ECOLE NATIONALE VETERINAIRE TOULOUSE

ANNEE 2006 THESE : 2006 - TOU 3 – 4105

ETUDE DU PASSAGE DE LA MARBOFLOXACINE A TRAVERS LA BARRIERE UTERINE DE LA JUMENT

THESE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

présentée et soutenue publiquement en 2006
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Par
Elsa CHASTAGNOL
Née la 30 septembre 1981 à Limoges

Directeur de thèse : Madame le Docteur Nicole HAGEN-PICARD

JURY

PRESIDENT :	
M. Jean PARINAUD	Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE
ASSESSEURS :	
Mme Nicole HAGEN-PICARD	Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
M. Pierre-Louis TOUTAIN	Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
MEMBRE INVITE :	
M. Marc SCHNEIDER	Responsable du Laboratoire de Développement Bioanalytique, Vétoquinol

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	**A. MILON**
Directeurs honoraires	M.	**G. VAN HAVERBEKE**

MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. **JOUGLAR Jean-Yves,** *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

MAÎTRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

M. **ASIMUS Erik,** *Pathologie chirurgicale*
M. **BAILLY Jean-Denis,** *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. **BERGONIER Dominique,** *Pathologie de la Reproduction*
M. **BERTAGNOLI Stéphane,** *Pathologie infectieuse*
Mme **BOUCRAUT-BARALON Corine,** *Pathologie infectieuse*
Mlle **BOULLIER Séverine,** *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie,** *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain,** *Physiologie et Thérapeutique*
Mme **BRET-BENNIS Lydie,** *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **BRUGERE Hubert,** *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
Mme **CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle,** *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme **COLLARD-MEYNAUD Patricia,** *Pathologie chirurgicale*
Mlle **DIQUELOU Armelle,** *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **DOSSIN Olivier,** *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **FOUCRAS Gilles,** *Pathologie du bétail*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique,** *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERIN Jean-Luc,** *Elevage et Santé Avicoles et Cunicoles*
M. **JACQUIET Philippe,** *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **JAEG Jean-Philippe,** *Pharmacie et Toxicologie*
M. **LYAZRHI Faouzi,** *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MATHON Didier,** *Pathologie chirurgicale*
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
Mme **MEYNADIER-TROEGELER Annabelle,** *Alimentation*
M. **MONNEREAU Laurent,** *Anatomie, Embryologie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie,** *Alimentation*
Mme **RAYMOND-LETRON Isabelle,** *Anatomie pathologique*
M. **SANS Pierre,** *Productions animales*
Mlle **TRUMEL Catherine,** *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. **VERWAERDE Patrick,** *Anesthésie, Réanimation*

MAÎTRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

Mlle **BIBBAL Delphine,** *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. **CASSARD Hervé,** *Pathologie du bétail*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique des animaux de rente*

A mes parents,

Merci.

A mon Poulet de frère,
Merci pour ces étés californiens qui m'ont permis de découvrir tant de choses (et surtout le parachute !), pour ces coups de fil du soir/matin qui nous détendent le neurone, et puis pour tout le reste.

A mes coloc : les Culs Pincés de la (Royal) Dick Place première puis deuxième version (soit Marie et Boulie, et puis Agnès, Béa, Bambou, Katrina, Chewie), à Cathycat,
Merci les Poules ! Bonne route et on se verra au soleil.

A ma coloc de vacances
Emilie, la bise à Rambo.

Aux gens avec qui j'ai passé de drôles de soirées,
C'est pas fini.

A Boulie,
Tes sketches resteront les meilleurs.

To TDW,
Dandy rules, OK ?

SOMMAIRE

TABLE DES ILLUSTRATIONS 7

TABLEAUX 7
FIGURES 8

INTRODUCTION 9

PREMIERE PARTIE : LES INFECTIONS UTERINES CHEZ LA JUMENT 12

A- Caractéristiques des métrites 12

B- Physio-pathogénie des endométrites 16

1- Physiopathologie utérine 16
2- Les bactéries 19
3- Les caractéristiques de la flore utérine pathogène 21

C- Traitements utilisés contre l'endométrite 22

1- L'antibiothérapie 22
a- Choix de la molécule antibiotique 22
b- Choix de la voie d'administration des antibiotiques 24
c- antibiothérapie par voie parentérale 26
d- antibiothérapie par voie locale 27
2- Les lavages utérins 30
3- Les thérapeutiques hormonales 31
4- Autres thérapies 31
5- Contrôle de l'efficacité du traitement 32

DEUXIEME PARTIE : LA MARBOFLOXACINE, DONNEES PHARMACOLOGIQUES 34

A- Particularités structurales de la marbofloxacine en relation avec la fonction. . 34

B- Propriétés physico-chimiques. 36

1- Caractéristiques et solubilité 36
2- Propriétés acido-basiques 36

C- Propriétés pharmacocinétiques 36

1- Résorption 37
2- Distribution 37
3- Biotransformation ou métabolisation 38
4- Elimination 38

D- Propriétés pharmacodynamiques 39

1- Mécanisme d'action 39
2- Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) 40
3- Cinétique de bactéricidie 40
4- L'Effet Post-Antibiotique (EPA) 41

TROISIEME PARTIE : ESSAI CLINIQUE 44

A- Matériels et méthodes 44

1- Animaux 44
2- Procédure expérimentale 45
3- Les prélèvements sanguins et utérins et leur traitement 46
4- Dosage de la marbofloxacine 47
5- Analyse des résultats 49

B- Résultats 50

C- Discussion 55

CONCLUSION 63

BIBLIOGRAPHIE 64

TABLE DES ILLUSTRATIONS

TABLEAUX

Tableau 1 Classification du potentiel reproducteur des juments en fonction de l'analyse histologique utérine et des commémoratifs [Kenney et Doig, 1986] ……..13

Tableau 2 : Bactéries isolées lors d'endométrite chez les juments, selon quatre études……18

Tableau 3 : Principaux agents pathogènes en cause lors d'endométrite chez la jument et antibiotiques potentiellement actifs sur ces germes……21

Tableau 4 : Les antibiotiques utilisés par voie parentérale pour traiter l'endométrite chez la jument……24

Tableau 5 : Antibiotiques administrés par voie intra-utérine dans le traitement de l'endométrite chez la jument……27

Tableau 6 : Paramètres pharmacocinétiques de la marbofloxacine, après une administration de 2 mg/kg, chez le cheval……35

Tableau 7 : Caractéristiques des six juments incluses dans l'essai clinique……42

Tableau 8 : Calendrier de l'essai clinique……44

Tableau 9 : Poids des biopsies utérines réalisées avant, 2 h, 6 h et 24 h après une administration intra-veineuse de marbofloxacine, pour les six juments de l'expérience……48

Tableau 10 : Concentrations plasmatiques en marbofloxacine mesurées avant, 2h, 6h et 24h après une administration intra-veineuse de marbofloxacine à la dose 2mg/kg PV à six juments……48

Tableau 11 : Concentrations en marbofloxacine dans l'endomètre des juments, mesurées avant, 2 h, 6 h et 24 h après une administration intra-veineuse de marbofloxacine à la dose 2 mg/kg PV à six juments……49

Tableau 12 : Rapport des concentrations utérines sur les concentrations plasmatiques de marbofloxacine mesurées avant, 2 h, 6 h et 24 h après une administration intra-veineuse de marbofloxacine à la dose 2 mg/kg PV à six juments……52

Tableau 13 : Activité *in vitro* de la marbofloxacine contre les principaux germes pathogènes isolés lors d'infection utérine chez la jument……58

FIGURES

Figure 1 : Pathogénie des endométrites et mécanismes de défense de l'utérus chez la jument (d'après BRUYAS)……16

Figure 2 : Structure chimique de la marbofloxacine……33

Figure 3 : Méthode d'extraction de la marbofloxacine dans les biopsies utérines : extraction liquide-liquide, après réaction enzymatique……46

Figure 4 : Relation entre les concentrations utérines et plasmatiques de marbofloxacine chez 6 juments prélevées 2 h, 6 h et 24 heures après une administration intra-veineuse de 2 mg/kg PV de marbofloxacine……50

Figure 5 : Evolutions temporelles des concentrations de marbofloxacine dans le plasma et dans l'endomètre, après une administration intra-veineuse de 2 mg/kg PV de marbofloxacine……51

INTRODUCTION

Les infections utérines constituent la première cause de sub-fertilité chez la jument cyclée, elles sont responsables d'un tiers des non gestations. Elles ont donc une grande importance économique dans les élevages, et leur traitement est essentiel pour permettre la reproduction des femelles. Les infections utérines sont généralement dues à des streptocoques, mais également à des germes Gram négatifs dont *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*. Ces germes sont potentiellement sensibles à la marbofloxacine, exceptés les streptocoques. Une enquête réalisée auprès de 1149 vétérinaires aux USA a placé l'endométrite au troisième rang des problèmes médicaux chez les chevaux adultes, après les coliques et les problèmes respiratoires viraux [TRAUB-DARGATZ et al, 1991]. Cette incidence ne diminue pas depuis plusieurs années, en dépit des précautions d'hygiène prises lors des périodes à risque telles que les manipulations gynécologiques et le part, et malgré les traitements mis en oeuvre. Des traitements antibiotiques par voie intra-utérine ou par voie systémique sont utilisés classiquement, mais les résultats sont souvent décevants. Les antibiothérapies locales à base de gentamicine ou de triméthoprime-sulfamides présentent le double inconvénient d'être mal tolérés localement et surtout de ne pas garantir une exposition appropriée de l'ensemble de l'appareil génital. C'est pourquoi la recherche de nouveaux traitements antibiotiques efficaces vis à vis ces infections est toujours d'actualité.

La marbofloxacine est une fluoroquinolone de troisième génération, développée pour un usage exclusivement vétérinaire. Elle possède des Autorisations de Mise sur le Marché (AMM) pour les veaux, les bovins, les porcins, les chiens et les chats. Elle ne possède pas d'AMM pour les équidés à ce jour. Il s'agit d'un antibiotique à large spectre qui se distribue largement dans les tissus, les compartiments intra et extra-cellulaires. Dans l'espèce équine, la dose de 2 mg/kg par voie systémique permet d'obtenir des concentrations plasmatiques adéquates, la fréquence des administrations doit être adaptée en fonction de l'espèce bactérienne ciblée [6, 10]. En revanche, l'exposition du tractus génital après une administration par voie générale n'a jamais été documentée. Le but de notre essai clinique est donc

de déterminer si la marbofloxacine, administrée par voie intraveineuse à la dose de 2 mg/kg, diffuse dans l'endomètre utérin.

Dans la première partie bibliographique, nous présenterons les infections utérines chez la jument, et les caractéristiques générales de la marbofloxacine et son intérêt pour traiter les infections utérines. La partie expérimentale sera présentée selon un plan classique, matériels et méthodes, résultats et discussion. Elle a été réalisée dans le cadre de l'UMR 181 INRA/ENVT de Physiopathologie et Toxicologie Expérimentales.

PREMIERE PARTIE :

Les infections utérines chez la jument

PREMIERE PARTIE : LES INFECTIONS UTERINES CHEZ LA JUMENT

A- Caractéristiques des métrites

La métrite est une inflammation utérine, elle peut atteindre uniquement l'épithélium utérin (endométrite), ou les couches profondes de l'utérus, le myomètre ou la séreuse (périmétrite). Dans ce cas, la taille de l'utérus est augmentée, son tonus est diminué, une accumulation de liquides est parfois observée dans la lumière utérine, les plis utérins sont moins bien définis. On parle d'endométriose lorsque des lésions dégénératives sont présentes.

La métrite aiguë est généralement associée à des signes généraux (hyperthermie, apathie, baisse d'appétit, fourbure, toxémie ou septicémie). Elle peut conduire à une péri métrite.

Le pyomètre correspond à une accumulation de pus dans la lumière utérine associée à un col fermé et à la persistance d'un corps jaune qui permet le maintien de concentrations élevées de progestérone. Les signes généraux sont généralement absents. Cette affection est relativement rare chez la jument.

Ces différentes formes d'infection utérine ont des caractéristiques physiopathologiques et des étiologies relativement similaires. Elles diffèrent en fonction du degré de gravité, de la localisation tissulaire de l'inflammation et de son évolution.

L'endométrite est la première cause de sub-fertilité chez la jument cyclée. Son importance est surtout économique, car le pronostic vital de la jument est rarement mis en cause.

L'inflammation de l'endomètre, associée ou non à une infection, peut être physiologique ou pathologique. En effet, l'inflammation de l'endomètre est physiologique après la saillie ou l'insémination et après le part. Rappelons que le dépôt de sperme se fait directement *in utero* chez la jument. L'inflammation induite

par le coït dure alors 72 à 96 heures, elle est liée principalement à la réaction de l'endomètre au plasma séminal et aux cellules étrangères que sont les spermatozoïdes. La délivrance placentaire et l'involution utérine induisent elles aussi une inflammation de l'utérus considérée comme normale pendant 12 à 15 jours post partum. En revanche, l'endométrite peut devenir pathologique lors d'une contamination vénérienne par un germe très pathogène, lorsque la jument présente une infection chronique (consécutive par exemple à une insémination à un moment inapproprié du cycle ou à des inséminations trop fréquentes ou encore à une anomalie de conformation).

Les infections utérines chez la jument sont généralement dues à un seul germe, notamment des streptocoques, des staphylocoques, mais également des germes Gram négatifs, dont *Escherichia coli*, *Klebsiella* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les signes locaux observés sont des écoulements cervicaux ou vulvaires troubles à purulents, une congestion vaginale et des sécrétions intra-utérines. La confirmation de la suspicion clinique nécessite parfois le recours à des examens complémentaires [1, 25]. La palpation transrectale permet de détecter une augmentation de volume de l'utérus et la présence de liquide intra-utérin et une modification de la consistance de l'utérus. A l'échographie, la lumière de l'utérus apparaît distendue, hétérogène et relativement anéchogène. Elle est parsemée de pointillés plus réfringents correspondant à des débris cellulaires provenant de la muqueuse utérine ou à des sécrétions muco-purulentes.

La confirmation de l'inflammation repose sur la cytologie utérine.

Un examen bactériologique permet de préciser l'étiologie de l'inflammation. Cependant, cet examen à lui seul ne permet pas de confirmer l'endométrite car il existe des faux négatifs, liés notamment à des conditions de culture ne permettant pas la croissance du germe, et des faux positifs, généralement liés à la contamination du prélèvement. L'examen bactériologique doit être réalisé après un examen gynécologique complet et après confirmation de l'inflammation. Son interprétation doit tenir compte de l'examen clinique. En particulier, la mise en évidence simultanée de plusieurs germes pathogènes lors d'endométrite est peu probable chez la jument, un tel résultat doit donc être interprété avec prudence par le clinicien.

