ECOLE NATIONALE VETERINAIRE D'ALFORT

ANNEE 2003

COMPARAISON DE L'EFFICACITE ET DE L'INNOCUITE DE L'ISOFLUPREDONE ET DE LA DEXAMETHASONE DANS LE TRAITEMENT DES CHEVAUX ATTEINTS DE SOUFFLE (COPD)

THESE

Pour le

DOCTORAT VETERINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL
le
18 décembre 2003
par

Valérie PICANDET
Née le 5 avril 1977 à Poitiers (86)

JURY

Président : M. .....
Professeur à la Faculté de Médecine de CRETEIL

Membres
Directeur :M. Robert Moraillon
Professeur à l'E.N.V.A.
Assesseur :M . Jean-Marie Denoix
Professeur à l'E.N.V.A.

A Monsieur Jean-Pierre Lavoie

Professeur à l'Université de Montréal, pour son inspiration, sa rigueur et ses encouragements. Sans lui, rien n'aurait été possible.

Sincères remerciements.

A Monsieur Renaud Léguillette

Pour sa participation active à notre projet de recherche.

Sincères remerciements.

A tout les professeurs et le personnel de l'Université de Montréal, qui ont participé grandement à l'élaboration de ce projet de recherche, et qui m'ont tant appris sur mon métier et sur moi-même.

Sincères remerciements.

A Arthur, Albert, Dude, Blanco, La Grande, Café, Vanille, Violette, Loulou, Duchesse, La Vieille, Hipppolyte, les chevaux de l'étude, qui ont partagé, sans s'en rendre compte, d'intenses moments de travail, de découragements, et de bonheur aussi.

Et surtout, à ma famille et mes amis, pour leur soutien inconditionnel dans l'ensemble de mes choix, même s'ils furent parfois difficile.

A mon père, en particulier, qui aurait aimé assister à cet accomplissement, et qui sera fier de moi, j'en suis sûre,

Merci.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES **1**
INDEX DES FIGURES **7**
INDEX DES TABLEAUX **9**
INTRODUCTION **11**
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE **13**
A. Le souffle **15**
I. Définition et appellations **15**
II. Epidémiologie **16**
1-Prévalence 16
2-Facteurs de risques 16
a) Environnement *16*
b) Alimentation *16*
c) Saison *17*
d) Âge *17*
e) Génétique *17*
f) Géographie *17*
g) Race et sexe *18*
III. Pathogénie **18**
1-Au niveau cellulaire 18
a) Bronchospasme *18*
b) Inflammation *18*
c) Accumulation de mucus *18*
d) Remodelage tissulaire *19*
e) Hyper-réactivité bronchique non spécifique *19*
f) Conséquences sur la fonction respiratoire *19*
2-Au niveau immunologique 20
a) Une réaction allergique *20*
b) Comparaison avec l'asthme chez l'humain *20*
3-Au niveau moléculaire 20

IV. Signes cliniques **21**
1-Signalement et anamnèse 21
2-Symptômes cliniques 21
3-Auscultation respiratoire au sac 22
4-Percussion thoracique 22
V. Diagnostic différentiel **23**
1-Diagnostic différentiel de toux et/ou jetage 23
a) Atteinte des voies respiratoires supérieures *23*
b) Atteinte des voies respiratoires inférieures *23*
c) Atteinte non respiratoire *24*
2-Diagnostic différentiel de difficulté respiratoire 24
a) Atteinte des voies respiratoires supérieures *24*
b) Atteinte des voies respiratoires inférieures *25*
c) Atteinte non respiratoire *25*
VI. Diagnostic **26**
1-Hématologie 26
2-Radiographie pulmonaire 26
3-Endoscopie des voies respiratoires 26
4-Lavage broncho-alvéolaire 26
5-Lavage trachéal 27
6-Biopsies pulmonaires et bronchiques 28
7-Tests de sensibilité intradermiques 28
8-Dosages d'IgE sériques 28
9-Mesures de fonction respiratoire 28
10-Test à l'histamine 30
11-Test à l'atropine 30
12-Mesure de gaz sanguin artériel 31
VII. Traitement **32**
1-Contrôle de l'environnement 32
2-Glucocorticoïdes 32
3-Broncho-dilatateurs 33

4-Mucokinétiques 34
5-Stabilisateurs de membrane 34
6-Le futur des traitements 35
VIII. Pronostic 35
B. L'utilisation des glucocorticoïdes chez le cheval 37
I. Définitions 37
1-La glande surrénale et la production d'hormones 37
2-L'axe hypothalamo-hypophysaire 37
3-Structure et fonctions du cortisol 38
II. Mode d'action des glucocorticoïdes 39
1-Inhibition de la phospholipase A2 39
2-Modulation de la transcription génomique 39
3-Conséquences anti-inflammatoires 40
4-Relation structure-fonction 40
III. Les différentes molécules utilisées en médecine équine 41
1-Dexaméthasone 41
2-Triamcinolone 42
3-Prednisolone 43
4-Prednisone 43
5-Isofluprédone 44
IV. Utilisation et efficacité 46
1-Voie systémique 46
2-Voies locales 47
V. Effets secondaires 48
1-Effets cliniques 48
2-Effets endocriniens 49
3-Effets immunosuppresseurs 49
4-Effets hématologiques 50
5-Effets minéralocorticoïdes 50

ETUDE EXPERIMENTALE **53**

A. Raisons, objectifs et hypothèses **55**

I. Raisons de l'étude **55**

II. Objectifs de l'étude **55**

III. Hypothèses préliminaires **55**

B. Matériel et méthodes **57**

I. Animaux **57**

II. Environnement **58**

III. Mesures de fonction respiratoire **58**

IV. Test de réversibilité à l'atropine **59**

V. Examen physique **60**

VI. Prélèvements sanguins et analyse **60**

VII. Test de stimulation surrénalienne **60**

VIII. Protocole expérimental **61**

IX. Analyses statistiques **63**

C. Résultats **65**

I. Test de réversibilité à l'atropine **65**

II. Mesures de fonction respiratoire **65**

1-Variations maximales de pression pleurale 66

2-Elastance et résistance pulmonaires 67

III. Examen clinique **69**

1-Score clinique de fonction respiratoire 69

2-Appétit 70

3-Examen myoarthrosquelettique 71

4-Autres anomalies cliniques 71

IV. Evaluation de la fonction surrénalienne **72**

1-Dosage de cortisol sérique 72

2-Test de stimulation à l'ACTH 73

V. Résultats d'hématologie **75**
1-Hématocrite 76
2-Leucocytes sanguins 77
3-Neutrophiles sanguins 78
4-Lymphocytes sanguins 79
5-Eosinophiles sanguins 80
6-Basophiles et monocytes 80
VI. Evaluation de l'effet minéralocorticoïde **81**
1-Potassium sérique 81
2-Sodium et chlore sériques 82
D.Discussion **83**
I. Premier objectif : efficacité de l'isofluprédone comparée à la dexaméthasone **83**
II. Deuxième objectif : évaluation des effets secondaires cliniques, endocriniens et hématologiques **85**
1-Effets secondaires cliniques 85
2-Effets endocriniens 85
3-Effets hématologiques 86
III. Troisième objectif : évaluation des effets minéralocorticoïdes **87**
CONCLUSION **89**
REFERENCES **91**

INDEX DES FIGURES

Figure 1 :structure moléculaire du cortisol. 38

Figure 2 :Structure moléculaire de la dexaméthasone 41

Figure 3 : Structure moléculaire de l'acétate d'isofluprédone 44

Figure 4 : Schéma du protocole expérimental 62

Figure 5 : *Variations maximales de pression pleurale moyenne (ΔPpl) ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone et à la dexaméthasone avant, pendant et après une période de traitements de 14 jours, comparée à la ΔPpl de ces mêmes chevaux avant et 30 minutes après l'administration d'atropine IV.* 66

Figure 6 : *Élastance pulmonaire moyenne(E_L) ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone et à la dexaméthasone avant, pendant et après une période de traitements de 14 jours, comparée à l'élastance pulmonaire de ces mêmes chevaux avant et 30 minutes après l'administration d'atropine IV.* 67

