de l'infection. Ainsi, recevoir des mélanges de plusieurs organes ou d'organes de nature inconnue entraîne une perte d'informations significative dans notre étude (20–22).

II. Choix des agents pathogènes recherchés

Nous avons décidé dans notre étude de cibler uniquement quatre agents pathogènes chez les chiots âgés de 0 à 1 mois. Ces quatre agents sont les principales causes infectieuses spécifiques responsables de mortalité néonatale chez les chiots décrites dans la littérature.

1. *Neospora caninum*

Le parasite protozoaire *Neospora caninum* a comme hôte définitif les canidés, notamment les chiens et probablement les renards (14). Il existe de nombreuses espèces d'hôtes intermédiaires : ruminants (y compris sauvages), rongeurs, oiseaux. Ils s'infectent en ingérant des ookystes présents dans l'environnement. Les parasites se développent ensuite sous forme de kystes tissulaires, principalement dans les muscles et le système nerveux. Les canidés sont infectés le plus souvent en ingérant des matières contaminées issues d'hôtes intermédiaires infectés (délivrances, avortons, cadavres divers) (15).

Chez les chiens, l'infection peut entraîner une maladie grave, avec des symptômes tels que l'ataxie, la paralysie ascendante, et d'autres signes cliniques nerveux (16). Elle peut aussi provoquer des symptômes cardiaques, pulmonaires et dermatologiques (23). L'infection des mères peut entraîner des avortements ou la naissance de chiots faibles présentant des atteintes multi-organiques, qui meurent souvent peu après la naissance (24).

La transmission transplacentaire a été démontrée chez des chiens infectés expérimentalement. Dans la plupart des cas de néosporose néonatale, les signes cliniques peuvent apparaître dès les premiers jours de vie (25), suggérant que *N. caninum* est transmis de la mère aux nouveau-nés vers la fin de la gestation ou après la naissance via le lait. La transmission verticale de *N. caninum* chez les chiens est très variable et peu probable en l'absence d'infection horizontale. Dans une étude rétrospective, seulement 3 % (4 sur 118) des chiots issus de 17 chiennes séropositives étaient eux-mêmes séropositifs (26).

Des prévalences plus élevées ont été documentées chez les chiens de milieux ruraux (10-35%) que les chiens de milieux urbains (5-20%)(27). De même, la prévalence était plus élevée chez les chiens de plus de 12 mois (47%) par rapport aux chiens de 12 mois ou moins (12%), ce qui suggère que les chiens s'infectent majoritairement après la naissance (28–30).

Le diagnostic de l'infection par *Neospora caninum* chez les chiens repose sur des tests sérologiques tels que les dosages immuno-enzymatiques (ELISA), ou par détection de l'agent pathogène via PCR, notamment si l'animal présente des signes neurologiques, en analysant le liquide céphalorachidien ou l'encéphale (*post-mortem*), ou par biopsie musculaire. En cas de troubles de la reproduction, les échantillons peuvent inclure le poumon, le foie, les reins, la rate des avortons, ou le placenta. Il est également possible de détecter des oocystes dans les fèces des hôtes finaux (31, 32).

2. *Brucella sp*

La brucellose canine est une maladie infectieuse et zoonotique causée par *Brucella sp* qui a été signalée dans le monde entier et constitue un problème majeur de santé publique en raison des contacts étroits entre les chiens et les humains (13). Chez les chiens, la brucellose à *B. canis* se manifeste par des épisodes d'avortements, des échecs reproductifs, une hypertrophie des ganglions lymphatiques, et affecte occasionnellement le système ostéoarticulaire, bien que des infections asymptomatiques ne soient pas rares (11).

Parmi les espèces classiques de *Brucella*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus*, *B. canis*, *B. ovis*, et *B. neotomae* ont respectivement pour hôtes préférentiels les petits ruminants, les porcs, les bovins, les chiens, les moutons, et les rongeurs. *B. canis* est la cause la plus fréquente de la brucellose canine. La prévalence de l'infection par *B. canis* chez les chiens de refuge est de 2,3 %, mais la prévalence dans les refuges varie de 0 à 8,6 % (33, 34).

En Europe, des cas ont été rapportés dans plusieurs pays, notamment l'Allemagne, l'Italie, les Pays-Bas, la Pologne, le Royaume-Uni, la Suède et la France, avec une accélération notable depuis 2020 (35). En effet, une épidémie de brucellose causée par *Brucella canis* a été détectée pour la première fois en Italie en 2020 dans un grand élevage commercial. Lors des premiers tests sérologiques, 46,1 % des 598 animaux testés se sont révélés positifs. De nouveaux cas continuent d'être signalés en Europe, principalement en lien avec l'importation ou les voyages à l'étranger (36).

Chez la femelle, un signe reconnaissable est un avortement tardif entre le 45^e jour de gestation et le terme, bien que des avortements plus précoces et discrets puissent survenir, donnant l'impression d'infertilité. Des portées réduites ou des chiots mort-nés sont également observés, et certains chiots survivants peuvent rester infectés et contagieux (37).

Les voies d'infection par *Brucella canis* incluent les muqueuses orales, nasales, conjonctivales et génitales. La transmission vénérienne est significative, *B. canis* étant excrétée dans le sperme des chiens infectés, surtout pendant les huit premières semaines suivant l'infection (13). Toutefois, les chiens peuvent continuer à excréter le pathogène de manière intermittente dans le sperme pendant plusieurs années. L'infection peut également se transmettre d'une chienne infectée à un mâle non infecté par contact avec les sécrétions vaginales pendant l'accouplement. *B. canis* peut aussi être éliminé dans l'urine des chiens mâles et femelles. Les chiots peuvent être infectés par transmission verticale intra-utérine ou, après la naissance, par voie oronasale, à travers le lait contaminé, les membranes placentaires ou les sécrétions vaginales après un avortement (38). L'infection par *B. canis* est associée à des taux élevés de mortalité néonatale. Les chiots infectés qui survivent peuvent devenir d'importants vecteurs de l'infection en tant que porteurs permanents de *B. canis* (12).

Le diagnostic de la brucellose canine combine deux approches. Les tests sérologiques permettent de détecter les anticorps dirigés contre *Brucella rugueuse* à partir d'échantillons de sérum. Ces tests, qui sont peu coûteux et utiles pour le dépistage et le suivi des élevages, peuvent être réalisés sur l'ensemble des animaux suspects et répétés toutes les 4 à 6 semaines pour surveiller l'infection. Cependant, ils présentent des limites, notamment la possibilité de faux positifs et la non-détection des chiens infectés mais séronégatifs, soit à cause de l'infection récente avant séroconversion, soit en raison d'une diminution de la concentration circulante en anticorps dans les infections anciennes. En complément, le diagnostic direct consiste à isoler la bactérie à partir de prélèvements de sang, de tissus ou de liquides biologiques. L'identification spécifique de l'espèce *B. canis* peut être effectuée par bactériologie, PCR ou spectrométrie de masse (MALDI-TOF), permettant ainsi la confirmation de l'infection et le génotypage des souches (39).

3. Le parvovirus canin

Le parvovirus canin (CPV) est une cause principale de diarrhée hémorragique et de mortalité chez les chiots dans le monde entier. Deux types de parvovirus affectent les chiens : le parvovirus canin 2 et le parvovirus canin 1 (CPV1) (40).

Des études expérimentales ont montré que le CPV1 peut entraîner des pneumopathies et des entérites allant de légères à graves chez les chiots nouveau-nés. Chez les chiennes gestantes, le CPV1 peut provoquer des résorptions embryonnaires ou des morts fœtales (7, 41, 42).

Également connu sous le nom de virus minute canin, le CPV1 peut entraîner la naissance de chiots mort-nés ou faibles, la transmission transplacentaire étant possible. Une infection dans les premiers jours de vie peut provoquer une entérite nécrotique, souvent fatale pour les chiots. On peut également observer des pneumonies, myocardites et lymphadénites chez les chiots âgés de 5 à 21 jours (41, 43). Les symptômes initiaux sont généraux, modérés et apparaissent de manière aiguë. Ils incluent la dyspnée, l'arrêt de la tétée, l'hypoglycémie, la fièvre, les vomissements et la diarrhée.

La transmission du parvovirus, ainsi que d'autres causes virales de gastro-entérite, s'effectue par voie fécale-orale, après exposition au virus présent dans les matières fécales ou les vomissures, ou, plus particulièrement, au virus persistant sur les matières fécales. Le virus est excrété pendant quelques jours avant l'apparition des signes cliniques, et son excrétion diminue considérablement après 7 jours (7, 44).

La gravité des signes cliniques dépend de facteurs tels que la souche du virus et l'immunité de l'hôte. Celle-ci est affectée par des facteurs de stress comme le sevrage et la surpopulation, les anticorps maternels et la présence d'infections concomitantes, telles que d'autres infections virales entériques et parasitaires. Les infections subcliniques sont probablement très répandues.

Plusieurs méthodes immunologiques ont été développées pour identifier directement le virus, notamment les tests d'agglutination au latex, le test d'inhibition sur lame (SIT-SAT), le test d'hémagglutination, le test immuno-enzymatique (ELISA), et divers immunocapteurs. Ces méthodes permettent généralement de détecter l'antigène ou l'anticorps spécifique du parvovirus canin (CPV). L'ELISA est le test le plus couramment utilisé par les cliniciens pour confirmer un diagnostic. Les tests moléculaires pour le CPV-1 incluent la PCR, la PCR en temps réel, le dosage des acides nucléiques peptidiques (PNA), etc. La plupart de ces tests peuvent détecter le CPV-1 à partir d'échantillons fécaux et sanguins. Ces techniques moléculaires sont très sensibles, avec une spécificité allant de 66 % à 100 % (7, 43, 45).

4. L'herpès virus canin

Le virus de l'herpès canin est un virus omniprésent et répandu à travers le monde. Entre 22 % et 100 % des chiens adultes dans les élevages ont été exposés à ce virus, qui est à la fois commun et particulièrement virulent chez les chiots pendant la période néonatale (46).

Des études réalisées en Belgique, en Norvège, au Royaume-Uni et aux Pays-Bas montrent que la prévalence des anticorps contre le CHV-1, chez les chiens adultes de compagnie, varie entre 40 et 88 % (47–49).

Chez la mère, l'infection par le CHV-1 est associée à la naissance de chiots mort-nés ou faibles. Elle peut également entraîner des résorptions fœtales ou des avortements, bien que la causalité directe ne soit pas toujours clairement établie. Les infections par CHV-1 peuvent se manifester de diverses manières, en fonction de l'âge, du sexe, du système immunitaire et de la voie de transmission. Il a été montré qu'une réactivation du virus ou une infection primaire par CHV-1 pendant la gestation peut conduire à une transmission transplacentaire au fœtus (50). L'inoculation intraveineuse de chiennes gestantes avec CHV-1 au 30^{ème} et 40^{ème} jour de gestation a entraîné des infections transplacentaires, avec des cas de mort fœtale, d'avortement, de momification, de naissance prématurée et de chiots morts ou vivants.

Les chiots peuvent contracter l'infection par voie transplacentaire, lors de la naissance ou par transmission oronasales de la mère ou par contact avec d'autres chiots de portées infectées et d'autres chiens environnants (41, 51). Les chiots de moins de trois semaines sont particulièrement vulnérables, avec une période d'incubation courte de 4 à 6 jours et une mortalité élevée. Ils cessent rapidement de téter et peuvent présenter des signes tels que l'hypothermie, l'anorexie, ainsi que des symptômes digestifs ou neurologiques (pédalage, ataxie, raideur), indiquant une encéphalomyélite. La mort survient généralement dans un délai d'un à trois jours après l'apparition des premiers symptômes cliniques. Nos résultats vont dans ce sens, avec une mortalité d'environ 23% pour les chiots CHV1+ durant les 3 premières semaines de vie et la présence de signes digestifs dans 27% des cas.