L’analyse histologique à partir d’une biopsie utérine permet de déterminer l’étendue et la sévérité d’éventuelles lésions, et d’évaluer le pronostic pour la reproduction ultérieure de la jument. Une classification des juments en fonction de leur passé reproducteur et de l’interprétation de l’analyse histologique de la biopsie utérine a été proposée. Elle permet d’évaluer le potentiel reproducteur de la jument. Elle est présentée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Classification du potentiel reproducteur des juments en fonction de l'analyse histologique utérine et des commémoratifs [Kenney et Doig, 1986] [24]

Caté-gorie	% de chances d'obtenir un poulain	Inflammation de l'endomètre	Caractéristiques lymphatiques	Fibrose de l'endomètre	Atrophie de l'endomètre	Commémo-ratifs
I	80-90 Fertilité normale	Absente ou très légère et dispersée	Normal	Absente ou très légère et dispersée	Absente	
IIA	50-80 peut revenir en catégorie I si traitement	Infiltration légère à modérée	Lacunes suffisamment étendues pour produire un changement palpable dans les replis utérins	Moins de 2 foyers, en moyenne, sur au moins 4 champs de 5,5 mm	Partielle tard dans la saison de reproduction, ou avant la saison et associée à une cyclicité ovarienne et à des chaleurs	Jument restée vide moins de 2 ans
IIB	10-50 peut éventuellement revenir en catégorie IIA si traitement	Lésions étendues, diffuse, avec des foyers assez sévères	Lacunes suffisamment étendues pour produire un changement palpable dans les replis utérins	Etendue et de distribution uniforme, 2 à 4 foyers en moyenne sur au moins 4 champs de 5,5 mm.	Partielle tard dans la saison de reproduction, ou avant la saison et associée à une cyclicité ovarienne et à des chaleurs	Jument restée vide 2 ans ou plus
III	<10% peu de chance de réussite du traitement	Diffuse, généralisée, sévère	Lacunes sévères	Etendue uniformément, sur au moins 5 foyers dans un champ de 5,5 mm	Profonde en saison de reproduction	

Si plus d'un type de lésions inflammatoire, lymphatique, fibrotique et atrophique de l'endomètre est observé, la jument est classée dans la catégorie inférieure.

Il existe une population de juments dites « sensibles » aux contaminations microbiennes survenant régulièrement au cours de la carrière d'une reproductrice, et qui présentent des endométrites récidivantes. L'origine précise de cette sensibilité particulière reste à déterminer. Des altérations du système immunitaire ou de la motricité utérine pourraient être impliquées. Les juments sensibles sont en général âgées, elles ont un historique de stérilité ou présentent des signes cliniques d'endométrite, elles appartiennent le plus souvent à la catégorie « histologie de l'endomètre » IIB ou III (classification de Kenney & Doig, 1986) [24]. La sensibilité d'une jument aux infections utérines peut être testée expérimentalement en introduisant des bactéries dans l'utérus. Si les bactéries sont éliminées dans les 96 heures suivant l'administration intra-utérine, la jument est considérée résistante aux infections utérines [Troedsson, 1991].

B- Physio-pathogénie des endométrites

1- Physiopathologie utérine [1, 23, 30, 40, 44, 48, 55]

Lors de leur vie de reproductrice, les juments doivent faire face à de nombreuses contaminations utérines survenant lors de l'insémination, du poulinage ou des manipulations gynécologiques. Lorsque l'utérus présente des mécanismes de défense actifs, les germes et les liquides inflammatoires sont éliminés de l'utérus en quelques jours. Le col de l'utérus, le sphincter vestibulaire et les lèvres vulvaires sont les trois barrières naturelles qui protègent l'utérus et qui permettent l'élimination des liquides d'origine utérine. L'endomètre utérin bénéficie d'une réponse immunitaire à la fois cellulaire et humorale. En outre, les muqueuses utérine et vaginale présentent un système immunitaire mucosal ou système lymphoïde associé aux muqueuses. C'est ce système immunitaire local qui est activé lorsque des antigènes pénètrent dans le tractus génital. Des immunoglobulines, majoritairement de type A au niveau du col et du vagin et de type G au niveau de la muqueuse utérine, sont ainsi sécrétées localement par les amas de tissus lymphoïde de la sous-muqueuse. Les immunoglobulines A sécrétoires sont transportées à travers la muqueuse, où leur

principal rôle est d'empêcher l'adhérence et donc la pénétration d'agents infectieux selon un mécanisme d'exclusion immunitaire. Par ailleurs, ces immunoglobulines ont également un rôle d'opsonisation des antigènes.

Chez une jument normale, après une contamination infectieuse, les neutrophiles attirés par les facteurs chimiotactiques présents dans les liquides utérins migrent rapidement depuis la circulation sanguine vers la lumière utérine. Ces neutrophiles circulants s'ajoutent aux neutrophiles locaux et jouent alors leur rôle de phagocytose des bactéries opsonisées et les tuent. Ces cellules sont ensuite éliminées mécaniquement de l'utérus par les contractions du myomètre utérin, via le col utérin. Les contractions du myomètre sont favorisées par les prostaglandines PGF2α et PGE2α (sécrétées par les neutrophiles activés) et par l'ocytocine. Le drainage lymphatique joue également un rôle dans la vidange de l'utérus.

Le système immunitaire peut être modulé par différents facteurs hormonaux. Il est admis que les juments sont plus sensibles aux infections utérines lorsqu'elles sont sous imprégnation progestéronique que lorsqu'elles sont sous imprégnation oestrogénique. Deux jours après une infection expérimentale par des streptocoques, les neutrophiles circulants de juments traitées aux oestrogènes ont présenté une plus grande efficacité que les neutrophiles circulants de juments sous imprégnation progestéronique [23]. De plus, la vidange utérine est facilitée sous imprégnation oestrogénique par l'ouverture du col. Enfin, l'adhésion des bactéries aux cellules épithéliales utérines de juments traitées avec de l'oestradiol est faible que celles récoltées sur des juments traitées à la progestérone [23]. Tous ces facteurs contribuent à expliquer la différence de résistance aux infections utérines en fonction de la phase du cycle sexuel.

La figure 1 résume la pathogénie des endométrites et les mécanismes de défense de l'utérus.

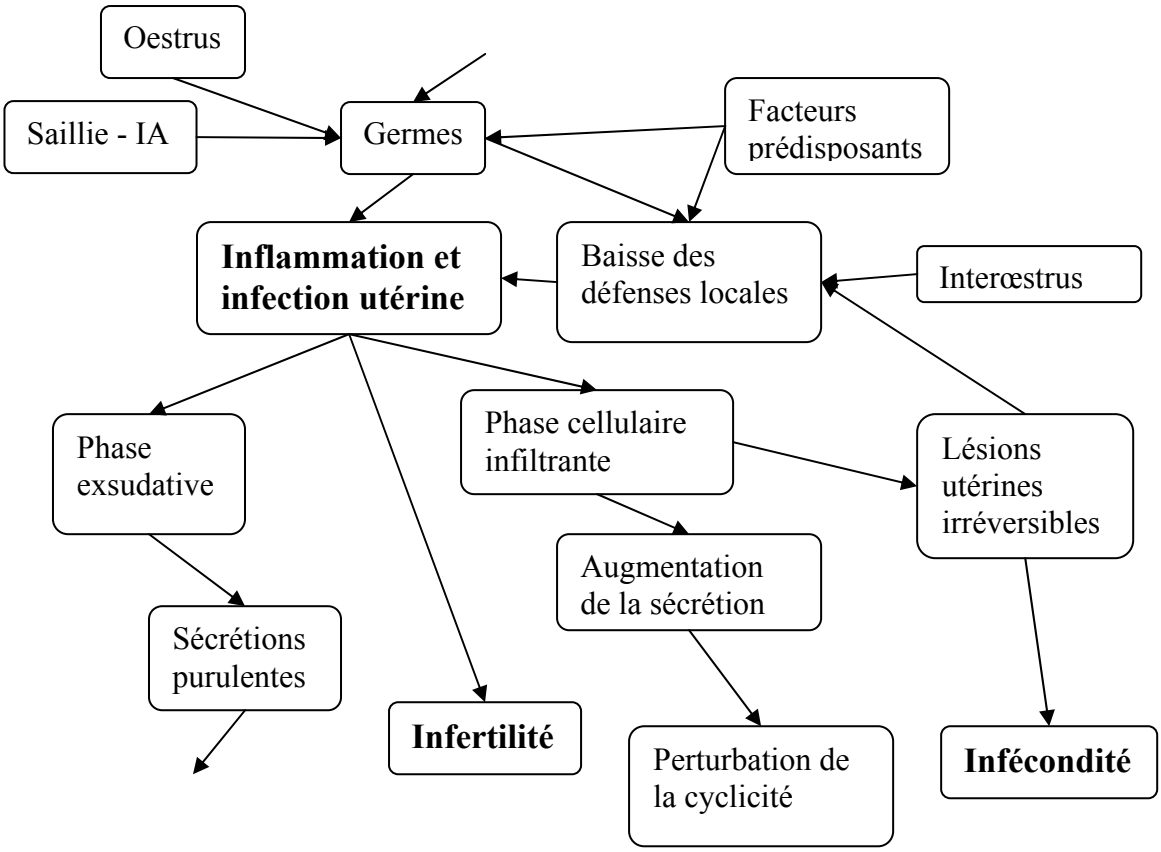


Figure 1 : Pathogénie des endométrites et mécanismes de défense de l'utérus chez la jument (d'après BRUYAS).

La persistance de micro-organismes dans la lumière utérine est favorisée dans trois situations pathologiques : en présence de bactéries très pathogènes, lors du développement d'une quantité importante de bactéries peu pathogènes, lors de défaut des mécanismes de défense utérine [1]. Le défaut des mécanismes de défense utérine peut survenir brutalement lors d'un traumatisme à l'origine d'une augmentation de la pression infectieuse, ou progressivement après des gestations répétées chez la jument âgée. Il se caractérise par une perméabilité anormale de la vulve ou un défaut de la fonction phagocytaire ou de la motricité utérine.

2- Les bactéries [1, 17, 34, 37, 48]

La contamination utérine fait intervenir généralement des bactéries d'origine fécale ou ubiquitaires présentes dans la semence de l'étalon. Les principales bactéries isolées lors d'endométrite sont présentées dans le tableau 2. Les métrites spécifiques liées à *Taylorella equigenitalis*, l'agent de la métrite contagieuse équine, ne seront pas développées ici. En effet, elles font l'objet d'une prophylaxie réglementée.

Tableau 2 : Bactéries isolées lors d'endométrite chez les juments, selon quatre études [29, 35, 44, 53].

Bactéries	Streptocoques β-hémolytiques avec surtout *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*	*Escherichia coli*	*Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Corynebacterium*	Staphylocoques	Pasteurelles, notamment *Actinobacillus equuli*	*Citrobacter freundi*	Autres bactéries
Ricketts & al, 1993	27	14	<1	<1	10	31	<1	Non isolé	<18
McCue, 1991	41,8	19	11,5	9,9	2,2	2,8	4	1,3	7,5
Wingfield Digby & Ricketts entre 1978 et 1981	22	17	1,5	0,1	3	33	Non isolé	Non isolé	23,4
Shin, 1979	38,7	27,1	7,4	4,5	<1	3,2	1,4	2,6	<15,1

Les principaux germes isolés lors d'endométrite chez la jument sont les Streptocoques β-hémolytiques avec surtout *Streptococcus equi* subsp*. zooepidemicus*, des Entérobactéries comme *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*. Ces germes sont des pathogènes opportunistes.

Le rôle de certaines bactéries anaérobies (*Bacteroides sp.*, *Fusobacterium* sp.) a été évoqué mais il est peu documenté et controversé [39].

Des levures comme *Candida sp.* ou des champignons comme *Aspergillus fumigatus* peuvent se développer dans l'utérus. Cette infection est toutefois relativement rare et, survient le plus souvent après des traitements antibiotiques répétés.

3- Les caractéristiques de la flore utérine pathogène [17, 45]

Streptococcus equi subsp*. zooepidemicus*, les Staphylocoques et les *Corynebacterium* sont des bactéries à Gram positif aéro-anaérobie, dont la biophase est le liquide interstitiel. *Staphylococcus aureus* peut aussi se trouver dans les phagolysosomes. Ces pathogènes opportunistes se trouvent fréquemment sur la peau et les muqueuses des animaux. *Streptococcus equi* est souvent isolé des voies respiratoires supérieures de l'animal sain, on le trouve parfois dans la flore digestive. Les *Corynebacterium* sont des bacilles dont le portage est fréquent dans les régions tempérées à climat humide. *Streptococcus equi* appartient au groupe des streptocoques pyogènes béta-hémolytiques. Les Staphylocoques sont des coques pyogènes résistantes à la phagocytose, qui produisent assez fréquemment des béta-lactamases, ce qui les peut les rendre résistants aux béta-lactamines.

Pseudomonas aeruginosa, *Actinobacillus equuli* et les Entérobactéries, notamment *Escherichia coli, Citrobacter freundi* et *Klebsiella pneumoniae* subsp*. pneumoniae*, sont des bacilles Gram négatifs dont la biophase est le liquide interstitiel, et que l'on trouve à l'état commensal dans l'intestin des animaux. Les *Escherichia coli* entéro-invasives ont une localisation intracellulaire. Les Entérobactéries sont des germes aéro-anaérobies ubiquitaires chez tous les animaux. *Klebsiella pneumoniae* est aussi

une espèce ubiquiste, isolée des eaux de surface, des eaux usées, du sol, du bois, des végétaux, des aliments, mais on la retrouve aussi à l'état commensal sur la peau et les muqueuses (surtout respiratoires). Les métrites à klebsielles sont consécutives à une infection de la jument par du sperme contaminé [17]. *Pseudomonas aeruginosa*, appelé également bacille pyocyanique, est un bacille aérobie strict présent dans le milieu, qui vit à l'état saprophyte dans l'eau et les sols humides, mais également à l'état commensal dans l'intestin de l'homme et des animaux. Elle est plus rarement isolée de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Cette bactérie présente de nombreuses résistances aux antibiotiques. *Actinobacillus equuli,* appartenant à la famille des *Pasteurellaceae*, est aéro-anaérobie, commensal des muqueuses respiratoires, digestives ou génitales des Equidés. Le portage sain est fréquent.