Figure 7 : *Résistance pulmonaire moyenne (R_L) ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone et à la dexaméthasone avant, pendant et après une période de traitements de 14 jours, comparée à la résistance pulmonaire de ces mêmes chevaux avant et 30 minutes après l'administration d'atropine IV.* 68

Figure 8 : Score clinique moyen ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone et à la dexaméthasone avant, pendant et après une période de traitements de 14 jours. 70

Figure 9 : Cortisol sérique moyen ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone et à la dexaméthasone avant, pendant et après une période de traitements de 14 jours. 73

INDEX DES TABLEAUX

Tableau 1 : Comptage différentiel de cellules dans le LBA de chevaux normaux et atteints de souffle. *27*

Tableau 2 : Effets glucocorticoïdes, minéralocorticoïdes et endocriniens de différentes molécules. *45*

Tableau 3 :Mesures de fonction respiratoire (moyenne±ES). *65*

Tableau 4 : Score clinique moyen ± ES. *69*

Tableau 5: Dosage de cortisol et d'électrolytes sérique (moyenne±ES). *72*

Tableau 6 : Dosage de cortisol moyen ± ES (nmol/L) avant et 2 heures après l'administration de 100UI d'ACTH IV, pendant la période contrôle, puis le lendemain de l'arrêt des traitements, au jour29. *73*

Tableau 7 : Valeurs d'hématologie (moyenne±ES). *75*

INTRODUCTION

Le souffle est une maladie obstructive récurrente des voies respiratoires très présente parmi les chevaux des pays tempérés. C'est une maladie typique de la domestication, associée au confinement et à l'exposition à des fourrages transformés. Les chercheurs s'accordent de plus en plus à penser que son origine est allergique et que les mécanismes immunologiques de la maladie se rapprochent de ceux de l'asthme de l'humain, ce qui en ferait un modèle expérimental intéressant.

Étant donné la nature inflammatoire de la maladie, les glucocorticoïdes ont été rapidement utilisés pour la contrôler, et certains d'entre eux ont été prouvés efficaces. Malheureusement, les glucocorticoïdes ont chez le cheval de nombreux effets secondaires. Certains d'entres eux sont connus et étudiés tels que les mondifications hématologiques et la suppression surrénalienne. Certains autres, tels que la fourbure, l'immunosuppression,sont tout aussi craints par les vétérinaires.

Beaucoup de glucocorticoïdes sont couramment utilisés sans avoir été testés au préalable. L'isofluprédone en fait partie et semble donner de bons résultats cliniques. Cependant, cette molécule engendre, chez l'humain et le bovin, des effets secondaires indésirables tels que des myopathies hyperkaliémiques.

Cette étude a donc pour objectif d'évaluer l'isofluprédone dans le traitement des chevaux atteints de souffle, en la comparant à la dexaméthasone, tant sur le plan de l'efficacité à contrôler la maladie que sur le plan de l'apparition d'effets secondaires cliniques, endocriniens, hématologiques et électrolytiques.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

A. Le souffle

I. Définition et appellations

Le souffle est une maladie inflammatoire récurrente et réversible(Thomson et McPherson 1984) caractérisée par une obstruction des voies respiratoires inférieures du cheval.

Décrite dès 1874 (Williams 1874) sous le nom de « broken wind », cette maladie est aussi connue sous de nombreuses autres appellations.

Son nom le plus commun est actuellement « broncho-pneumopathie obstructive chronique» (B.P.O.C.) ou « C.O.P.D. » (chronic obstructive pulmonary disease), utilisé pour la première fois par Sasse (Sasse 1971) en référence à la maladie affectant les fumeurs chez les humains. Cependant, l'avancée dans les connaissances de la physiopathologie de la maladie rend cette appellation erronée. En effet, contrairement au B.P.O.C., le « souffle » est un syndrome d'obstruction respiratoire réversible lié au bronchospasme et à l'accumulation de mucus.

D'autres termes empruntés à la médecine humaine tels que « emphysème pulmonaire chronique », « bronchite chronique », « bronchiolite chronique » sont également employés par les vétérinaires. Mais, considérant les mécanismes de la maladie, ces noms semblent également inexacts .

Certaines autres appellations s'inspirent de la présentation clinique des chevaux les plus affectés par la maladie, tel que « souffle » ou « accès de pousse ».

Un consensus a finalement été posé sur le terme R.A.O. (recurrent airway obstruction) qui semblent le mieux décrire la maladie(Robinson 2001), et qui pourrait être traduit en français par « maladie récurrente des voies respiratoires équine ». Une controverse subsiste toutefois étant donné que cette expression ne définit pas quelle partie des voies respiratoires sont atteintes. Le mot « heaves » ou souffle a aussi été accepté lors de ce consensus.

Pour la clarté de la rédaction, le terme souffle sera donc employé tout au long de la thèse pour décrire cette maladie.

II. Epidémiologie

1-Prévalence

La prévalence de la maladie est variable. En Suisse, elle a été évaluée à près de 54% dans certains groupes de chevaux(Bracher, *et al.* 1991). Une étude sur des chevaux à l'abattoir au Minnesota a révélé que 7% des animaux présentaient des lésions caractéristiques du souffle (Larson et Busch 1985). Dans un centre de référence en Grande Bretagne, les chevaux atteints de souffle représentent 55% des consultations pour problème respiratoire(Dixon, *et al.* 1995c).

2-Facteurs de risques

a) Environnement

L'environnement semble être un facteur de risque clé de la maladie(Marti, *et al.* 1991). Les signes cliniques peuvent être déclenchés par des changements environnementaux, en particulier par l'exposition à la poussière, à des fourrages de qualité médiocre, à des vapeurs d'ammoniac, à des spores fongiques ou à d'autres stimuli non spécifiques(Tesarowski, *et al.* 1996). Les chevaux atteints de souffle semblent présenter une réponse immunitaire et clinique exagérée aux moisissures (Halliwell, *et al.* 1993;McGorum, *et al.* 1993b), mais celles-ci ne semblent pas être le seul agent responsable de la maladie. Les endotoxines ainsi que les acariens ont aussi été mis en cause (Robinson 2001).

b) Alimentation

En tant que facteur de l'environnement, l'alimentation est un facteur de risque de la maladie. Le foin et la paille, en particulier lorsqu'ils ont été mal préparés ou entreposés semblent avoir une influence majeure sur le développement de la maladie, à tel point que, un changement alimentaire peut parfois suffire à contrôler la maladie (Jackson, *et al.* 2000). Mais ce n'est pas l'ingestion de ces aliments qui est à risque, mais bien l'inhalation des poussières et particules qui en émanent. Par ses habitudes alimentaires, le cheval en secouant le foin avec son nez quand il mange, disperse une multitude de

particules dans l'aérosol, qui sont ensuite inhalées et peuvent se rendre jusque dans les voies respiratoires profondes et causer la maladie (Woods, *et al.* 1993).

c) Saison

Le souffle est une maladie saisonnière, beaucoup plus fréquemment observée en hiver, lorsque les chevaux sont gardés à l'intérieur. C'est le principal facteur qui différencie cette maladie de la maladie obstructive respiratoire associée au pâturage dont les signes cliniques sont identiques. Cette dernière est plutôt présente en été dans les lieux chauds et humides, lorsque la plupart des chevaux sont au pâturage (Seahorn et Beadle 1993).

d) Âge

La maladie semble affecter uniquement des chevaux adultes et est beaucoup plus prévalente sur les chevaux de plus de 7 ans (Dixon, *et al.* 1995b;Marti, *et al.* 1991). Toutefois, il existe une maladie affectant des chevaux plus jeunes et qui semble très proche du point de vue de la physiopathologie. La maladie inflammatoire des voies respiratoires ou I.A.D. (Inflammatory Airway Disease) engendre de la toux et de l'intolérance à l'effort chez les jeunes chevaux de courses. Le fait que cette affection puisse être un stade précoce de la même maladie est très controversé et des recherches restent à faire pour pouvoir éclaircir la question (Robinson 2001).

e) Génétique

Une étude a prouvé que les chevaux affectés de souffle avaient plus de descendants affectés que les chevaux sains (Marti, *et al.* 1991). La génétique semble donc un facteur parmi d'autres de déclenchement de la maladie, mais aucun gène particulier n'a encore pu être mis en cause.

f) Géographie

Le souffle semble être une maladie de l'hémisphère nord et particulièrement des zones tempérées. Ceci est probablement en relation avec le climat, qui oblige les propriétaires à garder leurs chevaux dans des boxes et à les nourrir avec des fourrages.

g) Race et sexe

Bien qu'un facteur génétique ait été déterminé, il ne semble pas y avoir de prédisposition de race ni de sexe dans la maladie(Dixon, *et al.* 1995b).