Jusqu'à la troisième semaine de vie, les chiots nouveau-nés ont une régulation thermique déficiente. Leur température rectale est normalement inférieure de 1 à 1,5 °C à celle des chiens adultes, ce qui favorise la réplication du CHV-1 (6). Des études montrent que cette différence de température, combinée à un système immunitaire peu développé, rend les chiots particulièrement sensibles aux infections par CHV-1 (52). L'isolement viral par PCR ou la détection d'antigènes du virus CHV-1 sont les seuls moyens de confirmer une infection par ce virus. Chez les nouveau-nés, l'isolement viral est de préférence effectué sur les reins, le foie, les poumons, la rate, les ganglions lymphatiques et les glandes surrénales. En cas d'avortement, les prélèvements sont effectués sur les fœtus et leurs enveloppes (8).

III. Résultats obtenus

1. Présentation des signes cliniques

La proportion de chiots décédés sans présenter de signes cliniques est élevée, atteignant 32,9 % parmi ceux pour lesquels une description clinique est disponible. Parmi ces chiots asymptomatiques, 72,6 % sont décédés avant l'âge d'un mois. Bien que peu d'études précisent le pourcentage de chiots morts asymptomatiques avant leur décès, une recherche chez les chats a montré que 21 % de ces animaux mouraient sans signes cliniques apparents (53). Cela souligne la difficulté pour les éleveurs et les vétérinaires d'intervenir efficacement sur des chiots ne manifestant pas de signes cliniques ou présentant des symptômes évoluant très rapidement. Les résultats concernant l'évolution clinique en fonction de l'âge de décès des chiots confirment que plus les chiots sont jeunes, moins ils présentent des signes cliniques *ante mortem* (Figure 9), et que ces signes évoluent plus rapidement. Plus les chiots sont jeunes au moment du décès, plus la mortalité survient rapidement, tandis qu'après deux mois, les signes cliniques ont plus de temps pour se développer avant le décès.

De plus, parmi les chiots infectés par le CPV1 et le CHV1, seuls les chiots infectés par le CPV1 ont montré une prévalence significativement plus élevée de signes respiratoires comparés aux chiots non infectés, sans différence notable concernant l'âge au décès ou la durée des signes cliniques. En ce qui concerne les chiots infectés par le CHV1, aucune corrélation significative n'a pu être établie avec les manifestations cliniques observées. Dans la littérature, l'infection de chiots avant l'âge d'un mois par CPV1 ou CHV1 est également décrite comme associée à des signes respiratoires (7, 9, 54).

Ainsi dans de nombreux cas, les vétérinaires peuvent être confrontés à une complexité et un manque d'orientation clinique précise lors de cas de mortalité néonatale ou pédiatrique. En effet, la présence de signes généraux, fréquents (80% des cas dans notre étude) et souvent peu informatif ou rapide des signes cliniques, voire de leur diversité avec jusqu'à quatre types de symptômes différents observés pour un même chiot.

2. Distribution de l'âge à la mort

Parmi les 1685 chiots décédés entre 0 et 6 mois, plus de la moitié (56%) sont morts au cours du premier mois, et 32% durant la première semaine. Une étude menée 2574 chiots, a révélé une mortalité totale de 18,5 % avec 90,9 % des décès qui surviennent au cours des six premières

semaines de vie (55). Dans notre étude, la mortalité sur cette période est de 61,3 %. Dans cette même étude, la mortalité néonatale avant une semaine est de 9,8%. Cependant, nos résultats montrent une mortalité avant une semaine trois fois plus élevée. Concernant la mortalité à un mois, les études estiment qu'elle varie entre 40 et 65 %, nos résultats sont donc cohérents avec ces données, avec une mortalité de 56 % durant le premier mois (3, 56, 57).

3. Taux de mortalité des agents pathogènes

Tout d'abord, le calcul des prévalences apparentes que nous avons réalisé repose en grande partie sur l'hypothèse initiale de l'étude. Nous avons supposé qu'un chiot, même faiblement positif pour l'un des quatre pathogènes, était décédé exclusivement en raison de celui-ci. Cependant, il semble peu probable que chacun de ces quatre agents pathogènes soit seul responsable des 100 % de décès observés dans notre étude. Par exemple, il est improbable que tous les cas de CHV1+ soient décédés exclusivement en raison du virus de l'herpès.

Les taux de mortalité spécifiques pour les infections à *Brucella sp* chez les chiots ne sont pas bien documentés.

Les chiots infectés par *Neospora caninum* peuvent présenter un taux élevé de morbidité, avec jusqu'à 50 % des chiots peuvent développer des symptômes, bien que tous ne soient pas également affectés ou ne présentent pas de symptômes simultanément. La mortalité peut être élevée, entre 30 et 50%, dans les cas non traités ou chez ceux présentant des symptômes sévères. Il n'existe pas d'études spécifiques qui fournissent un taux de mortalité exact pour les infections à *Neospora caninum* chez les chiots (7, 15).

Dans la littérature, le parvovirus de type 1 est souvent considéré comme subclinique, entraînant des symptômes légers. Les chiots affectés peuvent montrer des symptômes tels que la diarrhée, les vomissements, la dyspnée, etc. (7, 40, 58). Notre étude a révélé que, chez les chiots infectés par CPV1, des signes cliniques étaient présents avant le décès dans 81 % des cas. Parmi ces chiots, 29 % présentaient des symptômes digestifs, 21 % des symptômes respiratoires, et 7 % des symptômes neurologiques.

Enfin, l'infection par le virus de l'herpès canin de type 1 (CHV1) est généralement fatale chez les chiots qui ne bénéficient pas d'une immunité maternelle. La mortalité est particulièrement élevée chez les chiots âgés de 1 à 4 semaines (59). La maladie évolue en général sur une période de 1 à 3 jours, ce qui est en accord avec nos observations, où 96 % des chiots infectés par CHV1

ont présenté des signes cliniques pendant moins de 5 jours. Selon la littérature, l'infection par CHV1 se manifeste par des vocalisations, une anorexie, une dyspnée, des douleurs abdominales et une température rectale souvent basse. Notre étude a révélé que 27 % des chiots ont montré des signes digestifs, 14 % des signes respiratoires, et 4 % des signes neurologiques. Enfin les chiots meurent généralement dans un délai de quelques jours à une semaine, avec un taux de mortalité allant de 50 à 80% et pouvant atteindre 100 % dans certaines portées affectées (7).

4. Prévalence des agents pathogènes

Nous allons décrire le statut de la population étudiée vis-à-vis des agents pathogènes d'intérêt, grâce à la description de la prévalence, c'est-à-dire le pourcentage de chiots considérés comme positif parmi les chiots pour lesquels l'agent pathogène a été recherché.

Les prévalences apparentes de *Brucella sp.*, *Neospora caninum*, l'herpès virus canin de type 1 (CHV1) et la parvovirus canin de type 1 (CPV1) dans notre étude sont respectivement de 0,0 % (0/831), 0,1 % (1/817), 9,5 % (86/909) et 5,3 % (46/870). Cependant, ce taux de mortalité est probablement surestimé, car il est calculé sur l'hypothèse que 100 % des chiots positifs à ces pathogènes sont morts à cause d'eux. En réalité, peu d'études ont vraiment caractérisé et déterminé un taux de mortalité précis pour chacun de ces pathogènes. Des études ont déterminé un taux de porteur sains pour ces 4 agents pathogènes.

Les porteurs sains de CPV1 sont rares et peu décrits, bien que le virus puisse parfois être détecté chez des animaux asymptomatiques dans des environnements endémiques. En revanche, jusqu'à 60-70 % des chiens adultes peuvent être porteurs sains de CHV1 sans montrer de signes cliniques. *Neospora caninum* est souvent associé des taux de séropositivité de 20 à 50 % chez les chiens, certains pouvant être asymptomatiques mais transmetteurs du parasite. Enfin, *Brucella sp* peut affecter 10 à 30 % des chiens comme porteurs asymptomatiques.

Globalement, ce panel de quatre pathogènes a permis d'identifier la cause de la mortalité dans 14,9 % des cas. En examinant les prévalences de ces différents pathogènes dans la littérature, on constate que la prévalence de l'infection par *B. canis* varie de 0 à 14 % dans certains pays. Le manque de tests de laboratoire commerciaux spécifiques et efficaces peut entraîner une sous-estimation de l'importance de la brucellose canine dans de nombreux pays (11, 60, 61). Dans notre étude, la prévalence apparente de *Brucella canis* semble sous-estimée, et la brucellose canine est souvent sous-diagnostiquée, ce qui contribue à son émergence apparente.

Les améliorations des techniques diagnostiques et une sensibilisation accrue des vétérinaires ont mis en évidence l'augmentation des cas ces dernières années (33, 36, 39).

Concernant la néosporose, notre étude semble également sous-estimer la prévalence. En Roumanie, la séroprévalence de *Neospora caninum* est de 32,7 % (62), ce qui est nettement plus élevé que dans d'autres pays européens : 0,5 % en Suède, 3,6 % en Autriche, 4 % en Allemagne, et 10,9 % en Italie (30). La faible séroprévalence observée dans notre recherche peut s'expliquer par le fait que nous avons testé des chiots âgés d'un mois au maximum, tandis que les études citées portaient sur des chiens adultes. La séroprévalence de *N. caninum* augmente avec l'âge en raison d'une exposition accrue par transmission horizontale au fil du temps et est également plus élevée chez les chiens errants que chez les chiens de compagnie (41).

Pour le parvovirus de type 1, les études sérologiques ont révélé des séroprévalences allant de 5 % à 15,4 % au Japon, 5,6 % en Allemagne, 11,8 % en Corée, 13,6 % à 17,6 % en Italie, 18 % en Turquie, et de 30 % à 70 % aux États-Unis (42, 63). Notre étude, avec une prévalence apparente de 5,3 %, est donc en accord avec ces dernières recherches. Bien que le CPV1 soit présent dans les élevages canins en France, il ne semble pas être responsable d'une mortalité significative comparée au CPV2 (58).

L'herpès virus de type 1 (CHV-1) est un pathogène bien connu chez les chiens en bonne santé en Europe, avec des études en Belgique, Norvège, Royaume-Uni, et Pays-Bas indiquant une prévalence des anticorps variant de 24 à 88 % (47–49). Cependant, dans une étude australienne sur la mortalité néonatale chez 2574 chiots, seuls deux chiots (0,42 %) ont été confirmés positifs pour CHV-1 lors de l'autopsie (55, 59). Notre étude montre une prévalence de 9,5 % chez les chiots âgés de 0 à 1 mois, ce qui est inférieur aux autres études, mais il est important de noter que celles-ci incluaient des chiens adultes. La prévalence de 9,4 % chez les jeunes chiots semble donc plus significative.

5. Part des pathogènes spécifiques dans la mortalité néonatale

La faible proportion des pathogènes ciblés (14,9% des cas) peut s'expliquer par l'importance des bactéries opportunistes responsables de septicémies et qui demeurent une cause significative de mortalité néonatale. En effet les infections bactériennes représentent la première cause de morbidité et de mortalité néonatales chez les chiots (64), en effet 65% des cas de mortalité néonatale sont attribuables à des agents bactériens (54), et les sepsis demeurent l'une

des principales causes de mortalité néonatale. En effet, à la naissance, les chiots sont immunodéprimés et vulnérables aux infections par des bactéries « commensales » qui colonisent normalement les muqueuses et la peau. Bien qu'il existe un transfert transplacentaire d'immunoglobulines chez les chiens et chats, les nouveau-nés dépendent de l'immunité passive du colostrum ingéré dans les 1 à 2 premiers jours de vie pour se protéger efficacement contre les infections. Les chiots sont particulièrement sensibles aux septicémies durant les premières semaines de vie. La mère serait la principale source d'infection pour 87% des nouveau-nés atteints de sepsis et la majorité des infections sont transmises pendant la gestation (68 %) dans les cas de sepsis néonatal (4). Les bactéries peuvent pénétrer dans le sang par le système gastro-intestinal, respiratoire, urinaire, par la peau lésée, ou principalement via la cavité péritonéale après une infection ombilicale (7).

Un transfert insuffisant d'immunité passive est aussi un facteur prédisposant important de septicémie néonatale, la plupart des infections postnatales étant dues à cette insuffisance (4). Parmi les bactéries couramment rencontrées chez les chiots infectés, on trouve *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pseudintermedius*, les streptocoques bêta-hémolytiques, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, avec *Escherichia coli* étant la plus fréquemment associée à la septicémie (5, 64).