C- Traitements utilisés contre l'endométrite

Le traitement de l'endométrite des juments est essentiel en pratique vétérinaire. Il vise à éliminer les agents infectieux, à favoriser l'involution utérine, à améliorer le tonus utérin et à évacuer les liquides utérins. Des défauts anatomiques, un pneumo-vagin, un uro-vagin, une lacération périnéale ou cervicale constituent des causes déterminant ou favorisant l'endométrite. Elles nécessitent une correction chirurgicale du traumatisme ou du défaut anatomique par vulvoplastie avant d'envisager un traitement médical [1, 47].

1- L'antibiothérapie [1, 7, 19, 21, 25, 35, 36, 44]

L'antibiothérapie est indiquée lors d'endométrite d'origine bactérienne.

a- Choix de la molécule antibiotique

Le tableau 3 présente les antibiotiques potentiellement actifs sur les agents pathogènes impliqués dans les métrites chez la jument. Rappelons que ces germes

sont ubiquitaires et peuvent être des bactéries Gram positif ou des bactéries Gram négatif, dont la biophase est essentiellement le liquide interstitiel.

Tableau 3 : Principaux agents pathogènes en cause lors d'endométrite chez la jument et antibiotiques potentiellement actifs sur ces germes [17].

Bactérie	Antibiotiques actifs
Streptocoques (*Streptococcus equi* subsp*. zooepidemicus*)	pénicilline G, ampicilline, ceftiofur, gentamicine, chloramphénicol, association triméthoprime-sulfamide
Entérobactéries	ceftiofur, gentamicine, colistine, polymixine, marbofloxacine, chloramphénicol
Pseudomonas aeruginosa	gentamicine, colistine, polymixine, marbofloxacine, enrofloxacine, ciprofloxacine,
Pasteurelles	pénicilline G, ampicilline, ceftiofur, gentamicine, polymixine, marbofloxacine, chloramphénicol, association triméthoprime-sulfamide
Corynebacterium	pénicilline G, gentamicine, marbofloxacine, chloramphénicol, association triméthoprime-sulfamide
Staphylocoques	pénicilline G, gentamicine, ampicilline, marbofloxacine, chloramphénicol, association triméthoprime-sulfamide

En première intention, le choix du praticien se portera sur un antibiotique ou une association d'antibiotiques ayant un large spectre. Les antibiotiques actifs sur la plupart des agents infectieux impliqués dans les endométrites et utilisés couramment sont la pénicilline G, la gentamicine, l'association triméthoprime-sulfamide. La marbofloxacine est active sur de nombreux germes en cause, exceptés les Streptocoques. Une analyse bactériologique et un antibiogramme permettent d'orienter le choix de la molécule. L'antibiogramme détermine les antibiotiques actifs sur la souche bactérienne mise en évidence. Toutefois, il doit être interprété avec circonspection : (1) le prélèvement doit être effectué avant tout traitement antibiotique ou antiseptique ; (2) la sensibilité de l'agent pathogène à l'antibiotique est établie par comparaison des CMI (Concentration Minimale Inhibitrice, c'est à dire

la concentration minimale nécessaire pour inhiber la croissance de la souche testée) avec des concentrations sériques obtenues chez l'Homme, qui peuvent être très différentes de celles observées chez l'animal. (3) En outre, cette sensibilité ne tient pas compte de la localisation de la bactérie, qui peut être par exemple moins exposée à l'antibiotique si elle se développe dans un organe peu vascularisé. (4) Enfin, la détermination de la CMI n'est pas standardisée pour toutes les bactéries et n'est pas fiable pour tous les antibiotiques (certains diffusent mal en gélose par exemple). En pratique, les résultats de l'antibiogramme sont surtout déterminants lorsqu'ils mettent en évidence la résistance d'une bactérie.

Il est à noter que l'activité bactéricide ou bactériostatique de la molécule antibiotique sur les agents pathogènes n'est pas le seul critère à prendre en compte dans la mise en œuvre d'un traitement. La diffusion de l'antibiotique sur le site de l'infection est essentielle pour obtenir des concentrations efficaces.

b- Choix de la voie d'administration des antibiotiques

Deux voies peuvent être utilisées pour le traitement de l'endométrite : la voie parentérale et la voie locale *in utero*. Actuellement, la voie la plus couramment utilisée est la voie intra-utérine.

Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de variations de l'efficacité de l'antibiothérapie. L'état physiologique (oestrus/anœstrus) de la jument influe sur la vascularisation locale, le développement et les sécrétions des glandes de l'endomètre. Le contenu luminal (présence ou absence de liquide inflammatoire, de mucus, de débris cellulaires), et l'état inflammatoire de l'endomètre font varier l'activité *in situ* de l'antibiotique et son absorption par les tissus [25].

L'utilisation de la voie parentérale est particulièrement indiquée lors de métrite atteignant les couches profondes de l'utérus. En effet, les concentrations atteintes dans les couches profondes du tractus génital après une administration par voie systémique d'antibiotique sont plus importantes que celles obtenues après une administration locale.

La concentration en antibiotique dans le tractus génital est liée à la concentration plasmatique, elle dépend [7] :

- de la liaison de la molécule aux protéines plasmatiques : la concentration dans le tractus génital augmente quand la liaison aux protéines plasmatiques est faible,
- de la diffusion dans les tissus et de la liposolubilité de la molécule : une bonne liposolubilité permet un meilleur passage à travers les membranes cellulaires,
- du flux sanguin dans le tractus génital : un flux sanguin important permet d'atteindre une concentration tissulaire élevée,

La voie systémique est indiquée lorsque les sécrétions intra-utérines sont constantes et que les lavages utérins sont difficiles. Cette voie permet en outre d'éviter une contamination ou un traumatisme de l'utérus lors de manipulations répétées. Elle est particulièrement adaptée quand des signes généraux sont présents.

La voie locale permet d'atteindre une concentration intra-utérine suffisante avec une dose en général inférieure à celle utilisée par voie parentérale, donc à un coût moindre. En revanche, les concentrations atteintes ne sont pas toujours homogènes dans tout le tractus génital, même si l'antibiotique est absorbé à partir de la lumière utérine [5]. Une administration répétée de l'antibiotique dans l'utérus est nécessaire, ce qui nécessite un nombre important de manipulations et augmente le risque d'une contamination ou d'un traumatisme. Certaines molécules sont irritantes et entraînent des réactions locales importantes, comme la formation d'adhérences intra-utérines ; c'est par exemple le cas pour l'enrofloxacine. En revanche, le traitement intra-utérin de six juments avec 1 g de marbofloxacine diluée dans 1 L d'une solution saline stérile n'a pas donné lieu à des modifications histologiques majeures de l'endomètre. Une réaction inflammatoire de l'endomètre, d'intensité modérée, sans lésion visible de l'épithélium de surface ou des glandes endométriales a été constatée. Il semble donc que la marbofloxacine soit assez bien tolérée localement [22].

c- antibiothérapie par voie parentérale

Les concentrations en antibiotiques atteintes dans le tractus génital, et plus particulièrement dans la lumière et la paroi utérines sont en général proches des concentrations plasmatiques. Une administration systémique, intra-musculaire, de pénicilline G sodique (22 000 à 45 000 UI/kg) a permis d'atteindre des concentrations dans l'endomètre correspondant à 50 à 75% des concentrations plasmatiques chez la jument, ce qui permet d'obtenir une efficacité suffisante contre la plupart des germes sensibles à la pénicilline G [5, 7]. Une administration d'ampicilline (7 mg/kg) par voie intra-veineuse a permis d'atteindre des concentrations tissulaires supérieures ou égales aux concentrations sériques pendant les quatre premières heures [5, 7]. L'utilisation de ticarcilline permet d'atteindre les concentrations efficaces dans les tissus utérins [7]. Le tableau 4 présente le schéma posologique des molécules antibiotiques préconisées dans les infections utérines.

Tableau 4 : Les antibiotiques utilisés par voie parentérale pour traiter l'endométrite chez la jument [25]

Molécule utilisée	Schéma posologique
ampicilline	5 à 10 mg/kg IV BID
pénicilline G procaïne	20 000 UI/kg IM BID
association trimethoprime sulfamide	15 mg/kg de sulfamethoxazole IV BID
sulfate de gentamicine	2 mg/kg IV BID

BID : deux fois par jour ; IV : voie intra veineuse ; IM : voie intra musculaire

L'ampicilline, la pénicilline G, l'association trimethoprime sulfamide, la gentamicine existent sous diverses formulations et ont fait l'objet d'Autorisation de Mise sur le Marché pour les Equidés en France, avec pour indication les affections à germe sensible à ces antibiotiques.

d- antibiothérapie par voie locale

L'antibiothérapie intra-utérine ne devrait être instaurée que lorsque la plupart des liquides ont été évacués, que l'utérus a retrouvé une taille proche de la normale et une tonicité suffisante. Lorsque l'utérus a un tonus réduit et une taille augmentée, les liquides s'accumulent et les antibiotiques sont dilués dans des liquides purulents, ce qui réduit leur efficacité. Par conséquent, des lavages utérins, des traitements hormonaux, des antiseptiques, ou la combinaison de plusieurs de ces méthodes sont réalisés pour favoriser les contractions et la vidange utérines avant d'instaurer une antibiothérapie locale.

Il est possible de traiter les métrites quelle que soit la phase du cycle. Toutefois, l'efficacité du traitement antibiotique est augmentée s'il est instauré au moment de l'œstrus. En effet, l'ouverture du col permet d'obtenir une vidange mécanique efficace et les défenses immunitaires de l'utérus sont plus actives sous imprégnation oestrogénique.

Certains antibiotiques ou antiseptiques sont irritants pour l'endomètre utérin et peuvent induire des réactions locales et entraîner une endométrite chronique

Un volume de 60 mL de liquide est nécessaire pour recouvrir l'ensemble de la surface de l'endomètre d'un utérus normal. En général, les antibiotiques sont dilués dans une solution saline stérile à un volume final d'environ 200 mL. Après une administration intra-utérine, les antibiotiques sont absorbés et passent dans la circulation sanguine, pour être ainsi distribués plus largement [7]. L'administration intra-utérine de pénicilline G sodique a permis d'atteindre un pic de concentration plasmatique en 15 minutes et des concentrations détectables jusqu'à 5 heures après l'administration [7]. Il est à noter également que l'antibiotique peut diffuser par les oviductes vers la cavité péritonéale où il est rapidement résorbé. En effet, l'occlusion des oviductes chez des vaches et des juments a diminué l'absorption de la pénicilline G sodique, après une administration intra-utérine [7]. Après une administration intra-utérine de chloramphénicol, le pic de concentration plasmatique a été atteint en 45 minutes, environ 50 % de la dose a été absorbé depuis l'utérus et retrouvé dans la circulation générale.

De nombreuses molécules antibiotiques sont préconisées par voie intra-utérine et ont fait l'objet de nombreuses études synthétisées dans le tableau 5.

Tableau 5 : Antibiotiques administrés par voie intra-utérine dans le traitement de l'endométrite chez la jument [1, 25, 36]

Molécules utilisées	Dose par infusion	Commentaires
pénicilline G potassique ou sodique	5 millions d'UI	active contre les streptocoques
ampicilline	1 à 3g	précipitation possible à la surface de l'endomètre
ceftiofur	1 à 2g	large spectre
sulfate de gentamicine	0,5 à 2g	tamponner avec du $NaHCO_3$ si volume<200mL, très efficace contre les bactéries Gram négatif.
sulfate de kanamycine	1 à 2g	actif contre la plupart des *Escherichia coli*
sulfate d'amikacine	2g	actif contre les Gram négatifs, *Pseudomonas*, *Klebsiella*
sulfate de néomycine	2 à 4g	actif contre *Escherichia coli*, *Klebsiella*.
polymixine B	0,5 à 1million UI	
amphotéricine B	50mg à 200mg	dilution dans l'eau et non dans une solution saline, en utilisant la solution injectable. Active contre *Candida sp* et les mycoses
carbenicilline	2 à 6g	active contre les *Pseudomonas*
ticarcilline	1 à 6g	active contre la plupart des germes en cause lors d'endométrite, a cependant une activité faible contre *Klebsiella*.
chloramphénicol	2 à 3g	solution orale diluée dans une solution saline, peut précipiter et est irritante pour la muqueuse utérine
association triméthoprime-sulfamide	120mg	

Il existe seulement trois formulations intra-utérine disposant d'une Autorisation de Mise sur le Marché pour Equidés. Il s'agit d'oblets gynécologiques de chlortétracycline (CENTRAUREO®), de tétracycline (OBLETS GYNECOLOGIQUES COOPHAVET®), de l'association chlortétracycline nystatine (GYNOBIOTIC®). Pour avoir accès à d'autres molécules antibiotiques, les praticiens préparent une solution intra-utérine à partir de formulations injectables, d'oblets, ou utilisent des pommades et suspensions ayant obtenu une AMM chez les Bovins. La durée du traitement est en général de quatre à dix jours avec des administrations quotidiennes, elle est adaptée en fonction de la sévérité de l'affection et de l'évolution.

Pour les solutions intrautérines préparées à partir des formulations injectables, le caractère irritant des excipients est le plus souvent évalué à l'aune de l'expérience du praticien, ce qui n'est pas satisfaisant d'un point de vue thérapeutique. La pénicilline sodique (PENICILLINE G SARBACH®), l'ampicilline (AMPICILINE SODIQUE 5G®), la gentamicine (G4®, FORTICINE 4% ®, SEPTIGEN 40®), l'amikacine (AMIKLIN 1G ®), le sulfate de kanamycine (KANACILLINE®), ou encore le ceftiofur (EXCENEL®) sont les molécules les plus utilisées dans ce cadre.

2- Les lavages utérins [36, 47]

Le lavage utérin permet :

- d'éliminer les sécrétions, les exsudats inflammatoires et les agents pathogènes,
- de stimuler les contractions utérines et le débit circulatoire, et donc l'arrivée de nouveaux polynucléaires circulants,
- de visualiser le contenu utérin recueilli.

1 à 2 L de liquide physiologique chauffé à 40-45°C sont infusés progressivement dans l'utérus de la jument, après une désinfection de la région vulvaire, la vidange est ensuite réalisée par gravité. L'opération est répétée jusqu'au recueil d'un liquide transparent (après trois ou quatre lavages successifs). Le lavage est répété quotidiennement jusqu'à l'obtention d'un liquide clair. Une antibiothérapie locale peut être instaurée à ce stade.

3-

irritantes peuvent être utilisées afin d'induire une forte réaction inflammatoire de l'endomètre, dans le but de réduire la taille de l'utérus, d'augmenter le tonus utérin et de diminuer la viscosité des sécrétions. Cette méthode doit être utilisée avec beaucoup de prudence car l'infusion de substances irritantes dans l'utérus peut aboutir à la nécrose, à la fibrose de l'endomètre, du col et du vagin et à une stérilité.