III. Pathogénie

Le souffle semble être une réaction d'hypersensibilité retardée à des antigènes inhalés. Même si les mécanismes cellulaires sont de mieux en mieux compris, les mécanismes immunologiques et moléculaires restent encore un mystère pour les chercheurs.

1-Au niveau cellulaire

a) Bronchospasme

C'est le premier changement observé lors de la stimulation antigénique. Il est responsable de la plus grande partie de l'obstruction surtout dans les plus grosses voies respiratoires. Il est principalement dû à l'activation des récepteurs muscariniques des muscles lisses par l'acétylcholine,associée au déficit des mécanismes inhibiteurs de la contraction (Robinson, *et al.* 1995).

b) Inflammation

La principale manifestation de l'inflammation dans les voies respiratoires des chevaux atteints de souffle est l'accumulation de neutrophiles dans la paroi et la lumière des petites voies respiratoires. Le recrutement de ces cellules est très rapide et une neutrophilie pulmonaire est observée dès 5 heures après la stimulation(McGorum, *et al.* 1993b).

c) Production de mucus

Associée à l'exsudation de cellules inflammatoires, l'augmentation de la production de mucine par les cellules à gobelet induit une modification des propriétés viscoélastiques du mucus (Robinson 2001). Ceci induit une diminution de la clairance par le système muco-ciliaire et donc une accumulation de mucus dans les petites voies respiratoires, qui contribue à l'obstruction respiratoire.

d) Remodelage tissulaire

Des modifications dans la paroi bronchique sont observées à plus long terme chez les chevaux atteints de souffle, et s'avèrent de plus en plus sévères quand la maladie est plus chronique. Tout d'abord, on observe une multiplication des cellules à gobelet au niveau de la muqueuse (hyperplasie et métaplasie), celle-ci devenant de plus en plus épaisse. Il existe aussi une hyperplasie des muscles lisses et donc un épaississement de la musculeuse bronchique(Robinson 2001).

e) Hyper-réactivité bronchique non spécifique

Chez les chevaux en phase d'exacerbation de la maladie, les petites voies respiratoires sont plus sensibles aux neurotransmetteurs bronchospastiques, aux médiateurs de l'inflammation, et à d'autres irritants non spécifiques (Doucet, *et al.* 1991). L'épaississement de la paroi bronchique semble jouer un rôle dans ce phénomène. En effet, les petites voies respiratoires s'en trouvent rétrécies et un léger bronchospasme peut induire sur ces chevaux une obstruction respiratoire sévère.

f) Conséquences sur la fonction respiratoire

Le bronchospasme, la production de mucus et le remodelage tissulaire sont à l'origine d'une obstruction diffuse des voies respiratoires inférieures qui est responsable de la majorité des signes cliniques observés. La principale conséquence de cette obstruction est une distribution anormale de la ventilation, induisant des déséquilibres ventilation/perfusion et de l'hypoxémie.

De plus, le bronchospasme emprisonne l'air dans les alvéoles dans les premières phases de l'expiration, d'où une difficulté respiratoire lors de l'expiration et une augmentation du travail respiratoire. On observe sur les poumons de chevaux atteints une hyper-inflation alvéolaire due à cet emprisonnement d'air sans toutefois qu'il y ait d'emphysème.

Enfin, l'hypoxémie ainsi que l'inflation alvéolaire sont à l'origine d'une résistance vasculaire accrue (Nyman, *et al.* 1991). L'hypertension ainsi induite dans les artères pulmonaires peut favoriser dans certains cas le développement d'une insuffisance cardiaque droite ou syndrome du cœur pulmonaire.

2-Au niveau immunologique

a) Une réaction allergique

La détection d'IgE dirigées contre des allergènes fongiques en quantité excessivement élevée dans les lavages broncho-alvéolaires de chevaux atteints de souffle est en faveur d'un phénomène allergique(Halliwell, *et al.* 1993). De plus, en utilisant l'hybridation in situ sur les lymphocytes T de lavages broncho-alvéolaires de chevaux atteints de souffle, il a été démontré que ceux-ci produisaient plus d'IL4 et d'IL5 et moins de TNFα que les lymphocytes de chevaux normaux. Ceci correspond à une réponse immunitaire de type Th2, impliquée dans la plupart des phénomènes allergiques (Lavoie, *et al.* 2001). Toutefois, ces résultats n'ont pas été confirmés par des études utilisant la RT-PCR (Giguere, *et al.* 2002), et les connaissances à ce sujet méritent d'être approfondies.

b) Comparaison avec l'asthme chez l'humain

Tout comme le souffle, la réaction inflammatoire de l'asthme est médiée par les lymphocytes T de type Th2. La production des cytokines IL4, IL5 et IL13 est caractéristique d'une inflammation allergique. Dans le cas de l'asthme, IL4 et IL5 favorisent la production d'IgE par les lymphocytes B et IL5 favorise l'éosinophilie pulmonaire. C'est un exemple de l'hypersensibilité de type I. Cette inflammation éosinophilique n'est toutefois pas retrouvée dans le cas du souffle chez le cheval, et les mécanismes qui conduisent à la neutrophilie pulmonaire ne sont toujours pas expliqués.

3-Au niveau moléculaire

Les médiateurs de ce phénomène inflammatoire qui affecte les petites voies respiratoires suite à une stimulation antigénique ont été activement recherchés. L'histamine, qui est pourtant le principal médiateur des réactions allergiques, ne semble pas avoir un rôle prépondérant étant donné que les anti-histaminiques n'ont pas d'effets bénéfiques. De même pour les prostaglandines (Gray 89) et le PAF (Platelet Activating Factor). Par contre, les leucotriènes sont un facteur important dans le développement de la maladie, en particulier pour le bronchospasme (Marr, *et al.* 1998b). L'intervention des métallo-protéinases de matrice, des radicaux libres et d'autres médiateurs restent encore à étudier.

IV. Signes cliniques

1-Signalement et anamnèse

La récolte de l'anamnèse est la partie essentielle du diagnostic de souffle. Les chevaux atteints sont des chevaux d'âge mûr, âgés d'au moins 7 ans. Ils sont présentés le plus souvent pour toux et/ou jetage chronique et/ou difficulté respiratoire ne rétrocédant pas aux antibiotiques. Souvent, ces chevaux présentent également de l'intolérance à l'exercice. Les symptômes sont chroniques (plusieurs semaines à plusieurs années) et ont tendance à se dégrader avec le temps(Dixon, *et al.* 1995b).

Les signes cliniques sont souvent exacerbés après l'exercice et pendant les repas de fourrages, et s'améliorent lorsque le cheval est mis à l'extérieur. La maladie est cyclique et le cheval peut présenter des phases de rémission complète, le plus souvent en été, et des phases d'exacerbation de la maladie, le plus souvent en hiver. Parfois, l'apparition des signes coïncide avec un changement d'écurie, d'alimentation ou de régie(Beech 2001).

2-Symptômes cliniques

Les signes cliniques sont variables en fonction de la sévérité de la maladie et de l'exposition à des antigènes. Il est à noter que les chevaux atteints de souffle peuvent paraître complètement normaux lorsqu'ils sont en phase de rémission, c'est à dire, lorsqu'ils n'ont pas été stimulés par des antigènes depuis plusieurs semaines. Les principaux signes sont(Beech 2001):

- tachypnée, tachycardie,
- toux,
- jetage muco-purulent blanchâtre à jaunâtre, très riche en neutrophiles,
- absence de fièvre
- difficulté respiratoire, surtout expiratoire, avec augmentation de amplitude du mouvement thoracique et pousse abdominale marquée (« souffle » ou « pousse »),
- dilatation des naseaux à l'inspiration,
- mouvement de l'anus synchrone de la respiration, dû aux variations de pressions abdominales,

- hypertrophie des muscles obliques externes de l'abdomen en phase chronique, liée à l'excès de travail de ces muscles durant l'expiration,
- maigreur, souvent sans anorexie, liée à l'excès d'énergie consommée par les muscles respiratoires chez les chevaux les plus sévèrement atteints.

