

ETUDE PHARMACOCINETIQUE DE L'AMOXICILLINE DURANT LA GESTATION, SUR LE MODELE DE LA BREBIS GRAVIDE

THESE
Pour obtenir le titre de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

BARDIN Lise

Née le 06/08/1996 à ARGENTEUIL (95)

Directrice de thèse : Mme Aude FERRAN

JURY

PRESIDENTE :

Mme Véronique GAYRARD

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESSEURES :

Mme Aude FERRAN

M. Xavier NOUVEL

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences 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. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

**PROFESSEURS 1^{ère}
CLASSE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- 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*

**PROFESSEURS 2^{ème}
CLASSE**

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **RABOISSON Didier**, *Médecine de population et économie de la santé animale*

M. MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PRIYEMENKO Nathalie**, *Alimentation*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

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. **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*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
- Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire, maladies animales règlementées*
- Mme **WASET-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 **DEBREUQUE Maud**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **DIDIER Caroline**, *Anesthésie, analgésie*
- Mme **DUPOUY GUIRAUTE Véronique**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- Mme **GAILLARD Elodie**, *Urgences, soins intensifs*
- Mme **GEFFRE Anne**, *Biologie médicale animale et comparée*
- Mme **GRISEZ Christelle**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **JEUNESSE Elisabeth**, *Bonnes pratiques de laboratoire*
- Mme **PRESSANTI Charline**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **RAMON PORTUGAL Félipe**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **ROUCH BUCK Pétra**, *Médecine préventive*

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury,

A Madame le Professeur Véronique GAYRARD,
Professeure de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Physiologie

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.
Pour m'avoir permis de prendre part à ce projet.
Pour votre accompagnement et vos conseils.
Hommage respectueux.

A Madame le Docteur Aude FERRAN,
Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Physiologie et thérapeutique

Pour m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse.
Pour votre accompagnement, vos conseils avisés et bienveillants et pour votre disponibilité tout au long de ce travail.
Sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Xavier NOUVEL,
Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Reproduction des troupeaux bovins

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de participer à mon jury de thèse.
Sincères remerciements.

Aux personnes ayant contribué à cette thèse,

A Madame le Docteur Nicole HAGEN-PICARD,
Professeure de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie de la reproduction

Pour m'avoir permis de prendre part à ce projet.
Pour votre accompagnement et vos conseils.
Sincères remerciements.

A Marlène LACROIX et Alicia HUESCA,
Pour l'élaboration de la technique de dosage.
Pour votre disponibilité et vos explications.
Sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	10
TABLE DES ANNEXES	11
LISTE DES ABREVIATIONS	12
2. Introduction.....	13
3. Propriétés de l'amoxicilline	15
3.1. Propriétés chimiques	15
3.2. Propriété antimicrobiennes et pharmacodynamie	15
3.3. Propriétés pharmacocinétiques générales	16
3.3.1. Absorption.....	16
3.3.2. Distribution.....	16
3.3.3. Métabolisation	17
3.3.4. Elimination	17
3.4. Interactions médicamenteuses	17
3.5. Sécurité d'utilisation	17
3.5.1. Utilisation générale.....	17
3.5.2. Utilisation durant la grossesse	18
3.6. Résistances	19
4. Modifications pharmacocinétiques durant la gestation.....	20
4.1. Modifications pharmacocinétiques par la barrière placentaire.....	20
4.1.1. Présentation de la barrière placentaire.....	20
4.1.2. Comparaison des placentas humains et ovins	23
4.1.3. Mécanismes d'échanges et transporteurs materno-fœtaux.....	30
4.2. Modifications du métabolisme maternel.....	35
4.3. Modifications par le métabolisme fœtal et placentaire	36
4.3.1. Métabolisme fœtal	36
4.3.2. Métabolisme placentaire	36
4.4. Bilan des modifications pharmacocinétiques concernant l'amoxicilline durant la gestation.....	36
5. Utilisation de l'amoxicilline durant la grossesse chez la femme.....	37
5.1. Traitement des affections du fœtus et de ses annexes.....	37
5.1.1. Traitement des affections du fœtus et de ses annexes lors de Rupture Prématuurée des Membranes	37
5.1.2. Traitement de la listériose chez la femme enceinte	43
5.2. Traitement des affections de la mère.....	45

5.2.1.	Types d'affections	45
5.2.2.	Enjeux.....	46
5.2.3.	Germes impliqués	47
5.2.4.	Traitement conventionnel à base d'amoxicilline	50
6.	Utilisation de l'amoxicilline durant la gestation chez la brebis	51
6.1.	Traitement du fœtus et de ses annexes.....	51
6.1.1.	Les maladies infectieuses abortives chez la brebis	51
6.1.2.	La listériose.....	53
6.1.3.	La leptospirose.....	54
6.2.	Traitement de la brebis gravide.....	56
6.2.1.	Antibioprophylaxie lors d'une chirurgie obstétricale	56
6.2.2.	Infections respiratoires	59
6.2.3.	Affections digestives	62
6.2.4.	Affections du pied.....	63
6.3.	Conclusion sur l'utilisation de l'amoxicilline chez la brebis gravide	64
7.	Objectifs de l'étude	65
8.	Matériel et Méthode.....	65
8.1.	Animaux.....	65
8.2.	Amoxicilline	67
8.3.	Intervention chirurgicale	67
8.3.1.	Préparation à la chirurgie.....	67
8.3.2.	Méthode chirurgicale.....	68
8.4.	Prélèvements.....	68
8.5.	Dosage de l'amoxicilline	69
8.5.1.	Validation du dosage	69
8.5.2.	Préparation des échantillons.....	69
8.5.3.	Epuration des échantillons.....	70
8.5.4.	Analyse des échantillons	70
8.6.	Analyse des données.....	70
8.7.	Prédiction des concentrations fœtales atteignables chez l'humain	71
8.7.1.	Calcul de l'AUC chez les brebis de notre étude.....	71
8.7.2.	Calcul de l'AUC chez la femme recevant un traitement aux doses recommandées.....	71
8.7.3.	Extrapolation à la concentration plasmatique fœtale chez l'homme	72
9.	Analyse des résultats	73
9.1.	Recherche d'interactions	73

9.2.	Etude du ratio des concentrations mère-fœtus	75
9.3.	Prédiction de la concentration en amoxicilline chez le fœtus humain.....	76
9.3.1.	Calcul de l'AUC chez les brebis de notre étude.....	76
9.3.2.	Calcul de l'AUC chez la femme recevant un traitement aux doses recommandées.....	76
9.3.3.	Extrapolation à la concentration plasmatique fœtale chez l'homme	76
9.3.4.	Comparaison aux CMI ciblées chez le fœtus humain	77
9.4.	Comparaison aux CMI ciblées chez la brebis	78
9.4.1.	Exemple du traitement d'un germe commun chez la brebis.....	78
9.4.2.	Exemple de l'antibioprophylaxie en cas de césarienne.....	79
9.4.3.	Traitement de la leptospirose	79
10.	Discussion	81
10.1.	Comparaison aux valeurs dans l'espèce humaine.....	81
10.2.	Comparaison aux valeurs de ratio de concentration fœtus/mère disponibles pour d'autres antibiotiques.....	82
10.3.	Limites de la méthode d'extrapolation.....	83
10.4.	Limites d'une extrapolation de la brebis à la femme	83
10.5.	Efficacité des protocoles d'antibiothérapie proposés chez la femme	84
11.	Conclusion	86
12.	Bibliographie.....	89
13.	Annexes	100

RESUME – ABSTRACT

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figures

<i>Figure 1 : Schéma de la structure générale de l'embryon et de ses annexes au cours des premières phases de développement embryonnaire.</i>	21
<i>Figure 2 : Schéma des étapes de formation des membranes extra-embryonnaires avant l'implantation, chez l'écureuil et chez l'homme.</i>	22
<i>Figure 3 : A gauche : photographie d'un placenta de vache à 100 jours de gestation. A droite : photographie d'une portion de l'utérus de la mère.</i>	24
<i>Figure 4 : Photographie de la face fœtale d'un placenta humain à terme.</i>	24
<i>Figure 5 : Visualisation de la circulation fœtale par injection, sur un placenta humain à terme.</i>	25
<i>Figure 6 : Schéma des différents types histologiques de placenta.</i>	26
<i>Figure 7 : Schéma des transferts optimaux réalisables entre deux capillaires, selon la direction relative de leur flux.</i>	27
<i>Figure 8 : Représentation des flux sanguins à l'échelle des villosités dans un placentome de chèvre (semblable à celui de brebis) à gauche, et dans un cotylédon humain à droite</i>	28
<i>Figure 9 : Schéma des divers types de transport en jeu à travers les syncytiotrophoblastes.</i>	30
<i>Figure 10 : Schéma du modèle pharmacocinétique de transferts transplacentaires par des transporteurs membranaires, proposé par Staud.</i>	31
<i>Figure 11 : Localisation des transporteurs transmembranaires connus dans le placenta humain.</i>	34
<i>Figure 12 : Incidence des chorioamnionites lors de PPRM, en fonction de l'âge de grossesse.</i>	38
<i>Figure 13 : Graphique représentant la morbidité aiguë en fonction de l'âge gestationnel à la naissance, parmi les nourrissons ayant survécu.</i>	38
<i>Figure 14 : Comparaison des cultures sur sang du nouveau-né et de prélèvement sur l'endocol maternel dans les 6 cas de sepsis néonatal détectés dans l'étude de Saghafi (2018).</i>	40
<i>Figure 15 : Indications thérapeutiques de l'amoxicilline orale chez l'adulte dans les RCP de Clamoxyl® (1 g, comprimé dispersible)</i>	45
<i>Figure 16 : Répartition de l'étiologie en fonction de la population touchée par des bactériuries asymptomatiques.</i>	47
<i>Figure 17 : Proportions des différentes étiologies de l'exacerbation aiguë de bronchite chronique.</i>	49
<i>Figure 18 : Graphique de la répartition des principaux diagnostics d'avortements, selon les données nationales de la base de données VIDA (Veterinary Investigation Diagnosis Analysis) au Royaume-Uni, entre 2011 et 2018.</i>	52
<i>Figure 19 : Evolution de la sensibilité des Staphylocoques à coagulase négative à la pénicilline G, à partir de prélèvements de mammites bovines en France, de 2005 à 2019</i>	58
<i>Figure 20 : Proportions des différentes bactéries isolées dans les lésions pulmonaires chez 42 ovins de réforme en Espagne en 2017.</i>	59
<i>Figure 21 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques, établie par microdilution, de souches de pasteurelles et de Histophilus sp. prélevés par aspiration transtrachéale chez des bovins sains ou atteints du complexe respiratoire bovin, dans un contexte de traitements antibiotiques fréquents.</i>	61
<i>Figure 22 : Schéma de l'organisation temporelle du projet</i>	67
<i>Figure 23 : Régression linéaire selon la méthode des moindres carrés de la concentration F1 en fonction de la dose d'amoxicilline administrée.</i>	75

Tableaux

<i>Tableau 1 : Nombre de brebis dans les différents groupes : lots, état d'engraissement et exposition au BPS.</i>	66
<i>Tableau 2 : Moyennes et écarts-types des concentrations d'amoxicilline mesurées (en µg/mL).</i>	73
<i>Tableau 3 : Moyennes et écarts-types des concentrations en amoxicilline (en µg/mL) et des ratios calculés (sans unité) en fonction de l'état d'engraissement « maigre » ou « gras ».</i>	74
<i>Tableau 4 : Moyennes de rapports entre les concentrations d'amoxicilline obtenues chez la mère et le fœtus au même instant et leurs écart-types (sans unité).</i>	75
<i>Tableau 5 : Prédiction de valeurs de concentration en amoxicilline chez le fœtus et dans le liquide amniotique (en µg/mL) à partir de notre modèle, pour 2 traitements par voie orale actuellement recommandés chez la femme enceinte.</i>	77
<i>Tableau 6 : moyennes et leurs écart-types des concentrations en amoxicilline mesurées, ainsi que les quartiles (en µg/mL).</i>	78
<i>Tableau 7 : moyennes et leurs écart-types des concentrations en amoxicilline mesurées, ainsi que les quartiles (en µg/mL).</i>	80

ANNEXES

Tableau des résultats bruts des dosages et des paramètres pris en compte dans l'analyse	100
---	-----

LISTE DES ABREVIATIONS

ABC : ATP-Binding Cassette, une famille de transporteurs membranaires

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

AUC : Area Under Curve of concentrations over time, aire sous la courbe de la concentration d'une molécule sur une durée donnée

BPS : Bisphénol S

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMI₅₀ : Concentration Minimale Inhibitrice pour 50% des souches testées

CMI₉₀ : Concentration Minimale Inhibitrice pour 90% des souches testées

CRI : Continuous Rate Infusion, perfusion continue

EUCAST : The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, le comité européen de test de sensibilité aux antimicrobiens

FDA : Food and Drug Administration, agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux

MAT : Microscopic Agglutination Test, test d'agglutination microscopique

NEC : Note d'Etat Corporel

OAT : Organic Anion Transporter

OATP : Organic Anion Transporting Polypeptides

OCTN : Organic Cation/carnitine Transporters

PPROM : Preterm Pre-labour Rupture Of Membrane, rupture précoce des membranes fœtales

RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit

SLC : Solute Carrier, une famille de transporteurs membranaires

T>CMI : durée pendant laquelle la concentration de l'antibiotique est supérieure à la CMI

1. INTRODUCTION

Durant la grossesse, le développement d'une infection chez la femme enceinte peut se révéler critique et compromettre le développement et la survie du fœtus. Lors d'infections chez la mère, le fœtus et ses annexes peuvent être contaminés par l'agent pathogène. Une antibiothérapie peut alors être nécessaire mais pour ne pas nuire au fœtus, la molécule utilisée se doit avant tout d'être sans danger.

L'amoxicilline est l'un des antibiotiques les plus couramment utilisés dans le contexte d'infections pendant la grossesse, bien que son spectre d'action soit incomplet et souffre de résistances croissantes. En effet, cette pénicilline du groupe A présente l'avantage majeur d'être sûre d'utilisation durant la grossesse et de franchir la barrière placentaire.

Cependant, il est difficile d'anticiper la pharmacocinétique d'une molécule durant la grossesse et sa distribution au fœtus. En effet, de nombreux paramètres peuvent intervenir au niveau de la barrière placentaire ainsi qu'au niveau du métabolisme maternel et fœtal. Une simple étude théorique de ces paramètres ne suffit pas à modéliser la distribution de l'amoxicilline à travers le placenta et les concentrations qui peuvent être atteintes chez le fœtus ou dans les annexes fœtales. En revanche, elle peut permettre de comprendre par quels mécanismes cette molécule est capable de le traverser.

La pharmacocinétique de l'amoxicilline est peu documentée chez la femme enceinte. Quelques publications ont étudié le rapport de concentration en amoxicilline entre la mère et le nouveau-né (ou le cordon ombilical), mais elles présentent des biais et les données obtenues divergent. Pour des raisons éthiques, il n'est pas possible d'obtenir ces mesures chez le fœtus humain en cours de grossesse.

Or, connaître l'exposition du fœtus à l'amoxicilline permettrait d'adapter la dose administrée à la mère afin d'atteindre une concentration suffisante dans le compartiment fœtal pour que le traitement soit efficace dans la plupart des cas.

Par ailleurs, la brebis est un bon candidat comme modèle animal pour mener des études pharmacocinétiques extrapolables à la femme enceinte. En effet, l'espèce ovine comporte des similitudes placentaires avec la femme enceinte et présente l'avantage d'avoir une taille suffisante facilitant les manipulations et permettant les prélèvements sur le fœtus. La brebis peut également être amenée à recevoir de l'amoxicilline durant la gestation en cas d'infection. La connaissance de l'exposition du fœtus ovin pourrait ainsi être également utile à l'amélioration des traitements dans cette espèce.

Nous proposons donc une étude de la pharmacocinétique de l'amoxicilline durant la grossesse, sur le modèle de la brebis gravide. A partir de prélèvements réalisés sur trente-neuf brebis gravides, 24h et 48h après l'administration d'amoxicilline longue action par voie intramusculaire, le rapport de la concentration en amoxicilline dans le sang maternel et dans le compartiment fœtal sera établi. Celui-ci servira de base pour l'extrapolation à la femme enceinte, selon deux protocoles d'antibiothérapie recommandés usuellement. L'objectif est de comparer la concentration en amoxicilline dans le compartiment fœtal, humain et ovin, avec les CMI (Concentrations Minimales Inhibitrices) des microorganismes visés par les traitements potentiellement mis en place, afin de savoir si la dose administrée est suffisante.

Ce travail s'articule en deux axes principaux.

Dans un premier temps, une étude bibliographique est développée afin de cerner les propriétés de l'amoxicilline et ses modalités de distribution au cours de la grossesse, en particulier en ce qui concerne le passage de la barrière placentaire. Les cas dans lesquels l'amoxicilline est utilisée, que ce soit pour traiter la mère ou le fœtus, sont ensuite identifiés chez la femme enceinte et la brebis gravide, avec leurs protocoles d'antibiothérapie respectifs.

Dans un second temps, une étude expérimentale présente les manipulations réalisées dans le cadre de cette thèse ainsi que les résultats obtenus. L'objectif ici est de proposer un modèle de distribution de l'amoxicilline au fœtus et de savoir si, selon ce modèle, les protocoles recommandés que nous avons étudiés sont adaptés pour traiter les germes visés.

2. PROPRIETES DE L'AMOXICILLINE

2.1. Propriétés chimiques

L'amoxicilline est un antibiotique semi-synthétique appartenant à la famille des bêta-lactamines et plus particulièrement au groupe des pénicillines A.

Cette molécule a une masse molaire de 365,4 g/mol et est peu hydrosoluble avec un logP de 0,87. Elle a deux constantes de dissociation : un pKa de 3,2 pour l'acide et un pKa de 11,7 pour l'amine primaire (*Pubchem*). Elle est principalement présente sous forme ionisée dans le sang (*Delis, 2009*).

L'amoxicilline est disponible sous plusieurs formes, en tant que médicament :

- Solution d'amoxicilline sodique, très hydrosoluble, utilisée sous forme injectable.
- Suspension d'amoxicilline trihydratée, moins hydrosoluble. Elle est utilisée par voie orale en médecine humaine et par voie injectable ou orale en spécialité vétérinaire. Cette dernière peut être présentée sous forme conventionnelle ou sous forme longue action, selon les excipients associés (*Geddes, 2010 ; PubChem*).

2.2. Propriété antimicrobiennes et pharmacodynamie

L'amoxicilline appartient aux antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de paroi. Elle agit sur les bactéries en croissance. Elle est active contre les bactéries à Gram positif (tout comme la pénicilline G) ainsi que certains bacilles à Gram négatif et les leptospires. Elle est cependant dégradée par les bêta-lactamases, des enzymes produites par certaines bactéries. Son association avec l'acide clavulanique permet d'inhiber ces enzymes, ce qui étend son spectre d'action aux bactéries produisant des bêta-lactamases (*Geddes, 2010*).

Plusieurs paramètres permettent d'évaluer l'activité des antibiotiques. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la plus faible concentration en antibiotique qui inhibe la croissance bactérienne, c'est-à-dire à laquelle l'antibiotique a un effet bactériostatique. La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en antibiotique qui permet de diviser la population bactérienne par 10^3 en 24h. Ces concentrations sont propres à un couple antibiotique – germe et sont définies dans des conditions établies en fonction de la bactérie étudiée. La CMB est par définition égale ou supérieure à la CMI. (*Andrews, 2001*).

Par ailleurs, l'amoxicilline est un antibiotique temps-dépendant : son activité bactéricide est lente et dépend de la durée pendant laquelle sa concentration est supérieure à la CMI ($T > CMI$). Cette durée est un indice d'efficacité de l'antibiotique. Il dépend du couple antibiotique – bactérie. Il apparaît toutefois de façon générale pour les bêta-lactamines que le maintien de $T > CMI$ pendant au moins 40 à 50% de l'intervalle de temps entre deux traitements permet d'avoir un effet proche d'un $T > CMI$ de 100% (*Craig, 2003 ; Lees, 2002*).

L'activité bactéricide de l'amoxicilline (et des bêta-lactamines en général) est maximale à partir d'une certaine concentration, qui dépend du couple antibiotique – agent infectieux, et est généralement comprise entre 3 à 10 fois la CMI (*McNabb, 2001*). Cette activité n'est pas

augmentée pour des concentrations supérieures, puisqu'il s'agit d'un antibiotique temps-dépendant.

Ces propriétés ont plusieurs conséquences pratiques. Il est nécessaire de réaliser des administrations fréquentes ou en CRI (Continuous Rate Infusion) pour que le traitement soit efficace afin de maintenir la concentration la plus constante possible (**Lees, 2002 ; McNabb, 2001**). Il est aussi possible d'utiliser une formulation longue-action afin d'espacer les administrations.

2.3. Propriétés pharmacocinétiques générales

2.3.1. Absorption

L'absorption de l'amoxicilline par voie orale est bonne, avec une biodisponibilité de 70 à 90% chez l'Homme (**Salvo, 2009**). Elle est d'ailleurs deux fois plus importante que pour l'ampicilline (pénicilline du groupe A). Cela procure un avantage pratique à l'utilisation de l'amoxicilline en médecine humaine. Son absorption est active, par un transporteur saturable au niveau de l'intestin grêle. Elle n'est pas influencée par une prise alimentaire concomitante. Le pic de concentration sérique est atteint 60 à 90 minutes après la prise orale chez l'Homme (**Salvo, 2009**).

Chez les ruminants adultes, le rumen et la flore ruminale limitent la biodisponibilité de l'amoxicilline par voie orale et cette voie n'est pas utilisée. La biodisponibilité est de 60 à 100% après injection par voie intramusculaire ou sous-cutanée de la forme trihydratée conventionnelle ou longue action, en médecine vétérinaire (**Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) du Clamoxyl® Suspension, RCP du Clamoxyl® longue action**). **Delis (2009)** décrit quant à lui une biodisponibilité d'environ 100% suite à l'administration de ces deux spécialités par voie intramusculaire.

2.3.2. Distribution

La distribution dépend des propriétés de la molécule, et principalement de sa liposolubilité, de son ou ses pKa, de son poids moléculaire et de sa liaison aux protéines plasmatiques (**McNabb, 2001**).

Le volume de distribution de l'amoxicilline est de 0,3 à 0,4L/kg chez l'homme (**Vidal Clamoxyl® comprimé dispersible**). Cette valeur est comprise entre 0,24 et 0,67L/kg chez l'espèce ovine (**Delis, 2009**). L'amoxicilline a donc une présence principalement extracellulaire, dans le plasma et le liquide interstitiel.

A l'équilibre, la concentration plasmatique en antibiotique libre est égale à la concentration dans le milieu interstitiel. Les valeurs de concentrations plasmatiques reflètent donc les concentrations au site infectieux s'il est extracellulaire, à l'exception des tissus qui nécessitent le passage de barrières telles que le placenta ou encore la barrière hémato-méningée (**Hedaya, 2012**).

Le taux de fixation aux protéines plasmatiques est faible, autour de 20%. Les résumés des caractéristiques de spécialités à base d'amoxicilline sodique ou trihydratée destinées à la médecine humaine annoncent 18% d'amoxicilline liée aux protéines plasmatiques (**Vidal**

Clamoxyl® comprimé dispersible). **Delis (2009)** a détecté un taux de liaison aux protéines plasmatiques semblable chez les ovins, à 22,9 +/- 4,51 %.

2.3.3. Métabolisation

L'amoxicilline subit peu de métabolisation hépatique (**Geddes, 2010**) tandis que le foie est sollicité par le métabolisme de l'acide clavulanique (**Salvo, 2009**).

2.3.4. Elimination

La demi-vie d'élimination de l'amoxicilline est courte : elle est en moyenne d'1h chez l'homme (**Salvo, 2009 ; Vidal Clamoxyl® comprimé dispersible**). Son excrétion est majoritairement rénale sous forme inchangée (**Salvo, 2009**).

Une demi-vie terminale de 1,62±0,30h a été calculée après l'administration par voie intraveineuse de 15 mg/kg d'amoxicilline sodique chez 13 jeunes béliers dans l'étude de **Delis (2009)**. Dans son étude menée sur 10 moutons ayant reçu 10 mg/kg d'amoxicilline sodique, **Fernandez (2007)** a mesuré une demi-vie terminale de 0,38±0,09h. Cependant, la méthode de dosage de l'amoxicilline qu'il a employé (méthode de diffusion ou méthode des disques) est moins précise que celle utilisée par **Delis** (chromatographie sur phase liquide et fluorescence). Dans les deux cas la demi-vie est courte.

Après une injection intramusculaire d'une forme trihydratée, la durée pendant laquelle l'amoxicilline reste détectable (>0,1 µg/dL) dans le sérum est de l'ordre de 50h pour la forme conventionnelle et de 100h pour la forme longue action (**Delis, 2009**). **Delis** rapporte alors que l'élimination de l'amoxicilline est plus rapide que son absorption.

2.4. Interactions médicamenteuses

Peu d'interactions médicamenteuses sont décrites. La morphine et la chloroquine pourraient réduire la vitesse d'absorption de l'amoxicilline par voie orale. Son excrétion pourrait également être ralentie par l'administration concomitante de morphine (**Geddes, 2010**).

Chez la femme enceinte, l'administration d'amoxicilline entraîne une baisse de la concentration en estriol urinaire, qui est dosé pour explorer la fonction fœto-placentaire. Cette modification provient d'une interaction au niveau du cycle entéro-hépatique (**Geddes, 2010**).

2.5. Sécurité d'utilisation

2.5.1. Utilisation générale

L'amoxicilline est généralement bien tolérée et ses effets secondaires sont limités.

Les principaux effets indésirables sont digestifs, avec de la diarrhée dans 4 à 15 % des cas, pouvant être accompagnée de nausées, de vomissements et de crampes abdominales. Ils

pourraient s'expliquer par la perturbation de la flore digestive. En effet, l'altération de la flore du colon peut notamment entraîner une diarrhée osmotique. La bonne absorption de l'amoxicilline limite néanmoins ces effets néfastes en comparaison avec d'autres bêta-lactamines (**Salvo, 2009**). Selon l'analyse réalisée par **Kuehn (2015)**, l'association amoxicilline – acide clavulanique provoque deux fois plus de diarrhées chez l'enfant (19,2% de cas, basé sur 33 publications) que l'amoxicilline seule (8,1% de cas, selon 6 publications).

Quelques études rapportent une induction de cas de candidose par ce traitement. En pratique, ils font suite à un usage prolongé de l'antibiotique (**Gillies, 2015**).

Par ailleurs, des réactions allergiques peuvent être observées lors d'utilisation de bêta-lactamines, chez 0,7 à 8 % des patients. Une réaction d'hypersensibilité se met en place, ciblant le noyau des bêta-lactamines et la chaîne latérale de l'amoxicilline (**Salvo, 2009**). Les principales manifestations notées sont cutanées avec un érythème (**Gillies, 2015**).

Les atteintes hépatiques induites par l'amoxicilline seule sont anecdotiques alors qu'elles se révèlent plus fréquentes lors de l'association à l'acide clavulanique (**Salvo, 2009**).

D'autres effets toxiques sont rapportés dans la littérature mais rarement signalés en pratique (**Geddes, 2010**) :

- Pancytopénie par atteinte de la moelle osseuse chez les personnes âgées
- Neutropénie en cas de surdosage en intraveineuse chez un patient ayant déjà une atteinte hépatique
- Néphropathie

2.5.2. Utilisation durant la grossesse

Cet antibiotique a un usage considéré comme sûr durant la grossesse : il n'a pas d'effet tératogène connu et aucun effet secondaire majeur n'a été constaté sur la mère et le fœtus, à court ou long terme. Des études manquent cependant pour pouvoir affirmer que son usage est totalement sûr, sachant que l'amoxicilline atteint le fœtus en traversant la barrière placentaire. Pour cette raison la FDA (Food and Drug Administration) a classé l'amoxicilline à un niveau de sûreté B pour la grossesse (**Salvo, 2009**).

Sur le long terme, aucun effet indésirable n'a été noté chez des enfants de 7 ans qui avaient été exposés à l'association amoxicilline – acide clavulanique à raison de 375 mg (d'amoxicilline) toutes les 6h pendant 10 jours, durant le dernier trimestre de grossesse lors d'une rupture précoce des membranes. Les mères avaient alors été incluses dans une étude visant à déterminer l'efficacité de traitements antibiotiques dans cette situation (**Kenyon, 2004**).

Néanmoins, dans un autre essai, l'administration d'amoxicilline couplée à de l'acide clavulanique a provoqué une augmentation d'entérocolites nécrosantes chez les nouveau-nés exposés en fin de grossesse. La prescription de cette association est par conséquent déconseillée en cette période de la grossesse (**ACOG, 2018 ; Mercer, 1997 ; Yudin, 2017**).

2.6. Résistances

Nous assistons à l'émergence de résistances à l'amoxicilline, plus particulièrement chez les bacilles à Gram négatif (*Geddes, 2010*). L'utilisation de l'association amoxicilline – acide clavulanique est à conserver pour les cas où une résistance par production de bêta-lactamases a été constatée (*Salvo, 2009*).

3. MODIFICATIONS PHARMACOCINETIQUES DURANT LA GESTATION

La concentration en amoxicilline dans le compartiment fœtal après administration à la mère ne peut être extrapolée à partir de la pharmacocinétique chez l'adulte puisque le passage transplacentaire est difficilement prévisible et diffère pour chaque molécule (*Mihaly, 1983*).

La brebis pourrait être un modèle intéressant pour la femme grâce à la possibilité de réaliser les prélèvements de sang fœtal ou de liquide amniotique nécessaires à l'étude de la pharmacocinétique durant la gestation. Le format de l'animal le rend par ailleurs plus aisé à manipuler que les rongeurs pour ce type d'étude (*Barry, 2008*). Ces deux espèces sont néanmoins éloignées d'un point de vue phylogénétique (*Wooding, 2008*). La comparaison suivante permet d'établir les similitudes entre ces deux espèces et les limites de ce modèle.

3.1. Modifications pharmacocinétiques par la barrière placentaire

3.1.1. Présentation de la barrière placentaire

3.1.1.1. Définition du placenta

Le placenta peut être défini selon plusieurs approches. Une définition structurale proposée en 1937, toujours admise aujourd'hui, le décrit comme étant « l'apposition ou la fusion de membranes fœtales à la muqueuse maternelle utérine pour réaliser des échanges physiologiques » (*Burton, 2015 ; Wooding, 2008*). *Burton (2015)* en propose la définition fonctionnelle suivante : « un organe extracorporel qui interagit avec l'endomètre pour nourrir et protéger le fœtus, et qui orchestre les adaptations maternelles à la grossesse ».

Le placenta gère les échanges materno-fœtaux de gaz, de nutriments et d'ions. Plusieurs modalités de transfert existent, dont les principales sont (*Burton, 2015 ; Donnelly, 2014 ; Wooding, 2008*) :

- La diffusion simple (O₂, CO₂, urée, bilirubine)
- La diffusion facilitée, par voie transmembranaire (glucose, lactate)
- Le transport actif transmembranaire (acides aminés, ions, lipides)
- L'endocytose au niveau des aréoles, chez la brebis

Le placenta a également une fonction endocrinienne : il émet des hormones peptidiques et stéroïdiennes qui permettent le maintien de la gestation et le déclenchement de la mise-bas (*Donnelly, 2014*).

La protection du fœtus apportée par le placenta est physique, chimique et immunitaire. Cependant cette barrière chimique a des limites et certains xénobiotiques toxiques pour le fœtus peuvent passer au travers (*Burton, 2015 ; Donnelly, 2014 ; Wooding, 2008*).

La structure du placenta, et par conséquent sa fonction, évoluent au cours de la gestation. Sa structure définitive est qualifiée de mature (*Wooding, 2008*).

3.1.1.2. Structure générale du placenta

Le placenta résulte de l'accolement de tissus maternels et fœtaux. Le côté maternel est généralement issu de tissu épithélial ou conjonctif provenant de l'utérus. La partie fœtale est composée des membranes fœtales, du trophoctoderme, et de vaisseaux sanguins (**Wooding, 2008**).

Le trophoctoderme, également appelé trophoblaste, est initialement l'épithélium en surface du blastocyste. Il contribue à la formation de membranes extra-embryonnaires.