Il est aussi possible de réaliser les lavages avec un antiseptique dilué comme la povidone iodée (Vétédine solution® : 10%). Cette molécule est intéressante pour ses propriétés bactéricides, anti-fongiques et irritantes. Cependant, certaines juments présentent une hypersensibilité à la povidone iodée. L'utilisation de la chlorhexidine, même très diluée, est déconseillée car celle-ci cause des réactions sévères et des adhésions utérines irréversibles.

5- Contrôle de l'efficacité du traitement [47]

L'efficacité du traitement est contrôlée deux semaines après la dernière administration. L'utérus doit avoir retrouvé une taille et une tonicité normales, il ne doit plus contenir de liquide ni de bactéries. Un délai de trente jours après une thérapie utérine est nécessaire pour un contrôle bactériologique. Il faut toujours garder à l'esprit qu'il n'existe pas de traitement standard des infections utérines, et que le choix thérapeutique dépend de l'anamnèse, de l'examen clinique approfondi de la jument et de l'expérience du praticien.

DEUXIEME PARTIE :

La marbofloxacine : données pharmacologiques.

DEUXIEME PARTIE : LA MARBOFLOXACINE, DONNEES PHARMACOLOGIQUES

A- Particularités structurales de la marbofloxacine en relation avec la fonction.

Les premières quinolones ont été décrites en 1949 par Barton et al., qui ont breveté environ 80 molécules de cette famille chimique. Les quinolones sont des composés organiques de synthèse, dérivés ou isostères de la quinoléine-4-one. La classification des quinolones en trois générations correspond à la chronologie de leur découverte et de leur commercialisation. La première génération comprend deux composés majeurs : l'acide nalixidique et l'acide oxolinique. Avec la deuxième génération, dont le chef de file est la fluméquine, des dérivés fluorés apparaissent et on parle alors de fluoroquinolones. La troisième génération est également constituée de dérivés fluorés.

La marbofloxacine est une quinolone de troisième génération, ou fluoroquinolone, qui a été développée pour un usage exclusivement vétérinaire. La formule brute de la marbofloxacine est : C17H19FN4O4. Son nom chimique est : acide 9-fluoro-2,3-dihydro-3-méthyl-10-(4-méthyl-1-pipérazinyl)-7-oxo-7H-pyridol[3,2,1-ij](4,1,2) benzoxadiazine-6-carboxylique. La figure 1 présente sa structure chimique en relation avec les fonctions des différents groupes d'atomes.

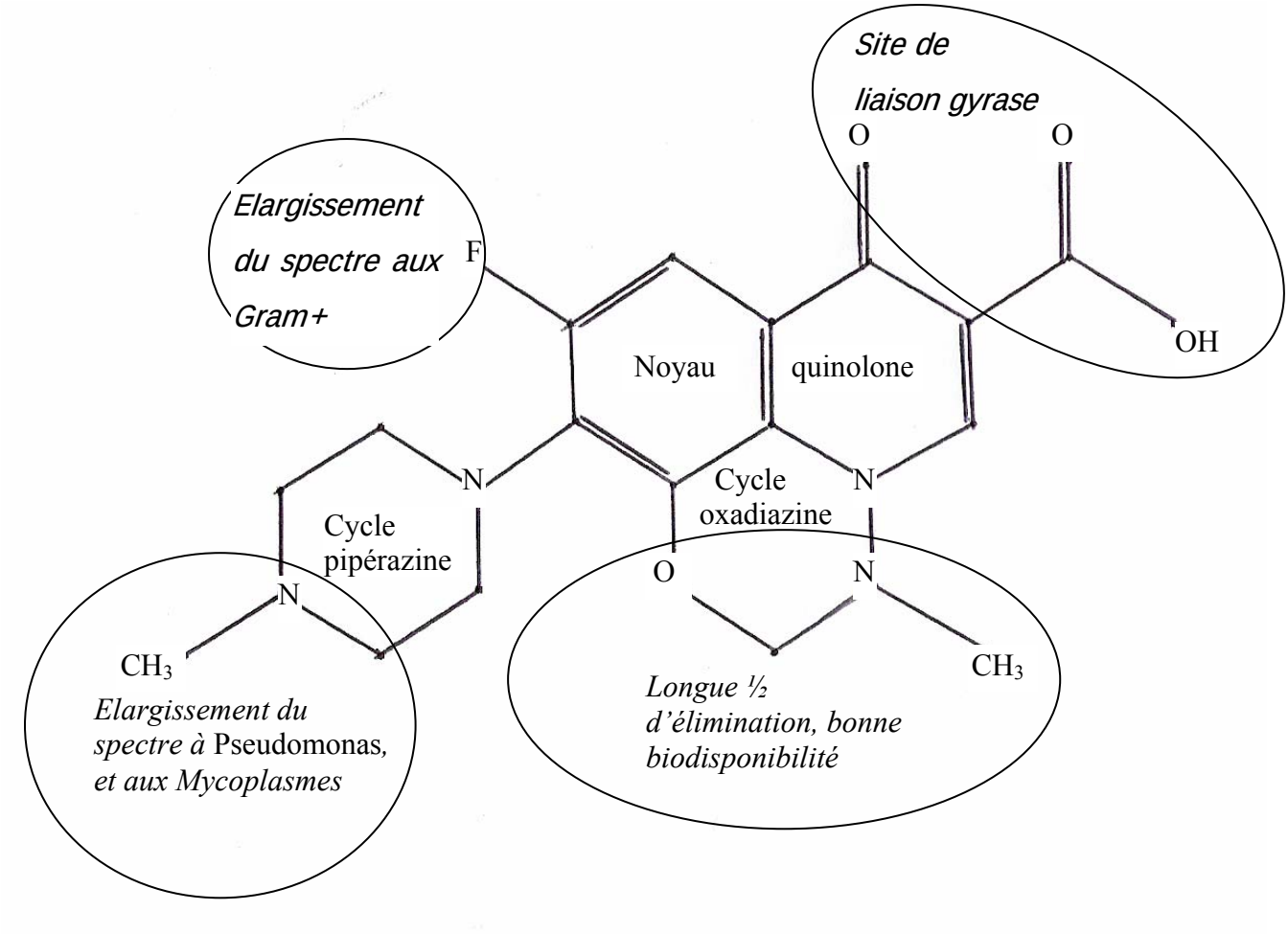


Figure 2 : Structure chimique de la marbofloxacine

La marbofloxacine possède une structure plane, ce qui lui permet de s'insérer entre les chaînes d'ADN. Les groupements carboxyliques et carbonyle permettent la fixation de la molécule sur le complexe ADNgyrase de la bactérie. Le noyau quinolone (pyridone-β-carboxylique) lui confère une activité antibactérienne dirigée contre les bactéries Gram négatif. L'atome de fluor renforce l'activité antibactérienne et étend le spectre des fluoroquinolones aux bactéries Gram positif. Le cycle pipérazine porté par le noyau quinolone étend le spectre aux Mycoplasmes et aux *Pseudomonas*.

Le cycle oxadiazine confère à la molécule une demi-vie d'élimination prolongée, ainsi qu'une bonne biodisponibilité [8].

B- Propriétés physico-chimiques.

1- Caractéristiques et solubilité

La marbofloxacine est une poudre jaune pâle, de masse molaire 362,36 Da, légèrement soluble dans l'eau, soluble dans le chloroforme, le méthanol et l'éthanol. Elle présente une légère instabilité à la lumière. Elle possède une bonne liposolubilité par rapport à d'autres fluoroquinolones grâce à la présence du groupement alkyle sur le cycle pipérazine.

2- Propriétés acido-basiques

La marbofloxacine possède un caractère amphotère qui lui permet d'être soluble à la fois dans les solutions acides et basiques (pKa=5,7 ; pKb=8). Le caractère acide faible est conféré par le groupe acide carboxylique en C6, alors que le caractère base faible est donné par le cycle pipérazine. Le pH isoélectrique des fluoroquinolones, c'est à dire le pH auquel les molécules ne sont pas ionisées, est compris entre 6,8 et 7,5. La marbofloxacine se trouve donc à un niveau d'ionisation minimal au pH physiologique qui est de 7,4. Ceci augmente sa liposolubilité et par conséquent favorise sa diffusion tissulaire.

En résumé, la marbofloxacine est une molécule peu hydrosoluble, amphotère, liposoluble, peu ionisée *in vivo*.

C- Propriétés pharmacocinétiques

La pharmacocinétique permet de décrire et de prédire les profils de concentrations en médicament dans les fluides biologiques [49]. On étudie quatre paramètres : la résorption, la distribution, les bio-transformations ou métabolisation et l'élimination.

1- Résorption

La résorption est l'étape initiale au cours de laquelle la marbofloxacine pénètre dans la circulation générale à partir du lieu d'administration. La résorption de la marbofloxacine est importante quelle que soit la voie d'administration. Par conséquent, la biodisponibilité qui correspond au rapport entre l'aire sous la courbe (AUC) des concentrations plasmatiques obtenues avec la voie d'administration utilisée et l'AUC obtenue avec la voie intra-veineuse, est élevée. De plus, la résorption est rapide : le temps correspondant à la concentration plasmatique est maximale (Tmax) est faible. La concentration plasmatique maximale (Cmax) reflète la quantité de principe actif absorbé. Le tableau 6 présente les valeurs de la biodisponibilité, de Tmax et de Cmax après une administration de 2 mg/kg chez le cheval.

Tableau 6 : Paramètres pharmacocinétiques de la marbofloxacine, après une administration de 2 mg/kg, chez le cheval [6,10].

	Voie sous-cutanée	Voie intra-musculaire	Voie orale
biodisponibilité	97,6 ± 11,3 %	87,9 ± 6,0 %	62,4 ± 8,12 %
Tmax	0,72 ± 0,31 h	0,95 ± 0,37 h	0,58 ± 0,20 h
Cmax	1,07 ± 0,30 µg/mL	1,42 ± 0,33 µg/mL	0,89 ± 0,14 µg/mL

La biodisponibilité absolue de la marbofloxacine varie de 62 à 98 % selon la voie d'administration.

2- Distribution

La marbofloxacine présente un caractère amphotère, ce qui lui permet de passer à travers les membranes cellulaires et de se répartir dans les milieux extra et intra-cellulaires. De plus, elle est liposoluble et peu liée aux protéines plasmatiques : elle possède donc un très bon pouvoir de diffusion dans les tissus [4]. Le critère de diffusion tissulaire globale est le volume de distribution à l'équilibre (Vss) d'une

molécule. Le Vss de la marbofloxacine chez le cheval est élevé et varie entre 1,48 ± 0,30 L/kg [6] et 1,17 ± 0,18 L/kg [10]. Au niveau des différents organes, la diffusion est évaluée par le rapport entre les concentrations tissulaires et plasmatiques. Un rapport supérieur à 1 indique une bonne diffusion dans les tissus étudiés. Ce rapport sera évalué pour l'endomètre utérin dans notre essai clinique.

3- Biotransformation ou métabolisation

Les biotransformations hépatiques aboutissent essentiellement à la formation de deux métabolites : la marbofloxacine N-oxyde et la déméthyl-marbofloxacine. Moins de 5 % de la dose de marbofloxacine administrée est ainsi transformée. La déméthyl-marbofloxacine présente une activité antibactérienne équivalente au dixième du produit parental. La marbofloxacine est faiblement conjuguée au niveau du foie.

4- Elimination

La marbofloxacine est essentiellement éliminée sous forme active, 2/3 par voie urinaire et 1/3 par voie fécale, dans la plupart des espèces animales. Le temps de demi-vie d'élimination de la marbofloxacine est long : 7,6 h ; 10,4 h ; 8,8 h, respectivement après une administration intra-veineuse, sous-cutanée, ou orale. La clairance plasmatique (fraction de plasma épurée de l'analyte en fonction du temps) renseigne sur l'élimination, elle est de 0,25 L/kg/h, soit 4,25 mL/kg/min, ce qui représente 10 % du débit cardiaque d'un cheval. Cette valeur relativement basse reflète la faible capacité du cheval à éliminer la marbofloxacine [6].

D- Propriétés pharmacodynamiques

Les propriétés pharmacodynamiques d'un antibiotique sont définies par les paramètres qui déterminent le mécanisme d'action de la molécule, la sensibilité des bactéries aux antibiotiques [49], les concentrations minimales inhibitrices et l'effet post-antibiotique.

1- Mécanisme d'action

La marbofloxacine agit directement sur le génome bactérien. Pour cela, elle pénètre dans la bactérie par simple diffusion. Sa cible est une topo-isomérase type II : l'ADN gyrase. Cette enzyme bactérienne permet le sur-enroulement de l'ADN, et donc sa condensation, nécessaire pour qu'une cellule de quelques micromètres puisse contenir une molécule d'ADN d'un millier de micromètres ou plus. La fixation des molécules de marbofloxacine au niveau de la sous-unité A de l'ADN gyrase va inhiber de façon irréversible et spécifique le sur-enroulement de l'ADN, conduisant à la mort bactérienne selon deux mécanismes différents. Un premier mécanisme commun à toutes les quinolones, sur les bactéries en phase de multiplication, implique une inhibition de la réplication cellulaire et un blocage de la respiration. Un second mécanisme décrit uniquement pour les fluoroquinolones, ne nécessite ni division cellulaire ni synthèse protéique. Ce mécanisme permet une vitesse de bactéricidie beaucoup plus rapide et correspond à une action dose-dépendante.

Ainsi, les bactéries sont détruites par filamentation, ce mécanisme respecte l'intégrité de la paroi bactérienne et limite la dispersion d'éventuelles toxines.

Le spectre d'action de la marbofloxacine est très étendu. Les bactéries Gram positif et Gram négatif sont sensibles à la marbofloxacine, ainsi que les Mycoplasmes. Les *Pseudomonas* présentent également une sensibilité à la marbofloxacine, mais à des concentrations plus élevées.

2- Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI)

Pour déterminer la CMI, le germe est exposé dans des conditions standards de culture à différentes concentrations en antibiotique et la croissance des bactéries est évaluée *in vitro*. La CMI est la plus petite concentration d'antibiotique capable, *in vitro*, d'inhiber la croissance bactérienne pendant 24 heures (inoculum 5.10^6/mL). Pour un germe donné, la CMI_{50} est la concentration minimale en antibiotique nécessaire pour inhiber à 50 % la croissance des souches testées. La CMI_{90} est la concentration minimale en antibiotique nécessaire pour inhiber à 90 % la croissance des souches testées. La CMI_{90} constitue le critère le plus pertinent et le plus exigeant pour évaluer l'efficacité de la molécule.