Dans le cas d'une suspicion de septicémie, il est crucial de réaliser un prélèvement bactériologique dans les 12 à 15 heures suivant le décès, car au-delà de ce délai, le microbiote intestinal peut contaminer les autres organes internes et fausser l'analyse (65). La pratique systématique d'un examen post-mortem comme l'autopsie est nécessaire pour identifier d'éventuelles lésions macroscopiques aux organes et tissus, bien que cette méthode seule ne permette de déterminer la cause du décès que dans 22% des cas (48, 66).

Plusieurs agents pathogènes sont impliqués dans les infections parasitaires internes des chiots nouveau-nés. Les nématodes comme *Toxocara spp.*, *Ancylostoma spp.*, *Strongyloides spp.*, *Trichuris vulpis*, les cestodes comme *Dipylidium caninum* ou les protozoaires comme *Giardia spp.* et *Cystoisospora spp.* présentent des taux d'infection élevés (jusqu'à 80%) et peuvent entraîner des symptômes graves et la mortalité, surtout chez les chiots jeunes ou affaiblis (6, 7, 54).

Les protozoaires sont des parasites intracellulaires qui peuvent infecter les chiennes gestantes et entraîner des complications importantes tant pour la mère que pour les chiots (41). Les

protozoaires comme *Toxoplasma gondii* peuvent être transmis à travers le placenta, affectant directement les chiots en développement et pouvant entraîner des avortements, des morts fœtales, ou des malformations congénitales. Parmi les protozoaires, on trouve aussi les coccidies, comme *Isospora canis*, dont la transmission se fait par voie orale à partir d'oocystes présents dans l'environnement, ainsi que *Gardia*, dont la transmission est également possible par voie oro-fécale. Le portage asymptomatique est fréquent chez les adultes, et le stress, notamment celui associé à la mise bas, peut augmenter l'excrétion maternelle, les nouveau-nés sont les individus les plus à risque (67).

Cette étude est exclusivement basée sur la présentation des signes cliniques, sans information disponible sur la réalisation éventuelle d'autopsies ou sur les éventuelles lésions macroscopiques observées. Ces données sont pourtant essentielles pour établir une orientation clinique précise par les vétérinaires, de même que les analyses histopathologiques, qui influencent ensuite la démarche diagnostique pour la recherche d'agents pathogènes par PCR.

Une autre hypothèse pouvant expliquer la faible proportion de morts pour les quatre agents pathogènes recherchés (14,9%), est que de nombreux agents pathogènes néonataux demeurent encore non identifiés. Une approche globale telle que la métagénomique pourrait être intéressante pour découvrir ces pathogènes encore inconnus et mieux identifier les causes de mortalité néonatale.

CONCLUSION

Cette étude fournit une analyse détaillée de la mortalité néonatale chez les chiots à partir de la plus grande base de données disponible d'après la littérature (1685 chiots décédés entre 0 et 6 mois dont 953 morts au cours du premier mois de vie). Elle a permis de déterminer les prévalences d'infections par *Brucella canis*, *Neospora caninum*, le parvovirus de type 1 et l'herpès virus de type 1 chez les chiots morts entre 0 et 1 mois.

Traditionnellement, les études sur les causes de mortalité néonatale et pédiatrique se sont concentrées sur l'histopathologie (12, 26, 59, 68) alors que la PCR reste la méthode de référence, reconnue pour sa sensibilité et sa spécificité élevées dans la détection des causes de mortalité. Cependant, c'est l'association du résultat PCR avec l'analyse macroscopique de l'autopsie ou l'étude des lésions microscopiques de l'histopathologie qui reste la méthode de référence. Pour ce faire, Scanelis propose des bilans PCR combinés à l'histologie en partenariat avec le Laboratoire d'Anatomie Pathologique Vétérinaire du Sud-Ouest (LAPVSO), notamment pour l'exploration de syndromes tels que la toux de chenil, les syndromes neurologiques et les cas de diarrhée.

Pour un diagnostic optimal, il serait intéressant de procéder systématiquement à une autopsie en documentant précisément les lésions macroscopiques (69), d'envoyer des échantillons pour une analyse histopathologique, et de rechercher des agents pathogènes par PCR. De plus, Chez les chiots, la réalisation d'examen bactériologiques est souvent nécessaire. Or les prélèvements permettant leur réalisation doivent être faits dans les 12 à 15 heures après la mort. Passé ce délai, le microbiote intestinal contamine les autres organes internes et fausse l'analyse (65, 66). Notre étude montre que les quatre agents pathogènes étudiés ne sont responsables que de 15 % au maximum de la mortalité totale chez les chiots. Cela souligne l'importance de prendre en compte d'autres facteurs pour réduire et contrôler les taux de mortalité chez les chiens. La prévention de la mortalité néonatale commence bien avant la naissance des chiots, voire avant la mise à la reproduction de la chienne.

Un pilier essentiel de cette prévention est la formation de l'éleveur. Des lacunes dans la connaissance des facteurs environnementaux, maternels ou de la physiologie des nouveau-nés peuvent impacter la mortalité des chiots à la naissance. Une prophylaxie vaccinale et antiparasitaire rigoureuse est cruciale. Après la naissance des chiots, il est aussi important pour l'éleveur et le vétérinaire de repérer ceux qui nécessitent des soins supplémentaires pour


augmenter leurs chances de survie. Pour cela, des scores de vitalité, comme le score Apgar, ont été développés (67, 68).


Il est aussi possible de se fier à des marqueurs biologiques, tels que la glycémie, indicateur de la prise de colostrum, et les lactates (mesurés à la naissance), indicateurs d'hypoxie prédictifs de la mortalité néonatale. Leur mesure est simple, ne nécessitant qu'une goutte de sang. L'ensemble de ces mesures permet déjà de réduire la mortalité (72–74). Compte tenu de la rapidité des premiers signes cliniques précédant la mort, il est crucial de disposer d'outils permettant d'anticiper les dysfonctionnements chez les chiots afin de pouvoir intervenir rapidement.

Pour les chiots mourant de causes inconnues, il serait intéressant de mettre en place une biobanque conservant les échantillons de tous les chiots décédés avant l'âge de 3 mois, accompagnés d'une description clinique détaillée et d'un rapport d'autopsie qui permettrait d'envisager une analyse méta-génomique pour identifier de nouveaux agents pathogènes responsables de la mortalité, en fonction de l'âge et des symptômes cliniques (respiratoires, digestifs, etc.). Toutes ces mesures contribueraient au développement des connaissances sur la pathologie néonatale et pédiatrique chez le chiot.


ANNEXES

Annexe 1 : Formulaire de demande d'analyses PCR Chien Scanelis 2024 (www.scanelis.com)





Demande d'analyses PCR Chien 2024



Vétérinaire

Cadre réservé à Scanelis

Vétérinaires : Vos résultats par mail

Paiement comptant obligatoire sauf si :

Facturation à la CV

Client en compte (Scanelis+)

Facturation ponctuelle

Prise en charge

Laboratoire :

Code client labo :

Professionnels (autre que CV)

En compte (Scanelis+)

Code client : C.....

Paiement comptant

En ligne par CB : Appelez-nous : 05 34 50 50 90

Ref :

N° transaction :

Chèque

IMPORTANT merci de compléter les commémoratifs afin que nous puissions vous aider à interpréter les résultats puis choisissez vos analyses au verso.

Propriétaire

Prénom, nom et adresse complète :

E-mail (si envoi de facture) :

Tél (si paiement en ligne) :

Eleveur Société Animal assuré

Association, refuge, ... Particulier

Animal

Nom :

Espèce : Un formulaire par animal

Chien autre :

Race :

Sexe : M MC F FS

Age :

Tatouage / Puce :

N° dossier :

Présence de signes cliniques (merci de préciser ci-dessous) ou Animal asymptomatique

Animal : mort vivant

Signes généraux

Baisse de forme, apathie

Diminution d'appétit Amaigrissement

Déshydratation Hypothermie

Hyperthermie Anémie

Ictère Splénomégalie

Hépatomégalie Adénomégalie

Pétéchies Oligurie, anurie

PUPD Ascite

Epistaxis

Oedèmes (préciser) :

Autres :

Signes digestifs

Diarrhée

Diarrhée aqueuse

Diarrhée hémorragique

Vomissements

Constipation

Douleurs abdominales

Autres :

Signes nerveux

Ataxie

Convulsions

Tremblements

Myoclonies

Paralyse

Autres :

Reproduction

Infertilité

Malformation

Avortement(s)

Mortinatalité

Autres :

Signes oculaires

Conjonctivite

Kératite

Uvéïte

Autres :

Signes buccaux

Stomatite

Gingivite

Palatoglossite

Ulcères

Ptyalisme

Autres :

Signes respiratoires

Jetage

Dyspnée

Rhinite

Éternuements

Toux

Épanchement pleural

Signes cutanés

.....

.....

.....

Biochimie / Hématologie (joindre résultats)

.....

Durée d'évolution des signes cliniques

< 5 jours 5-15 jours >15 jours

Dépistage antérieur : Non Oui **Date :**

Technique et résultats :

Statut et historique vaccinal (important pour la recherche de parvovirus canin et de virus de Carré)

Animal non vacciné contre la (les) maladie(s) suspectée(s) Statut vaccinal inconnu Dernier rappel

Primo-vaccination : 1^{ère} injection Date : Nom du vaccin : Date :

2^{ème} injection Date : Nom du vaccin : Nom du vaccin :

3^{ème} injection Date : Nom du vaccin :

Traitement en cours au moment du prélèvement

antiviral :

antibiotique :

PRELEVEMENTS PCR

Fluides sur EDTA Volumes mini recommandés Sang, épanchement : 0,5 mL. Moelle osseuse : 0,1 mL. LCS, humeur aqueuse : 0,3 mL. Urine : 4 mL.
Cellules sur écouvillon/cytobrosse dans un tube sec **Jamais de tube hépariné** (même sans bille ou inox) y compris pour les écouvillons/cytobrosses

Sauf avis contraire de votre part, les prélèvements d'un même animal, envoyés simultanément, pourront être mélangés pour analyse PCR. **SEROLOGIE** : Sérum (sang sur tube sec, centrifugé) - minimum 0,5 mL. **Scanelis**

Organes sur flacon ou tube sec (JAMAIS de formol)

<p>Syndrome Tout de chat Ch-FCP</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> B14 - Bordetella, Adenov. 2 (resp.), Parainfluenza, Herpes <input type="checkbox"/> B15 - Bordetella, Adenov. 2 (resp.), Parainfluenza canin <input type="checkbox"/> B15A - Bordetella, Adenov. 2 (resp.), Parainfluenza, Canin, Herpes <input type="checkbox"/> B15B - Bordetella, Adenov. 2 (resp.), Parainfluenza, Herpes, SARS-CoV2 <input type="checkbox"/> B16A - Bordetella, Adenov. 2 (resp.), Parainfluenza, Canin, Herpes, Mycobact <input type="checkbox"/> B17 - Bordetella, Adenov. 2 (resp.), Parainfluenza, Canin, Herpes, Mycobact, Influenza 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> B1 - Canin, Toxoplasma, Neospora, Entéroba/Klebsiella, Leishmaniasis, Bartonella <input type="checkbox"/> B3 - Canin, Toxoplasma, Neospora <input type="checkbox"/> B7 - Toxoplasma, Neospora <input type="checkbox"/> B8A - Canin, Toxoplasma, Neospora, Leishmanies <input type="checkbox"/> B8B - Canin, Toxoplasma, Neospora, Adenovirus 1 (Rubarth) <input type="checkbox"/> B8A - Léo, Adenovirus 1 (Rubarth), Ehrlichia/Anaplasma, Bartonella <input type="checkbox"/> B8B - Léo, Adenovirus 1 (Rubarth), Ehrlichia/Anaplasma, Leishmaniasis <input type="checkbox"/> B4 - Herpes, virus Minute, Neospora, Leptospire <input type="checkbox"/> B2 - Herpes, virus Minute <input type="checkbox"/> B3A - Herpes, virus Minute, Leptospire <input type="checkbox"/> B3B - Herpes, virus Minute, Neospora <input type="checkbox"/> B3A - Herpes, virus Minute, Neospora, Brucella sp, Leptospire. <input type="checkbox"/> B3B - Herpes, virus Minute, Neospora, Leptospire, Coronavir
<p>Diarthé Ch-DA</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> B3 - Parvovirus, Coronavirus, Salmonella <input type="checkbox"/> B2A - Parvovirus, Coronavirus <input type="checkbox"/> B2B - Cards, Cryptosporidium sp. <input type="checkbox"/> B3C - Parvovirus, Leptospire 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> B4 - Herpes, virus Minute, Neospora, Leptospire <input type="checkbox"/> B2 - Herpes, virus Minute <input type="checkbox"/> B3A - Herpes, virus Minute, Leptospire <input type="checkbox"/> B3B - Herpes, virus Minute, Neospora <input type="checkbox"/> B3A - Herpes, virus Minute, Neospora, Brucella sp, Leptospire. <input type="checkbox"/> B3B - Herpes, virus Minute, Neospora, Leptospire, Coronavir
<p>FOI Ch-FOI</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> B3 - Parvovirus, Coronavirus, Salmonella <input type="checkbox"/> B2A - Parvovirus, Coronavirus <input type="checkbox"/> B2B - Cards, Cryptosporidium sp. <input type="checkbox"/> B3C - Parvovirus, Leptospire <input type="checkbox"/> B3 - Bordetella, Borna, Ehrlichia/Anaplasma <input type="checkbox"/> B4 - Borna, Borna, Ehrlichia/Anaplasma, Leishmanies <input type="checkbox"/> B5 - Borna, Borna, Ehrlichia/Anaplasma, Leishmanies, Bartonella 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> B4 - Herpes, virus Minute, Neospora, Leptospire <input type="checkbox"/> B2 - Herpes, virus Minute <input type="checkbox"/> B3A - Herpes, virus Minute, Leptospire <input type="checkbox"/> B3B - Herpes, virus Minute, Neospora <input type="checkbox"/> B3A - Herpes, virus Minute, Neospora, Brucella sp, Leptospire. <input type="checkbox"/> B3B - Herpes, virus Minute, Neospora, Leptospire, Coronavir