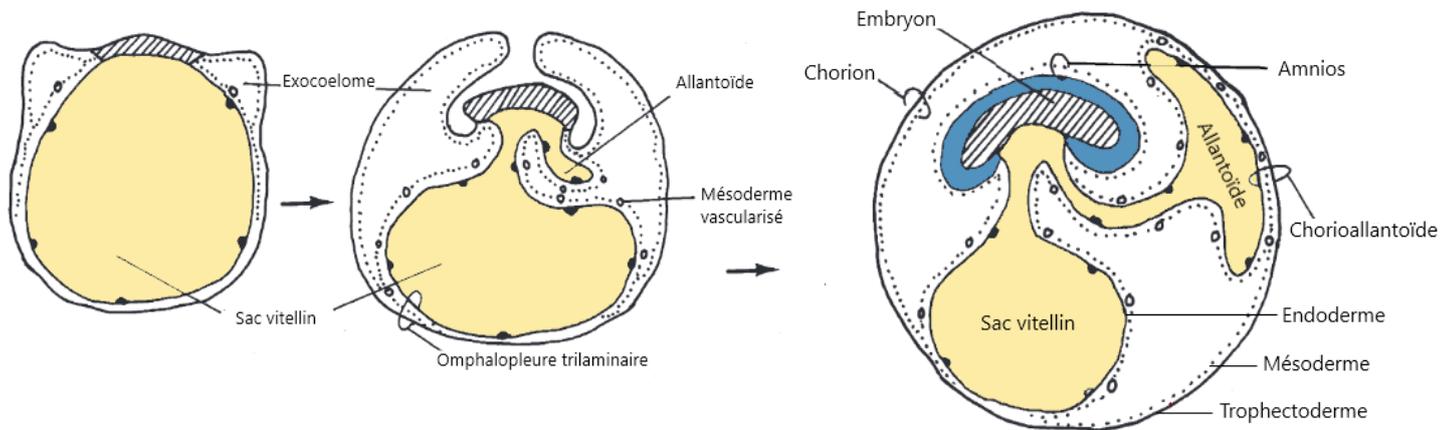


Figure 1 : Schéma de la structure générale de l'embryon et de ses annexes au cours des premières phases de développement embryonnaire. Adapté d'après **Wooding (2008)**.

Il existe quatre membranes extra-embryonnaires, schématisées dans la figure 1 :

- Le chorion : il est constitué du trophoctoderme et d'un feuillet mésodermique non vascularisé. Il s'agit de la membrane fœtale la plus externe (**Benirschke, 2004 ; Wooding, 2008**).
- L'allantoïde : elle est composée d'endoderme et d'une épaisseur de mésoderme splanchnique sur sa face externe. Elle est richement vascularisée. La cavité formée est reliée à l'appareil urogénital et sert de stockage de déchets organiques.
- Le sac vitellin : il est formé dans un premier temps d'une unique couche de trophoctoderme, à laquelle vient ensuite s'ajouter l'endoderme sur la face interne, pour former un sac vitellin bilaminaire. Il devient partiellement trilaminaire après l'expansion du mésoderme entre ces deux couches (**Wooding, 2008**). Il contient d'éventuelles réserves vitellines. Il devient vestigial avec l'avancée de la gestation chez les Mammifères, sauf chez les rongeurs et lagomorphes, entre autres (**Furukawa, 2014**).
- L'amnios : son origine varie selon les espèces. La membrane amniotique est formée à partir de l'ectoderme de l'embryon chez l'Homme. Chez les Ruminants notamment, le trophoctoderme en surface du futur embryon disparaît et l'amnios provient d'un repli du chorion (figure 2). Dans tous les cas, il s'agit de la membrane la plus interne

(Benirschke, 2004 ; Wooding, 2008). Elle est avasculaire, donc ses apports dépendent de la composition des liquides environnants (Benirschke, 2004).

La fusion de l'allantoïde et du chorion donne l'allantochorion, qui réalise directement des échanges avec les tissus maternels.

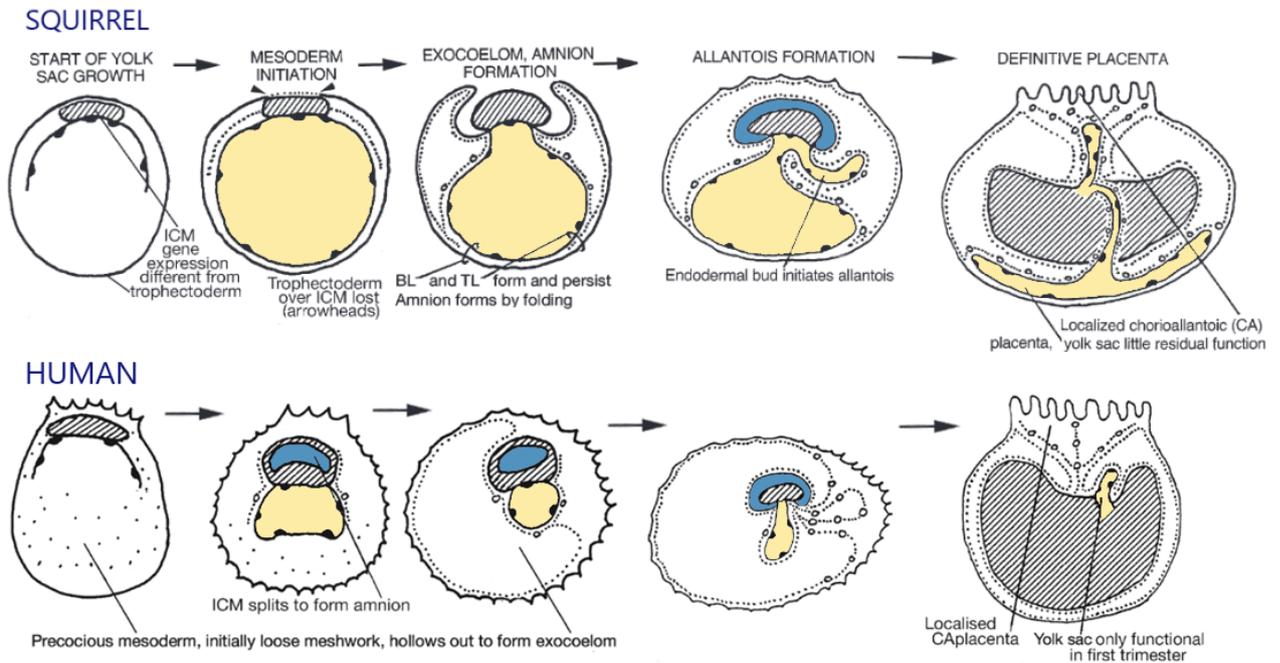


Figure 2 : Schéma des étapes de formation des membranes extra-embryonnaires avant l'implantation, chez l'écureuil et chez l'homme. Cette partie du développement est similaire chez les Ruminants et les écureuils (squirrel). Adapté d'après Wooding (2008).

3.1.2. Comparaison des placentas humains et ovins

3.1.2.1. Type de placenta

On qualifie de choriovitellin un placenta dont le sac vitellin vascularisé et trilaminé est accolé à l'utérus. Un placenta chorioallantoïque a une allantoïde vascularisée et adhérente au chorion (**Wooding, 2008**).

Chez la femme comme chez la brebis, le placenta est choriovitellin seulement en début de gestation, avant la mise en place de sa vascularisation allantoïque. Le sac vitellin demeure jusqu'à la 12^e semaine chez l'Homme, sans adhérer au chorion. Chez la brebis, il est vascularisé du 16^e au 30^e jour de gestation. Le sac vitellin régresse ensuite pour devenir résiduel. Le placenta devient ensuite chorioallantoïque, jusqu'au terme (**Furukawa, 2014 ; Wooding, 2008**).

3.1.2.2. Distinctions morphologiques

Les différences morphologiques entre ces deux espèces sont déjà visibles au niveau de l'utérus. La femme a un utérus simplex, avec un corps et sans corne, alors que la brebis a un utérus bicorné, avec un corps et deux cornes (**Wooding, 2008**).

On s'intéresse par la suite au placenta mature, stable jusqu'au terme. Les placentas ovin et humain se distinguent macroscopiquement par la répartition de la zone d'échange materno-fœtal.

Dans les deux cas, ce sont des placentas non diffus : leurs zones d'échanges sont concentrées sur une surface restreinte (**Furukawa, 2014 ; Wooding, 2008**).

Le placenta ovin est multicotylédonnaire : il comporte entre 100 et 120 points d'insertion dans l'utérus, les cotylédons, répartis sur l'ensemble de l'allantochorion. Ces cotylédons sont fixés sur les caroncules, zones spécialisées de l'endomètre non glandulaire qui sont très vascularisées (figure 3). L'ensemble forme un placentome.

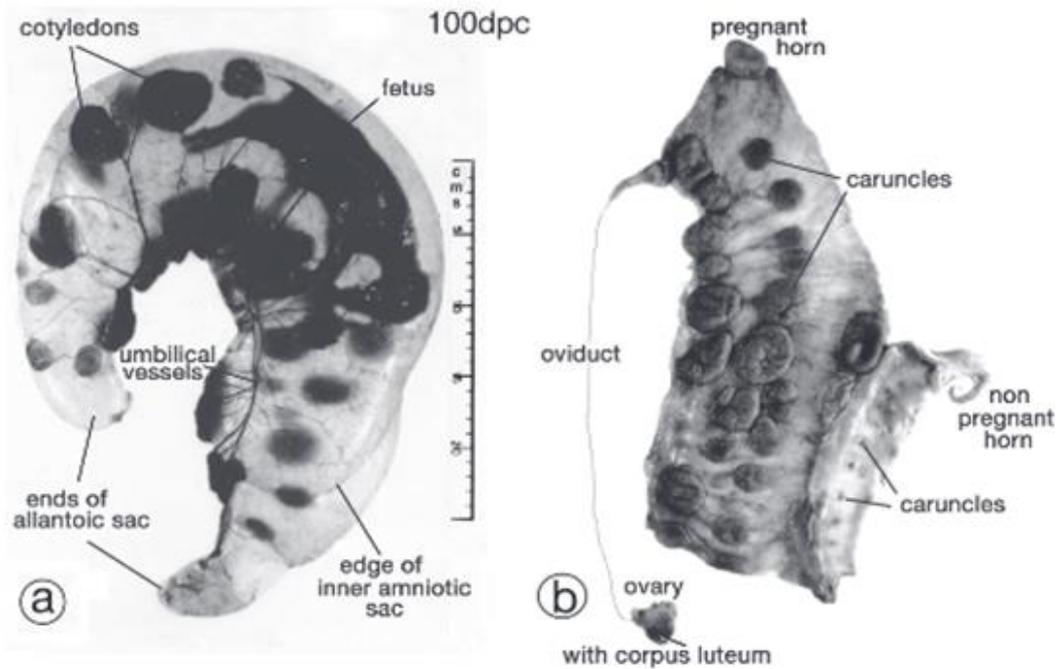


Figure 3 : A gauche : photographie d'un placenta de vache à 100 jours de gestation. A droite : photographie d'une portion de l'utérus de la mère.

Exceptionnellement ici, le conceptus s'est développé dans une seule corne, ce qui explique la petite taille des caroncules dans la corne non gravide. D'après **Wooding (2008)**.

Le placenta définitif chez l'Homme est quant à lui discoïde : sa zone d'insertion dans l'utérus est concentrée sur une seule surface ronde, comme visible sur la figure 4 (**Barry, 2008 ; Furukawa, 2014 ; Wooding, 2008**).

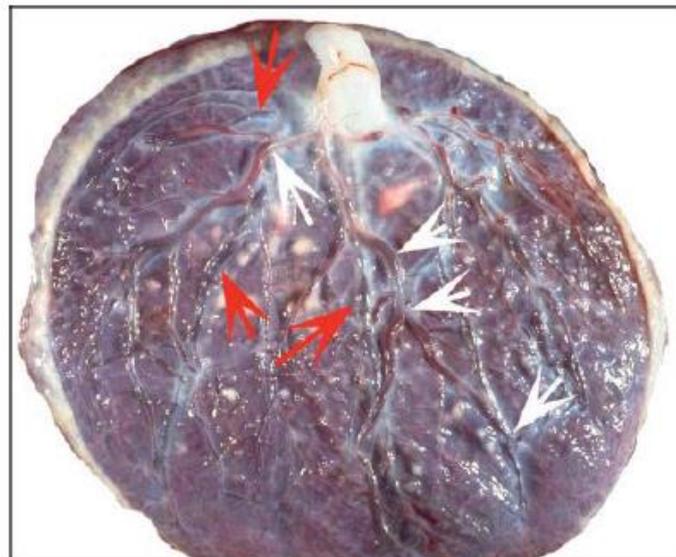


Figure 14. Fetal surface of a term placenta with cord and membranes removed. The small white plaques are subchorionic fibrin deposits that develop from eddying of the intervillous blood. White arrows show the arterial branches; red arrows denote the venous return branches of the surface fetal vessels.

Figure 4 : Photographie de la face fœtale d'un placenta humain à terme. D'après **Benirschke (2004)**.

Ces structures macroscopiques ont néanmoins un point commun. En effet, dans le placenta humain, le disque formé par la surface d'échange est subdivisé en 15 à 40 cotylédons, visualisables sur la figure 5. Ceux-ci ne sont cependant pas exactement équivalents à ceux de la brebis car ils ne sont pas totalement indépendants les uns des autres chez la femme (**Benirschke, 2004 ; Wloch, 2009**).

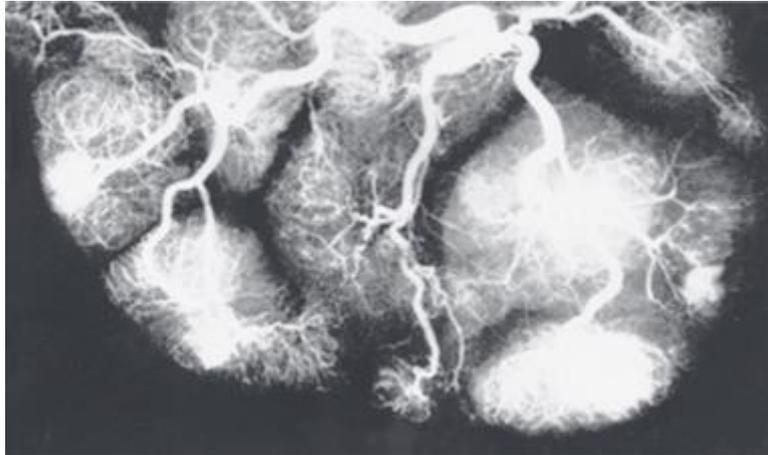


Figure 5 : Visualisation de la circulation fœtale par injection, sur un placenta humain à terme. Adapté d'après **Wooding (2008)**.

3.1.2.3. Classifications histologiques

Les placentas diffèrent entre l'espèce ovine et humaine par leurs structures histologiques, (illustrées en figure 6) et par leur degré d'envahissement de l'endomètre. Ceci a un impact sur le nombre de feuillets séparant le sang maternel et fœtal. Ce paramètre est intéressant pour étudier les échanges materno-fœtaux (**Furukawa, 2014 ; Wooding, 2008**).

Chez l'homme se développe un placenta hémochorial, plus invasif. Du côté utérin, le trophoblaste est composé de cytotrophoblastes qui se multiplient et fusionnent pour former le syncytiotrophoblaste, plus externe. Ce dernier est polarisé, avec une membrane apicale présentant des microvillosités côté maternel, et une membrane basale côté fœtal. Le syncytium envahit l'endomètre, lyse les cellules épithéliales et s'infiltré jusqu'aux parois des artérioles. Par conséquent le sang maternel circule directement entre les villosités des trophoblastes. Le placenta des Primates est par ailleurs hémomonochorial, ce qui signifie qu'une seule couche de cytotrophoblastes sépare le milieu maternel du milieu fœtal (**Benirschke, 2004 ; Staud, 2012 ; Wooding, 2008**). Progressivement, au cours de la grossesse, les cytotrophoblastes se raréfient et cessent de tapisser l'ensemble du syncytiotrophoblaste pour ne plus former que des amas (**Wooding, 2008**).

Ici le sang fœtal est donc séparé de celui de la mère par trois couches cellulaires : l'endothélium fœtal, le tissu conjonctif de la villosité, les cytotrophoblastes et les syncytiotrophoblastes (**Benirschke, 2004 ; Furukawa, 2014 ; Wooding, 2008**).

Les ovins ont un placenta synépithéiochorial, encore nommé syndesmochorial. Ce type de placentation, typique des Ruminants, est superficielle, sans invasion de l'endomètre. Des trophoblastes binucléés fusionnent avec les cellules de l'épithélium utérin et forment ainsi

des cellules plurinucléées, syncytiums d'origine mixte maternelle et foetale (**Furukawa, 2014 ; Wooding, 2008**).

Ainsi, le sang foetal est séparé du sang maternel par six couches cellulaires : l'endothélium foetal, les trophoblastes, les trophoblastes fusionnés (syncytium), l'endomètre, le tissu interstitiel, et l'endothélium maternel (**Furukawa, 2014 ; Walker, 2017 ; Wooding, 2008**). Le nombre de couches cellulaires qui séparent les deux sangs est donc plus élevé que chez la femme.

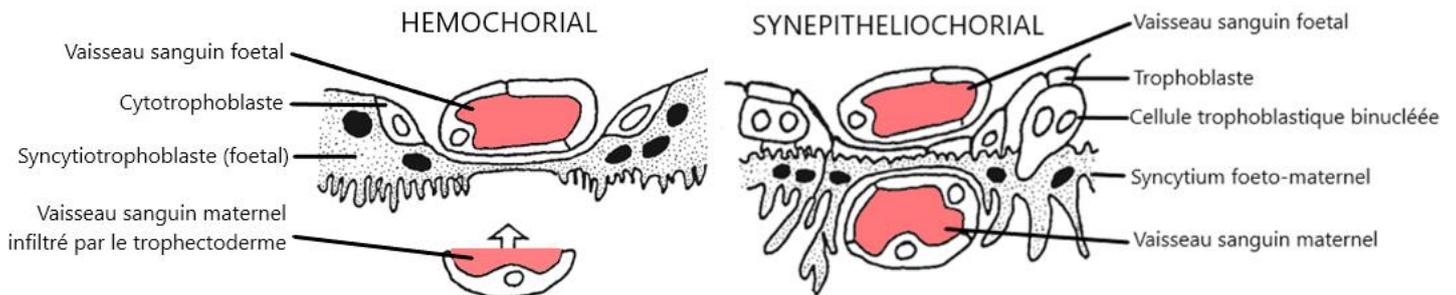


Figure 6 : Schéma des différents types histologiques de placenta. Adapté d'après **Wooding (2008)**.

Pour le placenta hémochorial, le faible nombre de couches cellulaires limite les intermédiaires. Le syncytiotrophoblaste récupère directement des molécules présentes dans le plasma maternel. L'immunité passive est aussi transmise aisément. Toutefois, le fœtus est moins protégé immunologiquement de la mère (**Enders, 2004**).

En ce qui concerne le placenta synépithéliochorial, le nombre plus élevé de couches séparant les deux circulations sanguines pourrait représenter un frein pour la transmission de molécules. Néanmoins, la présence d'un syncytium d'origine mixte semble faciliter le passage de certains composés, comme la prolactine. En parallèle, cette placentation apporte une meilleure protection immunologique du fœtus (**Enders, 2004**).

3.1.2.4. Structures vasculaires des zones d'échange

3.1.2.4.1. Généralités sur les modalités d'échanges

Les échanges sanguins peuvent être étudiés en fonction de la direction relative des flux sanguins maternels et foetaux. En effet, les capacités d'échanges ne sont pas les mêmes si le sang maternel circule à contre-courant, en courant transversal ou parallèlement au sang foetal. Une circulation à contre-courant permettrait le meilleur échange : la concentration finale dans le sang veineux foetal pourrait alors atteindre la concentration initiale dans le sang artériel maternel. Les courants transversaux et parallèles permettraient uniquement d'atteindre la moitié de la concentration initiale maternelle, comme schématisé sur la figure 7. Cependant, ces modalités dépendent des structures en jeu.

Les échanges ont particulièrement lieu au niveau des capillaires, grâce aux faibles distances séparant les deux milieux et à la vitesse de circulation réduite (**Leiser, 1997 ; Wooding, 2008**).

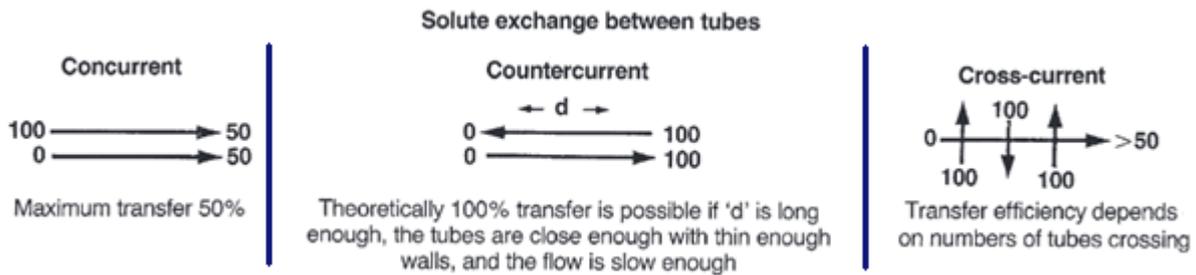


Figure 7 : Schéma des transferts optimaux réalisables entre deux capillaires, selon la direction relative de leurs flux. Adapté d'après **Wooding (2008)**.

3.1.2.4.2. Chez l'homme

Chez l'homme, le chorion projette des villosités dans l'endomètre. La présence de ces villosités permet d'avoir une vaste surface d'échange. On estime sa surface à 10m² en fin de grossesse (**Benirschke, 2004**).

Le syncytiotrophoblaste est en contact direct avec le sang maternel, ce qui réduit le nombre de couches cellulaires à traverser par les molécules pour atteindre le sang fœtal (**Benirschke, 2004 ; Furukawa, 2014 ; Wooding, 2008**).

Le sang maternel arrive dans l'espace intervilloux via les artères spiralées qui freinent le sang. Le sang est libéré dans la chambre intervillouse sous forme de jets qui atteignent la base chorionique, puis il retourne vers les veines, situées à proximités des artères. Dans cette zone, le sang maternel se situe donc hors du réseau vasculaire et circule directement entre les villosités choriales (**Leiser, 1997**).

Concernant la circulation fœtale, deux artères ombilicales anastomosées apportent le sang dans le chorion (**Benirschke, 2004**). Les vaisseaux se ramifient ensuite, jusqu'en 16 subdivisions, pour atteindre l'extrémité des villosités. Les villosités sont subdivisées en villosités principales, intermédiaires et terminales, subissant jusqu'à six circonvolutions (**Leiser, 1997**). Chez l'homme les capillaires terminaux sont cinq fois plus longs que chez la brebis. Selon **Leiser (1997)**, les nombreuses anastomoses, les dilatations et des tronçons rectilignes permettent de maintenir une circulation suffisante, en palliant à la résistance liée à cette longueur. Les artérioles sont parallèles aux veinules dans leur partie terminale.

L'échange materno-fœtal n'a pas lieu selon un courant précis, mais par le passage du sang maternel entre les villosités fœtales (figure 8). Il en résulte des échanges à contre-courant et par courant transversal (**Leiser, 1997 ; Wooding, 2008**). Ces échanges sont respectivement favorisés par la longueur des villosités terminales et par le nombre de villosités rencontrées (**Wooding, 2008**).

3.1.2.4.3. Chez la brebis

Chez les ovins, les placentomes sont composés de villosités choriales infiltrées dans des cryptes de caroncules endométriales qui se mettent en place à partir de la 4^e semaine de gestation (**Barry, 2008 ; Wooding, 2008**). Les placentomes sont en forme de coupe dans cette espèce (**Leiser, 1997**). Leurs deux parties maternelles et fœtales se développent progressivement (**Barry, 2008**). La masse maximale des placentomes est atteinte entre 70 et 90 jours de gestation, soit en début de seconde moitié de gestation. Les villosités ont alors

atteint leur taille maximale. Cependant la surface des microvillosités continue d'augmenter jusqu'à 120-125 jours de gestation et les capillaires fœtaux semblent encore proliférer en parallèle de la croissance fœtale (**Wooding, 2008**).

Les artères maternelles qui irriguent les caroncules sont les artères septales. Comme chez la femme, elles sont spiralées chez la brebis mais ici le sang est peu freiné. Cette forme spiralée permettrait d'apporter une souplesse au placentome pour mieux supporter les contraintes mécaniques. La circulation maternelle se poursuit dans un réseau capillaire qui s'organise en corbeille apposée autour des villosités fœtales, au niveau des septas (figure 8). Contrairement à chez la femme, le sang maternel suit chez la brebis un cheminement préétabli au niveau de la zone de contact et reste dans les vaisseaux sanguins (**Leiser, 1997**).

Les villosités fœtales sont organisées en arborescence. Elles sont également subdivisées en villosités principales, intermédiaires et terminales, subissant jusqu'à cinq circonvolutions. Leur structure générale est donc plutôt similaire à celle de l'homme. La densité du complexe capillaire est cependant moindre chez les Ruminants en comparaison avec l'homme (**Leiser, 1997**).

Au sein de chaque villosité, la relation entre les flux sanguins d'origine maternelle et fœtale est en courant transversal. Les échanges sont alors favorisés par le grand nombre de villosités rencontrées. La disposition générale est à contre-courant, avec les circulations fœtales et maternelles abouchant chacune à un côté opposé du placentome. La longueur des vaisseaux favorise de meilleurs échanges (**Leiser, 1997 ; Wooding, 2008**).

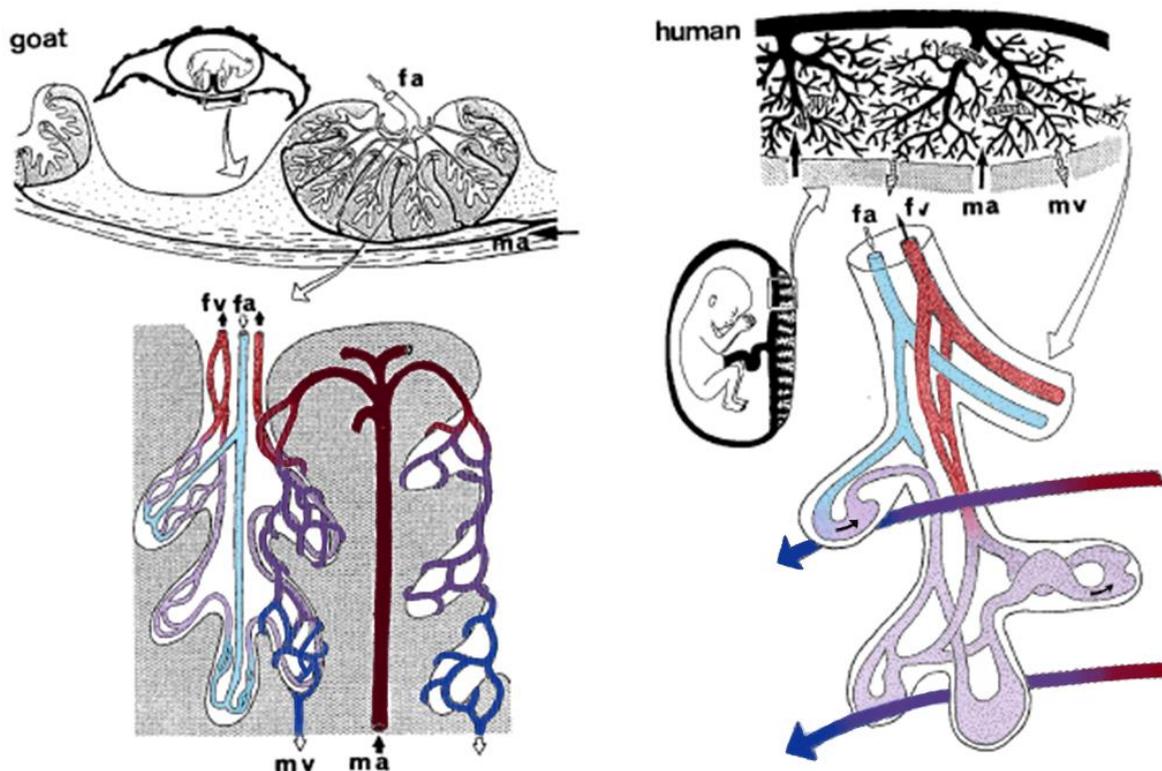


Figure 8 : Représentation des flux sanguins à l'échelle des villosités dans un placentome de chèvre (semblable à celui de brebis) à gauche, et dans un cotylédon humain à droite. Adapté d'après Leiser (1997).

« ma » : artériole maternelle ; « mv » : veinule maternelle ; « fa » : artériole fœtale ; « fv » : veinule fœtale

3.1.2.5. Bilan sur la comparaison de structure des placentas humains et ovins

Macroscopiquement, les structures des placentas humains et ovins divergent au niveau de la répartition de la surface d'échanges. De même, à l'échelle microscopique, des différences notables existent : l'invasion de l'endomètre est plus importante chez la femme, ce qui induit un plus faible nombre de couches cellulaires séparant les deux circulations sanguines et une irrigation sanguine maternelle par lacune.

Cependant les relations entre les flux sanguins sont comparables, à contre-courant et en courant transverse, avec des surfaces d'échanges développées et des villosités fortement vascularisées.

Le nombre de couches séparant les deux milieux sanguins semble surtout influencer le passage des nutriments, sans avoir un impact sur le transfert de gaz. Le déplacement des gaz ainsi que de l'urée dépendrait principalement de la distance séparant les sangs. Cependant, le rapport entre les flux sanguins serait la composante avec le plus d'impact sur le passage de molécules xénobiotiques (*Enders, 2004 ; Furukawa, 2014 ; Mihaly, 1983 ; Wooding, 2008*).

3.1.3. Mécanismes d'échanges et transporteurs materno-fœtaux

3.1.3.1. Mécanismes généraux

Les apports en nutriments peuvent suivre deux grandes modalités distinctes : l'hémotrophie dont la source est le sang maternel et l'histotrophie dont l'origine est extracellulaire, avec la libération de ces substances dans un espace dédié situé entre l'utérus et le placenta. Cette seconde modalité est notamment connue chez la brebis et ne concernerait que des nutriments (**Wooding, 2008**).

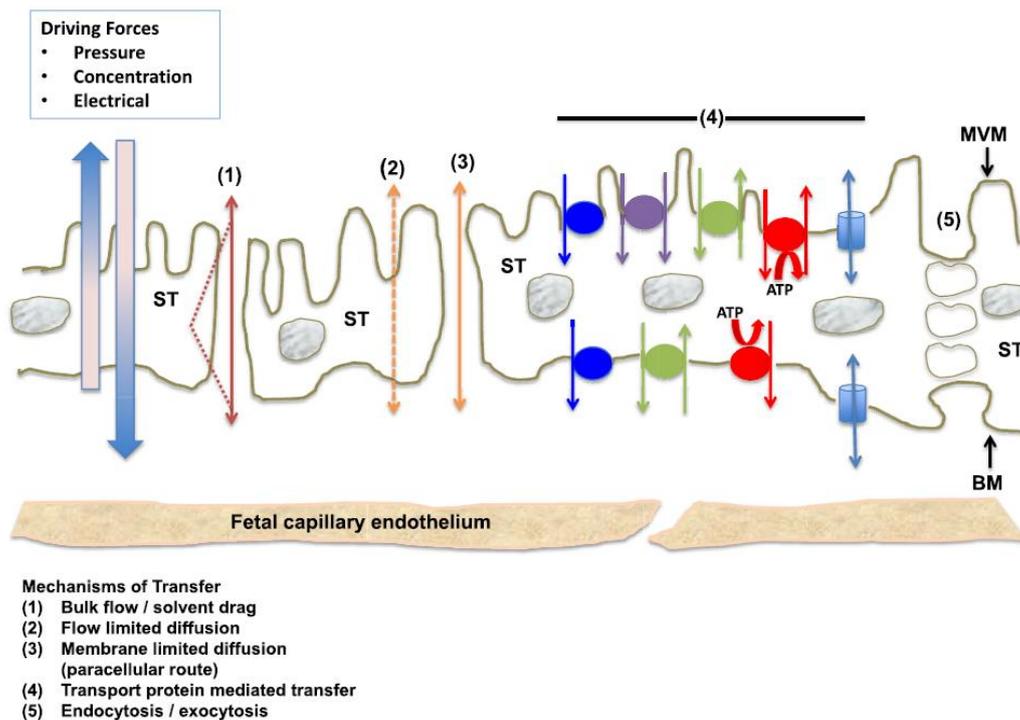


Fig. 1. Schematic diagram illustrating the main mechanisms of transfer across the human placenta. ST = syncytiotrophoblast; MVM = microvillous plasma membrane; BM = basal plasma membrane; ATP = adenosine triphosphate.

Figure 9 : Schéma des divers types de transport en jeu à travers les syncytiotrophoblastes. D'après **Sibley (2018)**.

3.1.3.1.1. La diffusion simple

La diffusion simple concerne principalement de petites molécules hydrophobes non ionisées (figures 9, 10). En effet, ces molécules sont capables de traverser les membranes plasmiques (**Sibley, 2018**). Pour un poids moléculaire supérieur à 500Da, la diffusion est incomplète, et elle est très restreinte au-delà de 1000Da (**Syme, 2004**). Les molécules liées aux protéines plasmatiques ne peuvent donc pas passer la membrane tant qu'elles restent liées.

Ce phénomène est plus lent pour les molécules plus hydrophiles. L'amoxicilline est une petite molécule de 365,4 g/mol faiblement lipophile avec un logP de 0,87. On ne s'attend pas à une diffusion rapide à travers les membranes (**Pubchem**).

Cette diffusion est favorisée par une surface d'échanges développée, une fine couche qui sépare les deux secteurs, et par des flux sanguins élevés. Elle est donc plus importante en fin de gestation (**Sibley, 2018 ; Tetro, 2018**). Les molécules se déplacent selon un gradient de concentrations. Il est toutefois possible qu'à « l'équilibre », la concentration fœtale soit supérieure à la concentration maternelle à cause d'un piégeage par différence de pH entre

les deux secteurs. Ceci concerne des molécules faiblement basiques (**Tetro, 2018**). **Syme (2004)** rapporte une meilleure perméabilité du placenta humain aux molécules hydrophiles que le placenta ovin.