D'une façon générale, les CMI de la marbofloxacine sont faibles pour les pathogènes majeurs isolés lors d'infection utérine. La marbofloxacine ne présente pas d'activité sur les germes anaérobies et son action antibactérienne est limitée contre les streptocoques. Une étude sur la sensibilité à la marbofloxacine de souches pathogènes isolées chez des Carnivores domestiques au cours d'une période de sept ans n'a pas montré de développement de résistance à cet antibiotique [31].

3- Cinétique de bactéricidie

La marbofloxacine est un antibiotique concentration-dépendant vis à vis des bactéries Gram négatif et temps-dépendant vis à vis des bactéries Gram positif.

- les antibiotiques temps-dépendants ont une activité qui dépend du temps d'exposition, c'est-à-dire du temps de contact avec le germe. L'augmentation des doses a peu d'influence sur leur action bactéricide à condition que la concentration soit supérieure au seuil d'efficacité.
- un antibiotique concentration-dépendant doit être présent en concentration supérieure à un seuil pour agir, son action est d'autant plus forte que la concentration augmente. La vitesse de bactéricidie est si rapide à de fortes concentrations que la durée d'exposition du germe n'a pas d'influence sur la réduction de l'inoculum bactérien.

Le schéma posologique de la marbofloxacine doit donc remplir les exigences pharmacodynamiques d'un antibiotique à la fois temps et concentration dépendant. Lors de l'administration, un pic de concentration plasmatique élevé doit être atteint pour éliminer les bactéries Gram négatif, puis la concentration plasmatique en marbofloxacine doit rester suffisamment élevée, au-dessus des CMI des germes Gram positif ciblés, pendant la durée du traitement.

4- L'Effet Post-Antibiotique (EPA)

L'EPA, appelé aussi bactériopause, est la période de temps pendant laquelle le germe ne présente aucune croissance alors que l'antibiotique a été enlevé du milieu. Un effet post-antibiotique de longue durée se caractérise par une absence de croissance bactérienne alors que les concentrations en antibiotiques sont inférieures aux CMI.

Les molécules, comme la marbofloxacine, qui se fixent sur les structures cellulaires bactériennes inhibant ainsi la synthèse des protéines, de l'ADN ou de l'ARN induisent un EPA contre la plupart des bactéries. L'EPA représente le temps nécessaire aux micro-organismes pour réparer leur cellule, ou pour que l'antibiotique se dissocie de ses récepteurs. L'amplitude de l'EPA est corrélée à la durée de contact entre l'antibiotique et la bactérie et à la concentration en antibiotique lors de la phase d'imprégnation. Plus l'exposition à l'antibiotique est forte, plus les dommages cellulaires causés à la bactérie sont grands et plus le temps de récupération et par conséquent l'EPA sera long. On considère que les fluoroquinolones possèdent un EPA long contre les bactéries Gram négatif et contre certaines bactéries Gram positif. En conséquence, le schéma thérapeutique optimal repose sur des doses importantes d'antibiotique administrées avec des intervalles de temps relativement espacés. Par exemple, l'EPA de la marbofloxacine sur une souche de *Staphylococcus aureus* isolée sur un chat atteint de pyodermite, après une exposition correspondant à deux fois la CMI de ce germe est de 0,7 heure, il est de 1,7 heures après une exposition correspondant à 4 fois la CMI. L'EPA de la marbofloxacine sur une souche d'*Escherichia coli*, isolée lors d'une infection urinaire chez un chien, est de 0,9 heure

après une exposition correspondant à deux fois la CMI de ce germe, il est de 1,7 heures après une exposition correspondant à 4 fois la CMI [46].

Compte tenu du fait que la marbofloxacine a une action concentration dépendante et un effet post-antibiotique long sur les bactéries à Gram négatif, une dose de 2 mg/kg toutes les 24 h permet d'avoir un profil de concentrations plasmatiques adéquat chez le cheval [10]. La dose de 2 mg/kg toutes les 24 heures par voie intraveineuse, sous-cutanée ou orale serait adaptée pour traiter les infections dues à des bactéries dont la CMI est d'environ 0,03 µg/L, et pourrait être efficace pour traiter des infections dues à des bactéries avec des CMI de 0,2 µg/mL [6].

En résumé, la marbofloxacine est une fluoroquinolone de troisième génération, liposoluble, amphotère, qui présente une biodisponibilité élevée, et qui diffuse bien dans les organes. C'est un antibiotique bactéricide à large spectre caractérisé par des CMI basses et un effet post-antibiotique prolongé. Elle présente une action concentration-dépendante vis à vis des bactéries Gram négatif et temps-dépendante vis à vis des bactéries Gram positif.

TROISIEME PARTIE :

Essai clinique

TROISIEME PARTIE : ESSAI CLINIQUE

L'objectif de l'essai clinique était d'évaluer le passage de la marbofloxacine à travers la barrière utérine en mesurant les concentrations dans le plasma et dans l'endomètre, après une administration intra-veineuse unique de marbofloxacine chez la jument. L'étude expérimentale a été réalisée dans le cadre de l'UMR 181 INRA/ENVT de Toxicologie et de Physiopathologie Expérimentales. Elle a été financée par Vétoquinol (Lure, France).

A- Matériels et méthodes

1- Animaux

Cette étude a été menée sur six juments de selle hébergées au Club Hippique de l'ENVT. Les femelles pesaient en moyenne 519,8 ± 31,8 kg (étendue 489-564 kg). Elles étaient cyclées, leurs cycles ont été contrôlés avec du cloprosténol, un analogue de la prostaglandine F2α. Le tableau 7 présente les caractéristiques des six juments incluses dans l'essai clinique.

Tableau 7 : Caractéristiques des six juments incluses dans l'essai clinique.

Noms des chevaux	Age	Poids (kg)	Race
Utica	19 ans	564	Selle français
Chestnut	12 ans	491	Cheval de selle
Cavale	15 ans	489	Anglo-arabe
Isis	ND	550	Cheval de selle
Nora	ND	500	Cheval de selle
Véga	ND	525	Cheval de selle

ND : Non Déterminé

Elles ont été hébergées au Club Hippique de l'ENVT, soit dans des paddocks extérieurs, soit en box, pendant toute la durée de l'expérience.

Les juments étaient nourries avec des granulés complets (Purina Legend, Pommevic, France) à raison d'1 kg/100 kg PV. La ration était distribuée en deux fois, matin et soir, pour les juments à l'extérieur, et en trois fois, matin, midi et soir pour les juments en box. Les juments avaient à leur disposition de la paille à volonté.

Aucune période d'acclimatation n'a été observée dans cet essai clinique.

Les juments n'ont pas reçu de traitement dans le mois précédent et pendant toute la durée de l'essai, excepté ceux prévus dans le cadre du protocole.

L'essai n'a pas été mené de façon formelle selon les règles de Bonnes Pratiques de Laboratoire, mais les règles générales de la démarche qualité de l'UMR181 ont été suivies.

2- Procédure expérimentale

Les cycles oestraux des juments ont été contrôlés avec des analogues de PGF2α. Le protocole a comporté deux administrations de 250 µg de cloprosténol (Estrumate®, Schering Plough Vétérinaire, Levallois Perret, France) par voie intra-musculaire à quatorze jours d'intervalle.

Les juments ont été pesées avant l'essai afin de déterminer la dose exacte de marbofloxacine à administrer (cf tableau 7). Une biopsie utérine ainsi qu'un prélèvement de sang contrôles ont été réalisés avant l'essai. Une sédation préalable des 6 juments avec 26 mg *in toto* de romifidine (Sedivet®, Boehringer Ingelheim, Reims, France) administrée par voie intraveineuse a été réalisée environ 5 minutes avant les prélèvements contrôles. Les prélèvements sanguins et les biopsies utérines contrôles ont été réalisés le 18 juillet 2005, c'est-à-dire la veille de l'administration de marbofloxacine pour 4 juments (Utica, Cavale, Isis et Chestnut) et 9 jours avant l'administration pour 2 juments (Nora et Véga).

L'administration de marbofloxacine a été réalisée 13 à 14 jours après la deuxième injection de PGF2α, correspondant à la phase lutéale. Utica, Cavale, Isis et Chestnut ont ainsi reçu l'administration de marbofloxacine le 19 juillet 2005, tandis que Nora et Véga l'ont reçue le 27 juillet 2005. L'administration intraveineuse de 2 mg/kg PV

de marbofloxacine (Marbocyl®, Vétoquinol, Lure, France) dans la veine jugulaire gauche a été réalisée via un cathéter (Vygon®) placé dans la veine jugulaire juste avant l'administration. Des prélèvements sanguins et des biopsies utérines ont été réalisés 2, 6 et 24 heures après l'administration.

Tableau 8 : Calendrier de l'essai clinique.

date	Actes effectués
20/06/2005	Première administration de cloprosténol à Chestnut, Utica, Cavale et Isis
04/07/2005	Deuxième administration de cloprosténol à Chestnut, Utica, Cavale et Isis
	Première administration de cloprosténol à Nora et Véga
18/07/2005	Deuxième administration de cloprosténol à Nora et Véga
	Pesée, prélèvement sanguin et biopsie utérine de toutes les juments
19/07/2005	Administration de marbofloxacine à Chestnut, Utica, Cavale et Isis
	Prélèvements sur Chestnut, Utica, Cavale et Isis 2 h et 6 h après l'administration de marbofloxacine
20/07/2005	Prélèvements sur Chestnut, Utica, Cavale et Isis 24 h après l'administration de marbofloxacine
27/07/2005	Administration de marbofloxacine à Nora et Véga
	Prélèvements sur Nora et Véga 2 h et 6 h après l'administration de marbofloxacine
28/07/2005	Prélèvements sur Nora et Véga 24 h après l'administration de marbofloxacine

3- Les prélèvements sanguins et utérins et leur traitement

Les prélèvements sanguins et utérins ont été placés dans la glace jusqu'au traitement des échantillons. Les biopsies utérines ont été pesées (double pesée des tubes eppendorfs de 1.5 mL) dans les 60 minutes qui ont suivi les prélèvements et immédiatement congelées à –20°C jusqu'au moment de la réalisation du dosage.

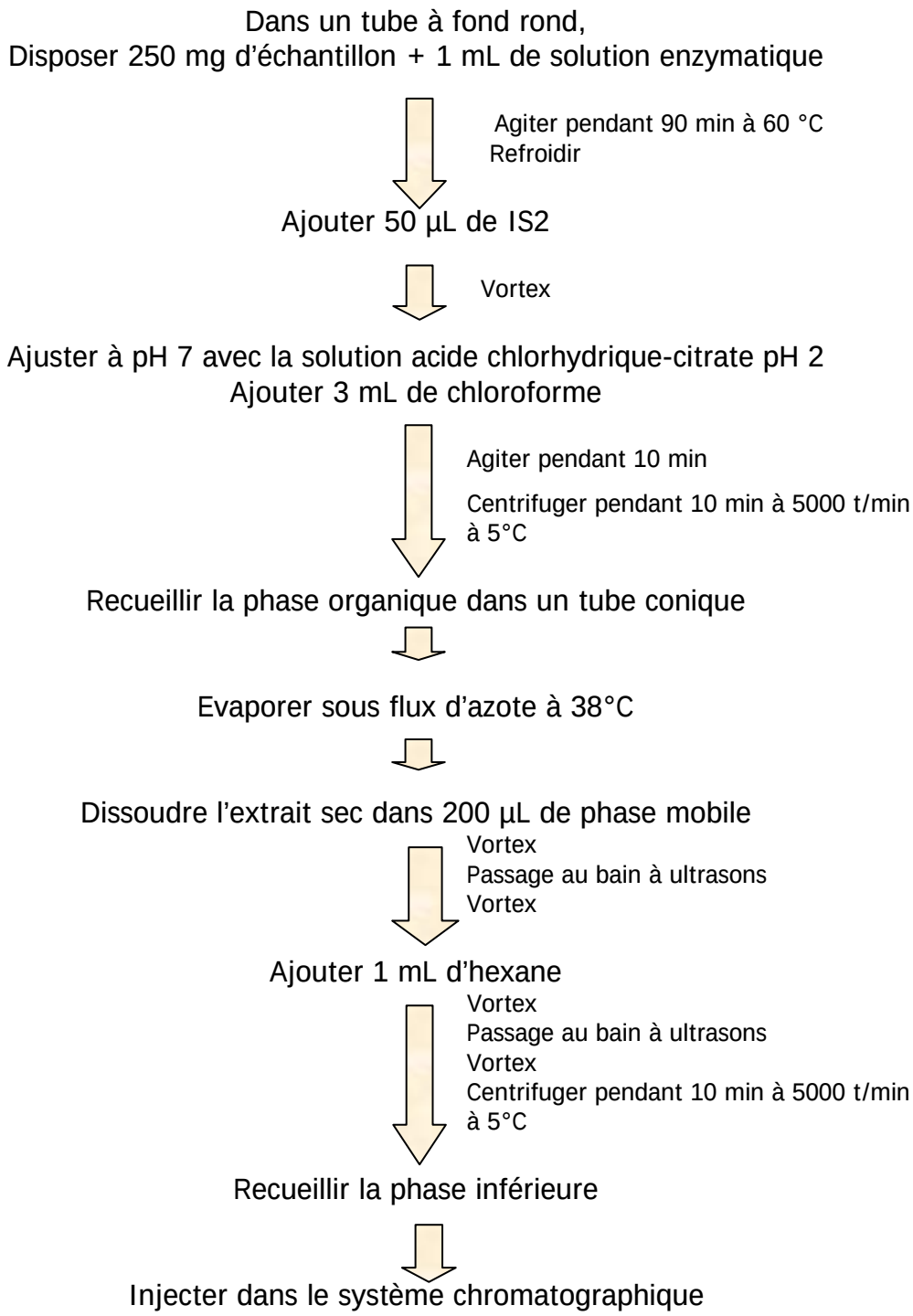
Un volume de 10 mL de sang a été recueilli dans 2 tubes polypropylènes de 5 mL contenant de l'héparinate de lithium et centrifugé à 3000 g pendant 10 minutes dans les 60 minutes qui ont suivi le prélèvement. Le plasma a été réparti en 3 fractions aliquotes d'au moins 1.5 mL dans des tubes polypropylènes de 3 mL et conservés à -20°C jusqu'à la réalisation du dosage.

4- Dosage de la marbofloxacine

Les concentrations plasmatiques de marbofloxacine ont été déterminées par la méthode de chromatographie liquide haute performance (HPLC : High Performance Liquid Chromatography) validée, décrite par Schneider et col. en 1996.