Un score clinique a été validé, qui montre une bonne corrélation avec la fonction respiratoire des chevaux en crise de souffle, en utilisant le degré d'amplitude du mouvement thoracique et le degré de dilatation nasale(Robinson, *et al.* 2000).

3-Auscultation respiratoire au sac

Celle-ci est marquée par une augmentation de l'aire d'auscultation pulmonaire, la présence de sifflements trachéaux marqués, ainsi que de sifflements et de crépitements diffus sur toute l'aire pulmonaire, particulièrement en fin d'expiration. Le cheval démontre souvent une tolérance limitée au sac, et développe rapidement des quintes de toux (Beech 2001).

Quand la difficulté respiratoire est importante, la pose d'un sac respiratoire n'est pas nécessaire car l'amplitude respiratoire est déjà largement augmentée. Cette méthode devient même dangereuse car elle accentue l'hypoxémie.

4-Percussion thoracique

Les seules anomalies observables à la percussion thoracique sont l'augmentation de l'aire de percussion et l'augmentation du tympanisme. Ces 2 changements sont liés à l'hyper-inflation alvéolaire observée chez les chevaux atteints de souffle.

V. Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel du souffle inclut la plupart des maladies respiratoires ou non, induisant toux, jetage et/ou difficulté respiratoire chez les chevaux adultes (Wilson et Lofstedt 2001). La liste qui suit ne se veut pas exhaustive mais compile les diagnostics différentiels les plus fréquents:

1-Diagnostic différentiel des affections avec toux et/ou jetage

a) Atteinte des voies respiratoires supérieures

Lors d'atteinte des voies respiratoires supérieures, il n'y a pas de modification de l'auscultation ni de la percussion pulmonaire. Les principales maladies correspondantes sont :

- Infection virale des voies respiratoires supérieures (grippe, rhinopneumonie) :Ce sont des maladies d'apparition aiguë et de courte durée (5 à 7 jours) qui engendrent une fièvre intense et affectent plusieurs chevaux dans l'écurie. Le diagnostic se fait par sérologie.
- Sinusite :le jetage est souvent unilatéral et très abondant. Il n'y a pas de toux. Le diagnostic se fait par radiographie et sinusoscopie.
- Empyème des poches gutturales :le jetage est souvent unilatéral, et présent seulement quand le cheval penche la tête vers le bas. Il n'y a pas de toux. Le diagnostic se fait par endoscopie.
- Pharyngite : c'est une maladie rare chez les chevaux d'âge mûr. Le diagnostic se fait par endoscopie.
- Gourme : c'est une maladie contagieuse (*Streptococcus equi*), qui affecte souvent plusieurs chevaux dans l'écurie. Le jetage est accompagné de la déformation des nœuds lymphatiques mandibulaires et rétro-pharyngiens. Le diagnostic se fait par culture de l'organisme dans les sécrétions.

b) Atteinte des voies respiratoires inférieures

- Maladie inflammatoire des voies respiratoires : c'est une maladie récemment définie(Robinson 2001), qui semble très proche du souffle. La principale différence est que celle-ci affecte des chevaux plus jeunes qui souffrent d'intolérance, de toux et de

jetage à l'effort, sans signes cliniques au repos. Le fait que cette maladie soit une étape préliminaire du souffle est controversé.

- Pneumonie bactérienne, pleuropneumonie :ce sont des maladies infectieuses qui engendrent de la fièvre,ainsi que des modifications hématologiques et radiologiques, qui permettent de les différencier du souffle.
- Pneumonie interstitielle :c'est un syndrome dont l'étiologie reste imprécise, qui est accompagné de modifications marquées de l'hématologie et des radiographies pulmonaires. Les animaux atteints présentent souvent de la fièvre.
- Pneumonie virale :c'est une complication rare des infections virales des voies respiratoires supérieures. Elle est d'apparition aiguë et accompagnée de fièvre intense.
- Pneumonie fongique :c'est une maladie opportuniste qui affecte le plus souvent des animaux débilités par une autre maladie telle qu'une entérocolite. Les pneumonies fongiques sont souvent asymptomatiques et se révèlent comme des trouvailles d'autopsie.
- Tumeur thoracique :c'est une maladie rare chez les chevaux. Le diagnostic est souvent radiographique. Des biopsies pulmonaires peuvent aussi être réalisées.

c) Atteinte non respiratoire

- Insuffisance cardiaque gauche ou congestive : l'insuffisance cardiaque est très rare chez le cheval et est souvent accompagnée d'une tachycardie marquée et d'un souffle cardiaque. Les radiographies thoraciques mettent en évidence de l'œdème, et l'échocardiographie permet souvent de poser le diagnostic définitif.

2-Diagnostic différentiel de difficulté respiratoire (dyspnée)

a) Atteinte des voies respiratoires supérieures

Lors d'atteinte des voies respiratoires supérieures, il n'y a pas de modification de l'auscultation ni de la percussion pulmonaire. La plupart des maladies citées ci-dessous induisent le plus souvent des difficultés respiratoires à l'effort. La présence de difficulté respiratoire au repos nécessite que la condition soit très sévère. De plus la difficulté est plus marquée à l'inspiration et est souvent à l'origine d'un râle inspiratoire.

Le diagnostic de ces affections se fait aisément par endoscopie.

- Hémiplégie laryngée
- Déplacement dorsal du voile du palais
- Kyste ou abcès de l'épiglotte
- Repli ary-épiglottique redondant
- Chondrite des aryténoïdes
- Masse ou corps étranger dans les cavités nasales ou le pharynx

b) Atteinte des voies respiratoires inférieures

- Pneumonie bactérienne ou pleuropneumonie sévères
- Pneumonie interstitielle
- Masse thoracique
- Collapsus ou sténose trachéale :ce sont des phénomènes rares qui peuvent être diagnostiqués à l'endoscopie.

c) Atteinte non respiratoire

Mis à part l'insuffisance cardiaque qui a déjà été décrite (p.24), les autre atteintes non respiratoires qui engendrent de la difficulté respiratoire ne sont pas associées à des anomalies à l'auscultation pulmonaire. La difficulté n'est pas liée à une insuffisance respiratoire mais à une hyperventilation et le gaz artériel montre une hyperoxémie. L'anémie, l'endotoxémie, la douleur, l'hyperthermie et l'acidose sont les causes les plus fréquentes d'hyperventilation.

VI. Diagnostic

Le diagnostic du souffle se fait d'abord par exclusion des autres causes, en particulier les causes infectieuses (pneumonies). En plus de la récolte de l'anamnèse et de l'examen clinique, qui sont les étapes les plus importantes du diagnostic, plusieurs examens complémentaires peuvent être réalisés(Beech 2001;Lavoie 1997) :

1-Hématologie

Les valeurs d'hématologie chez les chevaux atteints de souffle ne démontrent pas d'anomalies. Ce test diagnostique est utilisé pour exclure les causes infectieuses. Dans les cas d'atteinte à très long terme, une polycythémie peut être observée. C'est un phénomène d'adaptation à un état d'hypoxémie chronique.

2-Radiographie pulmonaire

Les radiographies pulmonaires des chevaux atteints de souffle sont souvent normales. Dans les atteintes chroniques, on observe parfois une accentuation de la densification bronchique, plus sévère que celle qu'on observe chez les chevaux sains du même âge. On utilise la radiographie essentiellement pour exclure les causes infectieuses ou tumorales.

3-Endoscopie des voies respiratoires

C'est un examen de routine dans l'évaluation des problèmes respiratoires chez le cheval. Dans le cas du souffle, l'endoscopie révèle une accumulation de mucus dans la trachée ainsi qu'un épaississement de la muqueuse au niveau de la bifurcation trachéo-bronchique. Malheureusement, ces changements ne sont pas spécifiques et ne permettent pas de poser un diagnostic de certitude.