PCR Quantitative les bilans - Cochez les analyses souhaitées et les prélevements relatifs

<p>Syndrome neuro Ch-NEURO</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> B1 - Canin, Toxoplasma, Neospora, Entéroba/Klebsiella, Leishmaniasis, Bartonella <input type="checkbox"/> B3 - Canin, Toxoplasma, Neospora <input type="checkbox"/> B7 - Toxoplasma, Neospora <input type="checkbox"/> B8A - Canin, Toxoplasma, Neospora, Leishmanies <input type="checkbox"/> B8B - Canin, Toxoplasma, Neospora, Adenovirus 1 (Rubarth) <input type="checkbox"/> B8A - Léo, Adenovirus 1 (Rubarth), Ehrlichia/Anaplasma, Bartonella <input type="checkbox"/> B8B - Léo, Adenovirus 1 (Rubarth), Ehrlichia/Anaplasma, Leishmaniasis <input type="checkbox"/> B4 - Herpes, virus Minute, Neospora, Leptospire <input type="checkbox"/> B2 - Herpes, virus Minute <input type="checkbox"/> B3A - Herpes, virus Minute, Leptospire <input type="checkbox"/> B3B - Herpes, virus Minute, Neospora <input type="checkbox"/> B3A - Herpes, virus Minute, Neospora, Brucella sp, Leptospire. <input type="checkbox"/> B3B - Herpes, virus Minute, Neospora, Leptospire, Coronavir 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> LCS et/ou <input type="checkbox"/> muqueuses (+ sq total (EDTA) si Bartonella) <input type="checkbox"/> humeur aqueuse (+ sq total (EDTA) si Bartonella) <input type="checkbox"/> ec. vaginal <input type="checkbox"/> placenta <input type="checkbox"/> organes de fixation (gouttière, fœt, rein, rate) <input type="checkbox"/> sang (citra) pour Brucella sp
---	--

Les bilans PCR+Histo
 envoi au LAPVISO - informations pratiques sur www.scanelis.com et www.lapviso.com

Les bilans PCR+Séro
 informations pratiques sur www.scanelis.com

Préprocess Standard - voir param : J * 2 à réception des prélevements *
 * Non autorisé pour tout animal reçu en J pour J+14 (J+14) - voir param : J * 1 si réception des prélevements *
 * Non autorisé pour tout animal reçu en J pour J+14 (J+14) - voir param : J * 1 si réception des prélevements *
 * Non autorisé pour tout animal reçu en J pour J+14 (J+14) - voir param : J * 1 si réception des prélevements *

Tarifs TTC 2024
Pour 1 animal
A la carte

La première recherche	55 €
30 € x	€
Bilans un seul bilan +1 analyse sup	€
B2 - 85 €	€
B3 - 115 €	€
B4 - 145 €	€
B5 - 175 €	€
B6 - 205 €	€
B7 - 235 €	€
La recherche supp	30 € x
Options	€
Chrono médical Scanelis	14 €
14 €	€
14 €	€
TOTAL	€

PCR Quantitative à la carte - Cochez les analyses souhaitées et les prélevements relatifs

<p>A <input type="checkbox"/> Adenovirus canin 1 (Rubarth)</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Sang total EDTA <input type="checkbox"/> LCS <input type="checkbox"/> Sang total EDTA + urine <input type="checkbox"/> Organes ou biopsie <p>B <input type="checkbox"/> Adenovirus respiratoire (Z)</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Sang total EDTA <input type="checkbox"/> Sang total EDTA + ur, virus <input type="checkbox"/> Sang EDTA + sal, ur, virus <input type="checkbox"/> Lésions broncho-alvéolaires <input type="checkbox"/> Organes <p>B <input type="checkbox"/> Babesia sp. / Theileria sp.</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Sang total EDTA <input type="checkbox"/> Mousse osseuse <input type="checkbox"/> Organes (si) <p>B <input type="checkbox"/> Bartonella sp.</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Sang total EDTA <input type="checkbox"/> Prédiction pangénomique <input type="checkbox"/> Échantillonment pré-échantillonné <input type="checkbox"/> HA <input type="checkbox"/> LCS <input type="checkbox"/> Organes 	<p>C <input type="checkbox"/> Carni</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Sang total EDTA <input type="checkbox"/> LCS <input type="checkbox"/> Sang total EDTA + urine <input type="checkbox"/> Organes <p>C <input type="checkbox"/> Coronavirus</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Écouvillon rectal <p>C <input type="checkbox"/> Coronavirus pasteurisé</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Sang total EDTA <input type="checkbox"/> Organes pour analyses <p>C <input type="checkbox"/> Cryptosporidium sp.</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Écouvillon rectal <p>E <input type="checkbox"/> Ehrlichia / Anaplasma</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Sang total EDTA <input type="checkbox"/> Sang total EDTA + urine <input type="checkbox"/> Mousse osseuse <input type="checkbox"/> LCS <input type="checkbox"/> Organes ou biopsie 	<p>G <input type="checkbox"/> Gardia</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Écouvillon rectal <p>H <input type="checkbox"/> Hépatoplasmes sanguins</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Sang total EDTA + urine <input type="checkbox"/> Sang total EDTA + urine + sal <input type="checkbox"/> Organes M. Immunohisto <p>H <input type="checkbox"/> Herpesvirus canin</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Cell. sang. + vgg. (imp.) <input type="checkbox"/> Cell. sang. + vgg. (imp.) <input type="checkbox"/> Brème <input type="checkbox"/> Organes <p>I <input type="checkbox"/> Influenzavirus de type A</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Sang total EDTA <input type="checkbox"/> ac. des oses respiratoires <input type="checkbox"/> ac. des oses respiratoires <input type="checkbox"/> Mousse osseuse <input type="checkbox"/> sang <input type="checkbox"/> Organes 	<p>L <input type="checkbox"/> Leishmanies</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Sang total EDTA <input type="checkbox"/> Prédiction pangénomique <input type="checkbox"/> LCS <input type="checkbox"/> Biopsie cutanée <input type="checkbox"/> LCS <input type="checkbox"/> Organes ou biopsie <p>L <input type="checkbox"/> Leptospire</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Sang total EDTA + urine <input type="checkbox"/> Organes (si) <p>M <input type="checkbox"/> Mycobactéries sp.</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Prédiction pangénomique <input type="checkbox"/> LCS <input type="checkbox"/> Biopsie cutanée <input type="checkbox"/> Organes <p>N <input type="checkbox"/> Neospora caninum</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> LCS <input type="checkbox"/> Prédiction pangénomique <input type="checkbox"/> Biopsie musculaire <input type="checkbox"/> Organes ou biopsie <p>P <input type="checkbox"/> P. apicomplexans oral canin</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Biopsie buccale <input type="checkbox"/> Oculus tropharyngique <p>P <input type="checkbox"/> P. apicomplexans sp.</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Biopsie 	<p>P <input type="checkbox"/> Parvovirus</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Écouvillon rectal <input type="checkbox"/> LCS <p>P <input type="checkbox"/> Parvovirus gondii</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Écouvillon rectal <input type="checkbox"/> Prédiction pangénomique <input type="checkbox"/> Lésions broncho-alvéolaires <input type="checkbox"/> Organes <p>S <input type="checkbox"/> Salmonelle sp.</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Écouvillon rectal <p>T <input type="checkbox"/> Toxoplasma gondii</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> LCS <input type="checkbox"/> Prédiction pangénomique <input type="checkbox"/> Lésions broncho-alvéolaires <input type="checkbox"/> Organes <p>V <input type="checkbox"/> Virus minute</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Cell. sang. (imp.) + anph. <input type="checkbox"/> Biopsie <input type="checkbox"/> LCS <input type="checkbox"/> Organes
--	--	---	--	---

Seuls les tests Papillomavirus sont des tests de PCR conventionnelle (et non PCR temps réel/PCR quantitative). Aucune estimation quantitative ne pourra être fournie en cas de résultat positif pour ces recherches.
 Scanelis, carcoque la PCR est une affaire de spécialistes.
 Scanelis - 9 allée Charles Cros - CS 70006 - 31771 Colomiers Cedex - FRANCE - +33 534 54 50 50 90 - scanelis@scanelis.com - www.scanelis.com