Les concentrations de marbofloxacine dans les échantillons d'endomètre ont été déterminées par une méthode HPLC en phase inverse couplée à une détection par fluorescence. Le détecteur de fluorescence était réglé à 295 nm (excitation) et à 500 nm (émission). Les échantillons ont fait l'objet de différents traitements : (1) une réaction enzymatique pour faciliter la dissociation mécanique, (2) une extraction de la marbofloxacine des échantillons dans le chloroforme et (3) une concentration des échantillons après évaporation du chloroforme. La solution enzymatique est constituée de 20 mg de protéase dissoute dans 20 mL d'une solution soude - acide borique, pH 9,3. La réaction enzymatique est initiée en ajoutant 1 mL de la solution enzymatique à 250 mg d'échantillon. L'extraction de la marbofloxacine est réalisée selon le schéma décrit sur la figure 3.

Figure 3 : Méthode d'extraction de la marbofloxacine dans les biopsies utérines : extraction liquide-liquide, après réaction enzymatique



IS2 est une solution de 1 µg/mL d'ofloxacine tamponnée à pH 7 et utilisée comme étalon interne.

La gamme étalon est réalisée sur des échantillons de muscle de cheval témoin, supplémentés en marbofloxacine.

Le dosage de la marbofloxacine est réalisé sur 50 µL de l'échantillon traité. La phase stationnaire est constituée d'octadécylsilane (C18). La phase mobile est constituée d'une solution tampon pH 2,7 d'hydrogénophosphate de di-ammonium et d'hydrogénophosphate de tétra-n-butylammonium (86,5 % du volume total), de méthanol (13 %), d'acétonitrile (2 %), d'acide acétique (1 %) contenant 20mM de triéthylamine. Elle est injectée par une pompe isocratique à un débit constant de 1 mL/min.

La limite de quantification (LOQ) de la marbofloxacine était de 10 ng/mL pour le plasma et de 5 ng/g pour l'endomètre.

5- Analyse des résultats

Les concentrations moyennes (et les écart-types) de marbofloxacine dans l'endomètre utérin et dans le plasma ont été calculées 2 h, 6 h et 24 h après l'administration de marbofloxacine.

La relation entre les concentrations de marbofloxacine dans l'utérus et le plasma a été analysée.

Les concentrations utérines ont été comparées aux concentrations plasmatiques avec une analyse de variance, selon le modèle décrit par l'équation suivante :

$Y_{i,j} = \mu + A_i + B_j + A_i \times B_j + \varepsilon$

$Y_{i,j}$ est la concentration de marbofloxacine

μ est la moyenne générale,

A_i l'effet du tissu,

B_j l'effet temps,

$A_i \times B_j$ l'effet de l'interaction entre le tissu et le temps,

et ε l'erreur résiduelle.

Une analyse par paire, avec une correction de Bonferroni, a été réalisée pour comparer à chaque temps post-administration les concentrations de marbofloxacine dans les deux tissus.

B- Résultats

Aucun signe clinique n'a été observé sur les juments dans les semaines qui ont suivi les prélèvements utérins.

Les poids des biopsies utérines sont présentés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Poids des biopsies utérines réalisées avant, 2 h, 6 h et 24 h après une administration intra-veineuse de marbofloxacine, pour les six juments de l'expérience.

	Poids des biopsies en mg					
Temps	Utica	Cavale	Isis	Chestnut	Nora	Véga
T0	372,5	351,4	267,1	333,0	258,7	244,4
2 h	182,5	295,3	375,2	447,7	533,3	304,2
6 h	265,1	339,2	334,3	350,2	258,2	384,1
24 h	201,9	311,7	229,3	390,9	606,0	236,8

Le poids des biopsies utérines est relativement homogène, en moyenne de 328,0 ± 99 mg (rang 182.5- 606 mg).

Les concentrations plasmatiques et utérines de marbofloxacine mesurées avant, 2 h, 6 h et 24 heures après l'administration intra-veineuse de marbofloxacine sont présentées dans les tableaux 10 et 11.

Tableau 10 : Concentrations plasmatiques en marbofloxacine, mesurées avant, 2 h, 6 h et 24 h après une administration intra-veineuse de marbofloxacine à la dose de 2 mg/kg PV à six juments.

	Concentrations plasmatiques de marbofloxacine en ng/mL							
Temps	Cavale	Chestnut	Isis	Nora	Utica	Véga	moyenne	Ecart-type
T0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ		
2 h	993,7	983,0	1048	768,4	1034	795,7	937,1	122,8
6 h	394,0	388,7	312,2	205,1	427,1	187,1	319,0	102,6
24 h	27,44	28,31	20,94	11,31	24,71	9,302	20,3	8,2

Les moyennes (± écart type) des concentrations plasmatiques en marbofloxacine sont respectivement de 937,1 ± 123 ng/mL, de 319 ± 103 ng/mL, de 20,3 ± 8,2 ng/mL, 2 h, 6 h et 24 h après l'administration de marbofloxacine.

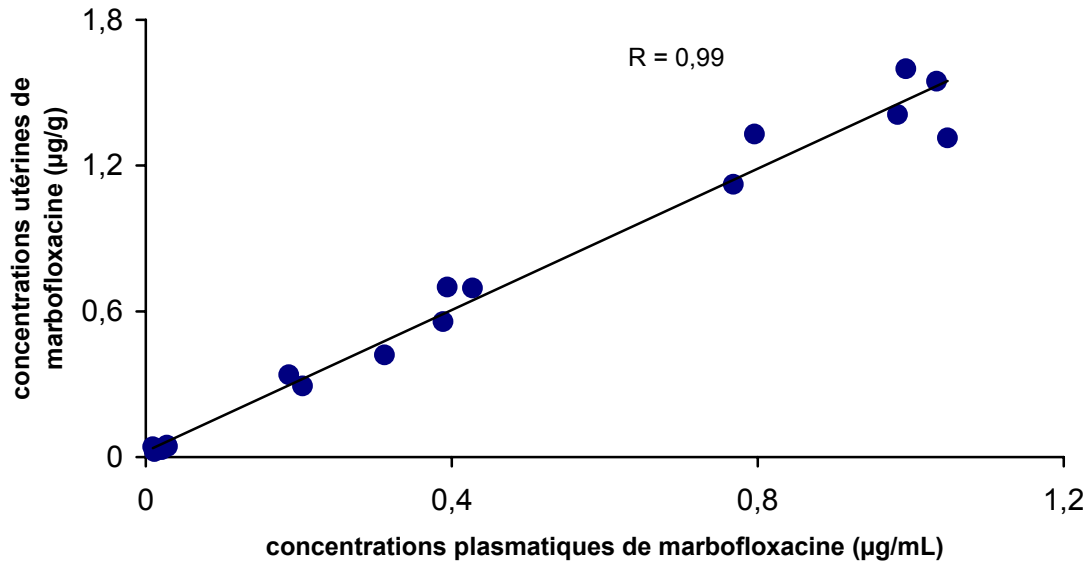
Tableau 11: Concentrations en marbofloxacine dans l'endomètre des juments, mesurées avant, 2 h, 6 h et 24 h après une administration intra-veineuse de marbofloxacine à la dose de 2 mg/kg PV à six juments.

	Concentrations utérines en marbofloxacine, en ng/g							
Temps	Cavale	Chestnut	Isis	Nora	Utica	Véga	moyenne	Ecart-type
T0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ		
2 h	1599	1410	1314	1123	1547	1329	1387,0	172,9
6 h	699,6	558,0	420,4	293,0	696,3	339,2	501,1	177,1
24 h	48,59	43,56	30,19	22,00	41,23	42,52	38,0	9,9

Les moyennes des concentrations utérines en marbofloxacine sont respectivement de 1387 ± 173 ng/mL, de 501 ± 177 ng/mL, de 38 ± 9,9 ng/mL, 2 h, 6 h et 24 h après l'administration de marbofloxacine.

Il existe une relation linéaire entre les concentrations plasmatiques et les concentrations utérines (coefficient de corrélation = 0,99 ; $p<0,001$; figure 4).

Figure 4 : Relation entre les concentrations utérines et plasmatiques de marbofloxacine chez 6 juments prélevées 2 h, 6 h et 24 heures après une administration intraveineuse de 2 mg/kg PV de marbofloxacine.



La figure 5 présente les évolutions temporelles des concentrations plasmatiques et utérines en marbofloxacine, pour chacune des juments.

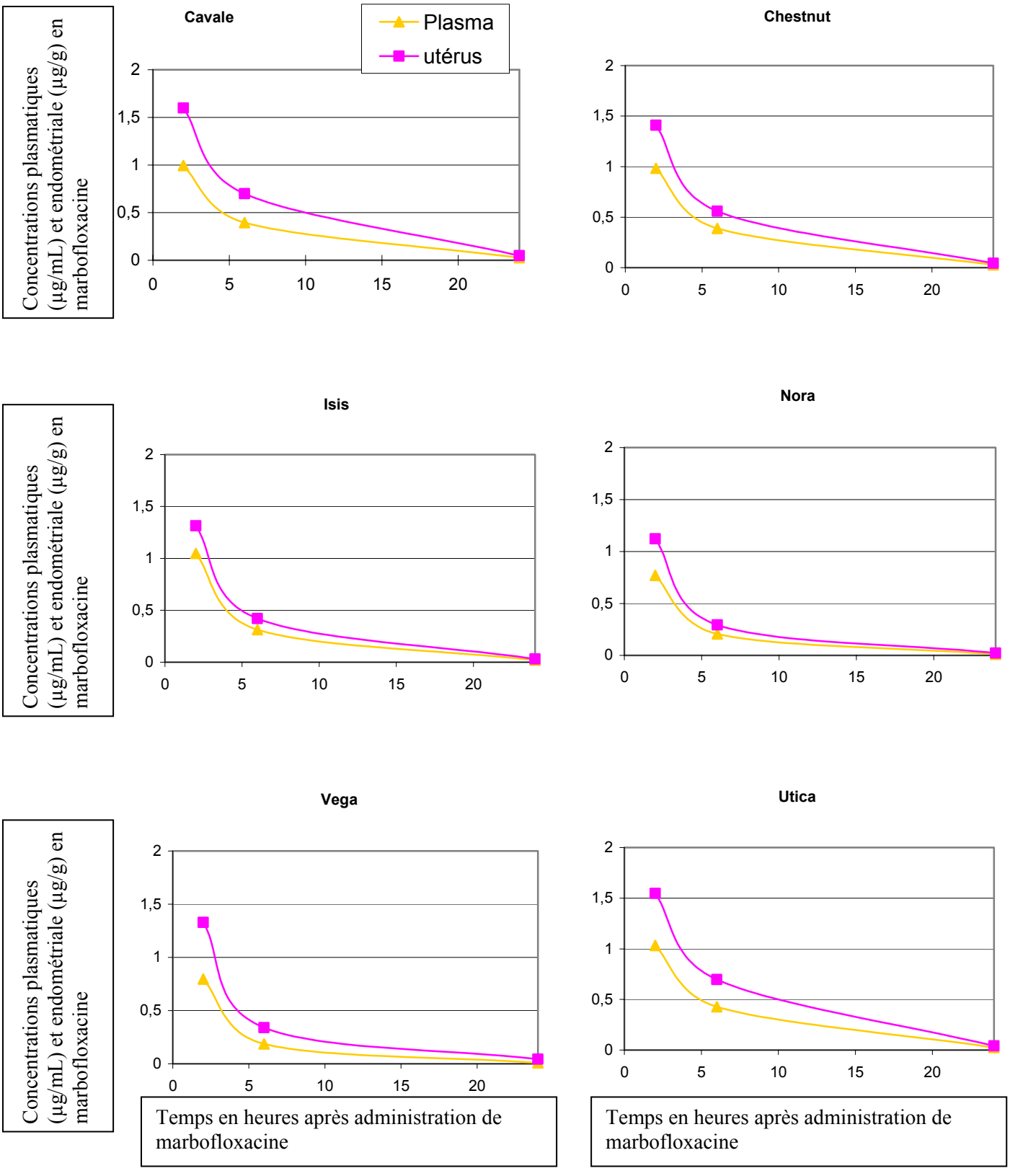


Figure 5 : Evolution temporelle des concentrations en marbofloxacine dans le plasma et dans l'endomètre, après une administration intra-veineuse de marbofloxacine à la dose de 2 mg/kg PV à six juments.

Dans notre schéma expérimental, les concentrations en marbofloxacine sont maximales dans le plasma et dans l'utérus à T = 2 heures. Dans l'endomètre, elles restent supérieures à 22 ng/g 24 h après l'administration.

L'analyse de variance met en évidence un effet temps post-administration ($p<0,001$), un effet tissu ($p<0,001$), et un effet de l'interaction entre le temps et le tissu ($p=0,001$) sur les concentrations en marbofloxacine. Les concentrations en marbofloxacine dans l'endomètre sont significativement supérieures aux concentrations plasmatiques deux heures après l'administration ($p<0,005$).

Le tableau 12 présente le rapport des concentrations utérines sur les concentrations plasmatiques de marbofloxacine.

Tableau 12 : Rapport des concentrations utérines sur les concentrations plasmatiques de marbofloxacine mesurées avant, 2 h, 6 h et 24 h après une administration intra-veineuse de marbofloxacine à la dose de 2 mg/kg PV à six juments.

Temps	Cavale	Chestnut	Isis	Nora	Utica	Véga
T0						
2h	1,61	1,43	1,25	1,46	1,16	1,67
6h	1,77	1,43	1,35	1,42	1,06	1,81
24h	1,77	1,54	1,44	1,94	1,35	4,57

La moyenne du rapport des concentrations est de 1,67 ± 0,76 (étendue 1,06-4,57).

C- Discussion

Notre essai clinique nous a permis de mettre en évidence une diffusion importante de la marbofloxacine dans l'endomètre utérin, après une administration par voie intraveineuse de l'antibiotique à la dose de 2 mg/kg PV. En effet, le rapport des concentrations utérus/plasma est en moyenne de 1,7.

Le passage de la marbofloxacine à travers la barrière utérine a été déterminé à partir de biopsie utérine. La concentration de marbofloxacine dans la lumière utérine aurait pu être mesurée par collecte de liquide utérin. Cependant, la reproductibilité de cette méthode semble inférieure à celle des biopsies utérines, et les concentrations mesurées dans la lumière ne reflètent pas toujours les concentrations tissulaires. D'ailleurs, les essais cliniques visant à mesurer la diffusion d'une molécule dans l'utérus utilisent généralement la biopsie utérine [2, 35]. Dans notre étude, les variations interindividuelles des concentrations utérines en marbofloxacine sont faibles, ce qui suggère que la biopsie utérine permet d'avoir une bonne reproductibilité des prélèvements et que la diffusion de la marbofloxacine est homogène dans l'endomètre utérin.