4-Lavage broncho-alvéolaire (LBA)

C'est la méthode de choix pour le diagnostic définitif du souffle, une fois que les causes infectieuses ont été exclues. Elle permet d'identifier la maladie dans les stades les plus précoces, mais les chevaux en rémission complète depuis longtemps ne démontrent pas d'anomalies au LBA. Sous légère sédation, les petites voies respiratoires ainsi que les alvéoles d'un segment pulmonaire sont lavées avec une quantité définie de solution saline isotonique (250 à 500 ml). Cette technique peut être réalisée à l'aveugle avec une sonde

6-Biopsies pulmonaires et bronchiques

Il y a une très bonne corrélation entre les changements histologiques observés sur les biopsies pulmonaires et la sévérité des signes cliniques des chevaux atteints de souffle. Toutefois, c'est une technique difficile à réaliser chez des chevaux en tachypnée voire en détresse respiratoire, et il existe des risques importants de saignements. C'est pourquoi cette méthode n'est pas recommandée de routine.

Les biopsies bronchiques sont plus faciles et plus sûres à réaliser par la voie endoscopique. Malheureusement, les résultats obtenus sont faiblement corrélés avec les résultats de biopsies pulmonaires (Lavoie 1997).

7-Tests de sensibilité intradermiques

Étant donnée la nature allergique de la maladie, la détection des antigènes spécifiques responsables de la maladie a été un sujet de recherche prisé. L'utilisation des tests d'hypersensibilité cutanée à différents allergènes est très controversée (Beech et Gunson 1981;McGorum, *et al.* 1993a). Les chevaux normaux ont une réaction positive à de nombreux allergènes, et il y a peu de corrélation entre les tests intradermiques et les tests d'inhalation d'antigènes chez les chevaux atteints de souffle, ce qui rend l'interprétation des résultats très difficile.

8-Dosages d'IgE sériques

Des kits de dosage des IgE sériques dirigées contre certains antigènes sont disponibles commercialement. Toutefois, différentes études n'ont pas pu prouver de différence dans les résultats entre les chevaux normaux et atteints de souffle (Halliwell, *et al.* 1993;Schmallenbach, *et al.* 1998).

9-Mesures de fonction respiratoire

Ce sont des méthodes d'évaluation objective de la fonction respiratoire du cheval par des études de pression et de débit de fluide(Hoffman 2002). En positionnant un pneumotachographe associé à un transducteur de pression devant le nez du cheval, on peut évaluer les débits d'air inspiré et expiré à tout moment du cycle respiratoire. L'intégration des données par ordinateur permet d'obtenir le volume courant, le volume-

minute,la fréquence respiratoire, les temps d'inspiration et d'expiration, ainsi que des courbes débit/volume. Ces dernières semblent avoir une forme concave caractéristique chez les chevaux atteints de souffle, associée à une augmentation de la fréquence respiratoire et du volume-minute (Petsche, *et al.* 1994).

En plaçant un ballon relié à un transducteur de pression dans la portion intra-thoracique de l'œsophage du cheval, on peut mesurer les variations de pression intra-pleurale lors des mouvements respiratoires. La variation maximale de pression intra-pleurale entre l'inspiration et l'expiration (ΔPpl) est un indicateur de la force que le thorax doit fournir pour créer un mouvement d'air. C'est donc une mesure du degré d'obstruction des voies respiratoires (Derksen et Robinson 1980). Les chevaux atteints de souffle sont considérés comme cliniquement atteints quand la ΔPpl est supérieure à 15 cm d'eau. Mais la ΔPpl est soumise à de nombreuses variations méthodologiques et physiologiques qui la rendent difficile à interpréter seule.

L'intégration des différentes données de pression, débit et volume selon des modèles mathématiques précis permet de calculer les valeurs de résistance, d'élastance et d'inertance pulmonaires. L'équation de mouvement est une équation à régression multiple sur un modèle à un compartiment. A chaque instant,

$$Ppl = (E_L \times V) + (R_L \times V') + (I \times V'') = (E_L \times V) + (R_L \times V') + K$$

avec Ppl :pression intra-pleurale (cm H_2O)

E_L :élastance pulmonaire (cm H_2O/l)

V :volume d'air (l)

R_L :résistance pulmonaire (cm H_2O/l/s)

V' :Débit d'air = dV/t (l/s)

I :inertance pulmonaire (cm H_2O/l/s^2)

V'' :accélération de l'air = dV'/t (l/s^2)

K :pression intra-pleurale en fin d'expiration (cm H_2O).

R_L correspond à la résistance des voies respiratoires aux mouvements d'air, du fait de la présence de mucus ou de bronchoconstriction. E_L est une mesure de la résistance du tissu pulmonaire à l'expansion par le volume d'air, liée au remodelage tissulaire. Il est prouvé que la résistance et l'élastance pulmonaires sont augmentées chez les chevaux atteints de souffle.

Toutefois, ces mesures ne sont pas indicatives de la localisation ni de la nature de l'obstruction des voies respiratoires. De plus, ce sont des mesures peu sensibles : on observe des variations significatives seulement chez les chevaux cliniquement atteints de façon évidente(Robinson, *et al.* 2000). Les mesures de fonction respiratoire sont donc peu utiles dans le cadre du diagnostic clinique de la maladie, mais elles restent un outil

C’est pourquoi il a été abandonné dans le diagnostic de routine des chevaux atteints de souffle. Cependant, il est toujours utilisé dans le contexte expérimental, pour démontrer la réversibilité de la maladie.

12-Mesure de gaz sanguin artériel

Chez les chevaux en phase d’exacerbation de la maladie, on peut rencontrer une hypoxémie sévère, jusqu’à 40 à 50 mm Hg(Dixon, *et al.* 1995a). Quand les échanges respiratoires sont suffisamment compromis, celle-ci s’accompagne d’une légère hypercapnie (50 à 55 mm Hg). Ces changements ne sont pas du tout spécifiques de la maladie et la mesure de gaz sanguin artériel n’est utilisée que dans le but d’évaluer le degré de dysfonction respiratoire et d’adapter le traitement (oxygénothérapie, broncho-dilatateurs) en phase aiguë de la maladie. Les chevaux atteints, mais en phase de rémission, ne présentent le plus souvent aucune anomalie au niveau du gaz sanguin artériel.

VI. Traitement

1-Contrôle de l'environnement

Étant donnée la nature allergique de la maladie, éviter l'exposition aux antigènes semble le meilleur moyen de la contrôler. Mais, malgré les nombreuses recherches effectuées dans ce domaine, il est très difficile d'identifier un antigène responsable, et la maladie semble reliée à différents facteurs. Il semble que les allergènes contenus dans le foin et la litière sont les plus importants(Art, *et al.* 2002). C'est pourquoi, le traitement le plus efficace du souffle est de diminuer l'exposition du cheval aux poussières inhalées en le gardant en permanence au pâturage et en substituant au foin des fourrages alternatifs moins poussiéreux tels que l'herbe, le foin hydroponique, les granulés ou les cubes de luzerne, voire même l'ensilage(Thomson et McPherson 1984). Le fait de tremper le foin avant de le distribuer enlève une partie des poussières, mais semble une solution moins efficace que les précédentes. Si le cheval ne peut être gardé en permanence au pâturage, il faut lui fournir une litière non poussiéreuse (gros copeaux de bois, tourbe, papier, plastique,...), et veiller à la ventilation de l'écurie. Il semble que le fait de sortir le cheval pendant les périodes ou les écuries sont nettoyées et lors de la manipulation du foin et des fourrages évite une partie de l'exposition aux allergènes. Le changement d'environnement engendre une amélioration de la fonction respiratoire en 3 jours (Jackson, *et al.* 2000) et une rémission complète en 4 à 24 jours.

2-Glucocorticoïdes

Malheureusement, le contrôle de l'environnement ne peut pas être réalisé dans tous les cas(Aviza, *et al.* 2001;Dixon, *et al.* 1995d). C'est pourquoi le traitement médical s'avère une alternative. Étant donnée la nature inflammatoire de la maladie, l'utilisation d'anti-inflammatoires a été largement étudiée. Alors que les anti-inflammatoires non stéroïdiens ne semblent pas efficaces (Gray, *et al.* 1989), les glucocorticoïdes sont les molécules de choix pour le traitement du souffle.