3.1.3.1.2. Transfert par transporteurs protéiques

Ce type de transfert permet d'accélérer le passage de molécules hydrophiles telles que le glucose, des ions ou des acides aminés (figures 9, 10) et de grosses molécules hydrophobes comme les acides gras (**Sibley, 2018**). Il peut concerner des xénobiotiques.

Il existe plusieurs types de transports (**Sibley, 2018**) :

- Les transports actifs, permis par des co-transporteurs et des pompes. Ils peuvent permettre de déplacer des molécules contre leur gradient de concentration. Les pompes utilisent l'énergie d'hydrolyse de l'ATP, tandis que les co-transporteurs se servent d'un gradient électrochimique en transférant deux substrats en même temps. Ces transporteurs sont saturables.
- La diffusion facilitée, réalisée par les canaux transmembranaires, qui facilitent de façon sélective le passage de molécules dans le sens de leur gradient de concentration. Cela concerne peu de xénobiotiques (**Syme, 2004**).

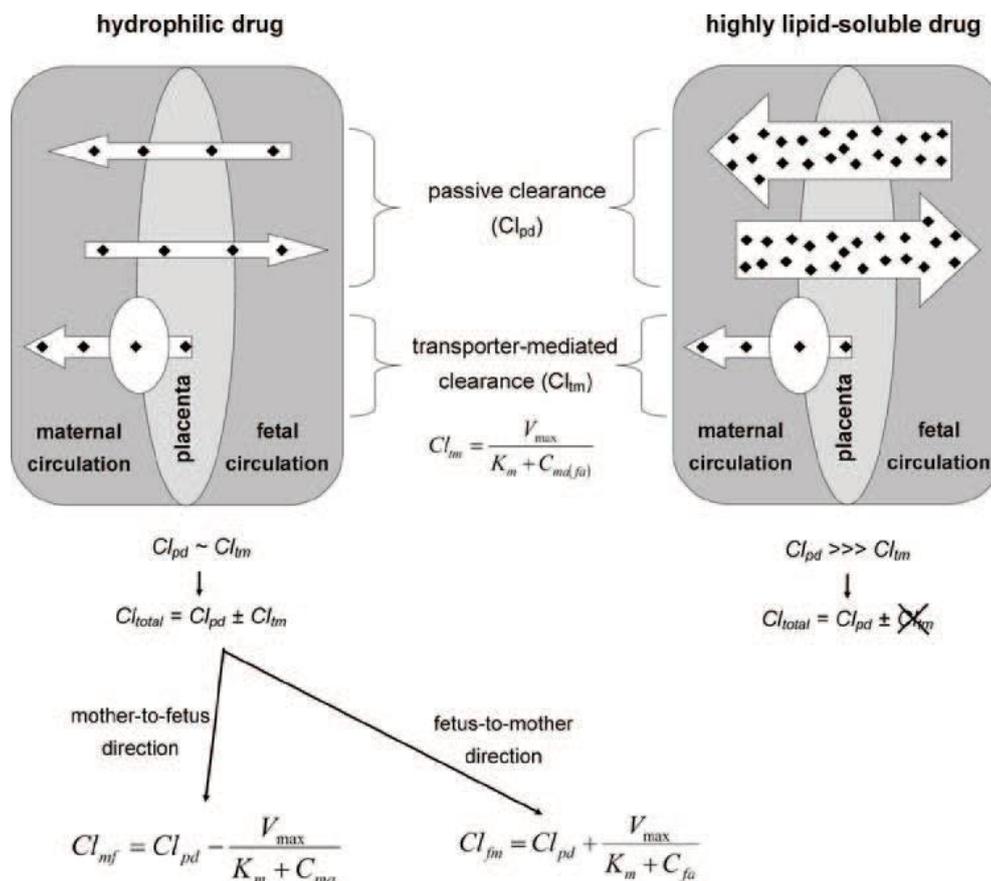


Figure 10: Schéma du modèle pharmacocinétique de transferts transplacentaires par des transporteurs membranaires, proposé par Staud. L'amoxicilline se situe dans le cas d'une molécule hydrophile (à gauche), avec une faible diffusion passive. D'après **Staud (2012)**.

3.1.3.1.3. La transcytose

La transcytose peut être réalisée par trois processus différents : la pinocytose, la phagocytose, et l'endocytose médiée par un récepteur (**Tetro, 2018**). Elle se produit au niveau de l'endothélium fœtal et du syncytiotrophoblaste chez l'homme (**Sibley, 2018**).

La transcytose est notamment connue pour participer à l'accumulation de gentamicine dans le secteur fœtal humain. Elle semble toutefois avoir un rôle minoritaire pour de petites molécules xénobiotiques. L'utilisation de la transcytose est explorée pour la formulation de spécialités visant à traiter le fœtus. Par exemple, une manipulation a montré que de la pénicilline en liposome est transférée 4,2 fois plus au fœtus que de la pénicilline libre (**Tetro, 2018**).

3.1.3.1.4. Histotrophie

Ce type d'échange se produit au niveau des aréoles, des espaces dédiés dans les placentas épithéliochoriaux et synépithéliochoriaux. Ces aréoles se situent entre les placentomes chez la brebis. L'épithélium du trophoblaste y est en contact avec l'épithélium utérin et recouvre une glande utérine (**Wooding, 2008**).

Des nutriments (calcium notamment) et facteurs de croissance sont sécrétés dans l'espace formé (**Dunlap, 2015 ; Wooding, 2008**).

3.1.3.2. Mécanismes d'échanges de l'amoxicilline

Le rôle des transporteurs transmembranaires semble être majeur dans le fonctionnement de la barrière placentaire. Cette barrière n'est donc pas uniquement « passive ». La connaissance de ces transporteurs permet de mieux comprendre et anticiper le comportement pharmacocinétique des molécules étudiées (**Staud, 2012**).

Les transporteurs situés sur les membranes cellulaires des villosités fœtales, que ce soit sur la membrane basale ou apicale, modifient la distribution des molécules à travers la barrière placentaire. Leur orientation en direction du secteur maternel permet d'être fœto-protecteur et de rejeter des molécules potentiellement toxiques et des déchets métaboliques. S'ils sont orientés dans l'autre sens, les transporteurs augmentent l'absorption de molécules utiles à la vie fœtale.

Certains transporteurs comptent à la fois des substrats endogènes et exogènes. Réciproquement, une même molécule peut transiter par plusieurs transporteurs différents à travers la barrière placentaire (**Dallmann, 2019 ; Walker, 2017**).

Les structures connues à ce jour sont communes avec d'autres barrières organiques (hémato-méningée, testiculaire) ou des organes spécialisés dans les échanges (foie, reins, intestin grêle) (**Dallmann, 2019 ; Staud, 2012**).

Les transporteurs impliqués appartiennent à deux superfamilles : ABC (ATP-Binding Cassette) et SLC (Solute Carrier) (**Staud, 2012 ; Walker, 2017**). C'est cette seconde famille qui nous intéresse car elle comporte des transporteurs susceptibles d'interagir avec les bêta-lactamines. A ce jour, aucun transporteur ABC ne semble impliqué dans le transport de bêta-lactamines dans le placenta.

Les transporteurs SLC permettent le transport sans énergie de molécules hydrophiles ou chargées. Certains sont spécifiques de molécules endogènes : des acides aminés, glucides ou nucléosides. D'autres sont dits « polyspécifiques », avec un large spectre de molécules reconnues. Ces derniers jouent un rôle majeur dans l'élimination de molécules médicamenteuses, notamment au niveau des reins et du foie (**Staud, 2012 ; Walker, 2017**). La superfamille SLC compte de nombreux transporteurs, parmi lesquels : OCTN (Organic Cation/carnitine Transporters), OAT (Organic Anion Transporter), OATP (Organic Anion Transporting Polypeptides)... (**Dallmann, 2019 ; Staud, 2012 ; Tetro, 2018**).

Chez la femme, les transporteurs placentaires susceptibles d'être impliqués dans le transfert d'amoxicilline sont :

- OATP-C, également nommé OATP-1B1 ou SLCO1B1. Selon une étude de **Nakakariya (2008)** menée sur des cellules de foie humain, il permet le passage de la nafcilline. Il s'agit d'une pénicilline semi-synthétique, plus lipophile que l'amoxicilline avec un logP = 3,3 (**Pubchem ; Turnidge, 2010**). Ce transporteur pourrait admettre l'ensemble des pénicillines comme substrat. Il est physiologiquement dédié au transfert des acides biliaires (**Dallmann, 2019**).

Or, OATP-C apparaît être aussi présent au niveau des trophoblastes (**Dallmann, 2019 ; Vähäkangas, 2009**). Cependant, son expression semble faible et se produire plutôt en début de gestation. **Walker (2017)** et **Prouillac (2010)** le situent sur la membrane apicale (figure 11). Néanmoins, les informations apportées par l'article de **Dallmann (2019)** à propos de ce transporteur sont contradictoires avec le reste de la littérature.

- OATP-E, aussi appelé OATP4A1 ou SLCO4A1. Il pourrait transporter de la benzylpénicilline. Son substrat endogène est la thyroxine (**Dallmann, 2019 ; Staud, 2012 ; Walker, 2017**). Cependant, ces deux molécules sont plus lipophiles que l'amoxicilline, avec un logP de respectivement 1,83 et 4 (**Pubchem**).

OATP-E est situé sur le pôle apical des syncytiotrophoblastes (figure 11). Il est exprimé tout au long de la grossesse. Il facilite l'entrée de molécules dans le compartiment fœtal (**Dallmann, 2019 ; Tetro, 2018 ; Walker, 2017**).

Ainsi, les transporteurs OATP-C et OATP-E sont impliqués dans le transport de pénicillines à travers la barrière placentaire. Toutefois, leurs substrats sont plus lipophiles que l'amoxicilline, il n'est donc pas certain qu'elle soit prise en charge par ces transporteurs.

D'autres transporteurs, OAT1 et OAT3, sont impliqués dans le transport de bêta-lactamines mais semblent absents du placenta (**Dallmann, 2019**). Enfin, OCTN2 est connu pour son interaction avec les céphalosporines au niveau de la membrane apicale du syncytiotrophoblaste, mais n'a pas de pénicilline connue pour substrat à ce jour (**Ganapathy, 2000 ; Staud, 2012**).

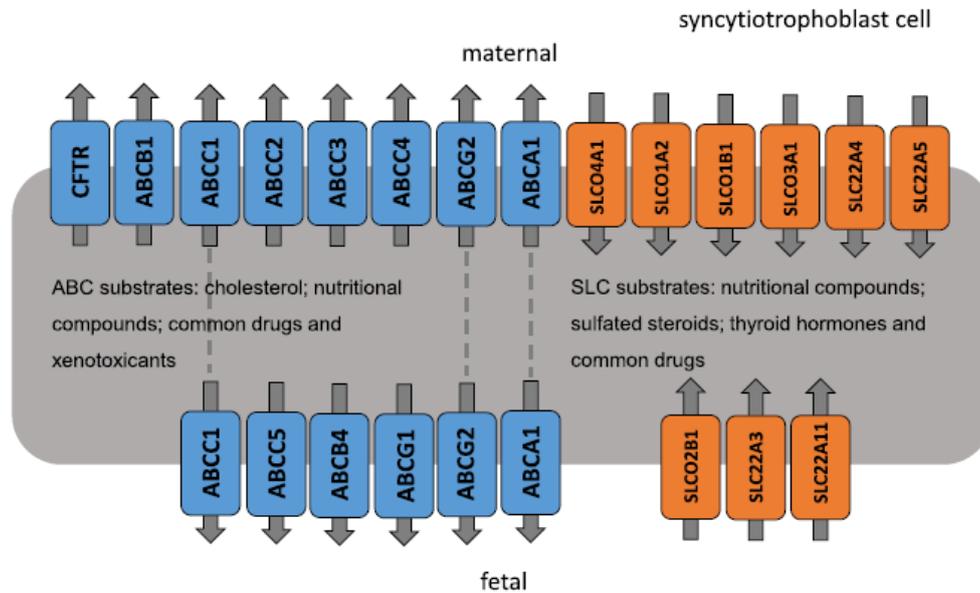


Figure 2. Molecular transporter transcripts with confirmed syncytiotrophoblast location in the human placenta and their direction of transport. SLC (orange) and ABC (blue) are found in both apical (maternal-facing) and basolateral (fetal-facing) membranes. As seen by the schematic, understanding of complete transplacental routes for compound movement is incomplete. Grey dashed line indicates the transporter has been found to be expressed on both membranes. It is likely that many molecules must use a combination of transporters to cross the membrane and as many transporters have common substrates, this is entirely possible. Substrates mentioned here are generalized substrates of the superfamilies.

Figure 11 : Localisation des transporteurs transmembranaires connus dans le placenta humain. Les transporteurs *SLCO1B1* (OATP-C) et *SLCO4A1* (OATP-E), en orange sur le schéma, sont localisés sur le pôle maternel de la membrane cytoplasmique du syncytiotrophoblaste et orientés vers l'intérieur de la cellule. D'après **Walker (2017)**.

Le placenta ovin possède également des transporteurs SLC dont le rôle dans le transport de glucose et d'acides aminés a été établi (**Dunlap, 2015**). Cependant, leur interaction avec des molécules médicamenteuses ne semble pas encore renseignée. La présence de transporteurs susceptibles de prendre en charge l'amoxicilline au niveau du placenta chez la brebis est donc inconnue. Par ailleurs les correspondances entre les transporteurs humains et ceux d'autres espèces restent à établir (**Nakakariya, 2008**).

3.2. Modifications du métabolisme maternel

Diverses modifications physiologiques liées à la grossesse peuvent mener à des pharmacocinétiques différentes.

L'absorption maternelle peut être modifiée pour un médicament administré par voie orale, à cause d'un ralentissement de la vidange gastrique et du colon et d'une baisse de motilité intestinale. Cependant, la biodisponibilité orale de l'ampicilline paraît inchangée durant la grossesse (*Heikkila, 1994 ; Tasnif, 2016*).

Par ailleurs, des modifications du système cardiovasculaire et l'augmentation de la proportion de liquide avec la création d'un nouveau secteur (fœtal) peuvent influencer la distribution (*Heikkilä, 1994*).

Le métabolisme se trouve également modifié, avec des changements de proportions respectives de différentes enzymes de la phase I et II. Les transporteurs membranaires suivent un phénomène semblable. De même, la concentration en albumine et en alpha-1-glycoprotéine plasmatique est diminuée durant la grossesse tandis que la transcortine est plus concentrée. Ceci peut influencer la proportion de molécules liées aux protéines plasmatiques. L'impact est d'autant plus important que le composé en question se lie fortement aux protéines plasmatiques (*Tasnif, 2016*). Ce n'est pas le cas de l'amoxicilline, qui y est liée à 20% environ (*Delis, 2009 ; McNabb, 2001*).

L'augmentation de la filtration rénale maternelle entraîne quant à elle des clairances plus importantes. Cependant, elle chute quelques semaines avant terme (*Tasnif, 2016*). L'impact de cette évolution pourrait être important pour l'élimination de l'amoxicilline, qui est principalement rénale (*Salvo, 2009*).

3.3. Modifications par le métabolisme fœtal et placentaire

3.3.1. Métabolisme fœtal

En fin de grossesse, les reins du fœtus sont fonctionnels. Ils éliminent surtout les molécules hydrophiles dans le liquide amniotique. Le fœtus recycle ensuite le liquide amniotique en l'ingérant et cette molécule peut alors être réabsorbée. Ces substances, comme les pénicillines, peuvent s'accumuler dans le liquide amniotique (*Heikkilä, 1994*).

Les composés hydrophobes sont surtout éliminés par métabolisation par le foie fœtal et le placenta, mais les mécanismes en jeu sont rapidement saturés (*Heikkilä, 1994*).

Le fœtus est particulièrement sensible à certains xénobiotiques, entre autres à cause d'une barrière hémato-méningée plus perméable que chez l'adulte (*Heikkilä, 1994*).

3.3.2. Métabolisme placentaire

Le placenta contient des enzymes de catalyse de la phase I et de la phase II. Leurs concentrations évoluent en cours de gestation (*Tetro, 2018*).

Les enzymes de la phase I correspondent notamment aux cytochromes P450 et sont impliquées dans des réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse (*Tetro, 2018*). Elles semblent avoir une action significative pour un faible nombre de xénobiotiques. Elles peuvent les activer et les rendre toxiques pour le fœtus ou au contraire les métaboliser en composés inactifs (*Syme, 2004*).

Peu de réactions de la phase II semblent avoir un impact sur des xénobiotiques. Cependant, certains composés glucuronidés, comme l'olanzapine, pourraient être significativement moins transférés au fœtus que sous leur forme initiale (*Syme, 2004*).

Il semblerait toutefois que le rôle métabolique du placenta sur l'exposition fœtale aux xénobiotiques soit secondaire en comparaison avec celui du foie maternel (*Tetro, 2018*).

3.4. Bilan des modifications pharmacocinétiques concernant l'amoxicilline durant la gestation

Les principes généraux de transfert de molécules à travers le placenta sont de mieux en mieux connus, mais il est difficile de prédire de façon théorique le passage de l'amoxicilline.

Actuellement, il est impossible d'affirmer qu'il existe un transporteur placentaire prenant en charge cette molécule. Sachant qu'il s'agit d'une petite molécule hydrophile, l'existence d'un tel transporteur aurait un rôle majeur sur son passage de la barrière placentaire (*Staud, 2012*). Il est également difficile de prédire s'il existe une différence interspécifique notable entre la femme et la brebis concernant le passage de cette molécule.

4. UTILISATION DE L'AMOXICILLINE DURANT LA GROSSESSE CHEZ LA FEMME

4.1. Traitement des affections du fœtus et de ses annexes

4.1.1. Traitement des affections du fœtus et de ses annexes lors de Rupture Prématurée des Membranes

4.1.1.1. Présentation de la Rupture Prématurée des Membranes

La rupture prématurée des membranes, appelée Preterm Pre-labour Rupture Of Membranes en anglais (PPROM), correspond au déchirement des membranes fœtales avant le déclenchement du travail, à moins de 37 semaines de grossesse (**ACOG, 2018**). Elle concerne en moyenne 3% des 4 millions de grossesses annuelles aux USA (**Martin, 2018 ; Mercer, 2003**).

Ce phénomène est associé à une perte de liquide amniotique, qui entraîne un oligohydramnios lorsqu'elle est massive. L'amnios perd son étanchéité et une contamination bactérienne devient possible (**Mercer, 2003**).

Si cette rupture intervient près du terme, elle pose peu de problèmes car le travail se déclenche dans la majorité des cas dans les 28h qui suivent (**ACOG, 2018 ; Mercer, 2003**). Le cas qui nous intéresse est celui d'une rupture précoce, avant la 34^e semaine de grossesse. Le déclenchement de l'accouchement impliquerait alors une naissance prématurée, sachant que le prématuré est considéré comme non viable avant 24 semaines de grossesse (**Margato, 2012**). D'autre part, la poursuite de la grossesse n'est pas sans risque : elle augmente la probabilité d'infection intra-utérine. Le choix d'une prise en charge conservatrice ou du déclenchement du travail dépend donc de l'évaluation des bénéfices et des risques.

4.1.1.2. Incidence des infections intra-utérines

Les infections intra-utérines atteignent 13 à 60% des femmes enceintes atteintes de PPRM (**Mercer, 2003**). L'oligohydramnios est un facteur favorisant de développement d'une infection intra-amniotique (**Gomez, 1997**). Les PPRM plus précoces sont également davantage sujettes aux infections, comme l'indique la tendance sur le graphique suivant (figure 12) (**Ramsey, 2005**).

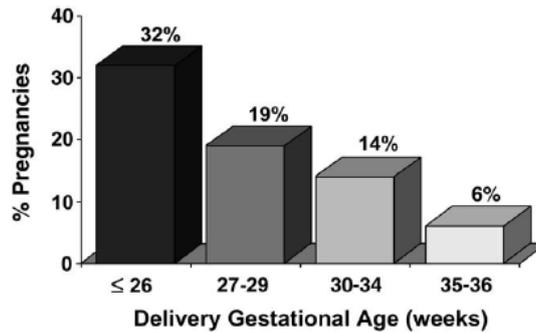


Figure Incidence of chorioamnionitis in PPRM pregnancies by gestational age at delivery.

Figure 12 : Incidence des chorioamnionites lors de PPRM, en fonction de l'âge de grossesse. D'après Ramsey (2005).

L'infection peut se manifester notamment par une chorioamnionite, en touchant les membranes placentaires, ou une endométrite en atteignant la muqueuse utérine. Le fœtus et la mère sont alors tous deux exposés aux agents pathogènes. Cette affection augmente la morbidité maternelle et fœtale.

4.1.1.3. Conséquences des PPRM

Mercer (2003) a établi l'évolution des morbidités fœtales majeures les plus fréquentes en fonction du nombre de semaines de grossesses à la naissance, chez des femmes atteintes de PPRM (figure 13).

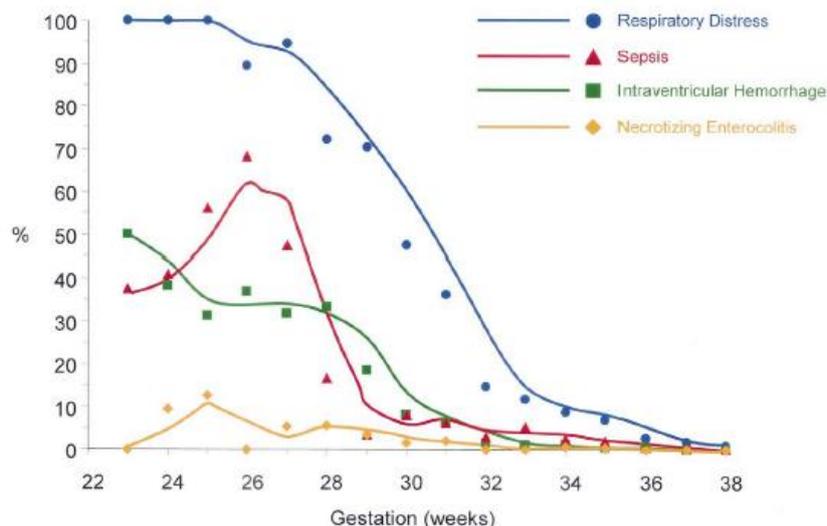


Figure 2. Acute morbidity by gestational age among surviving infants. Results of a community-based evaluation of 8523 deliveries, 1997–1998, Shelby County, Tennessee. Curves smoothed by 2-point average.

Mercer. Treatment of Preterm PROM. Obstet Gynecol 2003.

Figure 13 : Graphique représentant la morbidité aiguë en fonction de l'âge gestationnel à la naissance, parmi les nourrissons ayant survécu. Les résultats ont été obtenus à partir de l'évaluation de 8523 accouchements entre 1997 et 1998 dans le Tennessee. D'après Mercer (2003).

On constate qu'avant la 32^e semaine de grossesse, le nouveau-né prématuré a plus de 30% de chances de présenter une détresse respiratoire. De même, un accouchement avant

la 30^e semaine implique un risque plus important d'hémorragie intra-ventriculaire, d'entérocolite nécrosante et de sepsis néonatal (**Mercer, 2003**). Les trois premières complications sont partiellement prévenues par l'administration anténatale de glucocorticoïdes (**ACOG, 2018**).

La réduction de la survenue de ces quatre complications est aussi possible en prolongeant la grossesse grâce à une prise en charge conservatrice, lorsque la PPROM survient avant 34 semaines de grossesse (**ACOG, 2018**). Cependant, dans 50 à 60% des cas, ce prolongement de grossesse dure moins d'une semaine (**Mercer, 2003**).

Le prolongement de grossesse entraîne une augmentation du risque de chorioamnionite. Cette infection fait croître le risque de morbidité néonatale en comparaison avec une PPROM simple. Ainsi, dans une étude portant sur 430 cas de PPROM enregistrés entre 1998 et 2000 en Alabama, des morbidités majeures sont présentes dans 55% des cas infectés contre 18% des cas sans infection (**Ramsey, 2005**). En effet, en comparaison avec des PPROM simples, les chorioamnionites cliniques augmentent significativement le taux de sepsis néonatal (8,5% au lieu de 1,9%) et de score Apgar (score qui évalue la vitalité du nourrisson) faible à 5 minutes de vie (72% contre 55%) (**Dexter, 1999**). Le risque de troubles du développement neurologique est également majoré. Les anomalies engendrées peuvent alors avoir un effet sur le long terme (**Mercer, 2003**).

Parce qu'elle favorise entre autres les naissances prématurées et les infections intra-utérines, la PPROM est à l'origine d'une hausse de la mortalité néonatale.

Par ailleurs des complications maternelles peuvent également être observées, parmi lesquelles : des infections, des rétentions placentaires, et plus marginalement des sepsis (**ACOG, 2018 ; Mercer, 2003**).

Afin de prolonger la grossesse tout en limitant la morbidité maternelle et fœtale causée par une infection intra-utérine, une antibioprophylaxie est aujourd'hui recommandée (**ACOG, 2018 ; Mercer, 2003**). Cependant, des protocoles se sont révélés inefficaces et ont laissé penser que l'administration d'antibiotiques était inutile dans ce contexte (**Ramsey, 2005**).

4.1.1.4. Microorganismes impliqués

Gomez (1997) décrit quatre voies de contamination intra-utérine possibles en absence de lésion du placenta. La voie principale est la voie ascendante depuis le vagin. La colonisation passe alors par l'endocol, la cavité utérine, puis traverse la paroi placentaire avant d'atteindre le liquide amniotique, sans passer par le sang. Or, la barrière placentaire n'est plus complètement intègre après la survenue d'une PPROM, et cela facilite la contamination fœtale. Les autres voies de contamination sont : la dissémination hématogène, la contamination à partir de la cavité péritonéale, et enfin la voie iatrogène (lors d'une amniocentèse par exemple).

Dans la majorité des cas, l'infection est multibactérienne et la concentration en germes est de l'ordre de 10^5 unités formant colonie par millilitre (UFC/mL) (**Gomez, 1997**). Une étude menée par **Saghafi (2018)** sur 200 patientes souffrant de PPROM a révélé la présence de germes dans l'endocol dans 68% des cas. Les principaux détectés étaient :

- Des Staphylocoques à coagulase négative
- *Escherichia coli*
- *Enterococcus sp.*
- *Candida sp.*
- Des Streptocoques du Groupe B, soit *Streptococcus agalactiae*

Zareba (2016, 2017) a détecté les mêmes microorganismes (excepté les staphylocoques) dans l'endocol de femmes saines enceintes à terme. Ils appartiendraient donc à la flore habituelle.

Par ailleurs, *Chlamydia trachomatis*, une bactérie non Gram intracellulaire, est également plus fréquemment retrouvée en cas de PPRM. **Alger (1988)** rapporte dans son étude une positivité de 44% parmi 52 femmes atteintes de PPRM contre 15% dans le groupe contrôle. Il pourrait s'agir d'un facteur favorisant le développement d'une PPRM. Il a été rapporté un cas de pneumonie provoquée chez le nourrisson par cet agent pathogène lors de contamination de la mère (**Gomez, 1997**).

Dans l'étude de **Saghafi (2018)**, la découverte de germes dans l'endocol était corrélée dans 3% des cas à une bactériémie chez le nourrisson. Cependant, pour les 6 cas de sepsis néonatal identifiés, les agents pathogènes à l'origine de la contamination n'étaient pas les mêmes que ceux détectés majoritairement chez leur mère (figure 14). Ils étaient répartis de la façon suivante :

- Bacilles Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) : 67 %
- Coques Gram positif (staphylocoque) : 17%
- *Candida* : 17%.

Table IV

Comparison of neonatal blood culture with maternal endocervical culture

Cases	Maternal endocervical culture	Neonatal blood culture	Mean gestational age (w)	Neonatal outcomes
1	<i>Escherichia coli</i>	Staphylococci epidermis	34	Died
2	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	27	Died
3	Staphylococci epidermis	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33	Died
4	Staphylococci epidermis	<i>Escherichia coli</i>	33	Died
5	<i>Enterococcus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	28	Died
6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida species</i>	28	Alive

Figure 14 : Comparaison des cultures sur sang du nouveau-né et de prélèvement sur l'endocol maternel dans les 6 cas de sepsis néonatal détectés dans l'étude de **Saghafi (2018)**.

D'après les résultats obtenus par **Saghafi (2018)**, les germes les plus pathogènes pour le nouveau-né ne sont pas les plus fréquemment retrouvés dans les cultures issues de prélèvement de l'endocol. Par ailleurs, malgré la rupture de la barrière placentaire, la contamination ascendante jusqu'au fœtus n'est pas systématique.

Parmi les microorganismes capables de traverser des membranes fœtales intègres, **Zareba (2016, 2017)** a détecté *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* et *Morganella morganii* dans du liquide amniotique chez une femme ne souffrant pas de PPROM. A chaque fois, la contamination était faite par un seul agent pathogène.

Les streptocoques du groupe B présentent pour leur part un danger particulier de transmission au moment de l'accouchement notamment. Ils peuvent provoquer des infections majeures chez le nouveau-né. 10 à 30% des femmes seraient porteuses au niveau de la zone ano-génitale. Une antibioprophylaxie contre les streptocoques du groupe B durant l'accouchement est donc largement recommandée dans la communauté d'obstétrique (**ACOG, 2018 ; Saghafi, 2018**).

D'autres agents pathogènes susceptibles de compliquer la grossesse ont été étudiés. Ainsi, **Kwak (2014)** s'est intéressé à la présence de mycoplasmes génitaux chez des patientes atteintes de PPROM ou dont l'accouchement est prématuré. 62,5 % des 179 patientes en étaient porteuses, dont :

- *Ureaplasma urealyticum* chez 99 femmes
- *Mycoplasma hominis* chez 13 femmes, toujours en association avec l'uréaplasme. Sa présence était corrélée à des complications plus sévères.

Finalement, l'antibioprophylaxie idéale devrait cibler les germes capables d'aggraver le pronostic :

- des bactéries de type coque Gram positif (Staphylocoques à coagulase négative et Streptocoques du Groupe B, *Enterococcus faecalis*)
- des bactéries de type bacille Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*)
- des mycoplasmes (*Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*)
- des levures (*Candida sp.*)
- *Chlamydia trachomatis*, qui doit être dépistée au préalable.

Le protocole de prise en charge de la PPROM émis par **Mercer (2003)** recommande d'ailleurs le dépistage de *Chlamydia trachomatis* et du streptocoque du groupe B.

Le spectre d'action de l'amoxicilline couvre les coques à Gram positif et les bacilles à Gram négatif extracellulaires (**Geddes, 2010**).

Pendant, des résistances à l'amoxicilline sont rapportées chez les bactéries décrites plus haut. La résistance aux bêta-lactamines des souches de *Staphylococcus aureus* est notamment approchée par la détection de résistance à la méthicilline, une pénicilline M. En Europe en 2018, 16% des souches étudiées étaient des SARM. Concernant *E. coli*, 57% des souches impliquées lors d'infections étaient résistantes aux pénicillines du groupe A en 2018 en Europe. Quant à *Klebsiella pneumoniae*, elle est intrinsèquement résistante aux Pénicillines A (**European Centre for Disease Prevention and Control : ECDC, 2019**).

Les levures et les mycoplasmes ne sont pas sensibles à l'amoxicilline. L'amoxicilline utilisée lors de PPROM devra donc être couplée à un autre antibiotique pour étendre le spectre d'action.

Il faudrait donc que la concentration en amoxicilline dans le liquide amniotique et dans le sang fœtal soit suffisante pour lutter contre une contamination de Streptocoques du groupe B, principalement. Compte-tenu des résistances existantes, il semble compromis de cibler les staphylocoques à coagulase négative, les entérocoques et *Escherichia coli* avec l'amoxicilline seule.

4.1.1.5. Traitement conventionnel à base d'amoxicilline

Plusieurs chercheurs regrettent encore le manque d'informations sur des protocoles adaptés à la PPRM (**Heikkilä, 1994 ; Maki, 2020**). Bien qu'il n'existe pas encore de consensus concernant l'antibioprophylaxie à appliquer, le comité américain d'obstétriciens propose un même protocole comprenant de l'amoxicilline (**ACOG, 2018 ; Mercer, 2003 ; Yudin, 2017**). Il consiste en :

- 2g d'ampicilline et 250mg d'érythromycine injectées toutes les 6h par voie intraveineuse, pendant 48h
- Puis 250mg d'amoxicilline et 333mg d'érythromycine administrées toutes les 8h par voie orale pendant 5 jours

Cette association d'antibiotiques semble faire diminuer la morbidité néonatale et maternelle.

Il a été constaté que le traitement par association d'amoxicilline et d'acide clavulanique augmente le risque d'entérocologie néonatale chez le nouveau-né. Son utilisation n'est donc pas recommandée alors qu'il permettrait de traiter aussi certains *E. coli* et staphylocoques résistants (**ACOG, 2018 ; Mercer, 2003 ; Yudin, 2017**).