Annexe 2 : Spécifications des tests PCR de Scanelis, version de 2019

Test	Infection / Maladie <i>Infection / Disease</i>	Spécificité détection <i>Detection specificity</i>	Espèce(s) animale(s) <i>Animal species</i>	LD ₁₅ LOD	LQ ₂₀ LOQ
Adénovirus canin type 1 Canine adenovirus 1 (Cav1)	Hépatite de Rubarth Infectious canine hepatitis	Adénovirus canin de type 1 / Canine adenovirus 1	Chien/Dog	36	200
Adénovirus respiratoire canin Canine adenovirus 2 (Cav2)	Complexe Toux de chien Kennel cough (Infectious tracheobronchitis)	Adénovirus respiratoire canin / Canine adenovirus type 2	Chien/Dog	21	200
Babesia spp., Theileria spp.	Piroplasmose (Babesiose) Piroplasmosis (Babesiosis)	Babesia spp., Theileria spp.: type B. canis / gibsoni Babesia spp., Theileria spp.: typing B. canis / gibaoni	Chien/Dog, Chat/Cat	9	200
Babesia spp., Theileria spp.		Babesia spp., Theileria spp.: type T. equi / B. caballi Babesia spp., Theileria spp.: typing T. equi / B. caballi	Cheval/Horses, Ruminants/Ruminants	21	200
Bordetella bronchiseptica	Complexe Toux de chien / Kennel cough, Bordetellose / Bordetellosis	Bordetella bronchiseptica	Chien/Dog, Chat/Cat	15	200
Bornavirus	Bornavirose / Bornaviriosis	Bornavirus	Chien/Dog, Chat/Cat, Cheval/Horse	21	200
Borrelia burgdorferi	Maladie de Lyme (Borreliose) Lyme disease (Borreliosis)	Borrelia burgdorferi sensu lato	Chien/Dog, Cheval/Horse, Ruminants/Ruminants	12	200
Bruceella spp.	Brucellose / Brucellosis	Bruceella spp.	Chien/Dog, Ruminants/Ruminants	18	400
Calicivirus félin / Feline calicivirus	Calicivrose / Calicivrosis	Calicivirus félin/Feline calicivirus	Chat/Cat	48	200
Chlamydia psittaci & felis	Chlamydiose / Chlamydiosis, Ornithose/Ornithosis, Psittacose/Psittacosis		Chat/Cat	9	200
Chlamydia psittaci			Oiseaux/Birds	9	200
Chlamydia psittaci, felis, abortus & caviae		Chlamydia psittaci, felis, abortus & caviae	Chien/Dog, Cobaye /Guinea pig, Féline/Felines	9	200
Chlamydia abortus & psittaci	Chlamydiose / Chlamydiosis		Ruminants, Cheval/Horse	9	200
Circovirus du canard Duck circovirus	Circovirose du canard / Duck circoviriosis	Circovirus du canard / Duck circovirus	Canard/Duck	12	200
Coronavirus canin Canine coronavirus	Coronavirose canine / Canine coronaviriosis	Coronavirus canin / Canine coronavirus	Chien/Dog	111	200
Coronavirus félin / Feline coronavirus	Coronavirose féline & PF Feline coronaviriosis & FIP	Souches de coronavirus entériques et pathogènes (PF) Enteric (FECV) and pathogenic (FIPV) strains	Chat/Cat	111	200
Coronavirus du furet Ferret Coronavirus	Coronavirose entérique (Entérite catarrhale épizootique) & systémique (PF) Epizootic catarrhal enteritis (ECE) & Ferret-Fip	Souches de coronavirus entériques et systémiques (PF) Enteric (ECE) and systemic (FIP) coronavirus strains	Furet/Ferret, Autres mustélidés/Other mustelids	12	200
Coxiella burnetii	Fièvre Q / Q Fever	Coxiella burnetii	Toutes espèces animales /All animal species	6	200
Cryptosporidium spp.	Cryptosporidiose / Cryptosporidiosis	Cryptosporidium spp.	Chien/Dog, Chat/Cat, Ruminants/Ruminant, Furet/Ferret, Lapin/Rabbit	15	200
EAV - Virus de l'Arterite équine EVA - Equine arteritis virus	Arterite virale équine / Equine viral arteritis	Virus de l'Arterite équine / Equine arteritis virus	Cheval/Horse	48	200
Ehrlichia, Anaplasma	Ehrlichiose, Anaplasmosse Ehrlichiosis, Anaplasmosis	Ehrlichia canis, A. platys, A. phagocytophila, A. marginale, A. centrale	Chien/Dog, Chat/Cat, Ruminants, Cheval/Horse	24	200
FeLV	Leucose féline / Feline leukemia	FeLV (provirus + virus)	Chat/Cat, Autres félidés/Other felids	147	200
FIV	Syndrôme d'immunodéficience féline Feline immunodeficiency syndrome	FIV (provirus + virus)	Chat/Cat - Autres félidés/Other felids	69	200
Giardia intestinais	Giardiose / Giardiasis	Giardia intestinalis	Chien/Dog, Chat/Cat, Furet/Ferret, Lapin/Rabbit	6	200
Hémobartonelles / Hemobartonella	Hémobartonellose / Hemobartonellosis	Mycoplasma haemofelis, Candidatus M. haemominutum Mycoplasma haemocanis, Candidatus M. haematoparvum	Chien/Dog, Chat/Cat	24	200
Herpèsvirus canin Canine herpesvirus	Herpèsvirose canine / Canine herpesvirosis	Herpèsvirus canin / Canine herpesvirus	Chien/Dog	12	200
Herpèsvirus des anatidés Duck enteritis virus	Peste du canard / Duck plague	Herpèsvirus des anatidés / Duck enteritis virus	Canard/Duck, Oie/Goose, Cygne/Swan	12	200
Herpèsvirus équin 1 Equine herpesvirus 1 (EHV1)	Herpèsvirose équine / Equine herpesvirosis	Herpèsvirus équin type 1 / Equine herpesvirus 1	Cheval/Horse	12	200

Test	Infection / Maladie Infection / Disease	Spécificité détection Detection specificity	Espèce(s) animale(s) Animal species	LD(1) LOD	LQ(2) LOQ
Herpèsvirus équin 4 Equine herpesvirus 4 (EHV4)		Herpèsvirus équin type 4 / Equine herpesvirus 4	Cheval/Horse	12	200
Herpèsvirus félin/Feline herpesvirus	Herpèsvirose féline / Feline herpesvirosis	Herpèsvirus félin/Feline herpesvirus	Chat/Cat	24	200
Influenzavirus de type A Influenza A virus	Grippe/Flu	Influenzavirus de type A / Influenza A virus	Toutes espèces animales /All animal species	39	200
Leishmanies / Leishmania	Leishmaniose/Leishmaniasis	Leishmanie infantum, donovani, chagasi/	Chien/Dog, Chat/Cat	9	400
Leptospira interrogans	Leptospirose / Leptospirosis	Leptospira interrogans sensu lato (souches pathogènes) Leptospira interrogans sensu lato (pathogenic strains)	Toutes espèces animales /All animal species	9	200
M. avium subsp paratuberculosis	Paratuberculose / Paratuberculosis	Mycobacterium avium subsp paratuberculosis	Ruminants/Ruminants	21	200
Mycobacterium spp.	Mycobactériose / Mycobacteriosis	Mycobacterium spp.	Toutes espèces animales /All animal species	36	200
Mycoplasma felis		Mycoplasma felis	Chat/Cat	9	200
Virus de la Myxomatose Myxoma virus	Myxomatose / Myxomatosis	Virus de la Myxomatose / Myxoma virus	Lapin/Rabbit	4	200
Neospora caninum	Néosporose / Neosporosis	Neospora caninum	Chien/Dog, Ruminants	18	200
Ornithobacterium rhinotracheale	Ornithobactériose / Ornithobacteriosis	Ornithobacterium rhinotracheale	Dinde/Turkey	12	200
Papillomavirus oral canin Canine oral papillomavirus	Papillomavrose orale / Oral papillomavrosis	Papillomavirus oral canin / Canine oral papillomavirus	Chien/Dog	ND	ND
Parvovirus des palmipèdes Waterfowl parvovirus	Parvovirose des palmipèdes / Waterfowl parvovirosis	Virus de Derzsy (typage souches sauvages et vaccinale Hoekstra) & Parvovirus du canard de Barbarie Derzsy virus (typing infectious & Hoekstra vaccine strains) & Muscovy duck parvovirus	Canard/Duck, Oie/Goose	12	200
Parvovirus félin,canin Feline,canine parvovirus	Parléucopénie (typhus),Parvovirose canine Parléucopenia, Canine parvovirosis	Parvovirus canin type 2 (2, 2a, 2b, 2c) Canine Parvovirus 2 (2, 2a, 2b, 2c) Parvovirus félin / Feline parvovirus	Chien/Dog, Chat/Cat	12	200
Pestivirus	Maladie des muqueuses, Maladie de Border Bovine Viral Diarrhea, Border Disease	BVDV, Border virus	Ruminants/Ruminants	69	400
Polyomavirus des psittacés / Avian polyomavirus	Mue française / French moult	Virus de la mue française / Avian polyomavirus	Oiseaux/Birds	9	400
Poxvirus	Poxvirose / Poxvirosis	Cowpox virus	Chat/Cat	ND	ND
Salmonella sp	Salmonellose / Salmonellosis	Salmonella sp	Toutes espèces animales /All animal species	9	200
Sexage ADN Scanelis Scanelis DNA sexing		Espèces sexables / Validated species: www.scanelis.com	Psittacés / Psittacidae	-	-
Toxoplasma gondii	Toxoplasmose / Toxoplasmosis	Toxoplasma gondii	Toutes espèces animales /All animal species	6	200
Tritrichomonas foetus	Tritrichomonose / Tritrichomonosis	Tritrichomonas foetus	Chat/Cat Ruminants/Ruminants	9	200
VHDV / RHDV (1 et 2)	Maladie hémorragique virale du lapin Rabbit haemorrhagic disease	VHDV / RHDV1 VHDV / RHDV2 (Variant 2010/2011)	Lapin/Rabbit	45 153	200 200
Virus de la maladie aléoutienne Aleutian disease virus	Maladie aléoutienne / Aleutian disease	Virus de la maladie aléoutienne / Aleutian disease virus	Furet/Ferret, Autres mustélidés/Other mustelids	12	400
Virus de la maladie de Carné Canine distemper Virus	Maladie de Carné / Canine distemper	Virus de Carné (typage souches sauvages et vaccinales) CDV (typing of infectious / vaccine strains)	Chien/Dog, Furet/Ferret	21	200
Virus de la maladie du bec et des plumes Beak and feather disease virus	Maladie du bec et des plumes Psittacine beak & feather disease (PBFD)	Virus de la Maladie du bec et des plumes Beak and feather disease virus (BFDV)	Oiseaux de volière Caged birds	15	200
Virus de la NHEO Goose haemorrhagic polyomavirus	Néphrite Hémorragique Entérite de l'Oie Haemorrhagic nephritis enteritis of goose	Virus de la NHEO / Goose haemorrhagic polyomavirus	Volailles/Poultry	9	200
Virus minute / Minute virus of canine		Parvovirus canin de type 1 / Canine parvovirus 1 (CPV1)	Chien/Dog	12	200
Virus parainfluenza canin Canine parainfluenza virus	Complexe Toux de chien Kennel cough (Infectious tracheobronchitis)	Virus parainfluenza canin / Canine parainfluenza virus	Chien/Dog	60	200

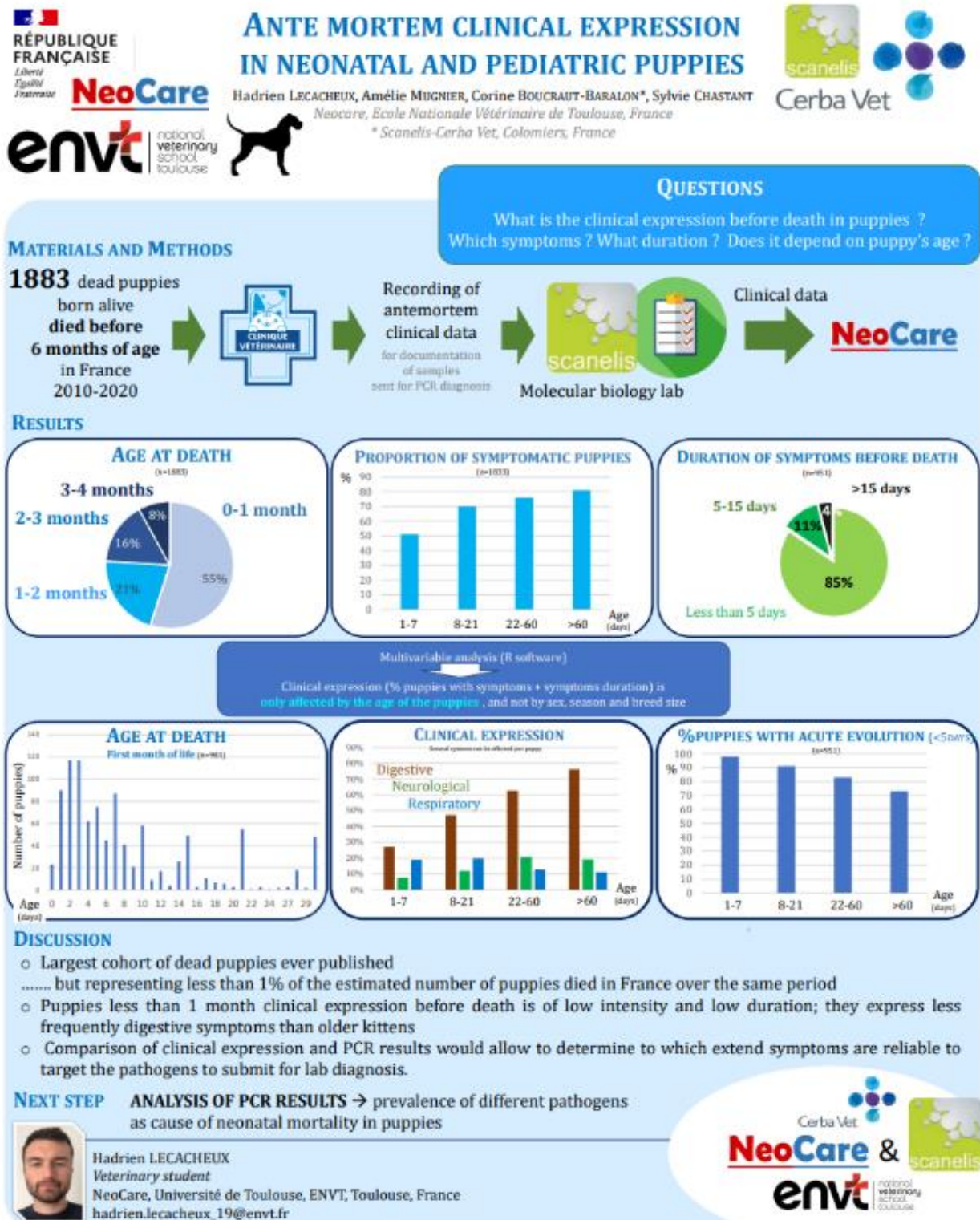
(1) LD : Limite de détection en Nb de copies de séquence cible par analyse - LOD : Limit of detection in No. of copies of target sequence per analysis.