Plusieurs glucocorticoïdes ont été prouvés efficaces dans l'amélioration clinique et la diminution de l'inflammation des voies respiratoires. Une injection de triamcinolone 0,09 mg/kg par voie intramusculaire (IM) améliore la fonction respiratoire des chevaux

atteints de souffle pendant plus de 3 semaines(Lapointe, *et al.* 1993). La dexaméthasone IV à 0,04mg/kg (Lavoie, *et al.* 2002) et 0,1 mg/kg (Robinson, *et al.* 2002;Rush, *et al.* 1998b), ou IM à 0,04 mg/kg (Robinson, *et al.* 2002) améliore les signes cliniques en moins de 3 jours.

L'usage de ces médicaments est limité par la crainte de nombreux effets secondaires dont le plus important chez le cheval est la fourbure. C'est pourquoi, comme pour les humains atteints d'asthme, des méthodes de distribution locale par inhalation ont été développées pour optimiser la concentration du principe actif au site d'action tout en minimisant les effets secondaires systémiques. Différentes techniques telles que la nébulisation, les inhalateurs à dose fixe par masque ou par pistolet, les inhalateur de poudre sèche, ont été essayées (Lavoie 1997). La béclométhasone à différentes doses(Ammann, *et al.* 1998;Rush, *et al.* 1998a;Rush, *et al.* 1998b;Rush, *et al.* 2000), ainsi que la fluticasone(Viel, *et al.* 1999) ont été démontrées efficaces en 3 à 7 jours. Par contre l'amplitude et la rémanence des effets semblent moins importantes qu'avec la dexaméthasone et les résultats concernant la neutrophilie pulmonaire sont contradictoires. De plus, il semble qu'il existe un effet systémique des médicaments inhalés puisqu'ils sont responsables d'un certain degré d'hypocorticisme (suppression surrénalienne). Quoi qu'il en soit, cette alternative semble prometteuse dans le traitement du souffle, mais les contraintes financières et techniques de l'administration la rendent difficile à appliquer sur le terrain.

3-Broncho-dilatateurs

Il est clair que le bronchospasme joue un grand rôle dans la pathogénie du souffle. C'est pourquoi les broncho-dilatateurs offrent un soulagement rapide et efficace de l'obstruction respiratoire chez les chevaux atteints de souffle. Toutefois, étant donné qu'ils ne traitent pas la cause primaire, leur effet reste limité dans le temps s'ils ne sont pas accompagnés d'autres thérapies telles que les glucocorticoïdes ou le contrôle de l'environnement.

Certains broncho-dilatateurs utilisés par voie systémique tels que l'atropine, qui est un anticholinergique puissant (Broadstone, *et al.* 1988), la théophilline(McKiernan, *et al.* 1990) et la pentoxifylline (Leguillette, *et al.* 2002), qui sont des méthylxanthines, et le

clenbutérol, qui est un β_2-agoniste (Erichsen, *et al.* 1994), ont démontré leur efficacité. Malheureusement, les effets secondaires associés préviennent l'utilisation de la plupart d'entres eux en pratique. Seul le clenbutérol est utilisé couramment, avec des résultats qui restent controversés(Traub-Dargatz, *et al.* 1992).

Les broncho-dilatateurs sont plus souvent utilisés par inhalation. Des anticholinergiques tels que l'ipratropium (Robinson, *et al.* 1993), et des β_2-agonistes tels que l'albutérol (Derksen, *et al.* 1999), le pirbutérol (Derksen, *et al.* 1996), le formoterol (Tesarowski, *et al.* 1994), le salmeterol (Henrikson et Rush 2001), ont été prouvés efficaces. L'inconvénient majeur de ces molécules reste leur faible durée d'action qui fait qu'elles doivent être administrées 4 à 12 fois par jour.

4-Mucokinétiques

Bien qu'ils soient utilisés couramment par les praticiens, il y a peu de données objectives concernant l'utilisation de mucokinétiques dans le traitement du souffle ni leur efficacité chez le cheval en général(Dixon 1992). Il semble que le clenbutérol ait des propriétés mucokinétiques intéressantes (Turgut et Sasse 1989). De même pour la dembrexine et l'iodide de potassium, mais leur efficacité dans le souffle n'a pas été démontrée. Les nébulisations de saline ou d'acétylcystéine ont aussi été proposées. Enfin, une technique d'hyper-hydratation intraveineuse permettrait de fluidifier le mucus et de favoriser ainsi son expectoration(Jean, *et al.* 1996). Cette méthode bien que présentant des risques, pourrait être utile dans le traitement des cas réfractaires aux autres thérapies; mais les résultats obtenus sur des chevaux atteints de souffle ont été décevants.

5-Stabilisateurs de membranes

Les antihistaminiques, bien que très efficaces chez les humains atteints d'asthme, ne semblent pas être utiles dans le cas du souffle, dont l'inflammation est plus médiée par les neutrophiles que par les éosinophiles.

D'autres stabilisateurs de membranes, tels que le cromoglycate de sodium, ont été testé chez le cheval, mais les résultats sont controversés (Thomson et McPherson 1981).

6-Le futur des traitements

La recherche s'oriente vers des traitements anti-inflammatoires plus spécifiques qui cibleraient plus précisément les facteurs pathogéniques de la maladie, tout en limitant les effets secondaires. En s'inspirant des recherches sur l'asthme, les inhibiteurs des leucotriènes semblent des molécules prometteuses. Toutefois, les résultats cliniques n'ont pas été concluant pour l'instant(Lavoie, *et al.* 2002;Marr, *et al.* 1998a).

VIII. Pronostic

D'après de nombreuses études, le souffle est une maladie réversible et relativement facile à traiter. Après 6 semaines de traitement (changement d'environnement +/-broncho-dilatateurs), 50% des chevaux étaient en rémission, et 36% de plus étaient nettement améliorés(Dixon, *et al.* 1995d). Pourtant, dans une étude à plus long terme, 79% des chevaux atteints souffraient de récurrences épisodiques de la maladie, et 52% des propriétaires pensaient que la maladie affectait négativement leurs performances (Aviza, *et al.* 2001). Par contre le pronostic vital semble favorable, étant donné que la demi-vie médiane a été estimée supérieure à 8 ans après le diagnostic de la maladie.

B. L'utilisation des glucocorticoïdes chez le cheval

I. Définitions

1-Les glandes surrénales et la production d'hormones

Les corticostéroïdes sont des hormones produites par le cortex surrénalien à partir du cholestérol. Elles se divisent en trois catégories :

- l'aldostérone, produite dans la zone glomérulée, qui a une action minéralocorticoïde et participe à la régulation hydrique et électrolytique au niveau rénal,

- les hormones glucocorticoïdes, produites dans les zones fasciculée et réticulée, dont le chef de file est le cortisol ou hydrocortisone, autrement appelé hormone du stress,

- les stéroïdes sexuels (androgènes et oestrogènes), produits en faible quantité. Les hormones sont transportées dans le sang sous forme liée à des protéines plasmatiques comme l'albumine et la transcortine. Puis elles sont métabolisées par le foie et excrétées dans l'urine.

2-L'axe hypothalamo-hypophysaire

La production et la sécrétion des glucocorticoïdes sont régulées par l'axe hypothalamo-hypophysaire. L'hypothalamus produit le CRF (Corticotropin Releasing Factor) qui stimule l'hypophyse à relâcher l'ACTH (AdrenoCorticoTropic Hormone) ou corticotropine dans le sang, qui va à son tour stimuler les glandes surrénales. Les glucocorticoïdes circulants exercent un rétrocontrôle négatif à la fois sur l'hypophyse et l'hypothalamus, ce qui permet une auto-régulation de la sécrétion.

3-Structure et fonctions du cortisol

L'organisation moléculaire du cortisol est présentée par la Figure 1 et représente le noyau commun à tous les autres glucocorticoïdes naturels ainsi qu'aux molécules de synthèse qui en découlent.

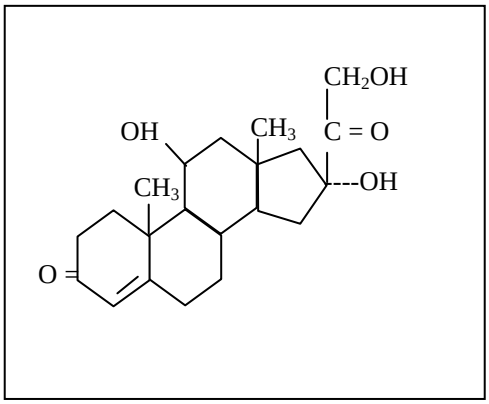


Figure 1 :structure moléculaire du cortisol.