4.1.2. Traitement de la listériose chez la femme enceinte

4.1.2.1. Présentation de la listériose

Les présentations cliniques de la listériose sont variées. La forme clinique chez les individus en bonne santé correspond à une atteinte digestive et fébrile auto-résolutive. Des formes invasives se développent davantage chez des individus immunodéprimés et peuvent mener à des atteintes associées à la grossesse, des atteintes nerveuses centrales ou des bactériémies (**Hernandez-Milian, 2014**).

La durée d'incubation est variable. Elle est d'environ 27 jours chez la femme enceinte (**Hernandez-Milian, 2014**). La majorité des femmes enceintes infectées manifeste de la fièvre voire un syndrome grippal. Un tiers d'entre elles est cependant asymptomatique. Cette clinique non spécifique complique le diagnostic (**Lamont, 2011**).

Listeria monocytogenes est capable de traverser la barrière placentaire, mais n'atteint pas systématiquement le fœtus. Le pronostic pour le fœtus est plus sombre si la contamination a lieu en début de grossesse. Les principaux effets d'une listériose sur la grossesse sont un accouchement prématuré, une souffrance fœtale, la naissance d'un mort-né ou un avortement (**Lamont, 2011**).

4.1.2.2. Enjeux

Il s'agit d'une zoonose alimentaire, particulièrement liée à la consommation de produits à base de lait cru, de viande ou fruits de mer non cuits (**Hernandez-Milian, 2014**). L'exposition aux *Listeria spp.* est fréquente, avec une détectée chez 70% de la population (sauf femmes enceintes) dans des prélèvements répétés de selles. Cependant, la présence à un instant « t » est bien moindre : 3,9% femmes enceintes en bonne santé ont été positives sur échantillon rectal, et 0,13% sur échantillon vaginal parmi les 750 incluses dans une étude (**Lamont, 2011**).

Malgré cette exposition majeure, les cas cliniques sont sporadiques. En France 0,4 cas de listériose pour 100 000 habitants ont été recensés en 2011 dans la population générale. Il y a parfois des pics d'infection. La listériose clinique atteint principalement les personnes immunodéprimées, âgées, et les femmes enceintes. Ainsi, la prévalence clinique chez la femme enceinte est 18 fois plus importante que dans le reste de la population (12 cas pour 100 000 habitants). Cela représente 16 à 26 % des listérioses cliniques (**Charpentier, 1999 ; Lamont, 2011 ; Hernandez-Milian, 2014**).

Aucun vaccin n'existe à ce jour, il est donc important de mettre en place des mesures d'hygiène adaptées pour limiter le risque de contamination (**Lamont, 2011**).

4.1.2.3. Microorganisme impliqué

Quatre espèces de *Listeria* peuvent infecter l'homme, la plus fréquente est *Listeria monocytogenes*. Il s'agit d'un bacille à Gram positif, motile, flagellé et non sporulé. Il est capable de se multiplier en milieu aérobie ou microaérobie, de 3 à 45°C avec un pH allant de 5,6 à 9,6 (**Lamont, 2011 ; Hernandez-Milian, 2014**).

Cette bactérie est sensible à l'amoxicilline (**Geddes, 2010**). Selon **Madeo (2014)**, *L. monocytogenes* présente rarement des résistances aux antibiotiques, bien qu'elles soient de plus en plus fréquentes.

Par ailleurs, *Listeria sp.* est un agent pathogène intracellulaire facultatif. En effet, elle peut se trouver libre dans le milieu extracellulaire ou bien se multiplier dans le cytosol de diverses cellules, telles que les macrophages ou les cellules épithéliales. Puis elle se propage de cellule à cellule, sans passer par le milieu extracellulaire. Ce processus la protège de certains antibiotiques et du système immunitaire (**Lamont, 2011**).

4.1.2.4. Traitement conventionnel avec l'amoxicilline

Compte-tenu du comportement de *Listeria sp.*, l'antibiotique utilisé devrait avoir une distribution intracellulaire et être actif dans ce milieu. Cependant, malgré une diffusion intracellulaire modérée, les pénicillines permettent d'atteindre des résultats plus satisfaisants que d'autres classes d'antibiotiques (chloramphénicol, quinolones, céphalosporines) tout en étant sûres d'utilisation (**Lamont, 2011**).

La littérature cite le plus souvent la pénicilline G ou l'ampicilline comme béta-lactamines de choix (**Charpentier, 1999**). Ainsi, **Lamont (2011)** présente comme recommandations en première intention une cure d'ampicilline d'au moins 6g par jour par voie intraveineuse pendant 14 jours.

Les recommandations de la Fédération Française d'Infectiologie émises en 2019 sont de traiter les suspicions de listériose avec de l'amoxicilline à 200 mg/kg/jour par voie intraveineuse, répartie en 4 à 6 perfusions ou en perfusion continue, pendant 14 à 21 jours. Cette dose est plus élevée que celle utilisée en routine selon l'AMM (de 250 à 2000mg au total par administration, jusqu'à 3 fois par jour). Il est possible de compléter le traitement avec de la gentamicine à 5 mg/kg/jour par voie intraveineuse pendant 5 jours pour obtenir une action synergique, dont l'efficacité a seulement été prouvée in vitro (**Alfandari, 2019 ; Lamont, 2011**).

4.2. Traitement des affections de la mère

4.2.1. Types d'affections

Les indications d'utilisation de l'amoxicilline chez l'adulte sont nombreuses. Le tableau suivant figure sur le **Résumé des Caractéristiques du Produit** (RCP) d'une spécialité orale d'amoxicilline, en médecine humaine (Clamoxyl®, 1 g comprimé dispersible). Il présente les indications couvertes par l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) et les posologies associées (figure 15).

Adultes et enfants ≥ 40 kg

Indication*	Dose*
Sinusite bactérienne aiguë	250 mg à 500 mg toutes les 8 heures ou 750 mg à 1g toutes les 12 heures Pour les infections sévères 750 mg à 1 g toutes les 8 heures Les cystites aiguës peuvent être traitées avec 3 g deux fois par jour pendant un jour
Bactériurie asymptomatique gravidique	
Pyélonéphrite aiguë	
Abcès dentaire avec cellulite	
Cystite aiguë	
Otite moyenne aiguë	500 mg toutes les 8 heures, 750 mg à 1 g toutes les 12 heures Pour les infections sévères 750 mg à 1 g toutes les 8 heures pendant 10 jours
Angine/pharyngite documentée à streptocoque	
Exacerbations aiguës de bronchite chronique	
Pneumonie communautaire	500 mg à 1 g toutes les 8 heures
Fièvre typhoïde et paratyphoïde	500 mg à 2 g toutes les 8 heures
Infections articulaires sur prothèses	500 mg à 1 g toutes les 8 heures
Prophylaxie de l'endocardite	2 g par voie orale, une dose unique 30 à 60 minutes avant l'intervention
Éradication de <i>Helicobacter pylori</i>	750 mg à 1 g deux fois par jour en association avec un inhibiteur de la pompe à protons (comme l'oméprazole ou le lansoprazole) et un autre antibiotique (comme la clarithromycine ou le métronidazole) pendant 7 jours
Maladie de Lyme (voir rubrique 4.4)	Phase précoce : 500 mg à 1 g toutes les 8 heures jusqu'à un maximum de 4 g/jour en doses fractionnées pendant 14 jours (10 à 21 jours) Phase tardive (atteinte systémique) : 500 mg à 2 g toutes les 8 heures jusqu'à un maximum de 6 g/jour en doses fractionnées pendant 10 à 30 jours
*Il convient de tenir compte des recommandations thérapeutiques officielles pour chaque indication.	

Figure 15 : Indications thérapeutiques de l'amoxicilline orale chez l'adulte dans les RCP du Clamoxyl® (1 g, comprimé dispersible)

Les prescriptions couvrent majoritairement des infections de la sphère ORL, des voies respiratoires et de l'appareil urinaire. Ceci représente les utilisations les plus fréquentes de l'amoxicilline durant la grossesse.

Selon le RCP du Clamoxyl®, l'usage de l'amoxicilline est recommandé pour traiter la bactériurie asymptomatique gravidique. La Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française confirme dans ses recommandations de bonne pratique émises en 2015 (Caron,

2015), qu'il s'agit de l'antibiotique de choix, bien qu'il faille attendre les résultats d'un antibiogramme pour mettre en place un traitement adapté.

Plus marginalement l'amoxicilline est indiquée lors d'atteinte digestive par *Helicobacter pylori*, d'arthrites infectieuses, et de maladies systémiques telles que Lyme et la fièvre typhoïde (**RCP du Clamoxyl®**).

4.2.2. Enjeux

La bactériurie est définie comme la détection dans deux analyses consécutives de 10⁵ UFC/mL de bactéries identiques (**Krcmery, 2001**). La bactériurie asymptomatique a une prévalence de 5% (**Heikkilä, 1994**) (de 2 à 15% selon **Ipe, 2013**) dans la population gravide, comme dans le reste de la population (de 1 à 9%, selon **Ipe, 2013**).

La bactériurie, bien qu'asymptomatique, est préoccupante chez la femme enceinte car elle peut se compliquer en pyélonéphrite aiguë dans 30% des cas, contre 2% pour les autres femmes. Cette complication est probablement favorisée par le reflux vésico-urétéral pouvant être présent à partir du second semestre. Une fois le rein atteint, les bactéries peuvent se propager dans le sang et le fœtus peut être contaminé par voie hématogène (**Heikkilä, 1994**). La bactériurie est donc prise en charge médicalement durant la grossesse.

Contrairement aux bactériuries asymptomatiques, les infections urinaires cliniques sont trois fois plus fréquentes chez les femmes enceintes que dans le reste de la population. En effet, des facteurs favorisants sont fréquemment rencontrés chez la femme enceinte : à partir du second semestre de grossesse, l'utérus comprime l'appareil urinaire et engendre une stase d'urine dans la vessie et un reflux possible dans les uretères. Par ailleurs, l'apparition de glycosurie est fréquente chez la femme enceinte, ce qui favorise la multiplication de germes (**Delzell, 2000 ; Minardi, 2011**).

Ces infections du tractus urinaire peuvent par ailleurs favoriser l'apparition d'une PPROM. Elles peuvent aussi entraîner une contamination du fœtus par voie ascendante (**Heikkilä, 1994**).

Les atteintes respiratoires sévères, dont la pneumonie, sont plus préoccupantes chez la femme enceinte que dans la population générale. En raison des adaptations du système cardio-vasculaire et respiratoire, elle est plus facilement sujette à la décompensation. Une bactériémie peut venir assombrir le pronostic dans 25 à 70% des cas. Il en résulte une mortalité de 30% en absence de traitement lors de pneumonie durant la grossesse. Il en résulterait également 70% d'accouchement prématurés avec des nourrissons de plus faible poids (**Graves, 2010 ; Ramsey, 2001**).

De façon plus générale, les infections maternelles pouvant être à l'origine d'une bactériémie présentent un danger pour le fœtus. Il est donc important de réaliser un bon suivi médical de la mère et de traiter ses infections avec une antibiothérapie adaptée.

4.2.3. Germes impliqués

4.2.3.1. Infections urinaires et bactériuries asymptomatiques

Les infections urinaires sont des conséquences de bactériuries asymptomatiques. Dans une revue portant sur les bactériuries asymptomatiques, **Ipe (2013)** répertorie les principaux germes impliqués en fonction de la population atteinte (figure 16).

Table 1. ABU prevalence in distinct patient populations (% below patient group) and comparative peak prevalence rates of causal bacteria in studies to date

Causal organism*	Healthy adult women (1–9%)	Healthy adult men (1–2%)	Pregnant women (2–15%)	Diabetic adults (1–30%)	Community dwelling elderly (2–50%)	Institutionalized adults/elderly (14–75%)	Patients with indwelling catheter (9–100%)
High							
<i>Escherichia coli</i>	91	25	86	80	80	60	35
<i>Enterococcus</i> spp.	33	23	4	13	8	10	25
<i>Staphylococcus</i> spp.	2	7	24	16	53	10	6
<i>Proteus</i> spp.			9	35	10	24	
Moderate							
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	8	16	28	17	22	21
<i>S. agalactiae</i>	6	5	26	12	10		4
<i>Pseudomonas</i> spp.		12	6		18	14	25
<i>Enterobacter</i> spp.			3	7			21
Low							
<i>Providencia</i> spp.			6		2	16	
<i>Gardnerella vaginalis</i>			15	4			
<i>U. ureolyticum</i>			15				
Rare							
<i>Morganella morganii</i>					2		10
<i>Serratia</i> spp.	5	2					
<i>Citrobacter freundii</i>				4	2		

*For causal organisms, peak prevalence is the highest reported prevalence rate from published studies; all % are rounded; references used are provided in Table S1 that also presents % range, gender and age analyses where appropriate, alongside specific references; causal microbes grouped according to highest peak prevalence rate in at least one patient population [High (> 30%), Moderate (> 20%), Low (> 10%) and Rare (<=10%)]. Shading key: >80% of cases 30–80% 20–30% 10–20% 5–10% 2–5% N/A

Figure 16 : Répartition de l'étiologie en fonction de la population touchée par des bactériuries asymptomatiques. D'après **Ipe (2013)**.

Les principales bactéries détectées chez la femme enceinte sont :

- *Escherichia coli*, à 86 %
- *Streptococcus agalactiae*, à 26 % (streptocoque du groupe B)
- *Staphylococcus aureus*, à 24 %
- *Klebsiella pneumoniae*, à 16 %
- *Gardnerella vaginalis*, à 15 %
- *Ureaplasma urealyticum*, à 15%

On constate que les agents infectieux en jeu ici sont semblables à ceux causant les chorioamnionites et sepsis (**Saghafi, 2018**).

La prévalence des bactériuries à streptocoques du groupe B est beaucoup plus importante que pour le reste de la population. Elles posent davantage de problèmes et peuvent notamment entraîner un sepsis néonatal. Un traitement est donc recommandé dès lors que ces bactéries sont détectées (**Ipe, 2013**).

Pour les autres bactéries impliquées, l'antibiothérapie est recommandée pour toute concentration au-delà de 10^5 UFC/mL. Pour une concentration inférieure, il n'y a actuellement pas de preuves d'un intérêt à mettre en place un traitement (**Ipe, 2013**).

4.2.3.2. Infections des voies respiratoires supérieures

Nous nous contenterons par la suite d'évoquer les principales infections respiratoires susceptibles d'être rencontrées chez la femme enceinte. Ces affections tiennent leur importance de leur fréquence ou de leur gravité. Les affections d'origine virale sont nombreuses, mais des surinfections bactériennes peuvent se développer.

4.2.3.2.1. Rhinite de grossesse

Les rhinites de grossesse désignent les rhinites survenant après 6 semaines d'aménorrhées. Elles sont favorisées par les modifications hormonales et peuvent atteindre 20% des grossesses (**Ellegard, 2003**).

L'atteinte en soit est légère : il s'agit d'une congestion nasale. Cependant, elle peut avoir un impact important sur l'issue de la grossesse, avec un score Apgar plus faible à la naissance et des retards de croissance fœtale (**Ellegard, 2003**). La rhinite peut par ailleurs se compliquer en sinusite (**Gwaltney, 1981**).

Aucun traitement antimicrobien n'est nécessaire pour la rhinite, contrairement à la sinusite. La principale difficulté concernant le choix thérapeutique repose dans le fait que chez la femme enceinte, la rhinite et la sinusite sont confondues cliniquement (**Ellegard, 2003**).

4.2.3.2.2. Sinusite

On ne s'intéresse ici qu'aux formes aiguës de sinusite. Plus de la moitié d'entre elles est causée par *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenza* (bacille à Gram négatif). Ces sinusites peuvent alors être traitées par des bêta-lactamines, dont l'amoxicilline (**Hamory, 1979**).

Environ 10% de ces infections sont provoquées par des bactéries anaérobies, souvent issues d'infections dentaires. Il s'agit de *Fusobacterium spp.*, Streptocoques anaérobies et Bacteroides (**Gwaltney, 1981**). Une part non négligeable correspond aussi à des sinusites virales, parfois surinfectées (**Hamory, 1979**).

Cependant, les études prises en compte ici datent des années 1980 et les résistances bactériennes envers l'amoxicilline ont pu augmenter depuis.

4.2.3.2.3. Exacerbation aiguë de bronchite chronique

La répartition des étiologies de ce type de bronchite est présentée en figure 17. Ces infections sont dues à des bactéries aérobies pour 45% d'entre elles (**Brunton, 2004**).

Figure 3. Etiology of Acute Exacerbation of Chronic Bronchitis

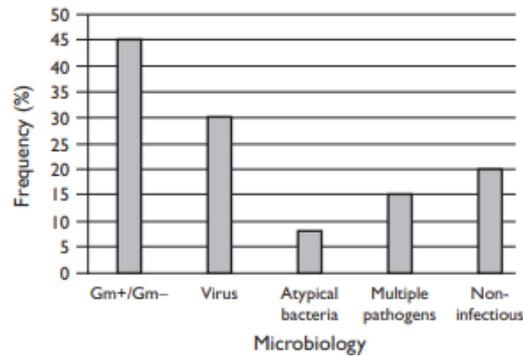


Figure 17 : Proportions des différentes étiologies de l'exacerbation aiguë de bronchite chronique. D'après **Brunton (2004)**.

Les principales bactéries aérobies relevées par **Brunton (2004)** sont :

- *Streptococcus pneumoniae*. Le traitement de choix est à base de pénicillines.
- *Haemophilus influenza*. Elle fait partie du spectre d'action de l'amoxicilline mais en résistance croissante du fait de la production d'une bêta-lactamase (**Geddes, 2010**).
- *Moraxella catarrhalis*. De même, cette bactérie appartient au spectre d'action de l'amoxicilline mais de plus en plus de souches sont productrices de bêta-lactamases (**Geddes, 2010**).
- *Pseudomonas aeruginosa* (naturellement résistante à l'amoxicilline) et des bacilles à Gram négatif, associés à une forme plus grave

10% des cas sont la conséquence d'une infection par une bactérie atypique, majoritairement *Chlamydia pneumoniae*. Les infections virales représentent 30% des affections (**Brunton, 2004**).

4.2.3.2.4. Pneumonie

Les pneumonies ont une faible prévalence et touchent moins de 1% des grossesses mais représentent une atteinte sévère (**Ramsey, 2001**). La forme la plus fréquente de pneumonie, la pneumonie communautaire, a la même prévalence chez les femmes enceintes que dans le reste de la population, à environ 0.6% (**Graves, 2010**).

Parmi les bactéries les plus souvent impliquées (**Brown, 2012 ; Graves, 2010 ; Ramsey, 2001**) :

- *Streptococcus pneumoniae* est impliquée dans 50% des pneumonies chez les femmes enceintes. Le traitement de choix est à base de pénicillines.
- *Haemophilus influenza* est la seconde bactérie la plus fréquemment détectée lors de pneumonie communautaire. Elle est cependant de plus en plus fréquemment résistante à l'amoxicilline (**Geddes, 2010**).
- Une forme atypique, correspondant à 10% des pneumonies, peut être provoquée par *Mycoplasma pneumoniae*. Ici, un traitement à base d'amoxicilline se révèle inutile.
- *Staphylococcus aureus* est présent dans le cadre de pneumonie chez des individus immunodéprimés ou avec surinfection. Ses résistances aux pénicillines sont de plus en plus répandues (**ECDC, 2019**).
- De nombreux autres agents infectieux et opportunistes peuvent se multiplier lors d'une pneumonie.

Un diagnostic précoce suivi de la mise en place d'une antibiothérapie adaptée est indispensable, et permet de s'orienter vers un bon pronostic.

Concernant l'ensemble des infections respiratoires, un traitement probabiliste à base d'amoxicilline, qui atteint les principaux germes en cause, peut être mis en place en attendant des résultats d'antibiogramme afin d'adapter au mieux l'antibiothérapie.

4.2.4. Traitement conventionnel à base d'amoxicilline

Comme spécifié dans le **RCP du Clamoxyl®**, différents protocoles peuvent être appliqués selon l'infection en jeu. Le plus utilisé est d'administrer 500 mg d'amoxicilline par voie orale deux à trois fois par jour. Il est possible d'augmenter la dose à 1g par prise si l'infection est sévère. La durée du traitement est laissée à l'appréciation du prescripteur et il est recommandé de la choisir pour être la plus courte possible (**RCP du Clamoxyl®**). Aucune durée optimale de traitement n'a été établie pour le moment (**Ipe, 2013**).

Par ailleurs, un dépistage de routine de la bactériurie asymptomatique par culture sur prélèvement d'urine est recommandé de 12 à 16 semaines de grossesse, pour faciliter le traitement et limiter les complications (**Ipe, 2013**).

5. UTILISATION DE L'AMOXICILLINE DURANT LA GESTATION CHEZ LA BREBIS

Le **RCP du Clamoxyl® Longue Action** cite comme indications pour l'espèce ovine les « infections respiratoires dues aux bactéries Gram positif ou aux pasteurelles ». Le **RCP du Clamoxyl® Suspension** ajoute également comme indication dans l'espèce ovine les « infections digestives dues aux entérobactéries ».

La conduite d'élevage tient une place centrale en médecine des Ruminants. Un environnement de qualité dégradée constitue un facteur favorisant pour de nombreuses affections. Dans un souci de réduction de consommation d'antibiotiques, on recommande aujourd'hui d'agir autant que possible sur ce levier pour prévenir et réduire les problèmes rencontrés. L'autre axe mis en avant est celui de la vaccination. Ceci limite les cas de figure dans lesquels les antibiotiques sont utilisés en élevage ovin (**Scott, 2011 ; Lacasta, 2019 ; Mearns, 2007**).

5.1. Traitement du fœtus et de ses annexes

5.1.1. Les maladies infectieuses abortives chez la brebis

L'avortement a pour définition légale : « est considéré comme un avortement infectieux l'expulsion d'un fœtus ou d'un animal mort-né ou succombant dans les douze heures suivant la naissance, à l'exclusion des avortements d'origine manifestement accidentelle » (**Instruction technique DGAL/SDSPA/2015-463**). Chez la brebis, l'avortement peut être décrit comme l'expulsion du fœtus avant le 135^e jour de gestation, c'est-à-dire avant qu'il ne soit viable, sur une gestation de 148-150 jours (**Fthenakis, 2012**).

Les maladies infectieuses abortives ne sont pas couvertes par les AMM des spécialités à base d'amoxicilline chez les ovins (**RCP Clamoxyl® LA et Clamoxyl® Suspension**) et il semble en effet que l'intérêt de l'amoxicilline pour cette indication chez la brebis soit limité.

Le vétérinaire doit suivre la « cascade » de prescription prévue par **l'article R 5143-4 du Code de la Santé Publique** pour les prescriptions hors AMM. Il a le droit de prescrire une spécialité autorisée pour la même espèce mais pour une autre indication s'il n'existe pas de médicament vétérinaire destiné à cette indication dans cette même espèce. Or il n'existe pas d'AMM pour l'espèce ovine pour le traitement de la leptospirose et la listériose notamment, donc l'utilisation de l'amoxicilline est autorisée dans ces cas-là.

Les maladies infectieuses abortives ont des causes variées chez la brebis. Selon des données britanniques, présentées dans le diagramme suivant (figure 18), les avortements de brebis sont le plus souvent attribués à la chlamydiose, à la toxoplasmose, à la campylobactériose et à la listériose (**Carson, 2018**).

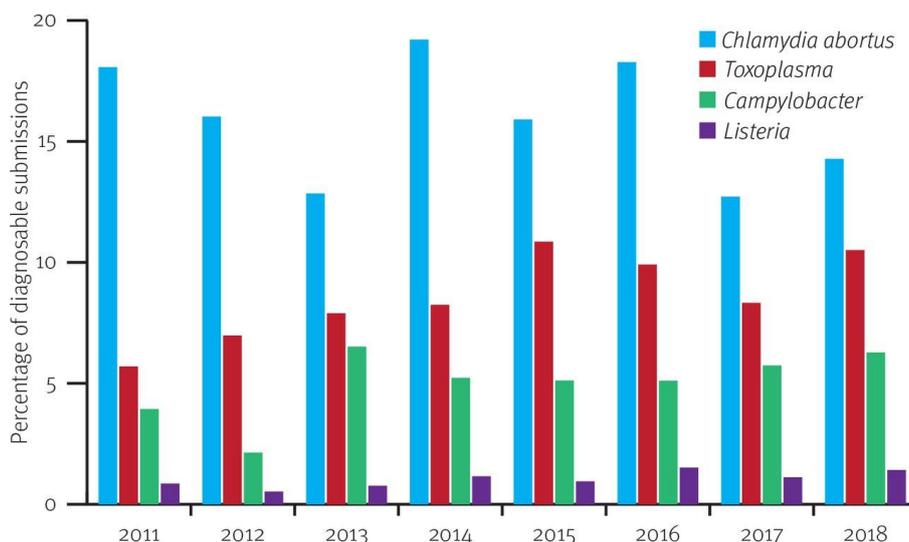


Figure 18 : Graphique de la répartition des principales étiologies d'avortements, selon les données nationales de la base de données VIDA (Veterinary Investigation Diagnosis Analysis) au Royaume-Uni, entre 2011 et 2018. D'après Carson (2018).

La majorité des infections abortives ne peut pas être traitée avec de l'amoxicilline. Plusieurs cas de figure existent.

D'une part, certains agents infectieux abortifs de l'espèce ovine ne sont pas sensibles à l'amoxicilline. Parmi eux se trouvent : *Chlamydia sp.*, *Mycoplasma spp.*, ainsi que des virus et protozoaires (dont *Toxoplasma sp.*) (Geddes, 2010 ; Mearns, 2007). La localisation intracellulaire des bactéries représente aussi un obstacle à l'action de l'amoxicilline. Cela concerne principalement les bactéries intracellulaires obligatoires comme *Mycoplasma spp.*, *Chlamydia spp.*, *Coxiella sp.*. Le choix de l'amoxicilline lors d'infection par des intracellulaires facultatives telles que *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* ser. *Abortusovis*, *Brucella sp.*, ou encore *Listeria sp.* reste discutable.

D'autre part, il existe des affections abortives dont le traitement n'est pas envisagé d'un point de vue pratique. En effet, certaines maladies sont difficilement détectables à temps par manque de signes avant-coureurs. C'est le cas de la forme abortive de la listériose (Mearns, 2007 ; Scott, 2007). Dans le cas de la campylobactériose, la guérison est spontanée et les individus développent une immunité suffisante après infection (Mearns, 2007). L'antibiothérapie a alors une utilité limitée et un poids financier non négligeable, en plus de présenter des risques de développement de résistances au long terme.

Enfin, la législation française exclut le traitement d'infections classées parmi les Dangers Sanitaires de première catégorie. Les affections concernées sont des zoonoses graves qui présentent un danger pour la filière. C'est le cas de la brucellose (excepté celle causée par *Brucella ovis*, qui ne provoque d'ailleurs pas d'avortement). Les brebis sont par conséquent euthanasiées pour éviter la propagation de l'agent pathogène si elles sont détectées positives lors de la surveillance sérologique programmée ou événementielle (Castrucci, Arrêté du 29 juillet 2013, Instruction technique DGAL/SDSPA/2015-463).

Nous pouvons ainsi constater que la majorité des infections abortives rencontrées ne peuvent pas être traitées par l'amoxicilline.

5.1.2. La listériose

5.1.2.1. Affection en cause

La listériose se manifeste principalement par une atteinte nerveuse centrale. Il existe plus marginalement des formes digestives, septicémiques et abortives.

L'avortement se produit en général deux semaines après une contamination orale et fait suite à une bactériémie entraînant une invasion du placenta. Il peut se produire à n'importe quel stade de gestation, mais surtout durant le dernier mois. S'il a lieu près du terme, l'agneau sera mort-né ou mourra rapidement d'une septicémie (**Brugère-Picoux, 2008 ; Mearns, 2007 ; Scott, 2007**).

Chez la brebis, les signes cliniques précédant l'avortement peuvent être très discrets (**Mearns, 2007**). On peut néanmoins constater une hyperthermie, un abattement, ainsi que des écoulements vaginaux hémorragiques pendant plusieurs jours.

5.1.2.2. Enjeux

La listériose a été la quatrième cause d'avortements infectieux dans l'espèce ovine au Royaume-Uni de 2011 à 2019, selon les données **VIDA**. Les cas sont généralement sporadiques, avec moins de 2% du cheptel touché lorsqu'il est exposé à des facteurs favorisant, tel qu'un ensilage trop peu acide. Cependant, la prévalence peut parfois atteindre 10 à 30% du troupeau, en infectant particulièrement les animaux âgés de 1 à 2 ans (**Brugère-Picoux, 2008 ; Mearns, 2007 ; NADIS**).

Par ailleurs, *Listeria monocytogenes* peut causer une zoonose alimentaire, transmise à l'homme majoritairement par des produits à base de lait cru. Chez la femme enceinte, l'infection peut compromettre l'issue de la grossesse (**Hernandez-Milian, 2014 ; Scott, 2007**).

Sachant que les signes avant-coureurs sont rares, une antibiothérapie prophylactique peut être administrée aux brebis exposées lorsque la listériose a été diagnostiquée dans l'élevage, mais la prévention tient une place plus importante dans la gestion de la listériose (**Mearns, 2007**).

5.1.2.3. Microorganisme impliqué

Listeria monocytogenes provoque différentes formes de listériose, tandis que *Listeria ivanovii* est uniquement à l'origine d'avortements chez les Ruminants (**Mearns, 2007 ; NADIS**).

Il s'agit d'un bacille à Gram positif capable de se multiplier en milieu aérobie ou microaérobie, de 3 à 45°C avec un pH de 5,6 à 9,6. Dans l'organisme, *Listeria sp.* se comporte comme un intracellulaire facultatif. Elle peut se multiplier dans les monocytes et les macrophages et contaminer les cellules de proche en proche (**Hernandez-Milian, 2014 ; Scott, 2007**).

Listeria monocytogenes est sensible à l'amoxicilline et les résistances demeurent rares, bien qu'en augmentation (**Geddes, 2010 ; Madeo, 2014**).

5.1.2.4. Possibilité de traiter avec de l'amoxicilline

Selon **Scott (2007)**, l'antibiotique de choix est la pénicilline G à forte dose (300 000 UI/kg par voie intraveineuse le premier jour, puis 44 000 UI/kg une fois par jour pendant 5 jours). **Brugère-Picoux (2008)** rapporte l'utilisation de l'association synergique d'ampicilline – gentamicine comme traitement de première intention, comme **Lamont (2011)** le recommande en médecine humaine. Tous deux présentent toutefois de nombreuses alternatives. Il paraît donc possible d'appliquer un traitement similaire à base d'amoxicilline.

5.1.3. La leptospirose

5.1.3.1. Affection en cause

Plusieurs manifestations cliniques de la leptospirose sont rencontrées dans l'espèce ovine. *Leptospira interrogans* de séro groupe Sejroe et de sérovar Hardjo est une souche presque exclusivement impliquée dans des troubles de la reproduction et des avortements. Les autres sérovares sont à l'origine de présentations cliniques différentes, occasionnellement abortives. La leptospirose étant souvent subclinique dans cette espèce, elle est probablement sous-diagnostiquée. Elle serait également sous-diagnostiquée dans le cadre des avortements qu'elle provoque (**Ellis, 2015 ; Mearns, 2007**).

L'animal se contamine par contact d'une plaie ou d'une muqueuse avec de l'urine d'animal porteur. Les contaminations sont favorisées dans les milieux humides où des rongeurs sont présents. Les leptospires peuvent ensuite se transmettre au sein du troupeau par excrétion urinaire. Les ovins semblent rester porteurs au niveau rénal, ce qui favorise la diffusion de la bactérie dans le cheptel. Les ovins pourraient eux-mêmes jouer un rôle de réservoir pour le sérovar Hardjo (**Ellis, 2015**).

L'espèce ovine est considérée comme peu sensible à la leptospirose en comparaison aux bovins et caprins (**Leon-Vizcaino, 1987**).

5.1.3.2. Enjeux

5.1.3.2.1. Epidémiologie

Sa prévalence chez les ovins en France ne semble pas avoir été documentée. Au Royaume-Uni, sa répartition est sporadique (**Mearns, 2007**). Une étude épidémiologique a été menée dans le Nord et le Centre de l'Italie entre 2002 et 2016 (**Bertelloni, 2019**) : des prélèvements ont été réalisés sur des ovins en l'élevage ou à l'abattoir, sans symptômes apparent. La séropositivité par Microscopic Agglutination Test (MAT) à un faible titre (de 1 : 100) était de 3,13% parmi les 2682 ovins testés. Ces animaux ont donc été précédemment exposés à des leptospires.

Une publication plus ancienne de **Leon-Vizcaino (1987)** s'intéresse à la prévalence de leptospires lors d'avortements en Espagne entre 1970 et 1985. Une bactériologie et de l'immunofluorescence réalisées à partir d'organes fœtaux et du placenta, ainsi que la MAT ont permis d'attribuer aux leptospires 1,7% des 973 foyers d'avortements.

Au sein d'un foyer, le taux d'avortements observés par **Leon-Vizcaino (1987)** dus aux leptospiroses atteignait 33%. Ainsi, la leptospirose présente un enjeu économique à l'échelle de l'élevage plus qu'à l'échelle nationale. Elle présente aussi un risque zoonotique (**Ellis, 2015**).