Un résultat négatif traduit l'absence du pathogène recherché dans le prélèvement analysé ou une quantité de ce pathogène inférieure à la limite de détection (LD) du test. A negative result means absence of the pathogen or quantity inferior to the limit of detection (LOD) of the assay.

(2) LQ : Limite de quantification en Nb de copies de séquence cible par analyse - LOQ : Limit of quantification in No. of copies of target sequence per analysis.

Pour chaque résultat positif de ce rapport d'analyses, l'estimation quantitative est donnée à titre indicatif afin d'aider à l'interprétation du résultat qualitatif mais ne constitue pas une quantification absolue.

For each positive result of this analysis report, the quantitative estimation is given for your information as a tool for qualitative result interpretation, but does not stand for absolute quantification.

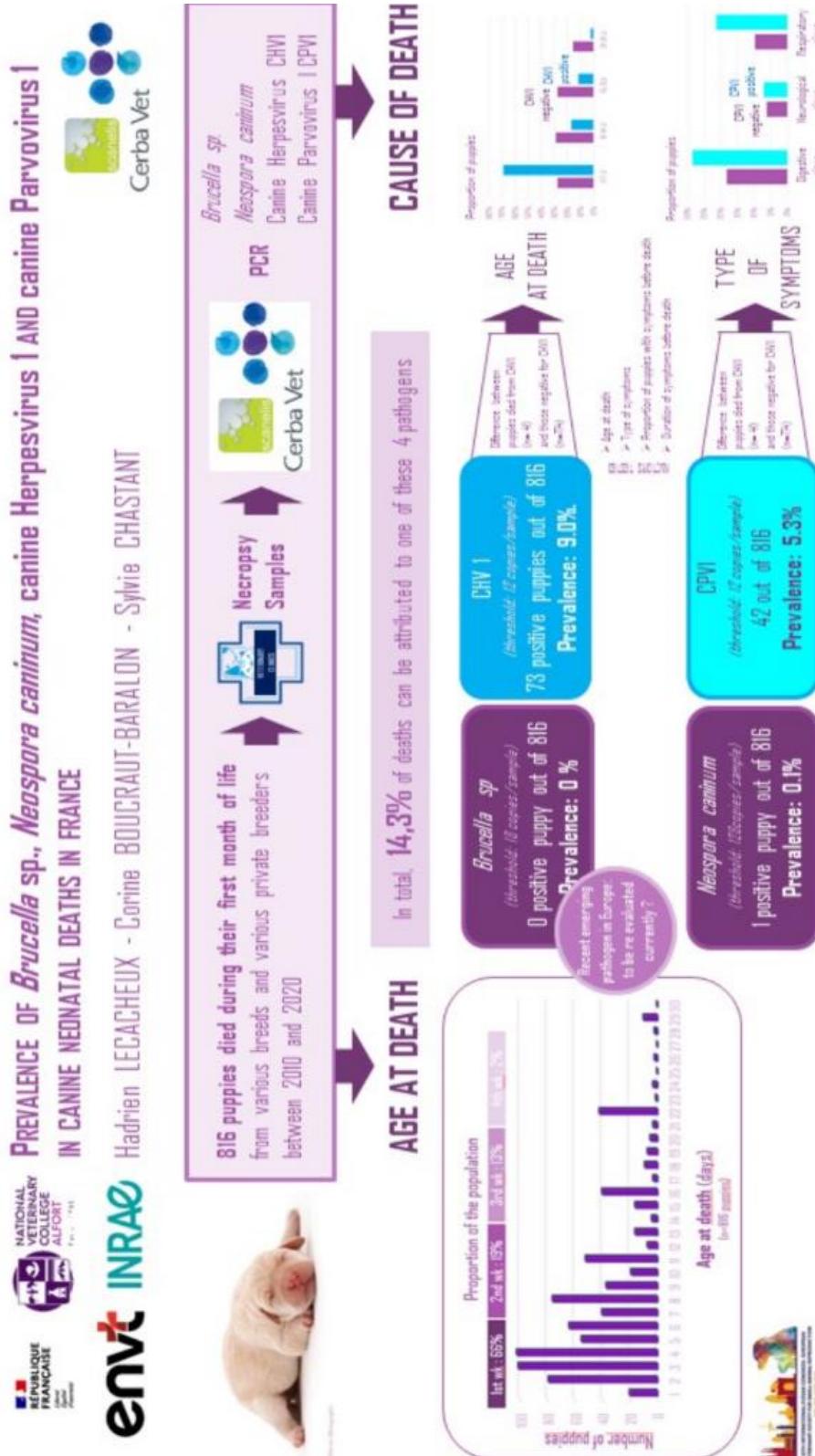


LECACHEUX Hadrien, MUGNIER Amélie, BOUCRAUT-BARALON Corine*,
CHASTANT Sylvie
NeoCare, Reproduction, Université de Toulouse, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Scanelis, Colomiers, France

The objective of this study was to describe the type of symptoms expressed by puppies before death, their duration and the influence of age.

A database of 1883 French dead puppies, born alive and dead before 6 months of age (from 2010 to 2020) was built from data forwarded by practitioners together with samples for qPCR analysis. Date of birth and death were recorded together with clinical signs that preceded death. One third of puppies dead during the 6 first months of life died during the first week of life, 55% during the first months and 76% during the 2 first months. In total, 32% died without any symptoms. For 85% of puppies having expressed symptoms ante mortem, the evolution was shorter than 5 days. After multivariable analysis (R software), age of the puppies was demonstrated to affect the frequency of ante mortem symptoms and their duration, whereas sex, season and breed size did not. For puppies aged 0-7 days, 50% expressed antemortem symptoms, and during less than 5 days for 98% of these; for puppies aged 2 months or more, proportions were respectively 80% and 75%. Age also influenced the proportion of puppies expressing digestive signs, but not respiratory or neurological: 12% of puppies dying during their first week expressed digestive signs, vs 15% of puppies aged 7-21 days, 35% of puppies aged 21-60 days and 40% after 2 months. Proportions of puppies with respiratory signs are respectively 31, 23, 24 and 22%.

This study demonstrates that young puppies illness is a veterinary emergency and due to the large proportion of asymptomatic puppies, prevention such as improvement of the quality of passive immune transfer is crucial.



Hadrien LECACHEUX ^a, Corine BOUCRAUT-BARALON ^b, Sylvie CHASTANT ^{a,b}

^a NeoCare, Université de Toulouse, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Toulouse, France

^b Cerbavet, Colomiers, France

^c Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, BREED, Maisons-Alfort, France

sylvie.chastant@vet-alfort.fr

Introduction and aim. Around 5-10% of puppies born alive are dying during the first month of life [1]. The specific pathogens recognized as responsible for neonatal mortality in the canine species are scarce. The objective of this study was to calculate the prevalence of four pathogens widely recognized as responsible for neonatal mortality in puppies, i.e. *Brucella* sp., *Neospora caninum*, Canine herpesvirus 1 (CHV1) and Canine Parvovirus 1 (CPV1).

Materials and Methods. For a total of 949 French dead puppies, born alive and dead before 1 months of age (from 2010 to 2020), qPCR analysis was performed retrospectively on frozen samples for the detection of *Brucella* sp., *Neospora caninum*, Canine herpesvirus 1 (CHV1) and Canine Parvovirus 1 (CPV1). Samples were considered positive when above the quantification threshold of the lab. For the four pathogens targeted, a positive result allowed to consider the pathogen as the probable cause for mortality.

Results. Neonatal deaths occurred for 60.3% of puppies within the first week of life, and for 17.2% during the second week. *Brucella* sp. was identified in none of the dead puppies (0/831). Only one puppy was found positive for *Neospora caninum* (1/817). Prevalences of puppies positive for CHV1 and CPV1 were respectively 9.5% (86/909) and 5.3% (46/870). Taking into account only puppies for which qPCR was run for 4 pathogens (n=816), the prevalence of *Brucella* sp., *Neospora caninum*, Canine herpesvirus 1 (CHV1) and Canine Parvovirus 1 (CPV1) was respectively of 0.0%, 0.1%, 9.0% and 5.3%. In total, the panel of these four pathogens allowed to identify the cause of mortality in 14.3% of the cases (117/816). CPV1 positive puppies (n=42) did not differ from puppies negative for all pathogens (n=699) for sex ratio, age at death, proportion of symptomatic puppies, duration of symptoms before death, proportion of puppies affected by digestive or respiratory signs. CHV1 positive puppies (n=73) only differ for age at death: 69% died before 5 days of life vs only 32% for others (p<0.001).

Conclusion. The very low proportion of the targeted pathogens can be explained by the importance of opportunistic bacteria, responsible for septicemia, among the causes of neonatal deaths [2]. This result reinforces the importance of an appropriate management of colostrum ingestion, peripartum hygiene for the mother and the environment. It also suggests that sterile spleen sampling performed within 6–12 hours after death for bacteriological examination has to be encouraged in the exploration of a neonatal death. Another hypothesis is that a large number of neonatal pathogens are still to be identified. Global research (such as metagenomics) for the identification of still unknown neonatal pathogens would also be of crucial interest to better control neonatal mortality. Since *Brucella* is a recent emerging disease in Europe, its involvement in neonatal mortality in the coming years would be interesting to follow.

[1] Mugnier A et al. 2020, BMC Veterinary Research. 16, 354

[2] Meloni T et al. 2014, Veterinaria Italiana 50, 293–299

BIBLIOGRAPHIE

1. CHASTANT-MAILLARD, S., GUILLEMOT, C., FEUGIER, A., MARIANI, C., GRELLET, A. et MILA, H. Reproductive performance and pre-weaning mortality: Preliminary analysis of 27,221 purebred female dogs and 204,537 puppies in France. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*. avril 2017. Vol. 52 Suppl 2, pp. 158-162. DOI 10.1111/rda.12845.
2. INDREBØ, A, TRANGERUD, C et MOE, L. Canine neonatal mortality in four large breeds. *Acta Veterinaria Scandinavica*. décembre 2007. Vol. 49, n° 1, pp. S2. DOI 10.1186/1751-0147-49-S1-S2.
3. TØNNESEN, R., BORGE, K. Sverdrup, NØDTVEDT, A. et INDREBØ, A. Canine perinatal mortality: a cohort study of 224 breeds. *Theriogenology*. juin 2012. Vol. 77, n° 9, pp. 1788-1801. DOI 10.1016/j.theriogenology.2011.12.023.
4. NOBRE PACIFICO PEREIRA, K, FUCHS, K , HIBARU, V, Neonatal sepsis in dogs: Incidence, clinical aspects and mortality. *Theriogenology*. 1 janvier 2022. Vol. 177, pp. 103-115. DOI 10.1016/j.theriogenology.2021.10.015.
5. SAIJONMAA-KOULUMIES, L et LLOYD, D. Colonization of neonatal puppies by *Staphylococcus intermedius*. *Veterinary Dermatology*. juin 2002. Vol. 13, n° 3, pp. 123-130. DOI 10.1046/j.1365-3164.2002.00290.x.
6. SYKES, J, RANKIN, S, PAPICH, M. *Greene's infectious diseases of the dog and cat*. Fifth edition. London New York Oxford, Section 1: Elsevier, 2023. ISBN 978-0-323-50934-3.
7. PETERSON, M et KUTZLER, M (éd.). *Small animal pediatrics: the first 12 months of life*. St. Louis, Mo : Saunders/Elsevier, juin 2011. ISBN 978-1-4160-4889-3. Chapitre 16, page 121
8. YAPICI, O, AVCI, O, LEVENT, O, Detection of Canine Herpesvirus Infection on Dogs. *Microbiology Research Journal International*. juin 2018. Vol. 24, pp. 1-6. DOI 10.9734/MRJI/2018/41967.