Les biopsies utérines répétées ont été réalisées sans difficulté, elles n'ont pas eu d'effet traumatisant sur l'appareil génital des juments. Elles ont généralement été réalisées à la base des cornes ou au niveau du corps de l'utérus. Des études histologiques ont montré que le fragment prélevé atteint en principe la limite entre l'endomètre et le myomètre [24]. En effet, lorsqu'on referme les mors de la pince sur la paroi utérine, l'essentiel du myomètre, la séreuse et la muqueuse rectale sont repoussés vers l'extérieur et ne sont pas prélevés.

Nous avons montré un passage important de la marbofloxacine dans l'utérus. La barrière utérine est constituée de l'endothélium utérin qui sépare le compartiment vasculaire de l'endomètre, et de l'épithélium utérin qui sépare l'endomètre de la lumière utérine.

L'endothélium et l'épithélium utérins possèdent une perméabilité sélective. L'endothélium utérin laisse diffuser librement les molécules de poids moléculaire

inférieur à 5 000 Da, alors que l'épithélium est plus sélectif vis à vis des molécules dont la taille moléculaire est comprise entre 1 000 et 5 000 Da. L'endothélium est constitué d'une couche lipidique interrompue par des canaux hydrophiles dont la perméabilité est augmentée sous imprégnation oestrogénique. Selon le moment du cycle sexuel de l'animal, il est continu ou fenestré.

L'épithélium utérin est un épithélium simple, présentant des jonctions intercellulaires dont les caractéristiques varient en fonction du statut hormonal : lors d'imprégnation oestrogénique les jonctions sont moins serrées et moins nombreuses. L'épithélium utérin constitue une barrière active et dynamique entre l'endomètre et la lumière utérine même lorsque la perméabilité vasculaire est augmentée. L'épithélium apparaît donc comme une barrière plus sélective que l'endothélium [30].

La marbofloxacine est une molécule liposoluble, de taille moléculaire de 362 Da, ce qui explique son passage important à travers la barrière placentaire.

La phase du cycle sexuel influence la diffusion et l'efficacité des molécules antibiotiques dans l'utérus des femelles. Les juments utilisées dans l'essai clinique étaient saines, en phase lutéale, période pendant laquelle la diffusion de molécules à travers la barrière utérine est la moins favorable. Le rapport des concentrations utérus/plasma, de 1,7 en moyenne, pourrait être supérieur sous imprégnation oestrogénique.

En effet, l'administration intra-musculaire ou intra-utérine de 10 mg de benzoate d'œstradiol à des vaches a permis d'augmenter l'absorption de pénicilline sodique [5]. Ce phénomène pourrait être attribué à l'augmentation du flux sanguin ou à l'augmentation de perméabilité des capillaires sous l'influence des oestrogènes. L'utérus de vache absorbe plus facilement les sulfamides en pro œstrus ou en oestrus qu'en anœstrus [5]. En outre, l'adhérence des bactéries sur les cellules épithéliales utérines de juments traitées à l'œstradiol est significativement diminuée par rapport à celle de cellules collectées sur des juments traitées à la progestérone [23]. Par ailleurs, le drainage et l'élimination des liquides de la lumière utérine constituent une partie importante du traitement d'une infection utérine. Sous imprégnation œstrogénique, le col de l'utérus est ouvert et l'activité contractile du myomètre est plus importante facilitant ainsi la vidange utérine. Par conséquent, le

moment le plus favorable pour traiter les infections utérines est la phase oestrogénique. Notre essai clinique a été réalisé en phase lutéale et il est probable que la diffusion de la marbofloxacine dans l'utérus aurait été plus importante en phase oestrogénique.

La diffusion des antibiotiques dans l'utérus est également influencée par le stade post-partum de l'animal. Chez la vache, la diffusion de pénicilline, dihydro-streptomycine et oxytétracycline depuis l'utérus vers le compartiment sanguin après une administration intra-utérine est moins importante dans l'immédiat post-partum comparativement à celle observée après une involution utérine complète [7,5]. Cette différence est expliquée par le processus d'involution qui implique une desquamation de l'épithélium, une nécrose des caroncules, la production de lochies, une régression vasculaire ainsi qu'une diminution du flux sanguin vers ces tissus, tous ces phénomènes limitant la résorption de l'antibiotique depuis l'utérus. La diffusion du chloramphénicol dans l'appareil génital est moins influencée par le degré d'involution utérine [5]. En définitive, lors de traitement de métrite post-partum chez la vache, la voie locale pour l'administration d'antibiotiques serait moins appropriée que la voie parentérale.

Chez la jument par contre, l'absorption de pénicilline G sodique n'a pas été influencée par le cycle sexuel et n'a pas été modifiée en post-partum, en raison probablement de la rapidité de l'involution utérine chez les juments comparativement aux vaches [7].

La statut pathologique de l'animal peut constituer également un facteur de variation de la diffusion des antibiotiques dans l'utérus. En effet, la présence d'une inflammation pourrait influencer la distribution et l'activité des antibiotiques. Il est généralement admis que la concentration en antibiotique dans un tissu qui est le siège d'une inflammation est augmentée car il contient une plus grande quantité de fluides comparativement au tissu sain [34]. Chez la vache pourtant, après administration intra-musculaire d'oxytétracycline, les concentrations endométriales dans l'utérus pathologique sont inférieures à celles de l'utérus sain. Après une perfusion intra-veineuse d'oxytétracycline à des vaches en post-partum immédiat, le

rapport entre les concentrations plasmatiques et les concentrations des tissus du tractus génital n'était pas modifié pour les femelles présentant une endométrite aiguë [7]. La diffusion des antibiotiques administrés *in utero* vers le compartiment sanguin peut également être influencée par une affection utérine. Ainsi, après une administration intra-utérine d'oxytétracycline chez des vaches en post-partum, les concentrations plasmatiques sont plus faibles chez les femelles atteintes d'endométrite comparativement aux femelles saines [7].

Dans notre essai clinique, nous avons déterminé la diffusion de la marbofloxacine à travers la barrière utérine sur des juments cliniquement saines, il serait intéressant de déterminer si une endométrite modifie les concentrations endométriales de marbofloxacine.

Les traitements antibiotiques utilisés chez la vache et la jument font généralement appel à des antibiothérapies locales. Ces traitements locaux sont relativement mal tolérés chez la jument car ils sont souvent irritants, et ne garantissent pas une exposition appropriée de l'ensemble du tractus génital. En effet, en cas de métrite, l'antibiotique doit pénétrer l'endomètre mais aussi les couches plus profondes de l'utérus (myomètre) ainsi que les segments les plus antérieurs du tractus génital, ce qui n'est pas réalisé lors d'administration par voie intra-utérine. Par exemple chez des vaches atteintes d'endométrites sévères, après administration intra-musculaire d'oxytétracycline (8 mg/kg). Les concentrations dans l'endomètre sont plus faibles que celles obtenues après une administration intra-utérine, mais sont néanmoins efficaces [28]. En revanche, le traitement par voie générale permet d'atteindre des concentrations élevées d'oxytétracycline dans les ovaires, les oviductes, le myomètre, la séreuse, le col et le vagin, alors qu'elles restent indétectables dans ces différents tissus après une administration intra-utérine. De plus, la présence de liquides utérins peut diminuer l'activité des antibiotiques. En particulier, les pénicillines peuvent être inactivées dans la lumière utérine par des pénicillinases bactériennes.

En définitive, la voie systémique présente une efficacité supérieure à la voie intra-utérine pour le traitement des métrites. Elle est donc particulièrement bien adaptée au traitement des endométrites chez la jument, espèce utilisée majoritairement pour

le sport et le loisir et pour laquelle la présence de résidus dans les tissus ou le lait ne constitue pas un facteur limitant.

Le but d'une antibiothérapie est d'assurer une guérison clinique, et de garantir l'élimination des bactéries à l'origine de l'affection [49]. Les concentrations en marbofloxacine atteintes dans l'endomètre sont supérieures aux concentrations plasmatiques, mais sont-elles suffisantes pour garantir une efficacité vis-à-vis des principaux germes mis en cause lors d'infection utérine ?

Le tableau 13 présente les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de marbofloxacine pour différents germes impliqués dans les endométrites de la jument.

Tableau 13 : Activité *in vitro* de la marbofloxacine contre les principaux germes pathogènes isolés lors d'infection utérine chez la jument [14, 18, 32, 44, 46]

	CMI_{50} en µg/mL	CMI_{90} en µg/mL	Auteurs et espèce chez laquelle le germe a été isolé
Streptococcus equi subsp. *zooepidemicus* (G+)	**0,854**	**1,667**	GUILLARDEAU, **Cheval**
Pseudomonas aeruginosa (G-)	0,43	0,94	SPRENG et al, Carnivores
Pasteurelles (G-) (*Pasteurella multocida*)	0,02 0,008 à 0,017 0,018	0,04 0,057	SPRENG et al, Carnivores MEUNIER et al, Bovins DRUGEON et al, Bovins
Entérobactéries : dont *Salmonella sp.*, *Escherichia. coli*, *Klebsiella pneumoniae* (G-)	**0,017**	**0,027**	GUILLARDEAU, **Cheval**
Escherichia coli (G-)	0,011 0,016 0,012 à 0,016	0,016 0,164 à 3,732	SCHNEIDER et al, Bovins SPRENG et al, Carnivores MEUNIER et al, Bovins
Klebsiella pneumoniae subsp. *pneumoniae* (G-)	0,025		SPRENG et al, Carnivores
Staphylocoques (*Staphylococcus aureus*) (G+)	**0,125** 0,21 0,141 à 0,175 0,154	**0,210** 0,229 à 0,354 0,229	GUILLARDEAU, **Cheval** SPRENG et al, Carnivores MEUNIER et al, Bovins SCHNEIDER et al, Bovins

Les cinétiques des concentrations plasmatiques obtenues lors de notre essai clinique sont comparables à celles obtenues lors des études menées par CARRETERO et al et par BOUSQUET-MELOU et al. [6, 10]. La marbofloxacine diffuse rapidement dans les tissus, et la concentration plasmatique maximale dans les minutes qui

suivent l'administration est plus élevée que celle que nous avons mesurée (0,93 µg/mL) deux heures après l'administration. Ainsi, une concentration plasmatique maximale de 1 µg/mL est atteinte 0,72 heures après l'administration sous-cutanée de 2 mg/kg PV de marbofloxacine chez la jument [6].

Les concentrations extracellulaires en antibiotique sur le site de l'infection pourraient constituer un meilleur critère d'efficacité que les concentrations tissulaires ou plasmatiques. En effet, la plupart des bactéries en cause lors d'infection utérines sont extra-cellulaires [35, 47]. Toutefois, la marbofloxacine est un antibiotique peu lié aux protéines plasmatiques. Par conséquent, les concentrations plasmatiques en antibiotique constituent un bon reflet des concentrations extracellulaires pour des tissus irrigués. Les concentrations tissulaires prennent en compte à la fois les liquides intra et extra-cellulaires [47]. Elles constituent en général un critère moins pertinent que les concentrations plasmatiques. Cependant, pour les tissus présentant une barrière (prostate, système nerveux central), les concentrations tissulaires permettent de déterminer le passage de l'antibiotique dans le tissu.

Sur de nombreux germes à Gram négatif, la marbofloxacine a une activité bactéricide concentration dépendante. D'une façon générale, une souche est dite sensible à un antibiotique concentration dépendant si la concentration plasmatique maximale de l'antibiotique est supérieure à la CMI de la souche, après administration d'une dose standard. Le pic maximal de concentration est le critère essentiel permettant de présager de son efficacité. Au niveau plasmatique, l'activité inhibitrice de la marbofloxacine est déterminée par le rapport concentration plasmatique maximale / CMI_{90} (coefficient inhibiteur QI= $Cmax/CMI_{90}$). Ce critère est fondamental pour éviter la sélection de germes résistants. Dans notre essai clinique, deux heures après l'administration intra-veineuse de 2 mg/kg de marbofloxacine, la concentration plasmatique moyenne est de 937 ng/mL. Cette valeur (inférieure à la Cmax) est supérieure à quatre fois la CMI_{90} des Pasteurelles, des Entérobactéries, d'*Escherichia coli*, qui sont des bactéries Gram négatif. Ces bactéries seront donc éliminées par le traitement marbofloxacine à la dose de 2 mg/kg par voie intra-veineuse chez le cheval.

La marbofloxacine a une action bactéricide temps dépendante contre les bactéries Gram positif. Pour ces germes, le paramètre pharmacocinétique/pharmacodynamique

le plus important est le temps pendant lequel les concentrations plasmatiques sont supérieures aux CMI ou l'aire sous la courbe inhibitrice (AUIC = AUC/CMI). Dans notre essai clinique, les concentrations plasmatiques moyennes de marbofloxacine étaient respectivement de 937 ng/mL, 319 ng/mL et 20 ng/mL 2 h, 6 h et 24 h après l'administration. 2 h après l'administration, la concentration plasmatique de marbofloxacine est supérieure à quatre fois la CMI_{90} de *Staphylococcus aureus*. 6 h après l'administration, la concentration plasmatique de marbofloxacine est supérieure à la CMI_{90} de *Staphylococcus aureus*. Ainsi, pour ce type de germes, la posologie de la marbofloxacine ou l'intervalle entre administrations pourraient être augmentés afin de maintenir des concentrations au-dessus des CMI pour l'ensemble de l'intervalle de dosage.

En définitive, la marbofloxacine diffuse bien dans l'utérus, et un schéma posologique approprié, permettant d'atteindre des concentrations suffisantes pour éliminer les bactéries sensibles à la marbofloxacine, pourrait être proposé pour traiter les infections utérines dues à des germes autres que les streptocoques.

CONCLUSION

En conclusion, la marbofloxacine administrée par voie systémique pourrait constituer un traitement des infections utérines chez la jument, sous réserve que l'agent pathogène ne soit pas un Streptocoque. En pratique, la marbofloxacine pourrait être indiquée après la réalisation d'un antibiogramme ayant révélé un germe sensible, ou lorsqu'un traitement de première intention a échoué.

La marbofloxacine ne possède pas à ce jour d'Autorisation de Mise sur le Marché pour l'espèce équine. Pourtant, elle est déjà utilisée par de nombreux praticiens. Son spectre large, sa biodisponibilité élevée, sa diffusion importante dans les organes en font une molécule prometteuse pour le traitement des infections génitales chez la jument.

Notre essai clinique a permis de montrer que l'exposition de l'endomètre de jument est correcte après une injection intra-veineuse à 2 mg/kg PV et que les concentrations sont supérieures aux CMI de la plupart des germes impliqués dans les endométrites chez la jument.