5.1.3.2.2. Pathogénie

Les avortements à leptospirose surviennent majoritairement durant le dernier tiers de gestation, mais **Leon-Vizcaino (1987)** a constaté des avortements à des stades très variés de gestation avec les sérovars Pomona, Grippytyphosa et Icterohaemorrhagiae.

La présentation clinique classique de la leptospirose consiste en une insuffisance rénale et hépatique, accompagnée de fièvre. Les symptômes peuvent différer selon le sérovar en cause (**Adler, 2010 ; Ellis, 2015**).

Une bactériémie d'une semaine apparaît un à deux jours après le début de l'infection. Les leptospires peuvent être retrouvés dans les produits d'avortement : le fœtus est contaminé (**Ellis, 2015 ; Leon-Vizcaino, 1987**).

Il est envisageable de traiter les brebis gravides qui ont été fortement exposées à l'agent pathogène pour réduire le taux d'avortements dans l'élevage. Leur vaccination est conseillée pour réduire chroniquement les troubles de la reproduction (**Ellis, 2015 ; Mearns, 2007**).

5.1.3.3. Microorganisme impliqué

Les leptospires appartiennent aux spirochètes. Leur membrane a une structure proche de celle des bactéries à Gram négatif : un LPS de structure presque semblable est présent dans la membrane externe. Ce sont des bactéries ubiquistes au métabolisme aérobique strict. Elles restent dans l'espace extracellulaire (**Adler, 2010**).

Les leptospires sont sensibles à l'amoxicilline (**Geddes, 2010**).

5.1.3.4. Traitement conventionnel à base d'amoxicilline

L'antibiotique de choix selon **Ellis (2015)** est l'association de pénicilline et de streptomycine : leur association limiterait le risque de portage chronique rénal. Cependant, l'usage de la streptomycine dans ce contexte paraît surprenant au vu de sa toxicité rénale. L'emploi d'amoxicilline est possible.

5.2. Traitement de la brebis gravide

5.2.1. Antibioprophylaxie lors d'une chirurgie obstétricale

5.2.1.1. Enjeux

La césarienne est notamment pratiquée lors de dystocie chez la brebis. La dystocie majore le risque d'infection intra-utérine et de septicémie. La réalisation d'une césarienne augmente le risque de développer une infection sous-cutanée, intramusculaire, voire péritonéale. Ces risques sont particulièrement marqués du fait des conditions opératoires difficilement stériles (**Phythian, 2019**).

De plus, ce type de procédure est considérée comme propre – contaminée, car un organe cavitaire est ouvert. Elle est susceptible d'entraîner une infection du site opératoire dans 3,5 à 4,5% des cas, selon une étude réalisées sur des chiens et des chats (**Nelson, 2011**).

L'administration per-opératoire d'antibiotique augmente le taux de survie par la suite. Le choix et la durée de l'antibioprophylaxie est à adapter à la flore susceptible de contaminer la plaie (**Phythian, 2019 ; Nelson, 2011**).

5.2.1.2. Microorganismes impliqués

5.2.1.2.1. Identification des microorganismes impliqués

Les contaminations susceptibles d'intervenir durant la chirurgie ont trois principales origines (**Burgess, 2019**) :

- la flore endogène de la brebis, c'est-à-dire sa flore cutanée pour la césarienne. Il s'agit de la principale source de contamination de la plaie.
- la flore exogène provenant des chirurgiens, soit leur flore cutanée (manuportée) et respiratoire supérieure (aéroportée). La fréquence de ces contaminations est moindre lors d'opérations viscérales. Cependant, leur rôle dans le développement ultérieur d'un sepsis pourrait être majeur (**Whyte 1991, 1992**).
- la flore exogène provenant de l'environnement (aéroportée).

Concernant la flore endogène, la flore résidente cutanée de la brebis est celle qui nous intéresse. Une publication américaine de 2014 a comparé la flore cutanée de moutons fréquemment manipulés à celle de moutons qui l'étaient rarement (**Haarstad, 2014**). Dans les deux cas, les principales bactéries trouvées sont :

- des Staphylocoques à coagulase négative à 30% (coques à Gram positif)
- *Bacillus spp.* à 27% (bacilles à Gram positif)
- *Streptococcus spp.* à 17 % (coques à Gram positif)

Cette population bactérienne est très majoritairement à Gram positif. Elle est proche de celle retrouvée chez l'homme et les animaux de compagnie.

Pour ce qui est de la flore exogène manuportée par le chirurgien, elle se compose majoritairement de bactéries à Gram positif. Les principales bactéries résidentes sont (**Chiller, 2001**) :

- *Staphylococcus spp* (coque à Gram positif)

- *Micrococcus spp* (coque à Gram positif)
- Coryneformes (bacilles à Gram positif)

Par ailleurs, la flore du tractus respiratoire humain peut contaminer la plaie chirurgicale. **Charlson (2011)** a réalisé des analyses PCR sur des prélèvements provenant de plusieurs niveaux de l'arbre respiratoire de 6 volontaires sains. L'oropharynx et le nasopharynx ont notamment en commun les bactéries suivantes, présentes en abondance :

- Streptococcaceae (coques à Gram positif)
- Veillonellaceae (bactéries à Gram positif anaérobies)

5.2.1.2.2. Sensibilité à l'amoxicilline des germes impliqués

L'antibioprophylaxie en cas de chirurgie obstétricale doit cibler les principales bactéries susceptibles d'infecter la plaie, et prioritairement celles de la flore cutanée ovine.

Parmi elles, les bactéries suivantes sont sensibles à l'amoxicilline :

- Les streptocoques, qui produisent peu de bêta-lactamases (**Albrich, 2004 ; EUCAST**)
- Les *Bacillus spp.* (**Geddes, 2010**)
- Les coques et bacilles à Gram positif, donc probablement les Coryneformes et *Micrococcus spp.* (**Geddes, 2010**)
- Les bactéries anaérobies à Gram positif, donc probablement les Veillonellaceae (**Geddes, 2010**)

La concentration en amoxicilline au niveau de la plaie devra donc être suffisante pour atteindre la CMI de ces germes.

En ce qui concerne les staphylocoques, représentant une large part des bactéries impliquées, leur sensibilité à l'amoxicilline est variable. Les souches productrices de bêta-lactamases sont relativement fréquentes chez l'homme en Europe (16%), selon le rapport de l'**ECDC (2019)**.

Les résistances développées par les staphylocoques prélevés en élevage en France sont suivies par le réseau **Résapath**. Entre 2005 et 2019, les Staphylocoques à coagulase négative, prélevés sur des mammites bovines en France présentaient entre 61 et 77% de sensibilité à la pénicilline G (figure 19). Il est toutefois possible que le profil de résistances diffère entre la population de staphylocoques prélevés dans le cadre de mammite bovine et ceux présents sur la peau du mouton.

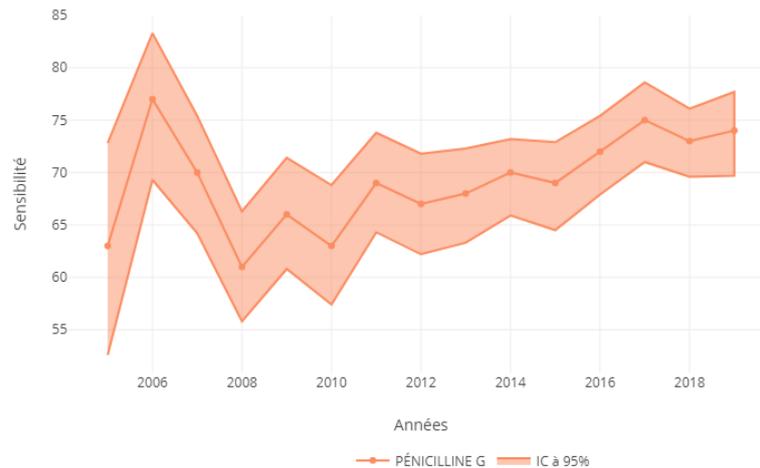


Figure 19 : Evolution de la sensibilité des *Staphylocoques* à coagulase négative à la pénicilline G, à partir de prélèvements de mammites bovines en France, de 2005 à 2019. (IC : intervalle de confiance). D'après **Résapath, Anses**.

L'amoxicilline apporte donc une couverture des principales bactéries pouvant présenter un danger lors de césarienne de brebis, malgré la présence de résistance possible chez les staphylocoques. Une éventuelle association à l'acide clavulanique pourrait palier ces résistances. Cet ajout doit être décidé en fonction de la balance bénéfices-risques.

5.2.2. Infections respiratoires

5.2.2.1. Enjeux

Les maladies respiratoires ovines sont fréquentes et ont un impact économique non négligeable sur la filière. De fait, cette affection augmente la mortalité dans le cheptel, réduit le GMQ (Gain Moyen Quotidien) et la qualité des carcasses, et entraîne des frais vétérinaires (**Lacasta, 2019 ; Scott, 2011**).

L'hyperthermie générée par une affection respiratoire bactérienne peut menacer l'issue de la gestation et provoquer un avortement (**Edwards, 2006**). Il est donc crucial de traiter ces maladies chez les brebis gravides qui présentent des signes cliniques.

La maîtrise de ces affections constitue aussi un enjeu de bien-être animal car elles dégradent la qualité de vie (**Scott, 2011**).

5.2.2.2. Microorganismes impliqués

5.2.2.2.1. Identification des microorganismes impliqués

Les infections bactériennes représentent environ 60% des affections respiratoires dont le diagnostic étiologique a été réalisé. Les affections respiratoires parasitaires, virales et tumorales peuvent également être compliquées par des infections bactériennes secondaires (**Bell, 2008 ; Lacasta, 2019**).

Dans une étude exposée par **Lacasta (2019)**, des bactéries ont été isolées à partir des différentes lésions pulmonaires constatées en abattoir en Espagne, sur la base de l'analyse de 42 ovins de réforme. Le résultat des analyses est présenté en figure 20.

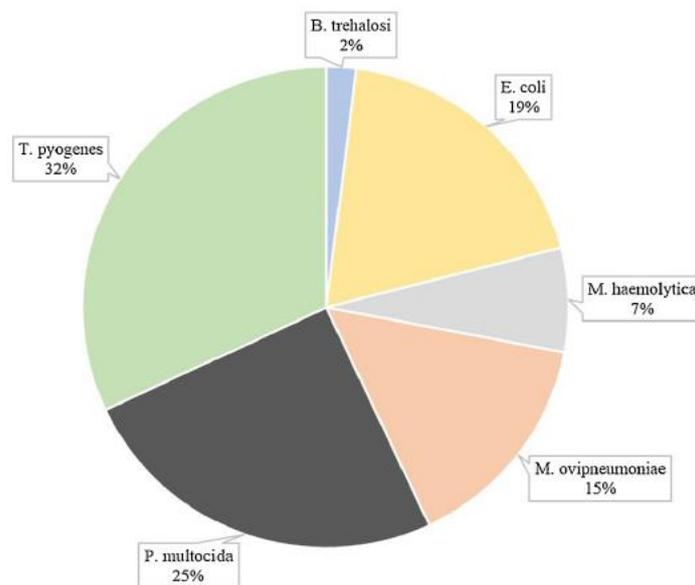


Fig. 2. Proportion of bacteria isolated from samples from lungs with lesions, collected during post-mortem examination in culled sheep in Spain (**Saura Armelles, 2017**).

Note. Isolation of more than one organism from samples from the same animal has been recorded.

Figure 20 : Proportions des différentes bactéries isolées dans les lésions pulmonaires chez 42 ovins de réforme en Espagne en 2017. Certaines lésions hébergeaient plusieurs bactéries différentes. D'après **Lacasta (2019)**.

La moitié des bactéries isolées étaient des Pasteurelles : *Pasteurella multocida*, *Mannheimia ovipneumoniae*, *Mannheimia haemolytica*, *Bibersteinia trehalosi*. *P. multocida* ne représentait cependant que 1,15% des diagnostics étiologiques réalisés entre 2002 et 2005 en Angleterre et au Pays de Galle (**Bell, 2008**).

Les pasteurelles sont des cocco-bacilles à Gram négatif immobiles, à métabolisme aéro-anaérobie avec une croissance optimale à 37-40 °C. Dans l'organisme, ces bactéries demeurent dans le milieu extracellulaire (**Boyce, 2010**).

Trueperella pyogenes correspond à un tiers des bactéries détectées à l'abattoir par **Lacasta (2019)**. Précédemment nommée *Arcanobacterium pyogenes*, il s'agit d'un cocco-bacille pléomorphe à Gram positif immobile, non sporulé. Elle appartient à la flore « cutanée, oropharyngée, respiratoire supérieure, urogénitale, et gastro-intestinale des animaux » (**Ribeiro, 2015**). C'est un agent pathogène opportuniste qui peut causer des abcès pulmonaires (**Bell, 2008 ; Lacasta, 2019**).

Escherichia coli est également fréquemment isolée à l'examen nécropsique. Ce bacille à Gram négatif appartient au groupe des entérobactéries. Il fait partie de la flore commensale digestive. Certaines souches pathogènes sont capables d'envahir les cellules épithéliales (**Kaper, 2004**).

Mycoplasma ovipneumoniae a été recensée dans 5% des atteintes respiratoires selon les données épidémiologique britanniques **VIDA** (Veterinary Investigation Diagnosis Analysis), entre 2009 et 2016. Elles sont à l'origine de pneumonies chroniques dont la présentation clinique devient plus sévère en cas de complication par des pasteurelles (**Bell, 2008**). Ces bactéries sont peut-être absentes de la détection en abattoir espagnol par **Lacasta (2019)** à cause de leur culture difficile.

5.2.2.2.2. Sensibilité à l'amoxicilline des germes impliqués

En pratique, le diagnostic étiologique est rarement réalisé car les présentations cliniques sont communes et les examens complémentaires se révèlent souvent trop coûteux pour la filière ovine (**Scott, 2011**). Le traitement mis en place est donc probabiliste et doit idéalement permettre de couvrir les principales étiologies incluses dans le diagnostic différentiel.

Parmi des bactéries potentiellement impliquées dans les affections respiratoires, les suivantes sont réputées sensibles à l'amoxicilline :

- Les pasteurelles :
 - Concernant *Mannheimia haemolytica*, les souches prélevées lors d'affections respiratoires ovines en France entre 2009 et 2019 transmises au réseau **Résapath** ont révélé entre 93 et 98% de sensibilité à l'amoxicilline. **Timsit (2017)** a également détecté une faible résistance (<5%) à la pénicilline dans un cheptel bovin fortement traité (figure 21).

- **Timsit (2017)** n'a détecté aucune résistance à la pénicilline chez des *Pasteurella multocida* isolées dans des prélèvements trachéaux de 317 bovins en feedlot au Canada (figure 21). Les bovins traités étaient sains ou atteints de complexe respiratoire bovin.

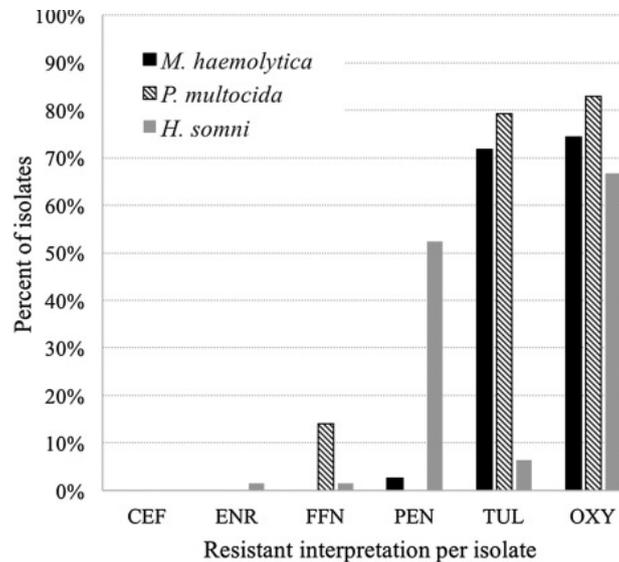


Figure 21 : Pourcentage de résistance aux antibiotiques, établie par microdilution, de souches de pasteurelles et de *Histophilus* sp. prélevés par aspiration transtrachéale chez des bovins sains ou atteints du complexe respiratoire bovin, dans un contexte de traitements antibiotiques fréquents. (PEN : pénicilline) D'après **Timsit (2017)**.

- *Trueperella pyogenes* :

Ribeiro (2015) a étudié la sensibilité de souches de *Trueperella pyogenes* prélevées sur des lésions chez diverses espèces domestiques dans un hôpital vétérinaire universitaire brésilien entre 2002 et 2012. Sur 56 souches testées, 53 (94,6%) étaient sensibles à l'amoxicilline avec la méthode de test de diffusion sur disque.

Galàn-Relano (2020) a obtenu des résultats semblables en Espagne en étudiant au total 96 souches prélevées sur des bovins, ovins et caprins, avec des affections diverses. La sensibilité à la pénicilline était de 93,7%.

Escherichia coli présente un taux de résistance à l'amoxicilline non négligeable. En élevage en France, entre 2008 et 2019, plus de 50% des souches analysées étaient résistantes, qu'elles proviennent de prélèvements digestifs d'ovins, de veaux, ou d'affections caprines. Les souches provenant de mammites colibacillaires bovines étaient à 25-33% de résistances (**Résapath**).

Enfin, le spectre d'action de l'amoxicilline ne couvre pas les mycoplasmes (**Geddes, 2010**). Mais le traitement à l'amoxicilline peut permettre d'éviter la colonisation secondaire par les pasteurelles qui aggravent les signes cliniques. L'association de l'amoxicilline à un autre antibiotique pour élargir le spectre d'action est envisageable.

5.2.2.3. Possibilité de traiter avec de l'amoxicilline

Les traitements antibiotiques sont intéressants dans le cas d'épizootie ou d'atteinte d'un individu de valeur avec un diagnostic suffisamment précis. Les avis divergent selon les publications (**Donachie, 2007 ; Scott, 2011**).

Le volet préventif de la gestion de ces affections respiratoires est important pour en réduire l'incidence et réduire les pertes. La vaccination est conseillée. Un vaccin inactivé sous-unitaire est disponible contre les pasteurelles (**Scott, 2011**). Une bonne conduite d'élevage limite aussi la survenue de ces troubles. Il est recommandé d'isoler les animaux identifiés comme infectés (**Bell, 2008**).

5.2.3. Affections digestives

Bien que l'AMM de **RCP du Clamoxyl® Suspension** couvre également les « infections digestives dues aux entérobactéries », ces affections ne sont rencontrées que marginalement chez la brebis adulte en Europe.

Par exemple, les infections à *Yersinia spp.* sont peu fréquentes et se manifestent surtout chez les jeunes ovins (**Gumbrell, 2007**).

5.2.4. Affections du pied

5.2.4.1. Enjeux

Ces affections présentent aussi bien un enjeu économique que de bien-être animal. Au Royaume-Uni, il a été estimé dans une étude de 2015 que 4,9% des brebis souffraient de boiterie, sur la base de 1260 réponses à des questionnaires envoyés à des éleveurs (**Winter, 2015**). Cela entraînerait un coût de 24 à 80 millions de Livres pour la filière ovine britannique.

Ces pertes s'expliquent par une réduction de la prise alimentaire car les animaux se déplacent moins, une baisse du taux de reproduction, ainsi que l'augmentation du risque de blessures et de myiases, et qu'une perte de valeur de la laine (**Egerton, 2007**).

5.2.4.2. Affection en cause : le piétin

Le piétin peut être à l'origine d'une boiterie sévère. A un stade précoce, il se présente comme une dermatite interdigitée. En progressant, l'infection provoque une séparation de la corne commençant médialement, à proximité de la sole (**Duncan, 2019**).

Le piétin est présent dans 80 à 95% des troupeaux britanniques, avec en moyenne une prévalence de 5% par cheptel. Elle correspond à 70 voire 80% des boiteries rencontrées au Royaume-Uni.

Le piétin doit être traité précocement pour de meilleurs résultats et pour limiter la transmission au sein du troupeau. Il est recommandé de ne traiter que les animaux atteints et d'éviter la métaphylaxie. L'association d'un traitement antibiotique local et systémique permet d'être plus efficace.

Par ailleurs, pour être efficace à long terme, le traitement doit s'accompagner de vaccination et de mesures de biosécurité (**Duncan, 2019 ; Green, 2008 ; Green, 2017**).

5.2.4.3. Microorganismes impliqués

Cette infection est majoritairement due à deux bactéries (**Clifton, 2017 ; Duncan, 2019 ; Egerton, 2007**) :

- *Dichelobacter nodosus*, qui s'installe sur une peau fragilisée. C'est un bacille à Gram négatif non sporulé et au métabolisme anaérobie. **Jimenez (2004)** a étudié sa sensibilité aux antimicrobiens pour 69 souches prélevées sur des lésions de piétin ovin. Au seuil de CMI fixé, les souches étaient respectivement sensibles à 71 et 74 % à la pénicilline G et à l'ampicilline. La sensibilité à l'amoxicilline n'a pas été étudiée. **Green (2017)** rapporte qu'aucune résistance n'a été détectée jusqu'alors pour cette bactérie.
- *Fusobacterium spp.*, dont *F. necrophorum*, qui aggraverait les lésions. Ce sont aussi des bacilles à Gram négatif non sporulés au métabolisme anaérobie. Cette bactérie est sensible à l'amoxicilline. **Jimenez (2004)** a obtenu une sensibilité aux bêta-lactamines de plus de 89% pour 108 souches prélevées sur des lésions de piétin ovin, sauf pour l'ampicilline (65%). L'amoxicilline n'a pas été testée.

5.2.4.4. Possibilité de traiter avec de l'amoxicilline

Duncan en 2012 a traité avec 15 mg/kg d'amoxicilline trihydratée longue action 195 agneaux croisés, atteints du piétin à l'engraissement. Aux semaines 0, 5 et 9, leur état a été documenté et l'antibiotique leur a été injecté s'ils présentaient une atteinte podale. Finalement, 81,5% des animaux touchés ont guéri du piétin avec une administration d'amoxicilline (et sans vaccin). Le traitement a permis de passer de 47,1% de prévalence dans le groupe à 18,5% à l'issue de l'étude. La vaccination, combinée à la même antibiothérapie dans un autre groupe, a permis d'améliorer ces résultats. L'amoxicilline est donc un bon candidat pour traiter le piétin.

Par ailleurs, selon son **RCP**, la Terramycine Longue Action (Oxytétracycline) injectable dispose de l'indication « panaris interdigués dus à des germes sensibles à l'oxytétracycline ». Bien qu'il n'y ait pas d'effet tératogénique déclaré, le passage de la barrière placentaire entraîne « une coloration des dents et un ralentissement de la croissance fœtale ». Ces effets justifient l'utilisation d'une autre molécule durant la gestation de la brebis, selon le principe de la cascade.

5.3. Conclusion sur l'utilisation de l'amoxicilline chez la brebis gravide

Les cas d'utilisation de l'amoxicilline pour traiter le fœtus ovin sont rares. Son usage est cependant plus fréquent pour traiter l'ovin adulte, donc potentiellement la brebis gravide.

Les traitements administrés aux animaux d'élevages sont encadrés par la législation. Ainsi, le schéma thérapeutique applicable est celui indiqué par les RCP. Ainsi, pour le **Clamoxyl® suspension**, la posologie est : 7 mg/kg « une fois par jour [...] pendant 3 à 5 jours, par voie intramusculaire ». Le **RCP du Clamoxyl® longue action** recommande 15 mg/kg « deux fois à 48h d'intervalle par voie intramusculaire ».

ETUDE EXPERIMENTALE

6. OBJECTIFS DE L'ETUDE

Cette étude expérimentale a visé dans un premier temps à déterminer la concentration en amoxicilline dans le plasma de brebis, le plasma fœtal et le liquide amniotique, 24h et 48h après une administration d'amoxicilline longue action par voie intramusculaire, en fin de gestation.

Ces données ont servi à étudier la diffusion de cet antibiotique de la mère au fœtus et à proposer une extrapolation pour l'espèce humaine.

Les valeurs obtenues ont ensuite été utilisées pour prédire si la dose administrée lors de protocoles conventionnels d'antibiothérapie était suffisante pour traiter des infections courantes chez la femme enceinte et la brebis gestante.

7. MATERIEL ET METHODE

7.1. Animaux

Cette étude a été réalisée en parallèle d'une autre, qui évaluait l'impact d'une exposition au Bisphénol S (BPS) à faible dose sur le métabolisme de brebis gravides. Elle portait notamment sur la réponse insulinique du fœtus lors d'une hyperglycémie. La présence de cette étude conjointe permet de comprendre le protocole auquel les brebis ont été soumises.

Le projet a été déclaré au Comité d'Ethique « Toxcométhique » (Comité d'Ethique de Pharmacologie-Toxicologie de Toulouse Midi-Pyrénées – n°86). Les expérimentations ont été acceptées par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche sous le numéro APAFIS#23515_2020010814364558.

Quarante-huit brebis de race Ile-de-France ont été réparties aléatoirement en 2 groupes de 24 individus : un groupe de brebis grasses avec un objectif de Note d'Etat Corporel (NEC) de 4, et un second, de brebis maigres avec une NEC cible de 2. Les rations alimentaires ont donc été différenciées entre les deux groupes. Les brebis ont été entretenues à l'ENVT.

La moitié des brebis grasses et des brebis maigres, réparties aléatoirement, a reçu 0,05 mg/kg/j de BPS par voie sous-cutanée durant 103 jours de gestation (du 33^e au 135^e jour de gestation). Les autres individus ont constitué le groupe témoin de l'expérimentation sur le BPS et ont reçu quotidiennement le solvant par voie sous-cutanée pendant la même durée.

Les brebis ont été divisées en quatre lots comprenant chacun autant de brebis maigres que de brebis grasses. Les gestations ont été espacées dans le temps entre les quatre lots pour permettre une meilleure organisation. La répartition globale des brebis est récapitulée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Nombre de brebis dans les différents groupes : lots, état d'engraissement et exposition au BPS. Entre parenthèses, nombre de brebis prises en compte à la fin des manipulations.

	Brebis maigres		Brebis grasses	
	BPS	Contrôle	BPS	Contrôle
Lot 1	3 (2)	3 (2)	3 (2)	4 (4)
Lot 2	3 (2)	3 (3)	3 (3)	3 (3)
Lot 3	3 (3)	3 (3)	3 (3)	3 (3)
Lot 4	3 (2)	2 (2)	2 (2)	1 (0)
Total	23 (19)		22 (20)	

Les brebis sont arrivées à l'ENVT le 20 et 22 août 2019 et la mise à la reproduction des différents lots s'est étalée de septembre à novembre 2019.

Les brebis étaient logées dans 4 boxes (maigres + BPS, maigres + contrôle, grasses + BPS et grasses + contrôle) jusqu'à leur chirurgie. Par la suite, elles ont été placées en box paillé individuel. Les boxes ont été paillés quotidiennement et curés une fois par mois.

Les brebis avaient à disposition de l'eau et de la paille à volonté. Les concentrés ont été distribués deux fois par jour et les refus ont été notés. Les deux rations étaient constituées de la façon suivante :

- Pour le groupe gras : paille à volonté, 1 kg de concentré composé de 18 % de matière azotée totale, 20g de complément minéral (25g à partir du 100^e jour de gestation)
- Pour le groupe maigre : paille à volonté, 350 g de concentré composé de 25 % de matière azotée totale, 20g de complément minéral (25g à partir du 100^e jour de gestation)

Les rations ont été adaptées en cours de manipulation en fonction de la NEC atteinte par les brebis.

Des chirurgies ont été effectuées entre le 120^e et le 130^e jour de gestation, soit entre janvier et mars 2020. 24h heures avant la chirurgie, de l'amoxicilline longue action était administrée par voie intramusculaire. Les prélèvements pour les dosages d'amoxicilline ont été réalisés durant la chirurgie et 24h plus tard, comme précisé dans la figure 22.

Les brebis et leurs fœtus ont été euthanasiés à l'issue des manipulations.

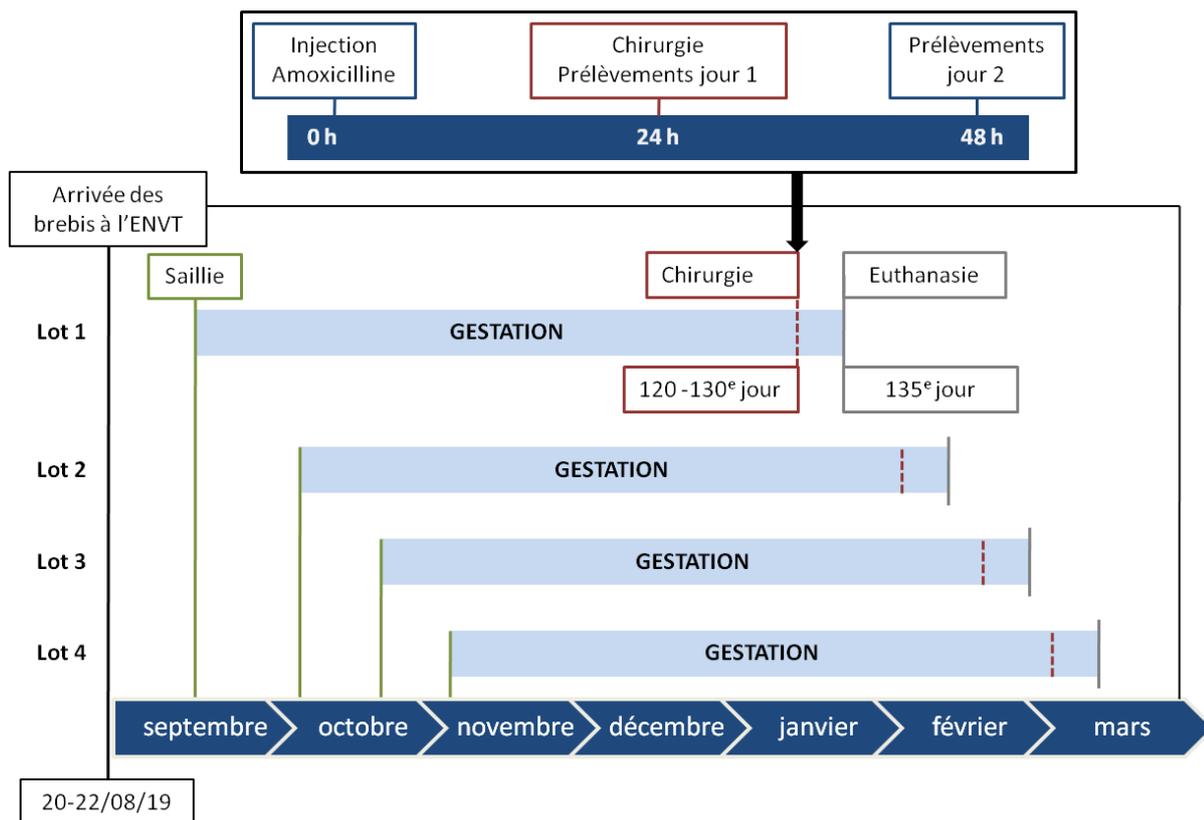


Figure 22 : Schéma de l'organisation temporelle du projet

7.2. Amoxicilline

La spécialité d'amoxicilline utilisée était LongAmox[®], commercialisée par Vétoquinol (Magny Vernois, 70200 Lure, France) (**RCP LongAmox[®]**). Il s'agit d'une suspension d'amoxicilline sous forme de trihydrate, concentrée à 150 mg/mL. C'est une forme longue action qui peut être administrée toutes les 48h. La posologie recommandée est de 15 mg/kg par administration.

Elle a été administrée en prophylaxie 24h avant la chirurgie et injectée par voie intramusculaire. Pour faciliter la préparation des seringues, elle a été administrée à un volume fixe en fonction du groupe d'engraissement : 10mL pour les brebis maigres et 12mL pour les brebis grasses.

7.3. Intervention chirurgicale

Les brebis ont été opérées entre leurs 120^e et 130^e jours de gestation afin d'instrumenter leur fœtus : des cathéters centraux ont été placés pour prélever du sang veineux et artériel fœtal.

7.3.1. Préparation à la chirurgie

Les brebis ont reçu pour l'anesthésie :

- Médétomidine (Domitor®) par voie intramusculaire pour la prémédication, 1h avant la chirurgie
- Lidocaïne (*Lurocaïne*®, 10mL par brebis soit 200mg), en anesthésie traçante (au niveau du site opératoire) en préopératoire immédiat
- Propofol (*Propovet*®, 10mL par brebis soit 100mg) par voie intraveineuse (après fixation d'un cathéter jugulaire) pour l'induction
- Maintien de l'anesthésie gazeuse à l'isoflurane (à 2% en moyenne)

Le site opératoire a été nettoyé et désinfecté à la povidone iodée (*Vétédine*® Savon et Solution).

En cours de chirurgie, de l'ampicilline (500mg) a été administrée dans le liquide amniotique après réalisation des prélèvements.

Les brebis ont été monitorées pendant l'anesthésie, qui durait en moyenne 1h30.

7.3.2. Méthode chirurgicale

La chirurgie a consisté en une césarienne, durant laquelle les membranes fœtales ont été ouvertes, puis la tête et le cou du fœtus ont été externalisés afin de placer deux cathéters centraux.