9. DECARO, Nicola, MARTELLA, Vito et BUONAVOGLIA, Canio. Canine adenoviruses and herpesvirus. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. juillet 2008. Vol. 38, n° 4, pp. 799-814, viii. DOI 10.1016/j.cvsm.2008.02.006.
10. CARMICHAEL, L. E., SQUIRE, R. A. et KROOK, L. Clinical and pathologic features of a fatal viral disease of newborn pups. *American Journal of Veterinary Research*. juillet 1965. Vol. 26, n° 113, pp. 803-814.
11. SANTOS, Renato L., SOUZA, Tayse D., MOL, Juliana P. S., ECKSTEIN, Camila et PAÍXÃO, Tatiane A. Canine Brucellosis: An Update. *Frontiers in Veterinary Science*. mars 2021. Vol. 8, pp. 594291. DOI 10.3389/fvets.2021.594291.
12. DE SOUZA, T, DE CARVALHO, T, MOL, J, Tissue distribution and cell tropism of *Brucella canis* in naturally infected canine foetuses and neonates. *Scientific reports*. 1 mai 2018. Vol. 8, n° 1, pp. 7203. DOI 10.1038/s41598-018-25651-x.
13. DE MASSIS, F, SACCHINI, F, PETRINI, A, . Canine brucellosis due to *Brucella canis*: description of the disease and control measures. *Veterinaria Italiana*. novembre 2022. Vol. 58, n° 1, pp. 5-23. DOI 10.12834/VetIt.2561.16874.1.
14. OSAV, Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires. Néosporose. Disponible à l'adresse: <https://www.blv.admin.ch/blv/fr/home/tiere/tierseuchen/uebersicht-seuchen/alle-tierseuchen/neosporose.html>
15. DUBEY, J. P., HEMPHILL, A., CALERO-BERNAL, R. et SCHARES, Gereon. *Neosporosis in Animals*. . Boca Raton : CRC Press, 2017. ISBN 978-1-315-15256-1
16. DUBEY, J. P. et LINDSAY, D. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*. décembre 1996. Vol. 67, n° 1-2, pp. 1-59. DOI 10.1016/s0304-4017(96)01035-7.
17. X, Gao et H, Wang. Seroprevalence and risk factors for *Neospora caninum* infection in dogs in rural northeastern mainland China. *Parasite (Paris, France)*. [en ligne]. 2019. Vol. 26. . DOI 10.1051/parasite/2019034.
18. DOROTHY MESERVE KUNHARD. *Encyclopédie du chien - Royal Canin*. 2002.

19. Centrale Canine : Les statistiques du LOF depuis 1969. Disponible à l'adresse: <https://www.centrale-canine.fr/articles/les-statistiques-du-lof-depuis-1969>
20. SCHMITZ, S, COENEN, C, MATTHIAS, K. Comparison of Three Rapid Commercial Canine Parvovirus Antigen Detection Tests with Electron Microscopy and Polymerase Chain Reaction. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. mai 2009. Vol. 21, n° 3, pp. 344-345. DOI 10.1177/104063870902100306.
21. MITCHELL, J.A., BROOKS, H, SHIU, K. Development of a quantitative real-time PCR for the detection of canine respiratory coronavirus. *Journal of Virological Methods*. février 2009. Vol. 155, n° 2, pp. 136-142. DOI 10.1016/j.jviromet.2008.10.008.
22. BLANCHARD, S, CARIOU, C, BOUVET, J. Quantitative Real-Time PCR Assays for the Detection of Pathogenic Leptospira Species in Urine and Blood Samples in Canine Vaccine Clinical Studies: a Rapid Alternative to Classical Culture Methods. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 59, n° 7, pp. e03006-20. DOI 10.1128/JCM.03006-20.
23. LINDSAY, D. S., DUBEY, J. P. et DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*. mai 1999. Vol. 82, n° 4, pp. 327-333. DOI 10.1016/s0304-4017(99)00054-0.
24. UCHAŃSKA, O, OCHOTA, Małgorzata, EBERHARDT, Maria et NIŻAŃSKI, Wojciech. Dead or Alive? A Review of Perinatal Factors That Determine Canine Neonatal Viability. *Animals: an open access journal from MDPI*. mai 2022. Vol. 12, n° 11, pp. 1402. DOI 10.3390/ani12111402.
25. BARBER, J. S. et TREES, A. J. Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *International Journal for Parasitology*. janvier 1998. Vol. 28, n° 1, pp. 57-64. DOI 10.1016/s0020-7519(97)00171-9.
26. DUBEY, J. P., SCHARES, G. et ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*. avril 2007. Vol. 20, n° 2, pp. 323-367. DOI 10.1128/CMR.00031-06.

27. FERROGLIO, Ezio, PASINO, M, RONCO, F, BENÀ, A et TRISCIUOGLIO, Anna. Seroprevalence of Antibodies to *Neospora caninum* in Urban and Rural Dogs in north-west Italy. *Zoonoses and public health*. février 2007. Vol. 54, pp. 135-9. DOI 10.1111/j.1863-2378.2007.01033.x.
28. ANDREOTTI, R. Occurrence of *Neospora caninum* in dogs and its correlation with visceral leishmaniasis in the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Veterinary Parasitology*. février 2006. Vol. 135, n° 3-4, pp. 375-379. DOI 10.1016/j.vetpar.2005.10.011.
29. BASSO, W. Prevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from beef-cattle farms, dairy farms, and from urban areas of Argentina. *The Journal of Parasitology*. août 2001. Vol. 87, n° 4, pp. 906-907. DOI 10.1645/0022-3395(2001)087[0906:PONCII]2.0.CO;2.
30. CAPELLI, Gioia, NARDELLI, Stefano, DI REGALBONO, Antonio Frangipane, SCALA, Antonio et PIETROBELLI, Mario. Sero-epidemiological survey of *Neospora caninum* infection in dogs in north-eastern Italy. *Veterinary Parasitology*. septembre 2004. Vol. 123, n° 3-4, pp. 143-148. DOI 10.1016/j.vetpar.2004.06.012.
31. SILVA, D A. O., LOBATO, J MINEO, Tiago W. P. et MINEO, José R. Evaluation of serological tests for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in dogs: optimization of cut off titers and inhibition studies of cross-reactivity with *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Parasitology*. février 2007. Vol. 143, n° 3-4, pp. 234-244. DOI 10.1016/j.vetpar.2006.08.028.
32. SCANELIS. Recherche de *Neospora caninum* par PCR en temps réel. *Scanelis*. [en ligne]. février 2024 Disponible à l'adresse: <https://scanelis.com/chiens/neospora-caninum/>
33. WANKE, M. M. Canine brucellosis. *Animal Reproduction Science*. juillet 2004. Vol. 82-83, pp. 195-207. DOI 10.1016/j.anireprosci.2004.05.005.
34. MARAMI, L, GEBREMEDHIN, E, SARBA, E. Seroprevalence and Associated Risk Factors of Canine *Leptospira* and *Brucella* Species Infection in West Shewa Zone, Central Ethiopia. *Veterinary Medicine: Research and Reports*. février 2021. Vol. 12, pp. 33-42. DOI 10.2147/VMRR.S297155.

35. BUHMANN, G, PAUL, F, HERBST, Werner, MELZER, Falk, WOLF, Georg, HARTMANN, Katrin et FISCHER, Andrea. Canine Brucellosis: Insights Into the Epidemiologic Situation in Europe. *Frontiers in Veterinary Science*. 2019. Vol. 6, pp. 151. DOI 10.3389/fvets.2019.00151.
36. DJOKIC, V, FREDDI, L, DE MASSIS, Fabrizio, LAHTI, Elina, VAN DEN ESKER, Marielle H., WHATMORE, Adrian, HAUGHEY, Anna, FERREIRA, Ana Cristina, GAROFOLO, Giuliano, MELZER, Falk, SACCHINI, Flavio, KOETS, Ad, WYLLIE, Stephen, FONTBONNE, Alain, GIRAULT, Guillaume, VICENTE, Acacia Ferreira, MCGIVEN, John et PONSART, Claire. The emergence of *Brucella canis* as a public health threat in Europe: what we know and what we need to learn. *Emerging Microbes & Infections*. Vol. 12, n° 2, pp. 2249126. DOI 10.1080/22221751.2023.2249126.
37. KAUFFMAN, Lin K. et PETERSEN, Christine A. Canine Brucellosis: Old Foe and Reemerging Scourge. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. juillet 2019. Vol. 49, n° 4, pp. 763-779. DOI 10.1016/j.cvsm.2019.02.013.
38. MARZETTI, S, CARRANZA, Cristina, RONCALLO, Mariela, ESCOBAR, Gabriela I. et LUCERO, Nidia E. Recent trends in human *Brucella canis* infection. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. janvier 2013. Vol. 36, n° 1, pp. 55-61. DOI 10.1016/j.cimid.2012.09.002.
39. ANSES. Brucellose canine. août 2022
40. TUTEJA, D, BANU, K et MONDAL, B. Canine parvovirology - A brief updated review on structural biology, occurrence, pathogenesis, clinical diagnosis, treatment and prevention. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. février 2022. Vol. 82, pp. 101765. DOI 10.1016/j.cimid.2022.101765.
41. SYKES, Jane E. *Canine and feline infectious diseases*. . St. Louis, Mo : Elsevier Saunders, 2014. ISBN 978-1-4377-0795-3. Chapitre 14, page 141
42. MACLACHLAN, N, , *Les Parvoviridae*. 4. 2011. Fenner's Veterinary Virology. Disponible à l'adresse: <https://www.sciencedirect.com/topics/veterinary-science-and-veterinary-medicine/canine-minute-virus>

43. MACARTNEY, L., PARRISH, C. R., BINN, L. N. et CARMICHAEL, L. E. Characterization of minute virus of canines (MVC) and its pathogenicity for pups. *The Cornell Veterinarian*. avril 1988. Vol. 78, n° 2, pp. 131-145.
44. GRUNDY, S A. Canine Neonatal Health. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. septembre 2023. Vol. 53, n° 5, pp. 1161-1193. DOI 10.1016/j.cvsm.2023.05.008.
45. HASHIMOTO, A., TAKIGUCHI, M., HIRAI, K., KIDA, H. et CARMICHAEL, L. E. A serological survey of minute virus of canines (MVC; canine parvovirus type-1) in dogs in the Tokai area of Japan. *The Japanese Journal of Veterinary Research*. novembre 2001. Vol. 49, n° 3, pp. 249-253.
46. EVERMANN, J F., LEDBETTER, Eric C. et MAES, Roger K. Canine Reproductive, Respiratory, and Ocular Diseases due to Canine Herpesvirus. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. novembre 2011. Vol. 41, n° 6, pp. 1097-1120. DOI 10.1016/j.cvsm.2011.08.007.
47. KROGENÆS, A, ROOTWELT, Vibeke, LARSEN, Stig, SJØBERG, E.K., AKSELSEN, B, SKÅR, T.M., MYHRE, S.S., RENSTRÖM, Lena, KLINGEBORN, B et LUND, Arve. A serologic study of canine herpes virus-1 infection in the Norwegian adult dog population. *Theriogenology*. avril 2012. Vol. 78, pp. 153-8. DOI 10.1016/j.theriogenology.2012.01.031.
48. READING, M. J. et FIELD, H. J. A serological study of canine herpes virus-1 infection in the English dog population. *Archives of Virology*. 1998. Vol. 143, n° 8, pp. 1477-1488. DOI 10.1007/s007050050391.
49. RONSSE, V., VERSTEGEN, J., ONCLIN, K., GUIOT, A. L., AEBERLÉ, C., NAUWYNCK, H. J. et POULET, H. Seroprevalence of canine herpesvirus-1 in the Belgian dog population in 2000. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*. octobre 2002. Vol. 37, n° 5, pp. 299-304. DOI 10.1046/j.1439-0531.2002.00363.x.
50. HASHIMOTO, A., HIRAI, K., SUZUKI, Y. et FUJIMOTO, Y. Experimental transplacental transmission of canine herpesvirus in pregnant bitches during the second trimester of gestation. *American Journal of Veterinary Research*. avril 1983. Vol. 44, n° 4, pp. 610-614.