La synthèse des glucocorticoïdes par les glandes surrénales est modulée par de nombreux stimuli externes ou internes dont le stress est le principal. Tout épisode de stress est accompagné, chez le cheval comme dans les autres espèces, par une élévation du cortisol sérique (Hoffsis et Murdick 1970). Le rôle des glucocorticoïdes est de favoriser la lutte par tous les moyens possibles contre les attaques envers l'organisme. Leur réponse est donc large et non spécifique. Elle passe par :

- une activité métabolique, concentrée vers la mise à disposition du glucose,
- une activité minéralocorticoïde, qui permet de moduler la pression sanguine,
- une activité anti-inflammatoire et immuno-modulatrice puissante, de loin la plus complexe et la plus étudiée.

C'est cette dernière action qui est recherchée lors de l'élaboration de glucocorticoïdes de synthèse, et c'est elle qui nous intéresse dans le cadre d'une étude sur le traitement du souffle.

II. Mode d'action des glucocorticoïdes *(Ferguson et Hoenig 2001)*

1-Inhibition de la phospholipase A2

Jusqu'à il y a peu de temps, on considérait que le principal mode d'action des glucocorticoïdes se traduisait par l'inhibition de la phospholipase A2, principale enzyme de la cascade arachidonique. Celle-ci transforme les phospholipides membranaires en acide arachidonique, qui est le précurseur des écosanoïdes. A partir de l'acide arachidonique, les cyclo-oxygénases produisent les prostaglandines, prostacyclines, thromboxanes, et la lipoxygénase produit les leucotriènes, les lipoxines. Les glucocorticoïdes inhibent donc la formation de toutes ces molécules, dont la plupart sont pro-inflammatoires. Ils inhibent par la même la production du PAF qui utilise la même voie enzymatique. Mais ce mode d'action n'est qu'une des nombreuses voies de l'activité anti-inflammatoire des glucocorticoïdes. En effet, certains de leurs effets anti-inflammatoires sont présents sans action sur la phospholipase A2 (Lane, *et al.* 1990).

2-Modulation de la transcription génomique

Les glucocorticoïdes sont liposolubles et traversent donc aisément la membrane pour avoir une action intracellulaire. Dans le cytoplasme, ils se lient à des protéines réceptrices appelées GR (Glucocorticoïd-Receptor). Celles-ci sont présentes dans toutes les lignées cellulaires et leur permettent d'entrer à l'intérieur du noyau et de se lier à des segments cibles d'acide désoxyribonucléique (ADN) dans les zones promotrices de l'expression génique. C'est par la modulation de l'expression de ces gènes promoteurs que les glucocorticoïdes agissent, soit par stimulation, soit par inhibition de la transcription d'acide ribonucléique (ARN) messagers qui sont à l'origine de la synthèse protéique(Munk, *et al.* 1990). Dans le cas de l'inhibition de la phospholipase A2, les glucocorticoïdes favorisent la synthèse de lipocortine, qui est une molécule inhibitrice de cette enzyme.

Les glucocorticoïdes et leurs récepteurs favorisent l'expression d'autres gènes, comme celui de la protéine I-κB qui intervient à son tour dans la transcription d'autres gènes. L'I-κB est une molécule qui se lie à la protéine NF-κB (Nuclear Factor-κB), empêchant l'entrée de cette dernière dans le noyau, et donc sa liaison avec les gènes promoteurs de

la transcription de différentes cytokines inflammatoires pour en stimuler la synthèse. L'I-κB est donc une protéine régulatrice très importante de la processus de l'inflammation.

Les glucocorticoïdes, par leur liaison à l'ADN, agissent également en compétition avec certaines molécules sur les gènes promoteurs. Par exemple, ils empêchent la fixation de l'AP-1 (Activating Protein-1), un facteur de transcription positif, sur certains gènes promoteurs comme celui du NF-κB(Gonzalez, *et al.* 2000).

3-Conséquences anti-inflammatoires

C'est donc par l'inhibition de la synthèse des messagers de l'inflammation que sont les cytokines (principalement IL1, TNFα, IL2, IL3, IL4, IL5, IL10, IL12) et les écosanoïdes, que les glucocorticoïdes acquièrent leurs effets anti-inflammatoires et immuno-modulateurs. Ces effets vont de la prévention de la vasodilatation et de l'extravasation des fluides, à l'inhibition des migrations leucocytaires et de la déposition de fibrine, en passant par la réduction de synthèse et l'augmentation de l'apoptose des lymphocytes.

4-Relation structure-fonction

Il est à noter que les glucocorticoïdes agissent tous sur les mêmes récepteurs spécifiques GR, qui sont à l'origine de tous leurs effets. C'est pourquoi, leurs effets bénéfiques et toxiques sont proportionnels et principalement reliés à leur pharmacocinétique. Toutefois, par leur structure, certains glucocorticoïdes ont, en plus de leurs effets principaux, une action minéralocorticoïde du fait d'une plus grande affinité pour les récepteurs à l'aldostérone situés principalement dans les cellules du rein et du cerveau. Les effets minéralocorticoïdes consistent principalement en une rétention d'eau, de sodium, et une excrétion accrue de protons et de potassium par le rein.

III. Les différentes molécules utilisées en médecine équine

Parmi toutes les molécules connues, peu ont été étudiées du point de vue pharmacocinétique chez le cheval. La plupart des études se contentent d'évaluer les effets du principe actif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et/ou sur la glycémie pour estimer leur degré et leur durée d'action. Très peu de recherches incluent de réelles études pharmacocinétiques et leurs résultats sont parfois surprenants.

1-Dexaméthasone

La dexaméthasone (Cf. Figure 2) est de loin la molécule la plus étudiée chez le cheval. Utilisée le plus souvent sous sa forme base, elle peut être administrée par voie intraveineuse, intramusculaire ou entérale.

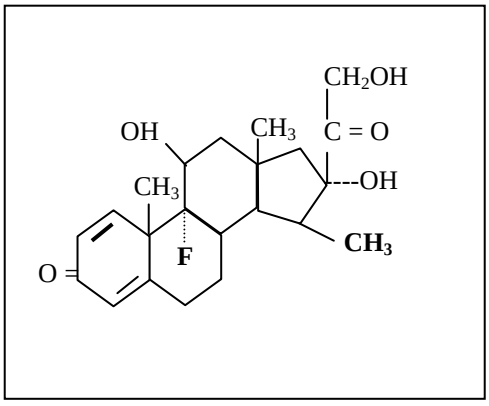


Figure 2 :Structure moléculaire de la dexaméthasone (les différences avec la structure du cortisol sont en gras)

La principale étude pharmacocinétique disponible chez le cheval compare deux formes de dexaméthasone, la forme alcoolique et la forme 21-isonicotinate, par deux voies, intraveineuse et intramusculaire, à 0,05 mg/kg (Toutain, *et al.* 1984). La demi-vie par voie intraveineuse a été évaluée à 53 minutes pour les deux formes de dexaméthasone. Après les injections intramusculaires, les concentrations de dexaméthasone étaient non détectables. Pourtant, la suppression surrénalienne associée, mesurée par le dosage de cortisol sérique, était similaire à celle obtenue par la voie intraveineuse. En effet, il a été observé une diminution marquée du cortisol sérique à partir de 2 heures, atteignant un minimum en 12 à 24 heures suivant l'injection, suivie d'un retour graduel au taux de base en 3 à 4 jours.

Plusieurs autres études ont évalué l'effet de la dexaméthasone sur la fonction surrénalienne, considérant que la cinétique de la cortisolémie devait être inversement proportionnelle à l'activité du principe actif. Dès 1979, la cinétique du cortisol après une injection intramusculaire de 20 mg de dexaméthasone avait été étudiée(Eiler, *et al.* 1979). Une étude a prouvé que la suppression était similaire malgré l'augmentation de dose jusqu'à 0,088 mg/kg par voie intramusculaire(MacHarg, *et al.* 1985). Cette étude a aussi montré qu'il n'y avait pas d'insuffisance surrénalienne après 30 jours de traitement. En effet, la réponse cortisolémique à la stimulation à l'ACTH semblait satisfaisante 8 jours après la dernière injection.