La laparotomie a été effectuée sur le flanc gauche. La portion d'utérus dans laquelle se situait la tête du fœtus a été externalisée et incisée. Puis les enveloppes fœtales ont été ouvertes à distance des caroncules et des vaisseaux visibles. Les membranes ont ensuite été maintenues de façon à limiter les pertes de liquide amniotique.

Par la suite, la peau du fœtus a été incisée en regard de la veine jugulaire et de la carotide. Pour cela, chaque vaisseau a été ponctionné à l'aide d'une aiguille courbe, tout en limitant l'afflux sanguin avec un fil en amont et en maintenant l'aval aligné avec un second fil. Puis le cathéter a été inséré et fixé sur le vaisseau par ces deux fils avant d'être suturé plus distalement à la peau du fœtus. La peau fœtale a ensuite été suturée et le fœtus replacé dans l'utérus. Un surjet enfouissant a été réalisé à la fois sur l'utérus et l'ensemble des enveloppes fœtales. Pour finir, les plans musculaires et cutanés ont été suturés un à un.

Les cathéters fœtaux ont été placés de manière à traverser toutes ces sutures, et ont été cathéterisés dans le tissu sous-cutané pour aboucher au niveau du flanc de la mère, à distance du site de laparotomie. Afin de maintenir leur stérilité, leur extrémité a été recouverte de compresses imbibées de povidone iodée (*Vétédine*® Solution) et d'alcool dans une poche plastique imperméable. Le tout a été maintenu en place et protégé par un boîtier solide positionné sur le bandage abdominal.

Cette mise en place des cathéters a impliqué par la suite un entretien quotidien, consistant en la vérification de leur perméabilité ainsi que deux flushs successifs (1 mL de NaCl 0.9% suivi de 1 mL de sérum physiologique hépariné) jusqu'à la fin des manipulations.

7.4. Prélèvements

Des prélèvements sanguins et de liquide amniotique ont été réalisés pendant et après la chirurgie.

Durant la chirurgie (soit 24h post-injection d'amoxicilline), ont été prélevés :

- 2 mL de sang maternel par ponction de la veine jugulaire
- 1 mL de sang fœtal par ponction dans le cathéter veineux jugulaire
- 1 mL de liquide amniotique par ponction dans la cavité amniotique

24h après la chirurgie (soit 48h post-injection d'amoxicilline) :

- 2 mL de sang maternel par ponction de la veine jugulaire
- 1 mL de sang fœtal par ponction dans le cathéter veineux jugulaire

Les prélèvements sanguins ont été placés dans des tubes contenant 2 μ L d'une solution d'héparine à 5000UI/mL diluée à 10%, les prélèvements de liquide amniotique ont été mis dans des tubes secs. Ils ont été maintenus dans de la glace pendant au maximum 30 min avant centrifugation.

Les échantillons ont ensuite été centrifugés à 7000g à 4°C durant 10 minutes. Puis 200 μ L de plasma (ou de surnageant dans le cas du liquide amniotique) ont été prélevés pour être conservés à - 80°C.

7.5. Dosage de l'amoxicilline

Le dosage de l'amoxicilline a été réalisé par chromatographie en phase liquide avec spectrométrie de masse en tandem.

7.5.1. Validation du dosage

Les dosages d'amoxicilline dans le plasma et le liquide amniotique ont été réalisés séparément pour prendre en compte l'effet matrice.

Une gamme étalon a été préparée préalablement sur la même matrice que les échantillons. Elle comprend les concentrations d'amoxicilline suivantes : 5 ; 1 ; 0,5 ; 0,1 ; 0,05 ; et 0,01 μ g/mL. Elle a subi les mêmes traitements que les échantillons et a permis d'établir une droite de calibration incluant une pondération plus importante pour les plus petites concentrations.

Des contrôles qualité ont été effectués. Il s'agit de solutions dont la concentration initiale en amoxicilline est connue, à 2,5 ; 0,25 ; et 0,025 μ g/mL. Ils ont pour vocation d'être analysés tous les 5 échantillons pour vérifier l'absence de déviation au cours du temps dans la méthode. Les résultats sont validés à condition que les contrôles qualités soient bons.

Enfin, 2 types de témoin ont été analysés en parallèle des échantillons. L'un comprend uniquement de la matrice, l'autre contient de la matrice et du standard interne.

7.5.2. Préparation des échantillons

Les échantillons ont été répartis en aliquots de 100 μ L.

Un standard interne a été ajouté à chaque tube (y compris ceux de la gamme, des contrôles qualité et d'un témoin), afin d'avoir un pic de référence correspondant à une concentration constante pour une molécule donnée. Le standard interne choisi est l'ampicilline pour les dosages du premier jour, qui a une structure et des propriétés chimiques proches de celles de l'amoxicilline, donc un comportement proche dans la

colonne de chromatographie et l'amoxicilline D4 pour les dosages du second jour (car il était impossible d'utiliser l'ampicilline ; il en avait été ajouté dans le liquide amniotique lors de la chirurgie)

7.5.3. Epuration des échantillons

Les protéines ont été dans un premier temps précipitées avec 400µL de méthanol. Les tubes ont ensuite été placés à l'incubateur à 1400 tr/min pendant 10 min à 10°C. Puis ils ont été centrifugés à 20 000 g pendant 10 min à 4°C.

400µL de surnageant ont été récupérés pour être ensuite évaporés sous N₂ à 45°C. Cette étape durait environ 1h.

Après évaporation, il a été ajouté 100µL de solution tampon à pH 5, composée d'acétate d'ammonium. Ce tampon a été choisi pour ses qualités d'éluant. Par ailleurs, son pH intermédiaire entre les deux pKa de l'amoxicilline (3,2 et 11,7) favorise la présence de cette molécule sous une seule forme à détecter en spectrométrie.

Ces solutions ont été de nouveau passées à l'incubateur à 1400 tr/min pendant 10 min à 10°C puis à la centrifugeuse à 20 000 g pendant 10 min à 4°C.

Les surnageants ont finalement été prélevés pour l'analyse par spectrométrie.

7.5.4. Analyse des échantillons

Les échantillons ont été analysés à l'aide d'une chromatographie en phase liquide avec spectrométrie de masse en tandem (système Acquity UPLC et Xevo TQ-MS, Laboratoire Waters).

Un premier chromatogramme obtenu a permis de visualiser les pics correspondant à l'ensemble des molécules détectées. Après sélection des ratios [m/z] recherchés, seule l'amoxicilline, l'ampicilline ou l'amoxicilline D4, ainsi que les molécules issues de leur fractionnement ont été conservées sur un second chromatogramme.

La mesure de l'aire sous la courbe au niveau des pics a ensuite permis de calculer la concentration en amoxicilline, en µg/mL grâce à une courbe de calibration.

7.6. Analyse des données

Les concentrations obtenues ont été analysées par catégories, désignées par l'individu (mère ou fœtus) ou le milieu (plasma ou liquide amniotique) et jour de prélèvement : B1 (plasma de brebis, jour 1), B2 (plasma de brebis, jour 2), F1 (plasma de fœtus, jour 1), F2 (plasma de fœtus, jour 2) et LA (liquide amniotique, jour 1). Pour chaque catégorie, les calculs de moyennes, d'écart-types ainsi que de médianes et de quartiles ont été réalisés sur le logiciel Excel® (Microsoft).

L'étude statistique a intégré les paramètres suivants : le lot, l'état d'engraissement, la dose d'amoxicilline reçue, l'exposition au BPS et le nombre de fœtus. L'effet des paramètres a été testé par analyse de modèles linéaires généraux sur le logiciel Systat® (Systat

Software). L'effet d'un paramètre a été considéré comme significatif lorsque la p-value était inférieure à 0,05.

Sur les 45 brebis présentes initialement, 39 ont été incluses dans l'ensemble des manipulations. Par ailleurs, les dosages d'un échantillon de F1 et d'un échantillon de F2 n'ont pas pu être réalisés.

7.7. Prédiction des concentrations fœtales atteignables chez l'humain

Nous souhaitons établir une prédiction de la concentration en amoxicilline chez le fœtus humain dans le cadre de deux protocoles d'antibiothérapie par voie orale que la femme peut recevoir durant la grossesse. Le premier consiste en 3 prises quotidiennes de 1g d'amoxicilline, et est recommandé pour traiter des infections urinaires ou respiratoires sévères (**RCP de Clamoxyl®**). Le second est actuellement recommandé en cas de PPROM et correspond à 3 prises quotidiennes de 250mg (**ACOG, 2018 ; Mercer, 1998 ; Yudin, 2017**).

L'utilisation de l'AUC (Area Under the Curve of concentrations over time) permet d'approcher la concentration plasmatique moyenne d'une molécule sur un intervalle de temps. Celle-ci est plus représentative qu'une mesure à un instant donné et permet une comparaison aux CMI en ce qui concerne les antibiotiques.

7.7.1. Calcul de l'AUC chez les brebis de notre étude

Une approximation de l'AUC de l'amoxicilline chez les brebis incluses dans notre étude a été réalisée à partir de l'article de **Delis (2009)**, qui décrit la pharmacocinétique de l'amoxicilline longue action (Clamoxyl® LA) chez le mouton après une injection intramusculaire. Pour cela, nous avons supposé que l'AUC était proportionnelle à la dose. La formule suivante a donc été appliquée :

$$AUC_{brebis} = AUC_{Delis} \times \frac{dose_{brebis}}{dose_{Delis}}$$

7.7.2. Calcul de l'AUC chez la femme recevant un traitement aux doses recommandées

L'article de **de Velde (2016)** s'intéresse à la pharmacocinétique de l'amoxicilline par voie orale chez l'homme en administrant différentes doses d'amoxicilline (de 250 à 875mg) deux à trois fois par jour, de façon isolée (séparées d'une semaine). Il fournit une AUC₀₋₂₄ normalisée par gramme d'en moyenne 34,6 µg.h/mL. Pour l'administration de 250 mg d'amoxicilline 3 fois par jour, il a calculé une AUC₀₋₂₄ de 27,29 µg.h/mL.

En considérant l'AUC₀₋₂₄ proportionnelle à la dose administrée durant la journée, nous pouvons calculer l'AUC₀₋₂₄ chez la femme dans le cadre des deux traitements choisis en multipliant l'AUC₀₋₂₄ normalisée par la dose administrée en une journée.

L'extrapolation de notre modèle à un cas de bolus intraveineux n'est pas proposée car elle comprendrait davantage de biais. En effet, le profil de concentration chez la mère diffère alors, avec un pic marqué et une élimination rapide de la molécule. Ce pic majeur pourrait

entraîner une dynamique différente de passage de la barrière placentaire et il n'est pas certain qu'un équilibre puisse être atteint en quelques minutes ou quelques heures chez le fœtus.

7.7.3. Extrapolation à la concentration plasmatique fœtale chez l'homme

A partir des valeurs d'AUC chez les brebis et de concentration fœtale obtenues dans notre étude, ainsi que de l'AUC calculée chez la femme, nous pouvons estimer la concentration en amoxicilline chez le fœtus humain lorsque la mère reçoit de l'amoxicilline par voie orale, via la formule suivant :

$$concentration_{foetus_h} = concentration_{foetus_b} \times \frac{AUC_f}{AUC_b}$$

8. ANALYSE DES RESULTATS

Les concentrations suivantes ont été analysées : B1 (plasma de brebis au jour 1, soit environ 24h après l'administration d'amoxicilline), B2 (plasma de brebis au jour 2, soit environ 48h après l'administration d'amoxicilline), F1 (plasma de fœtus au jour 1), F2 (plasma de fœtus au jour 2) et LA (liquide amniotique prélevé au jour 1). Les rapports F1/B1, LA/B1, F2/B2 ont aussi été intégrés à l'étude. La moyenne et écart-type des concentrations obtenues chez les différents individus sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Moyennes et écarts-types des concentrations d'amoxicilline mesurées (en $\mu\text{g/mL}$). « n » désigne le nombre de dosages réalisés par catégorie.

	Prélèvements	Moyenne	Ecart-type
Concentrations en amoxicilline ($\mu\text{g/mL}$)	B1 (n=39)	2,133	0,678
	B2 (n=39)	0,840	1,053
	F1 (n=38)	0,069	0,043
	F2 (n=38)	0,053	0,031
	LA (n=39)	0,058	0,039

8.1. Recherche d'interactions

Les effets des paramètres de lot, d'état d'engraissement, du nombre de fœtus et d'administration de BPS ont été recherchés dans un modèle linéaire général. On considère un effet significatif du paramètre si la p-value est inférieure à 0,05.

Aucun effet de l'administration de BPS ni du nombre de fœtus n'a été mis en évidence. Un effet du lot a été détecté uniquement entre les lots 1 et 3 pour le dosage de B1.

Concernant l'impact de l'état d'engraissement, plusieurs effets (résumés dans le tableau 3) ont été mis en évidence :

- Des concentrations plus élevées pour F1 dans le groupe maigre ($p=1,1 \times 10^{-5}$)
- Un ratio F1/B1 plus élevé dans le groupe maigre ($p=2,0 \times 10^{-4}$)

Deux tendances ont été constatées, cependant sans différence significative :

- Des valeurs F2 plus élevées dans le groupe maigre ($p=0,070$), avec la présence d'une différence significative ($p=2,62 \times 10^{-3}$) en répétant l'analyse sans les 3 valeurs aberrantes de F2 repérées par le logiciel Systat®.
- Un ratio F2/B2 plus élevé dans le groupe maigre ($p=0,054$), avec toutefois la disparition de cette tendance après retrait des valeurs aberrantes ($p=0,157$).

Tableau 3 : Moyennes et écarts-types des concentrations en amoxicilline (en µg/mL) et des ratios calculés (sans unité) en fonction de l'état d'engraissement « maigre » ou « gras ». L'existence d'une différence significative est renseignée par la p-value (significative si $p < 0,05$).

		Maigre	Ecart-type Maigre	Gras	Ecart-type Gras	p-value	Significativité
Concentrations en amoxicilline (µg/mL)	B1	2,289	0,562	1,985	0,756	0,305	ns
	B2	0,690	0,747	0,983	1,282	0,759	ns
	F1	0,099	0,040	0,040	0,020	1,1E-05	***
	F2	0,061	0,035	0,046	0,025	0,070	ns
	LA	0,062	0,034	0,055	0,043	0,653	ns
Ratios	F1/B1	0,045	0,017	0,022	0,013	2,0E-04	***
	LA/B1	0,028	0,016	0,034	0,037	0,650	ns
	F2/B2	0,145	0,112	0,085	0,044	0,054	ns

Cette première étude a été menée avant d'avoir accès au fichier des poids des brebis et donc en considérant que la dose d'amoxicilline par kg reçue par les brebis était la même (les volumes administrés avaient été ajustés pour le groupe maigre et le groupe gras). Suite à l'obtention des données de poids des brebis au moment de la chirurgie, nous avons refait les analyses en intégrant la dose par kg exacte pour chaque animal.

Tout d'abord, une différence significative de poids entre le groupe maigre et gras (p-value de $1,15 \times 10^{-15}$) a été confirmée, avec un poids moyen de $59,98 \pm 4,89$ kg pour les brebis maigres et $83,66 \pm 6,89$ kg pour les grasses.

L'administration d'amoxicilline a été réalisée avec un volume fixe par groupe d'état d'engraissement et il s'est avéré a posteriori qu'il existait une différence significative de dose d'amoxicilline en fonction de l'état d'engraissement (p-value de $5,7 \times 10^{-7}$), avec une dose moyenne dans le groupe maigre de $25,42 \pm 2,21$ mg/kg et pour le groupe gras $21,64 \pm 1,68$ mg/kg. La moyenne générale était de $23,49 \pm 7,37$ mg/kg.

Un impact de la dose a donc été recherché. Elle a eu uniquement un effet sur F1 ($p=0,025$) en prenant en compte les paramètres de dose, de lot, d'exposition au BPS ainsi que leurs interactions dans un modèle linéaire général. Une régression linéaire avec la méthode des moindres carrés (voir figure 23) a révélé une croissance de la concentration F1 en fonction de la dose d'amoxicilline, avec toutefois un R^2 de seulement 0,316.

Confidence Interval and Prediction Interval

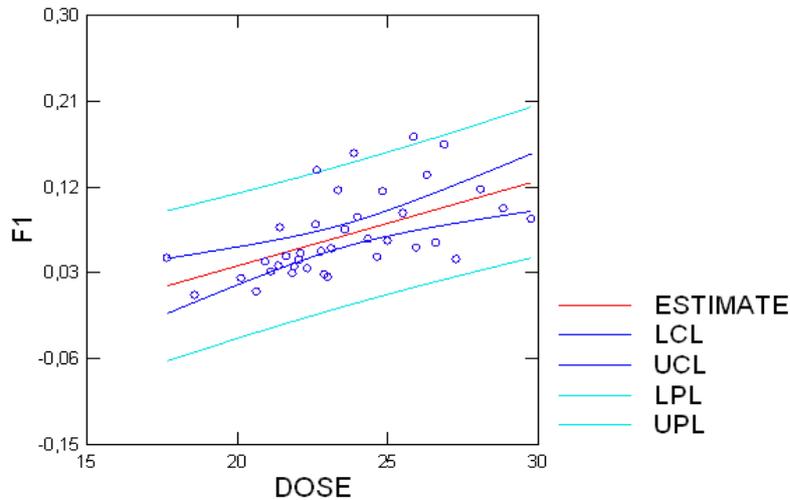


Figure 23 : Régression linéaire selon la méthode des moindres carrés de la concentration F1 en fonction de la dose d'amoxicilline administrée. $R^2 = 0,316$.

Il est par ailleurs notable que les effets des paramètres de l'état d'engraissement et de la dose disparaissent lorsqu'un modèle les prend tous deux en compte.

D'après ces analyses, il est donc possible que l'effet (ou une partie de l'effet) de l'état d'engraissement sur la concentration F1 provienne d'un biais et soit la conséquence de la différence de dose reçue entre les groupes maigre et gras.

8.2. Etude du ratio des concentrations mère-fœtus

Le passage de l'amoxicilline au compartiment fœtal est étudié par le rapport de la concentration mesurée dans le plasma fœtal et celle mesurée dans le plasma maternel, au même instant (tableau 4).

Tableau 4 : Moyennes de rapports entre les concentrations d'amoxicilline obtenues chez la mère et le fœtus au même instant et leurs écart-types (sans unité).

	Moyenne	Ecart-type
F1/B1	0,033	0,019
LA/B1	0,031	0,029
F2/B2	0,113	0,088

Un jour après l'administration d'amoxicilline, la concentration dans le plasma du fœtus correspond en moyenne à 3,3% de la concentration dans le plasma maternel. Le ratio entre la concentration dans le liquide amniotique et dans le plasma maternel est de 3,1% en moyenne et est semblable à celui obtenu avec le plasma fœtal.

Deux jours après l'administration d'amoxicilline, le rapport moyen entre la concentration plasmatique chez le fœtus et chez la mère a augmenté à 11,3%. Cette augmentation semble influencée par une diminution plus rapide de la concentration en amoxicilline chez la mère que chez le fœtus. Il y aurait donc potentiellement une accumulation dans le fœtus.

A notre connaissance, il n'existe pas de publication portant sur la concentration d'amoxicilline chez le fœtus ovin. Il n'existe donc pas de référence de ratio mère-fœtus dans cette espèce.

8.3. Prédiction de la concentration en amoxicilline chez le fœtus humain

8.3.1. Calcul de l'AUC chez les brebis de notre étude

Selon **Delis (2009)**, l' $AUC_{0-\infty}$ (l'aire sous la courbe des concentrations en fonction du temps de 0 à l'infini) est d'environ 50 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ suite à une administration unique par voie intramusculaire de 15 mg/kg d'amoxicilline longue action chez les ovins adultes. En considérant que la cinétique de l'amoxicilline est linéaire (dose-proportionnelle), nous avons pu estimer l' $AUC_{0-\infty}$ chez les brebis en tenant compte de la dose administrée dans notre étude, soit : 72 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ chez les brebis maigres qui ont reçu 25,42 mg/kg d'amoxicilline, 85 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ chez les brebis grasses qui ont reçu 21,64 mg/kg d'amoxicilline, et 78 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ en moyenne sur l'ensemble des brebis (avec une dose moyenne de 23,49 mg/kg d'amoxicilline).

8.3.2. Calcul de l'AUC chez la femme recevant un traitement aux doses recommandées

Dans son étude pharmacocinétique, **de Velde (2016)** indique que l' AUC_{0-24} pour l'amoxicilline chez la femme est d'en moyenne 34,6 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ par gramme d'amoxicilline administrée par voie orale. Avec l'hypothèse d'une relation de proportionnalité entre la dose quotidienne et l' AUC_{0-24} , l' AUC_{0-24} chez la femme est estimée à 104 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ avec le premier protocole d'antibiothérapie envisagé (1g par voie orale, 3 fois par jour).

En ce qui concerne le second protocole, à 250 mg d'amoxicilline par voie orale trois fois par jour, il a été étudié par **de Velde** et l' AUC_{0-24} obtenue est de 27,29 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.

8.3.3. Extrapolation à la concentration plasmatique fœtale chez l'homme

A partir des estimations des AUC chez la femme (104 et 27,29 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$) et chez l'ensemble des brebis de l'étude (78 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$), ainsi que des concentrations moyennes chez le fœtus ovin (moyenne de F1 et F2, de 0,061 $\mu\text{g}/\text{mL}$), une approximation de la concentration atteinte chez le fœtus humain est proposée selon la formule suivante :

$$\text{concentration}_{\text{foetus}_f} = \text{concentration}_{\text{foetus}_b} \times \frac{AUC_f}{AUC_b}$$

En administrant 1g d'amoxicilline par voie orale 3 fois par jour à la mère, la concentration moyenne en amoxicilline dans le plasma fœtal humain serait de 0,081 µg/mL. Elle serait de 0,021 µg/mL avec une administration de 250mg par voie orale, 3 fois par jour (tableau 5).

De même, en se basant sur la concentration moyenne dans le liquide amniotique dans notre étude (0,058 µg/kg), la concentration estimée dans le liquide amniotique humain avec le protocole n°1 (1g, 3 fois par jour) serait de 0,077 µg/mL, et elle serait de 0,020 µg/mL avec le protocole n°2 (250mg, 3 fois par jour) (tableau 5).

Tableau 5 : Prédictions de valeurs de concentration en amoxicilline chez le fœtus et dans le liquide amniotique (en µg/mL) à partir de notre modèle, pour 2 traitements par voie orale actuellement recommandés chez la femme enceinte.

Concentrations en amoxicilline estimées	TRAITEMENT 1 1g 3 fois/jour	TRAITEMENT 2 250mg 3 fois/jour
Plasma fœtal µg/mL	0,081	0,021
Liquide amniotique µg/mL	0,077	0,020

8.3.4. Comparaison aux CMI ciblées chez le fœtus humain

Chez la femme, la principale bactérie visée par l'amoxicilline dans le compartiment fœtal est le streptocoque du groupe B (*Streptococcus agalactiae*). Un traitement préventif voire curatif est notamment mis en place en cas de PPROM. Selon les données de l'EUCAST, sur 338 souches testées, les CMI recensées pour ce microorganisme sont à 75% égales ou inférieures à 0,060 µg/mL d'amoxicilline. Les souches les plus sensibles ont une CMI de 0,016 µg/mL et celle des plus résistantes est de 0,125 µg/mL.

Concernant le traitement de la listériose à *Listeria monocytogenes*, des valeurs de CMI divergentes sont proposées dans la littérature (**Aureli, 2003 ; Boivison, 1993 ; Grayo, 2008 ; Michelet, 1993**). Les valeurs de CMI que nous avons retenues sont issues d'une publication de **Madeo (2014)** qui a étudié 96 souches isolées à partir de cas humains en Italie entre 2008 et 2010, en appliquant la méthode de microdilution recommandée par l'EUCAST. Les CMI obtenues sont comprises entre 0,06 µg/mL (correspondant à la plus faible concentration testée) et 1 µg/mL d'amoxicilline, avec une CMI₅₀ à 0,06 µg/mL d'amoxicilline (soit 50% des souches testées sont sensibles à cette concentration) et une CMI₉₀ à 0,12 µg/mL d'amoxicilline (90% des souches testées sont sensibles à cette concentration).

Ces CMI ont été comparées aux valeurs de concentrations estimées pour le compartiment fœtal humain à partir de notre modèle, résumées dans le tableau 5. Cette comparaison est possible du fait de la part importante d'amoxicilline libre dans le plasma, de l'ordre de 80% chez le mouton et chez l'homme (**Delis, 2009 ; Vidal Clamoxyl® comprimé dispersible**). Le traitement consistant en 1g d'amoxicilline administrée 3 fois par jour permettrait d'atteindre une concentration moyenne de 0,081 µg/mL dans le plasma fœtal et de 0,077 µg/mL

d'amoxicilline dans le liquide amniotique. Ces deux concentrations seraient donc supérieures à 0,060 µg/mL, qui correspond à la CMI₇₅ des streptocoques du groupe B selon l'EUCAST. Donc la majorité des souches de streptocoques du groupe B pourrait être traitée par ce protocole.

La concentration en amoxicilline permettrait également d'atteindre la CMI₅₀ à 0,06 µg/mL de *L. monocytogenes* mais pas la CMI₉₀ à 0,12 µg/mL (**Madeo, 2014**).

En ce qui concerne le protocole consistant en 250mg d'amoxicilline par voie orale prise 3 fois par jour, la concentration moyenne en antibiotique serait de 0,021 µg/mL dans le plasma fœtal et de 0,020 µg/mL dans le liquide amniotique. Ces deux estimations sont supérieures à 0,016 µg/mL et inférieures à 0,060 µg/mL : la concentration en amoxicilline dans le compartiment fœtal serait donc suffisante pour traiter uniquement les souches de streptocoques du groupe B les plus sensibles à l'amoxicilline.

La CMI₅₀ de *Listeria monocytogenes* ne serait pas atteinte dans le liquide amniotique et dans le sang fœtal avec ce protocole.

8.4. Comparaison aux CMI ciblées chez la brebis

8.4.1. Exemple du traitement d'un germe commun chez la brebis

D'après **Delis (2009)**, lors d'une injection par voie intramusculaire de formulation longue action, un premier pic de concentration plasmatique est atteint en 1 à 3h, puis un second, moins élevé, entre 7 et 18h. Nos deux mesures se situeraient donc après l'atteinte des concentrations maximales. Pour rappel, nos mesures de B1 et B2 sont résumées dans le tableau 6.

Tableau 6 : moyennes et leurs écart-types des concentrations en amoxicilline mesurées, ainsi que les quartiles (en µg/mL).

	Moyenne	Ecart-type	Minimum	1 ^{er} Quartile	Médiane	3 ^e Quartile
B1 (µg/mL)	2,133	0,678	0,622	1,721	2,222	2,520
B2 (µg/mL)	0,840	1,053	0,104	0,347	0,478	0,822

Le **RCP du LongAmox®** recommande un renouvellement de l'injection 48h après la première.

Mannheimia haemolytica est la principale bactérie impliquée dans les infections respiratoires ovines. D'après le réseau **Résapath**, 95% des 174 souches de *M. haemolytica* prélevées sur des ovins français en 2019 étaient sensibles à l'amoxicilline. Selon l'**EUCAST**, la CMI seuil pour cette bactérie est fixée à 0,5 µg/mL, mais **Résapath** ne communique pas le seuil utilisé.

Les brebis de notre étude sont toutes exposées à une concentration d'amoxicilline supérieure à ce seuil à 24h post-administration. Cependant, à 48h post-injection, seule la moitié des brebis avait une concentration plasmatique supérieure à 0,478 µg/mL.

Donc sur 48h, avant la réinjection d'amoxicilline prévue par le RCP, l'ensemble des brebis a un T>CMI au moins égal à 50% et la moitié des brebis considérées ont un T>CMI à 100%. Il nous est impossible ici de déduire la valeur exacte de T>CMI pour les brebis dont la concentration plasmatique n'atteint pas la CMI à 48h post-injection.

Or, d'après **Craig (2003)**, le T>CMI à atteindre de façon générale est de 40 à 50% pour les antibiotiques temps-dépendants. En moyenne, pour les pénicillines, un T>CMI de 30±15% de l'intervalle d'administration serait suffisant. Cette dose serait donc suffisante pour traiter les brebis contre les souches de *M. haemolytica* sensibles.

8.4.2. Exemple de l'antibioprophylaxie en cas de césarienne

Lors d'une césarienne, l'antibioprophylaxie vise les principaux germes pouvant contaminer la plaie. Il s'agit des staphylocoques, *Bacillus spp.* et *Streptococcus spp.* cutanés de la brebis (**Haarstad, 2014**), ainsi que des staphylocoques manuportés par le chirurgien (**Chiller, 2001**).

Selon **Craig (2003)**, le T>CMI nécessaire pour une activité bactériostatique sur les staphylocoques est plus faible que pour les autres bactéries, à 15-25% de l'intervalle d'administration. Cependant, *Staphylococcus aureus* présente une résistance croissante aux bêta-lactamines, si bien qu'elles sont de moins en moins envisagées pour traiter ces infections. Ainsi, la base de données de l'EUCAST ne comporte que 32 antibiogrammes confrontant l'amoxicilline au *S. aureus* ATCC 29213. La CMI établie est de 1 à 2 µg/mL.

Or, la médiane de B1 est de 2,222 µg/mL. La moitié des brebis serait donc exposée à une concentration plasmatique supérieure à la CMI avec T>CMI d'au moins 50%. Une prévention d'une infection aux staphylocoques serait envisageable pour ces individus si les staphylocoques retrouvés ont la même sensibilité que la souche de référence.

Concernant les germes d'origine ovine pouvant être impliqués, nous ne disposons pas de données sur leur sensibilité et sur la valeur de leur CMI, à notre connaissance. Cependant, pour les Streptocoques, les CMI les plus élevées établies par l'EUCAST sont de 0,125 µg/mL.

En se basant sur cette valeur, au moins 75% des brebis de notre étude ont été exposées à l'amoxicilline à une concentration plasmatique supérieure à cette CMI pour l'ensemble de l'intervalle entre 2 injections. Les autres ont au moins une exposition suffisante durant les premières 24h. Cette exposition serait suffisante d'après **Craig (2003)**.

8.4.3. Traitement de la leptospirose

Lorsque des avortements à leptospires ont été diagnostiqués dans un élevage, la pression infectieuse peut être forte. Il est possible de réaliser un traitement ou une antibioprophylaxie avec de l'amoxicilline pour protéger la brebis et son fœtus.

Liegeon (2018) a étudié les CMI de 35 souches de leptospires isolées sur des animaux d'élevages, comprenant différents sérovars. La concentration en amoxicilline permettant de traiter 90% des 35 souches testées de leptospires est de 0,032 µg/mL. Les CMI les plus élevées étaient à 0,064 µg/mL.

Tableau 7 : moyennes et leurs écart-types des concentrations en amoxicilline mesurées, ainsi que les quartiles (en $\mu\text{g/mL}$).

	Moyenne	Ecart-type	Minimum	1 ^{er} Quartile	Médiane	3 ^e Quartile
B1 ($\mu\text{g/mL}$)	2,133	0,678	0,622	1,721	2,222	2,520
B2 ($\mu\text{g/mL}$)	0,840	1,053	0,104	0,347	0,478	0,822
F1 ($\mu\text{g/mL}$)	0,069	0,043	0,006	0,038	0,054	0,088
F2 ($\mu\text{g/mL}$)	0,053	0,031	0,018	0,036	0,047	0,056
LA ($\mu\text{g/mL}$)	0,058	0,039	0,008	0,034	0,051	0,077

Le tableau 7 récapitule les concentrations (moyenne, écart-type, médiane et quartiles) mesurées dans notre étude.

L'ensemble des concentrations en amoxicilline mesurées dans le plasma de brebis était supérieur à $0,032 \mu\text{g/mL}$, 24 et 48h après l'administration d'amoxicilline. Les brebis auraient donc des concentrations plasmatiques suffisantes durant 48h pour traiter 90% des souches de leptospires.

Pour les mesures réalisées dans le plasma fœtal (au premier et au second jour post administration) et dans le liquide amniotique, le premier quartile est supérieur au seuil de $0,032 \mu\text{g/mL}$. Ainsi, pour au moins 75% des fœtus, les concentrations en amoxicilline seraient suffisantes pour traiter 90% des souches de leptospires.

Une antibiothérapie ou antibioprophylaxie pourrait donc être réalisée avec de l'amoxicilline lors de leptospirose. Cependant, la concentration dans le compartiment fœtal pourrait être insuffisante chez certains individus et une augmentation de dose ne pourrait probablement pas être recommandée car la dose moyenne administrée dans cette étude ($23,49 \text{ mg/kg}$) était déjà supérieure à celle indiquée par le RCP (15 mg/kg).

9. DISCUSSION

9.1. Comparaison aux valeurs dans l'espèce humaine

Dans notre étude, les prélèvements ont été faits 24 et 48h après l'administration d'amoxicilline. Les rapports moyens fœtaux/maternels, de 3,3% à 24h et 11,3% à 48h, démontrent que le fœtus et le liquide amniotique sont beaucoup moins exposés à l'amoxicilline que la mère. De plus, la légère augmentation du rapport mère/fœtus entre 24h et 48h semblerait suggérer que l'atteinte de l'équilibre est lente.