51. V. ROOTWELT, A. LUND et A. KROGENÆS. Herpes virus infection in the dog – A review. In : *The European Journal of Companion Animal Practice*. 2011. pp. 31. ISBN 1018-2357.
52. CARMICHAEL, L. E., BARNES, Frances D. et PERCY, D. H. Temperature as a Factor in Resistance of Young Puppies to Canine Herpesvirus. *The Journal of Infectious Diseases*. 1969. Vol. 120, n° 6, pp. 669-678.
53. BOISSEAU, A. Stratégie du vétérinaire dans la recherche d'agents pathogènes infectieux par PCR en cas de mortalité néonatale et pédiatrique du chaton. 2019.
54. PEREIRA, Keylla Helena Nobre Pacífico, FUCHS, Kárita da Mata, CORRÊA, Jaqueline Valença, CHIACCHIO, Simone Biagio et LOURENÇO, Maria Lucia Gomes. Neonatology: Topics on Puppies and Kittens Neonatal Management to Improve Neonatal Outcome. *Animals*. janvier 2022. Vol. 12, n° 23, pp. 3426. DOI 10.3390/ani12233426.
55. GILL et MARILYN ANN. *Perinatal and late neonatal mortality*. [en ligne]. L'Université de Sydney, 2001. Disponible à l'adresse: <https://scholar.google.com/scholar?hl=en&q=Gill%2C+M.A.+%282001%29+Perinatal+and+late+neonatal+mortality+in+the+dog%2C+PhD%2C+University+of+Sydney%2C+Sydney%2C+Australia%2C+190+pp>.
56. NIELEN, A. L., VAN DER GAAG, I., KNOL, B. W. et SCHUKKEN, Y. H. Investigation of mortality and pathological changes in a 14-month birth cohort of boxer puppies. *The Veterinary Record*. mai 1998. Vol. 142, n° 22, pp. 602-606. DOI 10.1136/vr.142.22.602.
57. POTKAY, S. et BACHER, J. D. Morbidity and mortality in a closed foxhound breeding colony. *Laboratory Animal Science*. février 1977. Vol. 27, n° 1, pp. 78-84.
58. CARMICHAEL, L. E., SCHLAFER, D. H. et HASHIMOTO, A. Pathogenicity of minute virus of canines (MVC) for the canine fetus. *The Cornell Veterinarian*. avril 1991. Vol. 81, n° 2, pp. 151-171.
59. AGERHOLM, J S et SCHJØTH, B. Canine Herpesvirus-1 Infection in Neonatal Dogs. VETERINARY MASTER'S THESIS, *University of Copenhagen*. juin 2013.

60. KEID, L. B., CHIEBAO, D. P., BATINGA, M. C. A., FAITA, T., DINIZ, J. A., OLIVEIRA, T. M. F. de S., FERREIRA, H. L. et SOARES, R. M. Brucella canis infection in dogs from commercial breeding kennels in Brazil. *Transboundary and Emerging Diseases*. juin 2017. Vol. 64, n° 3, pp. 691-697. DOI 10.1111/tbed.12632.
61. MOL, J P S, GUEDES, A C B, ECKSTEIN, C QUINTAL, Amanda P N, SOUZA, Tayse D, MATHIAS, Luis A, HADDAD, João Paulo A, PAIXÃO, Tatiane A et SANTOS, Renato L. Diagnosis of canine brucellosis: comparison of various serologic tests and PCR. *Journal of veterinary diagnostic investigation*. janvier 2020. Vol. 32, n° 1, pp. 77-86. DOI 10.1177/1040638719891083.
62. GAVREA, R., MIRCEAN, V., PASTIU, A. et COZMA, V. Epidemiological survey of Neospora caninum infection in dogs from Romania. *Veterinary Parasitology*. septembre 2012 Vol. 188, n° 3-4, pp. 382-385. DOI 10.1016/j.vetpar.2012.03.044.
63. MANTEUFEL, J et TRUYEN, U. Animal bocaviruses: a brief review. *Intervirolgy*. 2008. Vol. 51, n° 5, pp. 328-334. DOI 10.1159/000173734.
64. MELONI, T, MARTINO, PA., GRIECO, V, PISU, Maria C., BANCO, Barbara, ROTA, Alessandro et VERONESI, Maria C. A survey on bacterial involvement in neonatal mortality in dogs. *Veterinaria Italiana*. décembre 2014. Vol. 50, n° 4, pp. 293-299. DOI 10.12834/VetIt.45.2244.2.
65. MILA, H, GUERARD, C et RAYMOND-LETRON, I. Guidelines for postmortem examination of newborn dogs. *Animal Health Research Reviews*. décembre 2021. Vol. 22, n° 2, pp. 109-119. DOI 10.1017/S1466252321000128.
66. GUÉRARD, C. Intérêt de l'autopsie et des examens complémentaires dans le diagnostic post-mortem chez le chiot nouveau-né. THESE : 2019
67. ROOT KUSTRITZ, V. Canine Neonatal Disorders. In : *Management of Pregnant and Neonatal Dogs, Cats, and Exotic Pets*. [en ligne]. John Wiley & Sons, Ltd, 2012. pp. 129-144. ISBN 978-1-118-99721-5.

68. PRATELLI, A, BUONAVOGLIA, D, TEMPESTA, M, GUARDA, F, CARMICHAEL, L et BUONAVOGLIA, C. Fatal Canine Parvovirus Type-1 Infection in Pups from Italy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. juillet 1999. Vol. 11, n° 4, pp. 365-367. DOI 10.1177/104063879901100413.
69. LEPOULTIER, S. Mortalité néonatale chez le chiot: étude bibliographique et élaboration de cas cliniques interactifs. 2024.
70. VERONESI, M. C., PANZANI, S., FAUSTINI, M. et ROTA, A. An Apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. *Theriogenology*. août 2009. Vol. 72, n° 3, pp. 401-407. DOI 10.1016/j.theriogenology.2009.03.010.
71. WILBORN, Robyn R. Small Animal Neonatal Health. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. juillet 2018. Vol. 48, n° 4, pp. 683-699. DOI 10.1016/j.cvsm.2018.02.011.
72. MILA, H, GRELLET, A, DELEBARRE, M, MARIANI, C, FEUGIER, A et CHASTANT-MAILLARD, S. Monitoring of the newborn dog and prediction of neonatal mortality. *Preventive Veterinary Medicine*. août 2017. Vol. 143, pp. 11-20. DOI 10.1016/j.prevetmed.2017.05.005.
73. MILA, H., GRELLET, A., MARIANI, C., FEUGIER, A., GUARD, B., SUCHODOLSKI, J., STEINER, J. et CHASTANT-MAILLARD, S. Natural and artificial hyperimmune solutions: Impact on health in puppies. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*. avril 2017. Vol. 52 Suppl 2, n° Suppl 2, pp. 163-169. DOI 10.1111/rda.12824.
74. GROPPETTI, D., PECILE, A., DEL CARRO, A. P., COPLEY, K., MINERO, M. et CREMONESI, F. Evaluation of newborn canine viability by means of umbilical vein lactate measurement, apgar score and uterine tocodynamometry. *Theriogenology*. octobre 2010. Vol. 74, n° 7, pp. 1187-1196. DOI 10.1016/j.theriogenology.2010.05.020.

Nom : LECACHEUX

Prénom : Hadrien

Titre : Mortalité néonatale et pédiatrique chez le chiot clinique ante mortem et prévalence de différentes causes infectieuses

Résumé:

La mortalité néonatale et pédiatrique représente une problématique importante dans l'élevage canin, tant en raison de sa fréquence que de ses répercussions sur le bien-être animal et l'économie des élevages. Ce travail se divise en deux volets.

Le premier volet décrit et analyse l'expression clinique ante mortem de 1685 chiots décédés entre 0 et 6 mois. Il étudie les symptômes avant le décès, les systèmes corporels affectés et la durée des signes cliniques. Les résultats montrent que 55 % des décès surviennent au cours du premier mois de vie. Parmi les chiots âgés de 0 à 7 jours, 50 % présentaient des symptômes avant la mort, et 98 % de ces chiots ont eu des symptômes durant moins de cinq jours. En revanche, pour les chiots âgés de 2 mois ou plus, 80 % avaient des symptômes ante mortem et, dans 75 % des cas, ces signes cliniques duraient moins de cinq jours. L'évolution avant le décès est rapide : 85 % des chiots symptomatiques présentent des signes cliniques pendant moins de cinq jours.

Le second volet de l'étude porte sur la recherche systématique de quatre agents pathogènes (*Brucella sp.*, *Neospora caninum*, CHV1 et CPV1) par PCR chez des chiots morts entre 0 et 1 mois. Les prévalences observées sont les suivantes : 0,0 % pour **Brucella sp.** (0/831), 0,1 % pour **Neospora caninum** (1/817), 9,5 % pour **CHV1** (86/909) et 5,3 % pour **CPV1** (46/870). Les chiots positifs pour **CPV1** (n=42) ne diffèrent pas des chiots négatifs pour tous les pathogènes (n=699) en ce qui concerne le sexe, l'âge au décès, la proportion de chiots symptomatiques, la durée des symptômes avant la mort. Les chiots positifs pour **CHV1** (n=73) se distinguent uniquement par l'âge au décès : 28 % sont morts avant 5 jours, contre 69 % pour les autres (p<0,001).

En conclusion, l'apparition de symptômes chez un chiot nécessite une prise en charge d'urgence. Quant aux causes de mortalité néonatale, elles sont principalement d'origine bactérienne non spécifique ou dues à des agents pathogènes spécifiques encore inconnus.

Mots-clés : signes cliniques, âge, mortalité néonatale, *Neospora caninum*, *Brucella sp.*, herpes virus, parvovirus

Title : Neonatal and Pediatric Mortality in Puppies: Ante-Mortem Clinical Signs and Prevalence of Various Infectious Causes

Abstract : Neonatal and pediatric mortality is a significant issue in canine breeding, both due to its frequency and its impact on animal welfare and the economics of breeding operations. This work is divided into two parts.

The first part describes and analyzes the clinical expression ante mortem of 1,685 puppies that died between 0 and 6 months of age. It examines the symptoms prior to death, the affected body systems, and the duration of clinical signs. The results show that 55% of deaths occur within the first month of life. Among puppies aged 0 to 7 days, 50% exhibited symptoms before death, and 98% of these puppies showed symptoms for less than five days. In contrast, for puppies aged 2 months or more, 80% had ante mortem symptoms, and in 75% of cases, these clinical signs lasted less than five days. The progression before death is rapid: 85% of symptomatic puppies exhibited clinical signs for less than five days.

The second part of the study focuses on the systematic investigation of four pathogens (*Brucella sp.*, *Neospora caninum*, CHV1, and CPV1) by PCR in puppies that died between 0 and 1 month of age. The observed prevalences are as follows: 0.0% for **Brucella sp.** (0/831), 0.1% for **Neospora caninum** (1/817), 9.5% for **CHV1** (86/909), and 5.3% for **CPV1** (46/870). Puppies positive for **CPV1** (n=42) did not differ from puppies negative for all pathogens (n=699) in terms of sex, age at death, proportion of symptomatic puppies, or duration of symptoms before death. Puppies positive for **CHV1** (n=73) differed only in age at death: 28% died before 5 days of age, compared to 69% for the others (p<0.001).

In conclusion, the onset of symptoms in a puppy requires urgent care. As for the causes of neonatal mortality, they are mainly due to non-specific bacterial origins or to specific pathogens that are not yet known.

Keywords : Clinical signs, age, neonatal mortality, *Neospora caninum*, *Brucella sp.*, herpes virus, parvovirus