Un essai clinique pourrait maintenant être réalisé sur des juments présentant une endométrite afin de déterminer un schéma posologique adéquat pour la marbofloxacine (dose et intervalle de temps entre les administrations) permettant d'atteindre des concentrations efficaces et d'évaluer l'efficacité clinique de cet antibiotique.

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE TOULOUSE

Direction de l'Enseignement et de la Vie Universitaire

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que

Mlle CHASTAGNOL Elsa

a été admis(e) sur concours en : 2001

a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 06/07/06

n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussignée, N. HAGEN-PICARD, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

autorise la soutenance de la thèse de :

Mlle CHASTAGNOL Elsa

intitulée :

« Etude du passage de la marbofloxacine à travers la barrière utérine de la jument.»

Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Nicole HAGEN-PICARD

Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON

ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE * DIRECTION ENSEIGNEMENT

Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Jean PARINAUD

Vu le : 29 SEP. 2006
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Jean-François SAUTERAU

BIBLIOGRAPHIE

1. ASBURY A.C.
Endometritis in the mare.
Current therapy in Theriogenology, 2nd ed, W.B. Saunders, 1986:718-22

2. ADAMS A.R., HAINES G.R., BROWN M.P., GRONWALL R., MERRITT K.
Pharmacokinetics of difloxacin and its concentration in body fluids and endometrial tissues of mares after repeated intra-gastric administration.
Can J Vet Res 2005 ; 69:229-235

3. BAGGOT J.D.
Distribution of antimicrobial agents in normal and diseased animals.
JAVMA 1980 May, vol 176, N°10(2)

4. BAHRI L., BLOUIN A.
Fluoroquinolones : a new family of antimicrobials.
1991 Comp Cont Educ Pract Vet ; 13:1429-33

5. BARRAGRY T.B.
Drugs and the bovine genital tract
Veterinary drug therapy, Lea&Febiger, 1994:689-716

6. BOUSQUET-MELOU A., BERNARD S., SCHNEIDER M., TOUTAIN P-L.
Pharmacokinetics of marbofloxacin in horses.
Equine Vet J 2002 Jul ; 34(4):336-72

7. BRETZCAFF K.N.
Factors of importance for the disposition of antibiotics in the female genital tract.
Current therapy in Theriogenology, 2nd ed 1986:34-9

8. BROWN S.A.
Fluoroquinolones in animal health.
J Vet Pharmacol Therap 1996 ; 19:1-14

9. BRYSKIER A.
Fluoroquinolones.
Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques, éd Ellipses (Paris) 1999, 1216pp

10. CARRETERO M., RODRIGUEZ C., SAN ANDRES M.I., FORES P., de LUCAS J.J., NIETO J., WAXMAN S., SAN ANDRES M.D., GONZALES F.
Pharmacokinetics of marbofloxacin in mature horses after single intravenous and intramuscular administration.
Equine Vet J 2002 Jul ; 34(4):360-5

11. DAVIS L.E., ABBITT B.
Clinical pharmacology of antibacterial drugs in the uterus of the mare.
JAVMA 1977 january, vol 170:204-7

12. DELASALLE L.P.

Pharmacocinétique de la marbofloxacine chez le chien avant et après insuffisance rénale expérimentale.
Thèse pour le Doctorat Vétérinaire, Toulouse, 1999

13. DRUGEON H.B., THOMAS V.
Antibacterial activity of marbofloxacine vs. enrofloxacine in an in vitro model simulating the kinetic profile of the drugs in dogs.
J Vet Pharmacol Therap 20 (suppl 1):150-151

14. DRUGEON H.B., THOMAS V., GUILLARDEAU L., THOMAS E.
Antibacterial activity of marbofloxacine against bovine respiratory isolates.
J Vet Pharmacol Therap 20 (suppl 1)

15. DUBREUIL L., HOUCKE I., LEROY I.
In vitro activity of a new fluoroquinolone, marbofloxacin (RO 09-1168) against strictly anaerobic bacteria and some bacteria from human fecal flora.
Pathol Biol (Paris) 1996 May ; 44(5)333-6

16. ENSINK J.M., VAN KLINGEREN B., HOUWERS D.J., KLEIN W.R., VULTO A.G.
In vitro susceptibility to antimicrobial drugs of bacterial isolates from horses in The Netherlands.
Equine Vet J 1993, 25 (4):309-313

17. EUZEBY J.P.
Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. http://bacdico.net, consultation le 2 novembre 2005.

18. GUILLARDEAU L.
In vitro activity of marbofloxacin against strains recently isolated from equine diseases in France and United Kingdom.
Research and development department, Vétoquinol, 1997

19. HOUDESHELL J.W., HENNESSEY B.S.
Gentamicin in the treatment of equine metritis.
Veterinary medicine/small animal clinician 1972 dec:1348-52

20. HUGHES J.P., STABENFELD G.H., KINDHAL H., KENNEDY P.C., EDQVIST L.E., NEELY D.P., SCHALM O.W.
Pyometra in the mare.
J Reprod Fertil Suppl 1979 ; (27):321-9

21. HYATT J.M., McKINNON P.S., ZIMMER G.S., SCHENTAG J.J.
The importance of pharmacokinetic/pharmacodynamic surrogate markers to outcome, focus on antibacterial agents.
Clin Pharmacokinet 1995, 28(2):143-160

22. JUNQUA C.
Traitement intrautérin chez la jument par la marbofloxacine au cours des 4 jours suivant l'ovulation.
Thèse pour le Doctorat Vétérinaire, Nantes, 2005

23. KATILA T.
Uterine defence mechanisms in the mare.
Animal Reprod Sci 42 1996:197-204

24. KENNEY R.M., DOIG P.A.
Equine endometrial biopsy
Current therapy in Theriogenology, 2nd ed 1986:723-729

25. LeBLANC M.M.
Treatment protocols and preventive practices for mares with endometritis.
Vet Med 1989 sept:906-11

26. LEES P., ALIABADI F.S.
Marbofloxacin in equine medicin : have we got the doses right ?
Equine Vet J 2002 Jul ; 34(4):322-5

27. LI R.C., ZHU M., SCHENTAG J.J.
Achieving on optimal outcome in the treatment of infections, the role of clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of antimicrobial.
Clin Pharmacokinet 1999 Jul ; 37 (1):1-16

28. MASERA J, GUSTAFFSON BK, AFIEFY MM, STOWE CM, BERGT GP
Disposition of oxytetracycline in the bovine genital tract: systemic vs intrauterine administration.
J Am Vet Med Assoc 1980 May 15 ; 176(10 Spec No):1099-102.

29. McCUE P.M., HUGHES J.P., JANG S.J., BIBERSTEIN E.L.
Antimicrobial susceptibility patterns for equine endometrial isolates.
CV 1991 Jan-Feb:23-26

30. McRAE A.C.
The blood-uterine barrier and exchange between extra-cellular fluids.
J Reprod Fertil 1988, 82:857-73

31. MEUNIER D., ACAR J.F., MARTEL J.L., KROEMER S., VALLE M.
A seven-year survey of susceptibility to marbofloxacin of pathogenic strains isolated from pets.
Int J Antimicrob Agents 2004, 24:592-598

32. MEUNIER D., ACAR J.F., MARTEL J.L., KROEMER S., VALLE M.
Seven years survey of susceptibility to marbofloxacin of bovine pathogenic strains from eight European countries.
Int J Antimicrob Agents 2004, 24:70-80

33. OTT R.S.
The efficacy of uterine treatment with antimicrobial drugs.
Current therapy in Theriogenology, 2nd ed 1986:39-42

34. PAPISH M.G.
Tissue concentrations of antimicrobials, the site of action.

Problems in veterinary medicine, 1990 June, vol 2, N°2

35. PAPISH M.G., VAN CAMP S.D., COLE J.A., WHITACRE M.D.
Pharmacokinetics and endometrial tissue concentration of enrofloxacine and the metabolite ciprofloxacine after IV administration of enrofloxacine to mare.
J Vet Pharmacol Ther 2002 Oct ; 25(5):343-50

36. PERKINS N.R.
Equine reproductive pharmacology.
Vet Clin North AM Equine Pract 1999Dec ; 15(3):687-704

37. PERKINS N.R.
Endometritis and uterine therapy.
Equine internal medicine, 2nd ed, SAUNDERS, 2004:1049-1059

38. PYCOCK J.F.
Case report : a new approach to treatment of endometritis.
Equine Vet Educ 1994, 6 (1):36-38

39. RICKETTS S.W., MACKINTOSH M.E.
Role of anaerobic bacteria in equine endometritis.
J Reprod Fertil Suppl 1987 ; 35:343-51

40. ROITT I.M., BROSTOFF J., MALE D.K.
Système lymphoïde associé aux muqueuses ou MALT.
Immunologie, 3e éd., DeBoeck Université, 2002:3.9

41. ROSENTIEL N., ADAM D.
Quinolone antibacterials : an update of their pharmacology and therapeutic use.
Drugs, 1994, 47 (6):872-901

42. SANCHEZ-NAVARRO A., MAR SANCHEZ-RECIO M.
Basis of anti-infective therapy, pharmacokinetic-pharmacodynamic criteria and methodology for dual dosage individualisation.
Clin Pharmacokinet, 1999 Oct ; 37(4):289-304

43. SCHNEIDER M., THOMAS V., BOISRAME B., DELEFORGE J.
Pharmacokinetics of marbofloxacin in dogs after oral and parenteral administration.
J Vet Pharmacol Therap 1996, 19:56-61

44. SCHNEIDER M., VALLE M., WOEHRLE F., BOISRAME B.
Pharmacokinetics of marbofloxacin in lactating cows after repeated intramuscular administrations and pharmacodynamics against mastitis isolated strains.
J Dairy Sci 2004, 87, N°1:202-211

45. SHIN S.J., LEIN D.H., ARONSON A.L., NUSBAUM S.R.
The bacteriological culture of equine uterine contents, in vitro sensitivity of organisms isolated and interpretation.
J Reprod Fertil Suppl 1979 ; (27):307-15

46. SPRENG M., DELEFORGE J., THOMAS V., BOISRAME B., DRUGEON H.
Antibacterial activity of marbofloxacine. A new fluoroquinolone for veterinary use against canine and feline isolates.
J vet Pharmacol Therap 1995, 18:284-289

47. THRELFALL W.R., CARLETON C.L.
Treatment of uterine infections in the mare.
Current therapy in Theriogenology, 2nd ed, W.B. Saunders, 1986:730-7

48. TIZARD I.R.
Immunity at body surfaces.
Veterinary immunology, an introduction, 5th ed, W.B. Saunders Company, 1996:251, 264

49. TOUTAIN P.L., DEL CASTILLO J.R., BOUSQUET-MELOU A.
The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational regimen for antibiotics.
Research in veterinary science 2002, 73:105-114

50. VARADIN M.
Endometritis, a common cause of infertility in mares.
J Reprod Fertil Suppl 1975 Oct ; (23):353-6

51. WATSON E.D.
Post-breeding endometritis in the mare.
Anim Reprod Sci 2000 Jul 2 ; 60-61:221-32

52. WILLIAMSON P., MUNYUYA S., MARTIN R., PENHALE W.J.
Dynamics of the acute uterine response to infection, endotoxine infusion and physical manipulation of the reproductive tract in the mare.
J Reprod Fertil Suppl 1987 ; 35:317-25

53. WINGFIELD DIGBY N.J., RICKETTS S.W.
Results of concurrent bacteriological and cytological examinations of the endometrium of mares in routine stud farm practice 1978-1981.
J Reprod Fertil Suppl 1982 ; (32):181-5

54. WHITEMORE H.L., ANDERSON K.L.
Possible adverse effects of antimicrobial treatment of uterine infections.
Current therapy in Theriogenology, 2nd ed, W.B. Saunders, 1986:42-44

55. ZERBE H., SCHUBERT H.J., ENGELKE F., FRANK J., KLUG E., LEIBOLD W.
Development and comparison of in vivo and in vitro models for endometritis in cows and mares.
Theriogenology 2003 Jul ; 60(2):209-23

Toulouse, 2006

NOM : CHASTAGNOL Prénom : Elsa

TITRE : ETUDE DU PASSAGE DE LA MARBOFLOXACINE A TRAVERS LA BARRIERE UTERINE DE LA JUMENT

RESUME : L'objectif de l'étude était d'évaluer le passage de la marbofloxacine à travers la barrière utérine en mesurant le rapport des concentrations obtenues dans le plasma et dans l'endomètre utérin de six juments, après une administration intra-veineuse unique de 2 mg/kg de marbofloxacine. Les moyennes des concentrations de marbofloxacine (± écart type) 2 h, 6 h et 24 h après l'administration sont respectivement de 0,94 ± 0,12 ; 0,32 ± 0,10 et 0,020 ± 0,008 µg/mL dans le plasma, et de 1,4 ± 0,2 ; 0,50 ± 0,18 et 0,038 ± 0,01 µg/mg dans l'utérus. Les concentrations utérines ont été en moyenne 1,7 fois plus élevées que les concentrations plasmatiques. L'exposition utérine à la marbofloxacine permet d'atteindre des concentrations efficaces vis-à-vis des principaux germes impliqués dans les métrites chez la jument, exceptés les streptocoques. La marbofloxacine pourrait donc constituer un traitement approprié des métrites chez la jument.

MOTS-CLES : UTERUS, JUMENT, MARBOFLOXACINE, BARRIERE UTERINE, ENDOMETRITE

ENGLISH TITLE : STUDY OF THE PASSAGE OF MARBOFLOXACIN THROUGH UTERIN BARRIER IN THE MARE

ABSTRACT : The aim of this study was to evaluate the passage of marbofloxacin through the uterin barrier by measuring the ratio between plasmatic and uterine concentrations in six mares, after one intravenous administration of marbofloxacin at the dose of 2mg/kg. The mean marbofloxacin concentrations 2h, 6h and 24h after administration were respectively 0.9371 ± 0.123 ; 0.319 ± 0.103 and 0.0203 ± 0.0082 µg/mL in the plasma, and were 1.387 ± 0.173 ; 0.501 ± 0.177 and 0.038 ± 0.0099 µg/mL in the endometrium. Uterine concentrations were 1.7 times higher than endometrial concentrations. The concentrations of marbofloxacin measured in the uterus are efficient against most of bacteria causing endometritis in the mare, except *streptococcus sp*. Marbofloxacin could constitute an adequate treatment of metritis in the mare.

KEYWORDS : UTERUS, MARE, MARBOFLOXACIN, UTERIN BARRIER, ENDOMETRITIS