Chez la femme, quelques publications évaluent un ratio de concentrations entre la mère et le fœtus.

L'article de **Muller (2008)** propose une étude rétrospective de la pharmacocinétique de l'amoxicilline dans le sérum maternel, ombilical et néonatal, ayant porté sur 44 femmes enceintes à terme. Un groupe a reçu de l'amoxicilline seule avec une perfusion initiale de 2g sur 30 min, suivie d'une seconde perfusion de 1g sur 15 min, 4h heures plus tard. Un second groupe a reçu de l'amoxicilline associée à de l'acide clavulanique (Augmentin ND) en perfusions répétées toutes les 8h, avec 1g d'amoxicilline injectée sur 15 min. La perfusion d'antibiotique a été arrêtée 24,4 à 316,8 min avant le travail. Plusieurs modalités d'accouchement ont été incluses dans l'étude. La concentration en amoxicilline chez le fœtus a été approchée par la concentration dans l'artère ombilicale, avec 28 échantillons récupérés peu de temps après l'accouchement. Le dosage a ensuite été réalisé par chromatographie liquide à haute performance.

Le pic de concentration dans le cordon ombilical était égal à 18% du pic de concentration plasmatique maternelle. D'après le modèle utilisé, l'équilibre mère – artère ombilicale était atteint quelques minutes après le pic de concentration. Ce ratio s'approche de celui que nous avons obtenu au deuxième jour dans notre modèle.

Cependant, dans cet article, les données brutes ne sont pas disponibles et les conclusions proviennent d'un modèle. Il n'y a pas d'information sur les concentrations chez le fœtus lui-même. Des prélèvements ont été réalisés chez les nouveau-nés mais aucune valeur brute n'est communiquée.

L'étude de **Zareba (2017)** a porté sur le dosage de l'amoxicilline dans le sang maternel et dans le sang ombilical 2h après la prise orale de 500 mg d'amoxicilline (spécialité non précisée) avant césarienne. Les échantillons ont été prélevés durant la césarienne, chez 30 patientes. L'amoxicilline a ensuite été dosée par test de diffusion sur gélose avec des bacilles.

Cette étude suggère une concentration dans le cordon ombilical égale à 46% de la concentration dans le sang maternel. Celle du liquide amniotique serait égale à 31% de la concentration sanguine maternelle. Ces résultats sont bien plus élevés que ceux constatés dans notre étude.

Cependant, la méthode de dosage employée par **Zareba** souffre d'imprécisions et la dégradation rapide de l'amoxicilline dans les milieux de culture ajoute un biais supplémentaire.

Le faible nombre de publications étudiant la distribution de l'amoxicilline au fœtus chez la femme ainsi que la présence des biais exposés ci-dessus empêche de pouvoir comparer ces ratios à nos résultats.

9.2. Comparaison aux valeurs de ratio de concentration fœtus/mère disponibles pour d'autres antibiotiques

En ce qui concerne d'autres pénicillines, l'étude de **Maberry (1992)** a notamment porté sur cinq femmes atteintes de PPROM ayant reçu de l'ampicilline selon un protocole non précisé pendant l'accouchement. Des prélèvements de sang maternel et ombilical ont été réalisés peu de temps après. Un ratio de concentrations fœtus/mère d'environ 100% pour l'ampicilline a été calculé.

Le problème est que cette étude fournit très peu de précisions sur le protocole et les résultats. Ces résultats diffèrent largement de ceux que nous avons obtenus et paraissent surprenants. En effet, l'ampicilline a des caractéristiques physico-chimiques proches de celles de l'amoxicilline, excepté que l'ampicilline est un peu plus lipophile (**Pubchem**).

D'après l'ouvrage de référence de **Briggs (1994)**, la distribution de la pénicilline G à travers la barrière placentaire à terme est à l'équilibre après 60 à 90 minutes. La concentration en antibiotique serait alors égale dans le sérum maternel, ombilical, et dans le liquide amniotique. Ce résultat est semblable à celui présenté par **Maberry (1992)** mais diffère largement du nôtre.

Cependant, cette affirmation se base uniquement sur un article de 1945 dont la méthode de dosage est imprécise.

Les macrolides sont des antibiotiques proposés pour le traitement de PPROM en cas d'allergie connue aux pénicillines chez la mère. **Heikkinen (2000)** a étudié la distribution de trois macrolides à travers le placenta humain sur un modèle ex vivo. Des cotylédons de placenta humain ont été isolés et perfusés par l'artère maternelle avec une solution contenant un macrolide et une molécule de référence diffusant passivement à travers la barrière placentaire. La manipulation a eu lieu rapidement après l'accouchement. La concentration moyenne mesurée dans la veine fœtale après 2h de perfusion était égale à 3% de la concentration dans l'artère maternelle, sans différence entre les 3 macrolides testés. Concernant la molécule de référence, sa concentration dans le compartiment fœtal était égale à 40% de la concentration maternelle.

Cependant, ce modèle comporte plusieurs biais, parmi lesquels : l'isolement du cotylédon, l'évolution du tissu après l'accouchement, l'absence de compartiment fœtal complet avec lequel les molécules vont interagir. En effet, ces molécules ont un logP élevé (>3) et diffusent beaucoup dans les tissus (**Heikkinen, 2000 ; Pubchem**).

Le ratio de concentration fœtus/mère présenté par **Heikkinen (2000)** est du même ordre que celui trouvé dans notre étude 24h après l'administration d'amoxicilline.

9.3. Limites de la méthode d'extrapolation

Nous avons fait plusieurs approximations lors de cette extrapolation. Nous avons notamment considéré que les cinétiques étaient dose-proportionnelles chez l'homme et chez la brebis quelle que soit la formulation. Par ailleurs, nous avons négligé le fait qu'une $AUC_{0-\infty}$ ait été utilisée chez la brebis et une AUC_{0-24} chez la femme. Cette différence a une importance dans notre cas puisque nous utilisons une formulation longue action dont la concentration n'est pas négligeable après 24h post administration.

Par ailleurs, *Delis* a étudié la pharmacocinétique de l'amoxicilline longue action en utilisant du Clamoxyl® Longue Action. Ses excipients diffèrent de ceux du LongAmox® utilisé pour nos manipulations. Cette différence peut avoir un impact sur le profil pharmacocinétique.

Nous avons aussi considéré que, pour une même AUC chez la mère, la concentration chez le fœtus serait la même dans les deux espèces, ce qui conduit à interpréter les résultats avec prudence.

9.4. Limites d'une extrapolation de la brebis à la femme

L'expérimentation sur la brebis nous permet d'accéder à des données que nous ne pourrions obtenir par soucis éthique chez la femme. Cependant, il faut garder à l'esprit que les différences de barrière placentaire existant entre les deux espèces peuvent être à l'origine de biais lors de l'extrapolation de l'une à l'autre.

D'une part, les placentas de la brebis et de la femme ont une organisation générale similaire, avec une placentation chorioallantoïque et des zones spécialisées dans les échanges subdivisées en cotylédons, bien que ceux de la femme ne soient pas indépendants les uns des autres.

Chez les deux espèces, les flux sanguins maternels et fœtaux circulent à contre-courant et en courant transverse via un réseau de capillaires développé, permettant des échanges généraux théoriquement similaires. Or, il s'agirait du principal paramètre influençant le passage de xénobiotiques (*Enders, 2004 ; Furukawa, 2014 ; Mihaly, 1983 ; Wooding, 2008*).

D'autre part, leur structure histologique diverge : le placenta ovin est synépithéliochorial et comporte 6 couches cellulaires séparant le sang maternel du sang fœtal, au lieu de 3 couches pour le placenta hémomonochorial humain. Cette différence impacterait davantage le transfert de nutriments (*Furukawa, 2014 ; Wooding, 2008*).

Par ailleurs, le syncytium chez la brebis est d'origine mixte maternelle et fœtale, ce qui pourrait faciliter le passage de certaines molécules endogènes. Ce syncytium est uniquement d'origine fœtale chez la femme (*Enders, 2004*).

Enfin, l'amoxicilline est une molécule faiblement lipophile, qui diffuse donc lentement à travers les parois cellulaires (*Pubchem*). Cette diffusion simple pourrait être plus importante

à travers le placenta humain, mais son rôle resterait toutefois négligeable en présence de transporteurs transmembranaires (*Syme, 2004*).

Les transporteurs transmembranaires pourraient alors jouer un rôle majeur sur une diffusion facilitée à travers le placenta, plus rapide. La connaissance des transporteurs transmembranaires placentaires est plus étendue chez la femme que chez la brebis.

Chez la femme, des transporteurs transmembranaires ayant des pénicillines pour différents substrats sont présents au niveau de la barrière placentaire. Il s'agit de l'OATP-C et de l'OATP-E, pouvant transporter respectivement la nafcilline et la benzylpénicilline (*Dallmann, 2019 ; Staud, 2012 ; Turnidge, 2010*). Cependant, ces deux molécules sont hydrophobes et il n'est pas certain que l'amoxicilline, plus hydrophile, soit prise en charge par les mêmes transporteurs (*PubChem*).

En ce qui concerne le placenta ovin, les transporteurs susceptibles de prendre en charge l'amoxicilline restent inconnus à ce jour.

Ainsi, compte tenu du rapport des flux sanguins, l'extrapolation d'une espèce à l'autre est cohérente, bien que des incertitudes demeurent, notamment en ce qui concerne les transporteurs.

9.5. Efficacité des protocoles d'antibiothérapie proposés chez la femme

Le premier protocole d'antibiothérapie étudié, à 1g d'amoxicilline administré trois fois par jour par voie orale, est habituellement prescrit pour traiter des affections respiratoires ou urinaires sévères. Il permettrait, selon notre modèle, d'atteindre la CMI₇₅ des Streptocoques du groupe B recensés par *'EUCAST*, au niveau du plasma fœtal et du liquide amniotique. Il pourrait donc être envisagé pour traiter une chorioamnionite même si des échecs resteraient possibles.

En ce qui concerne le second protocole, qui consiste en 250mg d'amoxicilline administré trois fois par jour par voie orale, seule la CMI des Streptocoques du groupe B les plus sensibles serait atteinte. Ce protocole seul apparaît alors insuffisant pour traiter une infection du compartiment fœtal par des Streptocoques du groupe B. Il paraît donc surprenant que cette antibiothérapie à faible dose d'amoxicilline soit particulièrement recommandée en cas de PPROM, à moins qu'une concentration suffisante dans le compartiment maternel ne suffise pour prévenir une contamination fœtale.

Par ailleurs, dans ces deux cas, le traitement d'une chorioamnionite nécessiterait l'ajout d'un second antibiotique afin d'avoir un spectre d'action permettant de cibler d'autres bactéries telle que l'érythromycine, également recommandée dans les protocoles de prise en charge de PPROM.

Selon notre modèle, la concentration en amoxicilline atteinte suite à une administration conventionnelle à forte dose (à 1g par voie orale trois fois par jour) serait suffisante pour

atteindre la CMI₅₀ de *Listeria monocytogenes* dans le compartiment fœtal (**Madeo, 2014**). Le traitement e serait donc pas efficace dans l'ensemble des cas.

Cela justifierait les recommandations d'un protocole spécifique pour traiter la listériose, avec l'administration d'une dose d'amoxicilline plus importante, à 200 mg/kg/j en 4 à 6 perfusions quotidiennes par voie intraveineuse ou en CRI (**Alfandari, 2019**).

10. CONCLUSION

L'amoxicilline peut être prescrite durant la gestation puisqu'elle n'est pas tératogène et est classée B en termes de sûreté par la FDA (Food and Drug Administration). Cette substance présente peu d'effets indésirables, correspondant majoritairement à des troubles digestifs. Son spectre d'action permet de viser des bactéries à Gram positif et certaines bactéries à Gram négatif. L'association à l'acide clavulanique peut permettre de contourner des résistances liées à la production de bêta-lactamases par les bactéries, mais l'ajout de ce dernier doit prendre en compte une augmentation du risque d'effets secondaires. L'amoxicilline est bien absorbée par voie entérale chez l'homme, ce qui permet de la prescrire par voie orale.

Bien que macroscopiquement différents, les placentas humains et ovins présentent des similitudes pouvant impacter le transfert de molécules, notamment au niveau des relations des flux sanguins. Cependant, le passage de l'amoxicilline, faiblement lipophile, dépend majoritairement des transporteurs protéiques pour traverser les membranes cytoplasmiques. Or, les transporteurs prenant en charge l'amoxicilline au niveau du placenta ne sont pas connus précisément pour la femme et la brebis. Il reste donc actuellement difficile de prédire s'il existe une différence interspécifique notable au niveau de la barrière placentaire pour le passage de l'amoxicilline.

Selon notre étude, l'amoxicilline est peu distribuée dans le compartiment fœtal ovin, avec un ratio de la concentration plasmatique fœtale sur la concentration plasmatique maternelle de l'ordre de 3% au premier jour et de 11% au second jour après l'injection intramusculaire d'amoxicilline longue action aux brebis.

Chez la femme enceinte, l'amoxicilline est indiquée pour le traitement d'une PPRM pouvant évoluer en chorioamnionite. Le principal germe ciblé par cette molécule est alors le streptocoque du groupe B. Un protocole particulier est recommandé dans ce contexte et nous l'avons inclus dans notre modèle. Cependant, d'après nos simulations, la concentration atteinte dans le compartiment fœtal avec ce protocole serait insuffisante pour y atteindre la CMI₇₅ des streptocoques de groupe B. Avec un protocole adapté aux affections respiratoires et urinaires sévères, la concentration moyenne en amoxicilline dans le plasma fœtal et dans le liquide amniotique s'est en revanche révélée suffisante pour traiter 75% des souches de streptocoques du groupe B.

La listériose est une affection abortive transmise par l'alimentation pouvant également être traitée avec l'amoxicilline. Selon notre modèle, le protocole d'antibiothérapie à dose élevée permettrait uniquement d'atteindre la CMI₅₀ de *Listeria monocytogenes*. Le protocole dédié au traitement des PPRM ne permettrait pas quant à lui d'avoir une concentration en amoxicilline suffisante chez le fœtus pour cibler cette bactérie. Ces résultats sont en accord avec le fait qu'un protocole spécifique, à forte dose, est recommandé pour cette infection.

Chez la brebis gravide, les indications d'antibiothérapie avec de l'amoxicilline pour traiter le fœtus sont rares. La listériose et la leptospirose peuvent être ciblées par cet antimicrobien mais le traitement ne sera pas appliqué systématiquement car leur diagnostic est souvent

trop tardif et l'efficacité du traitement est incertaine. La dose d'amoxicilline administrée dans notre étude, qui dépasse toutefois celle recommandée par l'AMM, serait suffisante pour atteindre la CMI₉₀ des leptospires au niveau du fœtus dans 75% des cas.

En ce qui concerne la brebis elle-même, les principales indications pour l'amoxicilline sont l'antibioprophylaxie réalisée lors d'une césarienne et le traitement d'affections respiratoires et podales. Nos données confirment que la CMI de *Mannheimia haemolytica*, largement impliquée dans les cas d'infections respiratoires, est atteinte avec un [T>CMI] ≥ 50% dans le plasma maternel par un traitement standard avec de l'amoxicilline longue action.

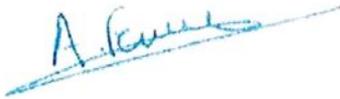
Pour conclure, une meilleure connaissance des transporteurs transmembranaires au niveau de la barrière placentaire permettrait de savoir si le modèle proposé ici est fiable, et le cas échéant, d'adapter certains protocoles d'antibiothérapie chez la femme enceinte.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

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

Je soussignée, Aude FERRAN, Enseignant-chercheur, de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse, directrice de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **BARDIN Lise** intitulée « **Etude pharmacocinétique de l'amoxicilline durant la gestation, sur le modèle de la brebis gravide** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

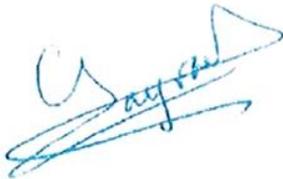
Fait à Toulouse, le 15/10/2021
Enseignant-chercheur de l'École Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Docteure Aude FERRAN



Vu :
Le Directeur de l'École Nationale
Vétérinaire de Toulouse
M. Pierre SANS




Vu :
La Présidente du jury
Professeure Véronique GAYRARD



Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université Paul
Sabatier
Monsieur Jean-Marc BROTO
Par délégation, le Doyen de la faculté de
Médecine de Toulouse-Rangueil
Monsieur Elie SERRANO




Mme BARDIN Lise
a été admise sur concours en 2016
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le 06/07/2020
a validé son année d'approfondissement le 15/07/2021
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider



11. BIBLIOGRAPHIE

- ACOG : AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS, 2018. American College of Obstetricians and Gynecologists Practice Bulletin No. 188: Prelabor Rupture of Membranes. In : *Obstetrics and Gynecology*. 2018. Vol. 131, n° 1, pp. e1-e14. DOI 10.1097/AOG.0000000000002455.
- ADLER, Ben et DE LA PEÑA MOCTEZUMA, Alejandro, 2010. Leptospira and leptospirosis. In : *Veterinary Microbiology*. 27 janvier 2010. Vol. 140, n° 3, pp. 287-296. DOI 10.1016/j.vetmic.2009.03.012.
- ALBRICH, Werner C., MONNET, Dominique L. et HARBARTH, Stephan, 2004. Antibiotic Selection Pressure and Resistance in Streptococcus pneumoniae and Streptococcus pyogenes. In : *Emerging Infectious Diseases*. mars 2004. Vol. 10, n° 3, pp. 514-517. DOI 10.3201/eid1003.030252.
- ALFANDARI, S, 2019. *Info-antibio n°90 : Méningites bactériennes communautaires - recommandations 2018*. Aout 2019. S.l. : Journal Médecine et Maladies Infectieuses, SPILF (Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française), Fédération Française d'Infectiologie.
- ALGER, Lindsay S., LOVCHIK, Judith C., HEBEL, John R., BLACKMON, Lillian R. et CRENSHAW, M. Carlyle, 1988. The association of Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, and group B streptococci with preterm rupture of the membranes and pregnancy outcome. In : *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1 août 1988. Vol. 159, n° 2, pp. 397-404. DOI 10.1016/S0002-9378(88)80093-0.
- ANDREW, M. A., EASTERLING, T. R., CARR, D. B., SHEN, D., BUCHANAN, M. L., RUTHERFORD, T., BENNETT, R., VICINI, P. et HEBERT, M. F., 2007. Amoxicillin Pharmacokinetics in Pregnant Women: Modeling and Simulations of Dosage Strategies. In : *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2007. Vol. 81, n° 4, pp. 547-556. DOI 10.1038/sj.clpt.6100126.
- ANDREWS, Jennifer M, 2001. BSAC standardized disc susceptibility testing method. In : *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2001. pp. 16. DOI https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.43.
- ANON., 2011. Article L5143-4 - Code de la santé publique. In : *Légifrance* [en ligne]. 16 juin 2011. [Consulté le 14 décembre 2020]. Disponible à l'adresse : https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000024198050?tab_selection=all&searchField=ALL&query=L.+5143-4&page=1&init=true&.
- ANON., 2015. *Instruction technique DGAL/SDSPA/2015-463 - Brucellose ovine et caprine : Surveillance programmée et événementielle* [en ligne]. 30 avril 2015. S.l. : s.n. [Consulté le 28 décembre 2020]. Disponible à l'adresse : <https://www.legifrance.gouv.fr/download/pdf/circ?id=39662>.
- ANON., [sans date]. NADIS - National Animal Disease Information Service. In : [en ligne]. [Consulté le 4 janvier 2021]. Disponible à l'adresse : <https://nadis.org.uk/disease-a-z/sheep/nervous-disease-in-sheep/#Listeriosis>.
- ANON., [sans date]. Résumé des caractéristiques du produit - CLAMOXYL 1 g, comprimé dispersible - Base de données publique des médicaments. In : *Vidal* [en ligne]. [Consulté le 6 novembre 2020]. Disponible à l'adresse : <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=64539416&typedoc=R>.

- ANON., [sans date]. Résumé des caractéristiques du produit - LONGAMOX. In : [en ligne]. [Consulté le 10 août 2021]. Disponible à l'adresse : <http://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=LONGAMOX>.
- ANON., [sans date]. Résumé des Caractéristiques du Produit : Clamoxyl Longue Action. In : [en ligne]. [Consulté le 19 août 2021]. Disponible à l'adresse : <http://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=CLAMOXYL+LA>.
- ANON., [sans date]. Résumé des Caractéristiques du Produit : Clamoxyl Suspension. In : [en ligne]. [Consulté le 19 août 2021]. Disponible à l'adresse : <http://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=CLAMOXYL+SUSPENSION>.
- ANON., [sans date]. Résumé des caractéristiques du produit de la Terramycine Longue Action. In : [en ligne]. [Consulté le 16 décembre 2020]. Disponible à l'adresse : <http://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=TERRAMYCINE+LONGUE+ACTION>.
- AURELI, Paolo, FERRINI, Anna Maria, MANNONI, Veruscka, HODZIC, Snjezana, WEDELL-WEERGAARD, Christina et OLIVA, Brunello, 2003. Susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from food in Italy to antibiotics. In : *International Journal of Food Microbiology*. 25 juin 2003. Vol. 83, n° 3, pp. 325-330. DOI 10.1016/S0168-1605(02)00381-1.
- BARRY, J. S. et ANTHONY, R. V., 2008. The pregnant sheep as a model for human pregnancy. In : *Theriogenology*. 1 janvier 2008. Vol. 69, n° 1, pp. 55-67. DOI 10.1016/j.theriogenology.2007.09.021.
- BELL, Suzanna, 2008. Respiratory disease in sheep: 1. Differential diagnosis and epidemiology. In : *In Practice*. 1 avril 2008. Vol. 30, n° 4, pp. 200-207. DOI 10.1136/inpract.30.4.200.
- BENIRSCHKE, Kurt, 2004. The Placenta: Structure and Function. In : *NeoReviews*. 1 juin 2004. Vol. 5, n° 6, pp. e252-e261. DOI 10.1542/neo.5-6-e252.
- BERTELLONI, Fabrizio, CILIA, Giovanni, TURCHI, Barbara, PINZAUTI, Paolo, CERRI, Domenico et FRATINI, Filippo, 2019. Epidemiology of leptospirosis in North-Central Italy: Fifteen years of serological data (2002–2016). In : *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 1 août 2019. Vol. 65, pp. 14-22. DOI 10.1016/j.cimid.2019.04.001.
- BOISIVON, A., GUIOMAR, C. et CARBON, C., 1990. In vitro bactericidal activity of amoxicillin, gentamicin, rifampicin, ciprofloxacin and trimethoprim-sulfamethoxazole alone or in combination against *Listeria monocytogenes*. In : *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 1 mars 1990. Vol. 9, n° 3, pp. 206-209. DOI 10.1007/BF01963839.
- BOYCE, John D., HARPER, Marina, WILKIE, Ian et ADLER, Ben, 2010. Pasteurella. In : *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. 12 mai 2010. pp. 325-346. DOI 10.1002/9780470958209.ch17.
- BRIGGS, Gerald G., FREEMAN, Roger K. et YAFFE, Sumner J., 1994. *Drugs in pregnancy and lactation : a reference guide to fetal and neonatal risk* [en ligne]. S.l. : Baltimore : Williams & Wilkins. [Consulté le 11 août 2021]. ISBN 978-0-683-01060-2. Disponible à l'adresse : <http://archive.org/details/drugsinpregnancy00gera>.
- BROWN, Jeremy S, 2012. Community-acquired pneumonia. In : *Clinical Medicine*. décembre 2012. Vol. 12, n° 6, pp. 538-543. DOI 10.7861/clinmedicine.12-6-538.

- BRUGÈRE-PICOUX, J., 2008. Ovine listeriosis. In : *Small Ruminant Research*. 1 avril 2008. Vol. 76, n° 1, pp. 12-20. DOI 10.1016/j.smallrumres.2007.12.022.
- BRUNTON, Stephen, CARMICHAEL, Blaine P., COLGAN, Richard, FEENEY, A. Susan, FENDRICK, A. Mark, QUINTILIANI, Richard et SCOTT, Gregory, 2004. Acute exacerbation of chronic bronchitis: a primary care consensus guideline. In : *The American Journal of Managed Care*. octobre 2004. Vol. 10, n° 10, pp. 689-696.
- BURGESS, Brandy A., 2019. Prevention and surveillance of surgical infections: A review. In : *Veterinary Surgery*. 2019. Vol. 48, n° 3, pp. 284-290. DOI <https://doi.org/10.1111/vsu.13176>.
- BURTON, Graham J. et JAUNIAUX, Eric, 2015. What is the placenta? In : *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1 octobre 2015. Vol. 213, n° 4, Supplement, pp. S6.e1-S6.e4. DOI 10.1016/j.ajog.2015.07.050.
- CARON, François, GALPERINE, Tatiana, FLATEAU, Clara, BONACORSI, Stéphane, CLOUQUEUR, Elodie, ELEFANT, Elisabeth, FAURE, Karine, MERENS, Audrey, RAYMON, Josette et SUBTIL, Damien, 2015. Recommandations de bonne pratique : infections urinaires au cours de la grossesse. In : *Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française*. décembre 2015.
- CARSON, Amanda, 2018. Abortion in sheep: an update. In : *Veterinary Record*. 3 novembre 2018. Vol. 183, n° 17, pp. 528-529. DOI 10.1136/vr.k4620.
- CHARLSON, Emily S., BITTINGER, Kyle, HAAS, Andrew R., FITZGERALD, Ayannah S., FRANK, Ian, YADAV, Anjana, BUSHMAN, Frederic D. et COLLMAN, Ronald G., 2011. Topographical Continuity of Bacterial Populations in the Healthy Human Respiratory Tract. In : *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 15 octobre 2011. Vol. 184, n° 8, pp. 957-963. DOI 10.1164/rccm.201104-0655OC.
- CHARPENTIER, Emmanuelle et COURVALIN, Patrice, 1999. Antibiotic Resistance in *Listeria* spp. In : *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1 septembre 1999. Vol. 43, n° 9, pp. 2103-2108. DOI 10.1128/AAC.43.9.2103.
- CHILLER, Katarina, SELKIN, Bryan A. et MURAKAWA, George J., 2001a. Skin Microflora and Bacterial Infections of the Skin. In : *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. 1 décembre 2001. Vol. 6, n° 3, pp. 170-174. DOI 10.1046/j.0022-202x.2001.00043.x.
- CHILLER, Katarina, SELKIN, Bryan A. et MURAKAWA, George J., 2001b. Skin Microflora and Bacterial Infections of the Skin. In : *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. 1 décembre 2001. Vol. 6, n° 3, pp. 170-174. DOI 10.1046/j.0022-202x.2001.00043.x.
- CLIFTON, Rachel et GREEN, Laura, 2017. Footrot in sheep: key messages from recent research. In : *Livestock*. 2 mai 2017. Vol. 22, n° 3, pp. 150-156. DOI 10.12968/live.2017.22.3.150.
- CRAIG, William A., 2003. Basic pharmacodynamics of antibacterials with clinical applications to the use of β -lactams, glycopeptides, and linezolid. In : *Infectious Disease Clinics*. 1 septembre 2003. Vol. 17, n° 3, pp. 479-501. DOI 10.1016/S0891-5520(03)00065-5.
- DALLMANN, André, LIU, Xiaomei I., BURCKART, Gilbert J. et ANKER, John van den, 2019. Drug Transporters Expressed in the Human Placenta and Models for Studying Maternal-Fetal Drug Transfer. In : *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2019. Vol. 59, n° S1, pp. S70-S81. DOI <https://doi.org/10.1002/jcph.1491>.

- DE VELDE, Femke, DE WINTER, Brenda C. M., KOCH, Birgit C. P., VAN GELDER, Teun, MOUTON, Johan W., et COMBACTE-NET CONSORTIUM, 2016. Non-linear absorption pharmacokinetics of amoxicillin: consequences for dosing regimens and clinical breakpoints. In : *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. octobre 2016. Vol. 71, n° 10, pp. 2909-2917. DOI 10.1093/jac/dkw226.
- DELIS, G., BATZIAS, G., THEODOSIADOU, E., KOUNENIS, G. et KOUTSOVITI-PAPADOPOULOU, M., 2009. Influence of the injection site on the pharmacokinetics of amoxicillin after intramuscular administration of a conventional and a long-acting formulation in sheep. In : *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2009. Vol. 32, n° 5, pp. 457-464. DOI 10.1111/j.1365-2885.2009.01064.x.
- DELZELL, John E. et LEFEVRE, Michael, 2000. Urinary Tract Infections During Pregnancy. In : *American Family Physician*. 1 février 2000. Vol. 61, n° 3, pp. 713-720.
- DEXTER, Scott C, MALEE, Maureen P, PINAR, Halit, HOGAN, Joseph W, CARPENTER, Marshall W et VOHR, Betty R, 1999. Influence of chorioamnionitis on developmental outcome in very low birth weight infants. In : *Obstetrics & Gynecology*. 1 août 1999. Vol. 94, n° 2, pp. 267-273. DOI 10.1016/S0029-7844(99)00319-1.
- DONACHIE, W., 2007. Pasteurellosis. In : *Diseases of Sheep* [en ligne]. S.I. : John Wiley & Sons, Ltd. pp. 224-231. [Consulté le 30 novembre 2020]. ISBN 978-0-470-75331-6. Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470753316.ch32>.
- DONNELLY, Leo et CAMPLING, Gillian, 2014. Functions of the placenta. In : *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*. 1 mars 2014. Vol. 15, n° 3, pp. 136-139. DOI 10.1016/j.mpaic.2014.01.004.
- DUNCAN, J. S., GROVE-WHITE, D., MOKS, E., CARROLL, D., OULTRAM, J. W., PHYTHIAN, C. J. et WILLIAMS, H. W., 2012. Impact of footrot vaccination and antibiotic therapy on footrot and contagious ovine digital dermatitis. In : *Veterinary Record*. 5 mai 2012. Vol. 170, n° 18, pp. 462-462. DOI 10.1136/vr.100363.
- DUNCAN, Jennifer et ANGELL, Joseph, 2019. Control of infectious lameness in sheep. In : *Livestock*. 2 septembre 2019. Vol. 24, n° 5, pp. 246-251. DOI 10.12968/live.2019.24.5.246.
- DUNLAP, Kathrin A., BROWN, Jacob D., KEITH, Ashley B. et SATTERFIELD, M. Carey, 2015. Factors controlling nutrient availability to the developing fetus in ruminants. In : *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 11 avril 2015. Vol. 6, n° 1, pp. 16. DOI 10.1186/s40104-015-0012-5.
- EDWARDS, Marshall J., 2006. Review: Hyperthermia and fever during pregnancy. In : *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*. 2006. Vol. 76, n° 7, pp. 507-516. DOI <https://doi.org/10.1002/bdra.20277>.
- EGERTON, J. R., 2007. Diseases of the Feet. In : *Diseases of Sheep* [en ligne]. S.I. : John Wiley & Sons, Ltd. pp. 273-282. [Consulté le 4 décembre 2020]. ISBN 978-0-470-75331-6. Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470753316.ch39>.
- ELLEGÅRD, Eva K., 2003. The Etiology and Management of Pregnancy Rhinitis. In : *American Journal of Respiratory Medicine*. 1 décembre 2003. Vol. 2, n° 6, pp. 469-475. DOI 10.1007/BF03256674.

- ELLIS, William A., 2015. Animal Leptospirosis. In : ADLER, Ben (éd.), *Leptospira and Leptospirosis* [en ligne]. Berlin, Heidelberg : Springer. Current Topics in Microbiology and Immunology. pp. 99-137. [Consulté le 5 février 2021]. ISBN 978-3-662-45059-8. Disponible à l'adresse : https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8_6.
- ENDERS, A. C. et CARTER, A. M., 2004. What Can Comparative Studies of Placental Structure Tell Us?—A Review. In : *Placenta*. 1 avril 2004. Vol. 25, pp. S3-S9. DOI 10.1016/j.placenta.2004.01.011.
- FERNANDEZ, C., MODAMIO, P., MESTORINO, N., ERRECALDE, J. O. et MARIÑO, E. L., 2007. Pharmacokinetics of sodium and trihydrate amoxicillin in sheep after intravenous and intramuscular administration. In : *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. juin 2007. Vol. 30, n° 3, pp. 263-266. DOI 10.1111/j.1365-2885.2007.00843.x.
- FTHENAKIS, G. C., ARSENOS, G., BROZOS, C., FRAGKOU, I. A., GIADINIS, N. D., GIANNENAS, I., MAVROGIANNI, V. S., PAPAPOPOULOS, E. et VALASI, I., 2012. Health management of ewes during pregnancy. In : *Animal Reproduction Science*. 1 février 2012. Vol. 130, n° 3, pp. 198-212. DOI 10.1016/j.anireprosci.2012.01.016.
- FURUKAWA, Satoshi, KURODA, Yusuke et SUGIYAMA, Akihiko, 2014. A comparison of the histological structure of the placenta in experimental animals. In : *Journal of Toxicologic Pathology*. avril 2014. Vol. 27, n° 1, pp. 11-18. DOI 10.1293/tox.2013-0060.
- GALÁN-RELAÑO, Ángela, GÓMEZ-GASCÓN, Lidia, BARRERO-DOMÍNGUEZ, Belén, LUQUE, Inmaculada, JURADO-MARTOS, Francisco, VELA, Ana I., SANZ-TEJERO, Celia et TARRADAS, Carmen, 2020. Antimicrobial susceptibility of *Trueperella pyogenes* isolated from food-producing ruminants. In : *Veterinary Microbiology*. 1 mars 2020. Vol. 242, pp. 108593. DOI 10.1016/j.vetmic.2020.108593.
- GANAPATHY, Malliga E., HUANG, Wei, RAJAN, D. Prasanna, CARTER, A. Lee, SUGAWARA, Mitsuru, ISEKI, Ken, LEIBACH, Frederick H. et GANAPATHY, Vadivel, 2000. β -Lactam Antibiotics as Substrates for OCTN2, an Organic Cation/Carnitine Transporter *. In : *Journal of Biological Chemistry*. 21 janvier 2000. Vol. 275, n° 3, pp. 1699-1707. DOI 10.1074/jbc.275.3.1699.
- GEDDES, Alasdair M et GOULD, Ian M, 2010. Ampicillin, Amoxicillin and Other Ampicillin-Like Penicillins. In : *Kucers' The Use of Antibiotics Sixth Edition: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs*. S.l. : CRC Press. ISBN 978-1-4441-4752-0.
- GILLIES, Malcolm, RANAKUSUMA, Anggi, HOFFMANN, Tammy, THORNING, Sarah, MCGUIRE, Treasure, GLASZIOU, Paul et MAR, Christopher Del, 2015. Common harms from amoxicillin: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials for any indication. In : *CMAJ*. 6 janvier 2015. Vol. 187, n° 1, pp. E21-E31. DOI 10.1503/cmaj.140848.
- GOMEZ, Ricardo, ROMERO, Roberto, EDWIN, Samuel S. et DAVID, Cristina, 1997. Pathogenesis of preterm Labor and preterm premature Rupture of Membrans associated with intraamniotic infection. In : *Infectious Disease Clinics*. 1 mars 1997. Vol. 11, n° 1, pp. 135-176. DOI 10.1016/S0891-5520(05)70347-0.
- GRAVES, Cornelia R., 2010. Pneumonia in Pregnancy. In : *Clinical Obstetrics and Gynecology*. juin 2010. Vol. 53, n° 2, pp. 329-336. DOI 10.1097/GRF.0b013e3181de8a6f.
- GRAYO, S., JOIN-LAMBERT, O., DESROCHES, M. C. et LE MONNIER, A., 2008. Comparison of the In Vitro Efficacies of Moxifloxacin and Amoxicillin against *Listeria monocytogenes*.

- In : *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1 mai 2008. Vol. 52, n° 5, pp. 1697-1702. DOI 10.1128/AAC.01211-07.
- GREEN, L. E. et GEORGE, T. R. N., 2008. Assessment of current knowledge of footrot in sheep with particular reference to *Dichelobacter nodosus* and implications for elimination or control strategies for sheep in Great Britain. In : *The Veterinary Journal*. 1 février 2008. Vol. 175, n° 2, pp. 173-180. DOI 10.1016/j.tvjl.2007.01.014.
- GREEN, Laura et CLIFTON, Rachel, 2018. Diagnosing and managing footrot in sheep: an update. In : *In Practice*. 1 janvier 2018. Vol. 40, n° 1, pp. 17-26. DOI 10.1136/inp.j4575.
- GWALTNEY, Jack M., SYDNOR, Austin et SANDE, Merle A., 1981. Etiology and Antimicrobial Treatment of Acute Sinusitis. In : *Annals of Otolaryngology & Laryngology*. 1 mai 1981. Vol. 90, n° 3_suppl2, pp. 68-71. DOI 10.1177/00034894810903S216.
- HAARSTAD, Amy C., EISENSCHENK, Melissa C., HEINRICH, Nicole A., WEESE, J. Scott et MCKEEVER, Patrick J., 2014. Isolation of bacterial skin flora of healthy sheep, with comparison between frequent and minimal human handling. In : *Veterinary Dermatology*. 2014. Vol. 25, n° 3, pp. 215-e56. DOI <https://doi.org/10.1111/vde.12126>.
- HAMORY, Bruce H., SANDE, Merle A., SYDNOR, Austin, SEALE, Daniel L. et GWALTNEY, Jack M., 1979. Etiology and Antimicrobial Therapy of Acute Maxillary Sinusitis. In : *The Journal of Infectious Diseases*. 1 février 1979. Vol. 139, n° 2, pp. 197-202. DOI 10.1093/infdis/139.2.197.
- HEDAYA, Mohsen A., 2012. *Basic Pharmacokinetics, Second Edition*. S.l. : CRC Press. ISBN 978-1-4398-5073-2.
- HEIKKILÄ, Anne et ERKKOLA, Risto, 1994. Review of β -Lactam Antibiotics in Pregnancy. In : *Clinical Pharmacokinetics*. 1 juillet 1994. Vol. 27, n° 1, pp. 49-62. DOI 10.2165/00003088-199427010-00005.
- HEIKKINEN, Tuija, LAINE, Kari, NEUVONEN, Pertti J. et EKBLAD, Ulla, 2000. The transplacental transfer of the macrolide antibiotics erythromycin, roxithromycin and azithromycin. In : *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2000. Vol. 107, n° 6, pp. 770-775. DOI 10.1111/j.1471-0528.2000.tb13339.x.
- HERNANDEZ-MILIAN, Almudena et PAYERAS-CIFRE, Antoni, 2014. What Is New in Listeriosis? In : *BioMed Research International*. 14 avril 2014.
- IPE, Deepak S., SUNDAC, Lana, BENJAMIN, William H., MOORE, Kate H. et ULETT, Glen C., 2013. Asymptomatic bacteriuria: prevalence rates of causal microorganisms, etiology of infection in different patient populations, and recent advances in molecular detection. In : *FEMS Microbiology Letters*. septembre 2013. Vol. 346, n° 1, pp. 1-10. DOI 10.1111/1574-6968.12204.
- JIMÉNEZ, R., PÍRIZ, S., MATEOS, E. et VADILLO, S., 2004. Minimum Inhibitory Concentrations for 25 Selected Antimicrobial Agents against *Dichelobacter nodosus* and *Fusobacterium* Strains Isolated from Footrot in Sheep of Portugal and Spain. In : *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 2004. Vol. 51, n° 5, pp. 245-248. DOI <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2004.00764.x>.
- KAPER, James B., NATARO, James P. et MOBLEY, Harry L. T., 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. In : *Nature Reviews Microbiology*. février 2004. Vol. 2, n° 2, pp. 123-140. DOI 10.1038/nrmicro818.

- KENYON, Sara, BOULVAIN, Michel et NEILSON, Jim, 2004. Antibiotics for Preterm Rupture of the Membranes: A Systematic Review. In : *Obstetrics & Gynecology*. novembre 2004. Vol. 104, n° 5, pp. 1051-1057. DOI 10.1097/01.AOG.0000143268.36682.21.
- KRCMERY, S., HRONEC, J. et DEMESOVA, D., 2001. Treatment of lower urinary tract infection in pregnancy. In : *International Journal of Antimicrobial Agents*. 1 avril 2001. Vol. 17, n° 4, pp. 279-282. DOI 10.1016/S0924-8579(00)00351-4.
- KUEHN, Jemima, ISMAEL, Zareen, LONG, Paul F., BARKER, Charlotte I.S. et SHARLAND, Mike, 2015. Reported Rates of Diarrhea Following Oral Penicillin Therapy in Pediatric Clinical Trials. In : *The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics*. 1 avril 2015. Vol. 20, n° 2, pp. 90-104. DOI 10.5863/1551-6776-20.2.90.
- KWAK, Dong-Wook, HWANG, Han-Sung, KWON, Ja-Young, PARK, Yong-Won et KIM, Young-Han, 2014. Co-infection with vaginal Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis increases adverse pregnancy outcomes in patients with preterm labor or preterm premature rupture of membranes. In : *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 1 mars 2014. Vol. 27, n° 4, pp. 333-337. DOI 10.3109/14767058.2013.818124.
- LACASTA, D., FERNÁNDEZ, A., GONZÁLEZ, J. M., RAMOS, J. J., ORTÍN, A. et FERRER, L. M., 2019. Gangrenous pneumonia, ovine respiratory complex and visceral form of caseous lymphadenitis: Relevance in lower respiratory tract disorders of adult sheep. In : *Small Ruminant Research*. 1 novembre 2019. Vol. 180, pp. 100-105. DOI 10.1016/j.smallrumres.2019.08.004.
- LACASTA, D., GONZÁLEZ, J. M., NAVARRO, T., SAURA, F., ACÍN, C. et VASILEIOU, N. G. C., 2019. Significance of respiratory diseases in the health management of sheep. In : *Small Ruminant Research*. 1 décembre 2019. Vol. 181, pp. 99-102. DOI 10.1016/j.smallrumres.2019.03.004.
- LAMONT, Ronald F., SOBEL, Jack, MAZAKI-TOVI, Shali, KUSANOVIC, Juan Pedro, VAISBUCH, Edi, KIM, Sun Kwon, ULDBJERG, Niels et ROMERO, Roberto, 2011. Listeriosis in human pregnancy: a systematic review. In : *Journal of Perinatal Medicine*. 1 mai 2011. Vol. 39, n° 3, pp. 227-236. DOI 10.1515/jpm.2011.035.
- LEES, Peter et SHOJAEE ALIABADI, Fariborz, 2002. Rational dosing of antimicrobial drugs: animals versus humans. In : *International Journal of Antimicrobial Agents*. 1 avril 2002. Vol. 19, n° 4, pp. 269-284. DOI 10.1016/S0924-8579(02)00025-0.
- LEISER, Rudolf, KREBS, Christiane, EBERT, Brigitte et DANTZER, Vibeke, 1997. Placental vascular corrosion cast studies: A comparison between ruminants and humans. In : *Microscopy Research and Technique*. 1997. Vol. 38, n° 1-2, pp. 76-87. DOI 10.1002/(SICI)1097-0029(19970701/15)38:1/2<76::AID-JEMT9>3.0.CO;2-S.
- LEON-VIZCAINO, L, DE MENDOZA, M. Hermoso et GARRIDO, F, 1987. Incidence of abortions caused by leptospirosis in sheep and goats in Spain. In : *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 1 janvier 1987. Vol. 10, n° 2, pp. 149-153. DOI 10.1016/0147-9571(87)90009-9.
- LIEGEON, Geoffroy, DELORY, Tristan et PICARDEAU, Mathieu, 2018. Antibiotic susceptibilities of livestock isolates of leptospira. In : *International Journal of Antimicrobial Agents*. 1 mai 2018. Vol. 51, n° 5, pp. 693-699. DOI 10.1016/j.ijantimicag.2017.12.024.
- MABERRY, M. C., TRIMMER, K. J., BAWDON, R. E., SOBHI, S., DAX, J. B. et GILSTRAP, L. C., 1992. Antibiotic concentration in maternal blood, cord blood and placental tissue in women

- with chorioamnionitis. In : *Gynecologic and Obstetric Investigation*. 1992. Vol. 33, n° 3, pp. 185-186. DOI 10.1159/000294878.
- MADEO, Moira, MUSUMECI, Rosario, CAREDDU, Anna Maria Laura, AMATO, Ettore, PONTELLO, Mirella Maria et COCUZZA, Clementina Elvezia, 2015. Antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolates from human cases in northern Italy, 2008–2010: MIC determination according to EUCAST broth microdilution method. In : *Journal of Chemotherapy*. 1 août 2015. Vol. 27, n° 4, pp. 201-206. DOI 10.1179/1973947814Y.0000000187.
- MAKI, Yohei, 2020. Antibiotics for Preterm Labor. In : SAMESHIMA, Hiroshi (éd.), *Preterm Labor and Delivery* [en ligne]. Singapore : Springer. *Comprehensive Gynecology and Obstetrics*. pp. 131-139. [Consulté le 22 juillet 2020]. ISBN 9789811398759. Disponible à l'adresse : https://doi.org/10.1007/978-981-13-9875-9_13.
- MARGATO, Marcela Furlan, MARTINS, Guilherme Lopes Pinheiro, PASSINI JÚNIOR, Renato et NOMURA, Marcelo Luís, 2012. Previaible preterm rupture of membranes: gestational and neonatal outcomes. In : *Archives of Gynecology and Obstetrics*. juin 2012. Vol. 285, n° 6, pp. 1529-1534. DOI 10.1007/s00404-011-2179-0.
- MARTIN, Joyce A., HAMILTON, Brady E., OSTERMAN, Michelle J. K., DRISCOLL, Anne K. et DRAKE, Patrick, 2018. Births: Final Data for 2017. In : *National Vital Statistics Reports: From the Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Health Statistics, National Vital Statistics System*. novembre 2018. Vol. 67, n° 8, pp. 1-50.
- MCNABB, J.J. et BUI, KQ, 2001. β -lactam pharmacodynamics. In : *Antimicrobial Pharmacodynamics in Theory and Clinical Practice*. 1st ed. S.l. : CRC Press. pp. 99-123.
- MEARNS, R., 2007. Other Infectious Causes of Abortion. In : *Diseases of Sheep* [en ligne]. S.l. : John Wiley & Sons, Ltd. pp. 127-137. [Consulté le 30 novembre 2020]. ISBN 978-0-470-75331-6. Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470753316.ch19>.
- MERCER, Brian M., 2003. Preterm premature rupture of the membranes. In : *Obstetrics & Gynecology*. 1 janvier 2003. Vol. 101, n° 1, pp. 178-193. DOI 10.1016/S0029-7844(02)02366-9.
- MICHELET, C, AVRIL, J L, CARTIER, F et BERCHE, P, 1994. Inhibition of intracellular growth of *Listeria monocytogenes* by antibiotics. In : *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1 mars 1994. Vol. 38, n° 3, pp. 438-446. DOI 10.1128/AAC.38.3.438.
- MIHALY, George W. et MORGAN, Denis J., 1983. Placental drug transfer: Effects of gestational age and species. In : *Pharmacology & Therapeutics*. 1 janvier 1983. Vol. 23, n° 2, pp. 253-266. DOI 10.1016/0163-7258(83)90015-3.
- MINARDI, Daniele, D'ANZEO, Gianluca, CANTORO, Daniele, CONTI, Alessandro et MUZZONIGRO, Giovanni, 2011. Urinary tract infections in women: Etiology and treatment options. In : *International journal of general medicine*. 19 avril 2011. Vol. 4, pp. 333-43. DOI 10.2147/IJGM.S11767.
- MULLER, Anouk E., DEJONGH, Joost, OOSTVOGEL, Paul M., VOSKUYL, Rob A., DÖRR, P. Joep, DANHOF, Meindert et MOUTON, Johan W., 2008. Amoxicillin pharmacokinetics in pregnant women with preterm premature rupture of the membranes. In : *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 1 janvier 2008. Vol. 198, n° 1, pp. 108.e1-108.e6. DOI 10.1016/j.ajog.2007.05.018.

- NAKAKARIYA, Masanori, SHIMADA, Taiki, IROKAWA, Masanori, MAEDA, Tomoji et TAMAI, Ikumi, 2008. Identification and Species Similarity of OATP Transporters Responsible for Hepatic Uptake of β -Lactam Antibiotics. In : *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2008. Vol. 23, n° 5, pp. 347-355. DOI 10.2133/dmpk.23.347.
- NELSON, Laura L., 2011. Surgical Site Infections in Small Animal Surgery. In : *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*. 1 septembre 2011. Vol. 41, n° 5, pp. 1041-1056. DOI 10.1016/j.cvsm.2011.05.010.
- PHYTHIAN, Clare J., ANGELL, Joseph W., CRILLY, James Patrick et MARTIN, Adam D., 2019. Ewe Caesarean section: reviewing the evidence base and sharing cross-country experiences part one. In : *Livestock*. 2 mars 2019. Vol. 24, n° 2, pp. 90-101. DOI 10.12968/live.2019.24.2.90.
- PROUILLAC, Caroline et LECOEUR, Sylvaine, 2010. The Role of the Placenta in Fetal Exposure to Xenobiotics: Importance of Membrane Transporters and Human Models for Transfer Studies. In : *Drug Metabolism and Disposition*. 1 octobre 2010. Vol. 38, n° 10, pp. 1623-1635. DOI 10.1124/dmd.110.033571.
- PUBCHEM, [sans date]. Azithromycin. In : [en ligne]. [Consulté le 12 août 2021 a]. Disponible à l'adresse : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/447043>.
- PUBCHEM, [sans date]. Erythromycin. In : [en ligne]. [Consulté le 12 août 2021 b]. Disponible à l'adresse : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/12560>.
- PUBCHEM, [sans date]. Rulide (Roxithromycine). In : [en ligne]. [Consulté le 12 août 2021 c]. Disponible à l'adresse : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6915744>.
- PUBCHEM, [sans date]. Thyroxine I 125. In : [en ligne]. [Consulté le 24 août 2021 d]. Disponible à l'adresse : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/23725048>.
- RAMSEY, Patrick S., LIEMAN, Joelle M., BRUMFIELD, Cynthia G. et CARLO, Waldemar, 2005. Chorioamnionitis increases neonatal morbidity in pregnancies complicated by preterm premature rupture of membranes. In : *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1 avril 2005. Vol. 192, n° 4, pp. 1162-1166. DOI 10.1016/j.ajog.2004.11.035.
- RAMSEY, Patrick S. et RAMIN, Kirk D., 2001. Pneumonia in Pregnancy. In : *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. 1 septembre 2001. Vol. 28, n° 3, pp. 553-569. DOI 10.1016/S0889-8545(05)70217-5.
- RIBEIRO, M. G., RISSETI, R. M., BOLAÑOS, C. A. D., CAFFARO, K. A., MORAIS, A. C. B. de, LARA, G. H. B., ZAMPROGNA, T. O., PAES, A. C., LISTONI, F. J. P. et FRANCO, M. M. J., 2015. Trueperella pyogenes multispecies infections in domestic animals: a retrospective study of 144 cases (2002 to 2012). In : *Veterinary Quarterly*. 3 avril 2015. Vol. 35, n° 2, pp. 82-87. DOI 10.1080/01652176.2015.1022667.
- SAGHAFI, Nafiseh, POURALI, Leila, GHAZVINI, Kiarash, MALEKI, Asieh, GHAVIDEL, Mahdis et KARBALAEIZADEH BABAKI, Mohsen, 2018. Cervical bacterial colonization in women with preterm premature rupture of membrane and pregnancy outcomes: A cohort study. In : *International Journal of Reproductive Biomedicine*. mai 2018. Vol. 16, n° 5, pp. 341-348.
- SALVO, Francesco, SARRO, Angelina De, CAPUTI, Achille Patrizio et POLIMENI, Giovanni, 2009. Amoxicillin and amoxicillin plus clavulanate: a safety review. In : *Expert Opinion on Drug Safety*. 1 janvier 2009. Vol. 8, n° 1, pp. 111-118. DOI 10.1517/14740330802527984.

- SCOTT, P. R., 2007. Listeriosis. In : *Diseases of Sheep* [en ligne]. S.l. : John Wiley & Sons, Ltd. pp. 255-259. [Consulté le 1 décembre 2020]. ISBN 978-0-470-75331-6. Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470753316.ch37>.
- SCOTT, Philip R., 2011. Treatment and Control of Respiratory Disease in Sheep. In : *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*. 1 mars 2011. Vol. 27, n° 1, pp. 175-186. DOI 10.1016/j.cvfa.2010.10.016.
- SIBLEY, Colin P., BROWNBILL, Paul, GLAZIER, Jocelyn D. et GREENWOOD, Susan L., 2018. Knowledge needed about the exchange physiology of the placenta. In : *Placenta*. 1 avril 2018. Vol. 64, pp. S9-S15. DOI 10.1016/j.placenta.2018.01.006.
- SITE DE L'EUCAST (EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING), [sans date]. MIC EUCAST. In : [en ligne]. [Consulté le 4 août 2021]. Disponible à l'adresse : https://mic.eucast.org/search/?search%5Bmethod%5D=mic&search%5Bantibiotic%5D=2&search%5Bspecies%5D=-1&search%5Bdisk_content%5D=-1&search%5Blimit%5D=50.
- SITE DE RÉAPATH, [sans date]. Résapath, réseau de surveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes isolées de l'animal en France. In : [en ligne]. [Consulté le 4 août 2021]. Disponible à l'adresse : <https://shiny-public.anses.fr/resapath2/>.
- SITE PUBCHEM, [sans date]. Amoxicillin. In : [en ligne]. [Consulté le 10 août 2021 a]. Disponible à l'adresse : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/33613>.
- SITE PUBCHEM, [sans date]. Nafcillin. In : [en ligne]. [Consulté le 6 août 2021 b]. Disponible à l'adresse : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8982>.
- SITE PUBCHEM, [sans date]. Penicillin G. In : [en ligne]. [Consulté le 6 août 2021 c]. Disponible à l'adresse : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5904>.
- STAUD, Frantisek, CERVENY, Lukas et CECKOVA, Martina, 2012. Pharmacotherapy in pregnancy; effect of ABC and SLC transporters on drug transport across the placenta and fetal drug exposure. In : *Journal of Drug Targeting*. 1 novembre 2012. Vol. 20, n° 9, pp. 736-763. DOI 10.3109/1061186X.2012.716847.
- SYME, Michael, PAXTON, James et KEELAN, Jeff, 2004. Drug Transfer and Metabolism by the Human Placenta. In : *Clinical pharmacokinetics*. 1 février 2004. Vol. 43, pp. 487-514. DOI 10.2165/00003088-200443080-00001.
- TASNIF, Y., MORADO, J. et HEBERT, M. F., 2016. Pregnancy-related pharmacokinetic changes. In : *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2016. Vol. 100, n° 1, pp. 53-62. DOI 10.1002/cpt.382.
- TETRO, Nino, MOUSHAEV, Sonia, RUBINCHIK-STERN, Miriam et EYAL, Sara, 2018. The Placental Barrier: the Gate and the Fate in Drug Distribution. In : *Pharmaceutical Research*. 23 février 2018. Vol. 35, n° 4, pp. 71. DOI 10.1007/s11095-017-2286-0.
- TIMSIT, Edouard, HALLEWELL, Jennyka, BOOKER, Calvin, TISON, Nicolas, AMAT, Samat et ALEXANDER, Trevor W., 2017. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, and *Histophilus somni* isolated from the lower respiratory tract of healthy feedlot cattle and those diagnosed with bovine respiratory disease. In : *Veterinary Microbiology*. 1 septembre 2017. Vol. 208, pp. 118-125. DOI 10.1016/j.vetmic.2017.07.013.

- TURNIDGE, John, 2010. Nafcillin. In : *Kucers' The Use of Antibiotics Sixth Edition: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs*. S.l. : CRC Press. ISBN 978-1-4441-4752-0.
- VÄHÄKANGAS, Kirsi et MYLLYNNEN, Päivi, 2009. Drug transporters in the human blood-placental barrier. In : *British Journal of Pharmacology*. 2009. Vol. 158, n° 3, pp. 665-678. DOI 10.1111/j.1476-5381.2009.00336.x.
- WALKER, Natasha, FILIS, Panagiotis, SOFFIENTINI, Ugo, BELLINGHAM, Michelle, O'SHAUGHNESSY, Peter J et FOWLER, Paul A, 2017. Placental transporter localization and expression in the Human: the importance of species, sex, and gestational age differences†. In : *Biology of Reproduction*. 1 avril 2017. Vol. 96, n° 4, pp. 733-742. DOI 10.1093/biolre/iox012.
- WHYTE, W., HAMBRAEUS, A., LAURELL, G. et HOBORN, J., 1991. The relative importance of routes and sources of wound contamination during general surgery. I. Non-airborne. In : *Journal of Hospital Infection*. 1 juin 1991. Vol. 18, n° 2, pp. 93-107. DOI 10.1016/0195-6701(91)90154-Z.
- WHYTE, W., HAMBRAEUS, A., LAURELL, G. et HOBORN, J., 1992. The relative importance of the routes and sources of wound contamination during general surgery. II. Airborne. In : *Journal of Hospital Infection*. 1 septembre 1992. Vol. 22, n° 1, pp. 41-54. DOI 10.1016/0195-6701(92)90129-A.
- WINTER, Joanne R., KALER, Jasmeet, FERGUSON, Eamonn, KILBRIDE, Amy L. et GREEN, Laura E., 2015. Changes in prevalence of, and risk factors for lameness in random samples of English sheep flocks: 2004-2013. In : *Preventive Veterinary Medicine*. 1 novembre 2015. Vol. 122, n° 1-2, pp. 121-128. DOI 10.1016/j.prevetmed.2015.09.014.
- WŁOCH, Stanisław, PAŁASZ, Artur et KAMIŃSKI, Marcin, 2009. Active and passive transport of drugs in the human placenta. In : *Ginekologia polska*. 1 octobre 2009. Vol. 80, pp. 772-7.
- WOODING, Peter et BURTON, Graham, 2008. *Comparative Placentation: Structures, Functions and Evolution*. S.l. : Springer Science & Business Media. ISBN 978-3-540-78797-6.
- YUDIN, Mark H., VAN SCHALKWYK, Julie et VAN EYK, Nancy, 2017. No. 233-Antibiotic Therapy in Preterm Premature Rupture of the Membranes. In : *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. 1 septembre 2017. Vol. 39, n° 9, pp. e207-e212. DOI 10.1016/j.jogc.2017.06.003.
- ZARĘBA-SZCZUDLIK, Julia, ROMEJKO-WOLNIEWICZ, Ewa, LEWANDOWSKI, Zbigniew, RÓŻAŃSKA, Hanna, MALINOWSKA-POLUBIEC, Aneta, DOBROWOLSKA-REDO, Agnieszka, WILCZYŃSKI, Jan et CZAJKOWSKI, Krzysztof, 2016. Evaluation of the amoxicillin concentrations in amniotic fluid, placenta, umbilical cord blood and maternal serum two hours after intravenous administration. In : 2016. pp. 7.
- ZARĘBA-SZCZUDLIK, Julia, ROMEJKO-WOLNIEWICZ, Ewa, LEWANDOWSKI, Zbigniew, RÓŻAŃSKA, Hanna, MALINOWSKA-POLUBIEC, Aneta, DOBROWOLSKA-REDO, Agnieszka, WILCZYŃSKI, Jan et CZAJKOWSKI, Krzysztof, 2017. Evaluation of the amoxicillin concentrations in amniotic fluid, placenta, umbilical cord blood and maternal serum two hours after oral administration. In : 2017. pp. 7.

12. ANNEXES

Résultats bruts des dosages et paramètres pris en compte pour l'analyse.

Identifi- cation brebis	Engraisse- ment	Lot	BPS / Solvant	Nombre foetus	Concentration plasma maternel [µg/mL]		Concentration plasma foetal [µg/mL]		Concentration LA J1	Poids brebis	Volume Longamox® administré	Dose amoxicilline administrée
					J1	J2	J1	J2	µg/mL	kg	mL	mg/kg
B3	M	1	Solvant	2	2.839	0.751	0.056	0.043	0.050	57.800	10.000	25.952
B4	M	1	BPS	1	2.108	0.204	0.065	0.027	0.024	61.600	10.000	24.351
B5	M	1	Solvant	2	2.775	0.481	0.137	0.089	0.082	66.200	10.000	22.659
B6	M	1	BPS	1	2.751	1.782	0.155	0.177	0.077	62.800	10.000	23.885
B7	M	2	Solvant	3	3.277	0.643	0.063	-	0.038	60.000	10.000	25.000
B9	M	2	Solvant	1	1.661	0.104	0.092	0.046	0.011	58.800	10.000	25.510
B10	M	2	BPS	2	1.862	0.385	0.132	0.071	0.123	57.000	10.000	26.316
B11	M	2	Solvant	2	2.222	0.675	0.075	0.047	0.054	63.600	10.000	23.585
B12	M	2	BPS	1	2.299	0.365	0.077	0.047	0.081	70.000	10.000	21.429
B13	M	3	Solvant	2	2.263	0.129	0.115	0.050	0.081	60.400	10.000	24.834
B14	M	3	BPS	2	2.454	0.478	0.117	0.056	0.087	53.400	10.000	28.090
B15	M	3	Solvant	1	1.786	0.376	0.061	0.028	0.091	56.400	10.000	26.596
B16	M	3	BPS	2	1.656	0.413	0.086	0.047	0.043	50.400	10.000	29.762
B17	M	3	Solvant	3	2.198	3.335	0.044	0.063	0.036	55.000	10.000	27.273
B18	M	3	BPS	3	0.921	0.324	0.052	0.021	0.037	65.800	10.000	22.796
B19	M	4	Solvant	2	2.551	0.362	0.164	0.055	0.008	55.800	10.000	26.882
B20	M	4	BPS	1	2.542	1.064	0.097	0.084	0.063	62.400	12.000	28.846
B21	M	4	Solvant	1	3.097	0.836	0.116	0.061	0.131	64.200	10.000	23.364
B22	M	4	BPS	2	2.228	0.403	0.172	0.091	0.067	58.000	10.000	25.862
B25	G	1	Solvant	1	1.735	5.023	0.080	0.036	0.070	79.600	12.000	22.613
B27	G	1	Solvant	2	2.989	3.595	0.088	0.080	0.036	75.000	12.000	24.000
B28	G	1	BPS	2	3.125	0.730	0.046	0.039	0.083	73.000	12.000	24.658
B29	G	1	Solvant	2	0.623	0.473	0.036	0.029	0.062	82.200	12.000	21.898
B30	G	1	BPS	3	2.282	0.337	0.050	0.043	0.051	81.400	12.000	22.113
B31	G	1	Solvant	3	3.268	0.679	0.055	0.052	0.111	77.800	12.000	23.136
B32	G	2	BPS	2	1.937	0.189	0.006	0.018	0.045	96.800	12.000	18.595
B33	G	2	Solvant	3	1.954	0.465	0.041	0.040	0.023	86.000	12.000	20.930
B34	G	2	BPS	2	2.354	0.926	0.043	0.046	0.043	81.600	12.000	22.059
B35	G	2	Solvant	3	2.613	0.320	0.045	0.050	0.042	101.800	12.000	17.682
B36	G	2	BPS	2	0.941	0.560	0.029	0.053	0.008	82.400	12.000	21.845
B37	G	2	Solvant	2	1.707	0.616	-	0.036	0.026	89.000	12.000	20.225
B38	G	3	BPS	2	0.788	0.261	0.010	0.037	0.074	87.200	12.000	20.642
B39	G	3	Solvant	2	1.360	0.358	0.037	0.048	0.206	84.200	12.000	21.378
B40	G	3	BPS	1	2.298	0.780	0.034	0.057	0.032	80.600	12.000	22.333
B41	G	3	Solvant	1	1.512	0.187	0.025	0.028	0.025	78.200	12.000	23.018
B42	G	3	BPS	1	1.992	2.747	0.047	0.138	0.030	83.200	12.000	21.635
B43	G	3	Solvant	1	1.283	0.734	0.024	0.032	0.030	89.400	12.000	20.134
B44	G	4	BPS	2	2.259	0.230	0.031	0.031	0.057	85.200	12.000	21.127
B46	G	4	BPS	2	2.684	0.451	0.028	0.034	0.037	78.600	12.000	22.901

Lise BARDIN

Etude pharmacocinétique de l'amoxicilline durant la gestation, sur le modèle de la brebis gravide.

RESUME

L'amoxicilline est un antibiotique fréquemment prescrit durant la grossesse chez la femme, mais les connaissances sur sa pharmacocinétique et sa distribution au fœtus sont limitées. L'objectif de cette thèse était donc d'étudier la pharmacocinétique de l'amoxicilline chez la brebis gravide.

Des prélèvements sanguins maternels et fœtaux ont été réalisés sur 39 brebis gravides proches du terme, 24 et 48h après l'administration par voie intramusculaire d'amoxicilline longue action (LongAmox®). Un échantillon de liquide amniotique a également été prélevé 24h après l'injection. A partir des dosages d'amoxicilline réalisés sur ces milieux, une extrapolation a été proposée pour estimer les concentrations en amoxicilline qui pourraient être atteinte dans le plasma fœtal lors de deux protocoles d'antibiothérapie proposés chez la femme enceinte. Les concentrations ont ensuite été comparées aux concentrations minimales inhibitrices des principaux agents pathogènes.

MOTS-CLES : amoxicilline, distribution, grossesse, gestation, fœtus, modèle ovin, pharmacocinétique

Pharmacokinetic study of amoxicillin during gestation using the gravid ewe model.

ABSTRACT

Amoxicillin is an antibiotic which is frequently prescribed to pregnant women, but there is a lack of knowledge about its pharmacokinetics and its distribution to fetus. The aim of this work is to study the amoxicillin pharmacokinetics in gravid ewe.

Maternal and fetal blood samples were taken on 39 gravid ewes near term, 24 and 48h after intramuscular administration of long-acting amoxicillin (LongAmox®). Amniotic liquid samples were also collected 24h after the injection. Amoxicillin dosages were performed on each media. An extrapolation was made to estimate amoxicillin concentration that could be reached in human fetal plasma for two antibiotic regimens recommended to pregnant women. Then, calculated concentrations were compared to the minimum inhibitory concentration of the main pathogens.

KEYWORDS: amoxicillin, distribution, pregnancy, gestation, fetus, ovine model, pharmacokinetics