L'effet hyperglycémiant de la dexaméthasone a également été utilisé pour évaluer la cinétique de son action(Slone, *et al.* 1983). Après une injection de 0,044mg/kg de dexaméthasone par voie intramusculaire, la glycémie était maximale à 12 heures et est revenue aux valeurs de base en 2 jours. Ces observations ont conduit l'auteur à conclure que la durée des effets métaboliques de la dexaméthasone est inférieure à la durée de la suppression surrénalienne qu'elle exerce.

La cinétique de la dexaméthasone après administration entérale a été étudiée plus récemment(Maxwell, *et al.* 2003). Malheureusement, sa biodisponibilité semble très variable.

2-Triamcinolone

Une étude a définit la pharmacocinétique de l'acétonide de triamcinolone chez le cheval selon un modèle ouvert à trois compartiments(French, *et al.* 2000). Après une injection intraveineuse de 0,02 mg/kg, la triamcinolone pouvait encore être détectée dans le sang plus de 12 heures après l'injection. Mais en pratique, l'acétonide de triamcinolone est utilisée par voie intramusculaire à des dosages plus faibles. Aucune trace de triamcinolone n'a pu être détectée dans le sang après une injection intramusculaire. Pourtant, les effets sur la glycémie semblent importants et prolongés : plus de 8 jours à 0,2 mg/kg, et jusqu'à 4 jours à 0,05mg/kg. La triamcinolone semble donc avoir une demi-vie et une durée d'action plus longues que la dexaméthasone. Ceci a été en partie démontré en mesurant l'effet des deux molécules sur la glycémie et la cortisolémie(Slone, *et al.* 1983). Dans cette étude, la triamcinolone injectée par voie

intramusculaire à 0,044 mg/kg induit une hyperglycémie pendant près de 6 jours et une hypocortisolémie pendant plus de 14 jours. Dans une étude plus récente, il semble que la suppression surrénalienne après une dose de triamcinolone intramusculaire de 0,09 mg/kg est détectable plus de 4 semaines. Par contre, la réponse à la stimulation par l'ACTH est conservée(Lapointe, *et al.* 1993).

La triamcinolone est également utilisée par voie intra-articulaire, et celle-ci peut être détectée dans le sérum jusqu'à 48 heures, et entraîner une suppression surrénalienne jusqu'à 5 jours après une injection intra-articulaire de 18 mg (Chen, *et al.* 1992).

3-Prednisolone

Sous sa forme rapide (prednisolone 21-sodium succinate), la prednisolone, administrée à 0,6 mg/kg par voie intraveineuse ou intramusculaire, a une demi-vie courte (respectivement 99 et 132 minutes) mais persiste plus de 9 heures dans le plasma. Elle entraîne une suppression surrénalienne pendant 24 heures. Sous sa forme lente (prednisolone acétate), injectée à 0,6mg/kg par voie intramusculaire, la prednisolone persiste au moins 5 jours dans le plasma et exerce une suppression surrénalienne jusqu'à 21 jours après l'injection(Toutain, *et al.* 1984).

La prednisolone par voie entérale semble avoir une excellente biodisponibilité, avec un pic de concentration en 45 minutes et des concentrations détectables jusqu'à 12 heures(Peroni, *et al.* 2002).

4-Prednisone

Le seules données pharmacocinétiques sur la prednisone chez le cheval concernent son administration par voie orale(Peroni, *et al.* 2002). Celle-ci semble très mal absorbée et/ou transformée en sa forme active, la prednisolone, par le foie. Ces effets biologiques s'en trouvent donc peu intéressants.

5-Isoflupredone

L'acétate d'isofluprédone est une molécule disponible et couramment utilisée en Amérique du Nord pour le traitement des maladies inflammatoires des grands animaux. Malheureusement, il existe peu de données publiées chez le cheval. Une étude sur son utilisation intra-articulaire a montré que la molécule et ses métabolites pouvaient être retrouvés dans le sang et l'urine, respectivement 12 et 24 heures après une injection de 4 mg (Harkins 1993).

Chez les bovins, comme chez l'humain, en plus de son activité glucocorticoïde, l'isofluprédone semble avoir une activité minéralocorticoïde marquée(Sattler, *et al.* 1998;Vita, *et al.* 1987). Cette particularité semble liée à sa structure moléculaire (McDonald 1988), en particulier à l'absence de groupe méthyle en 16, ce qui la différencie de la dexaméthasone (cf. Figure 3).

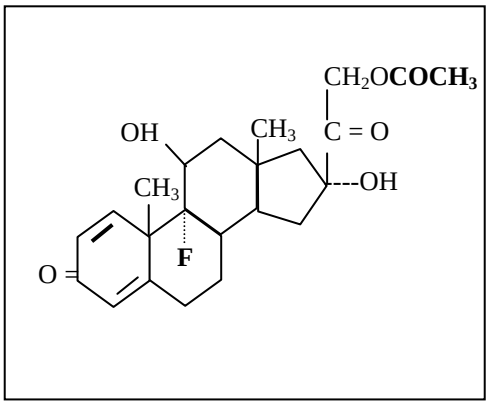


Figure 3 : Structure moléculaire de l'acétate d'isofluprédone (les différences avec la structure du cortisol sont en gras)

En conclusion, il existe peu de données pharmacologiques sur les glucocorticoïdes chez le cheval. Ainsi, les choix de principe actif, de dose et d'intervalle d'administration se font souvent empiriquement, par extrapolation des données connues chez les autres espèces. Malheureusement, en comparant les quelques données obtenues chez le cheval à celles connues chez le rat, le chien et l'homme (cf. Tableau 2), on observe de grandes disparités tant dans l'importance que dans la durée de l'activité des différentes molécules.

Tableau 2 : Effets glucocorticoïdes, anti-inflammatoires, endocriniens et minéralocorticoïdes de différentes molécules, d'après des études chez les rats et les chiens (d'après McDonald 1988 et Plumb 1999)

Principe actif	Effet glucocorticoïde	Effet anti-inflammatoire	Effet endocrinien	Effet minéralocorticoïde	Durée d'action
cortisol	1	1	+	1-2	<12h
dexaméthasone	30	30	+++	0	>48h
triamcinolone	5	5	++	0	12-36h
prednisolone	4	4	+	1	12-36h
prednisone	4	4	+	1	12-36h
isofluprédone	50	17	??	??	12-36h

IV. Utilisation et efficacité

Tout comme les études pharmacologiques, les études qui éprouvent l'efficacité des glucocorticoïdes dans différents états pathologiques du cheval sont rares. Pourtant, ces molécules sont parmi les plus utilisées dans l'arsenal thérapeutique du vétérinaire. Chez le cheval, on les utilise pour différentes maladies inflammatoires systémiques, mais aussi en administration locale.

1-Voie systémique

Les glucocorticoïdes sont utilisés dans le traitement de nombreuses affections d'origine inflammatoire chez le cheval. Par extrapolation d'études réalisées dans d'autres espèces, les glucocorticoïdes semblent être le traitement de choix des atteintes neurologiques aiguës, notamment des traumatismes du système nerveux central. Ils sont également très utilisés dans tous les phénomènes immunitaires comme les réactions anaphylactiques, le purpura hémorragique, l'anémie hémolytique, les thrombocytopénies, vasculites et myocardites immunitaires, les atopies, l'urticaire, la dermatite estivale récidivante... et le souffle. Enfin, on les retrouve aussi dans le traitements des maladies auto-immunes telles le pemphigus foliacé, ainsi que des phénomènes tumoraux tels que le lymphosarcome.

Parmi toutes ces maladies, l'efficacité des glucocorticoïdes n' a été étudié que dans le cas du souffle.

Dès 1973, la dexaméthasone a prouvé son efficacité sur la fonction respiratoire des chevaux atteints(Muylle et Oyaert 1973). Administrée par voie intraveineuse à une dose de 0,1mg/kg une fois par jour, la dexaméthasone améliore la fonction respiratoire des chevaux atteints de souffle en moins de 3 jours(Robinson, *et al.* 2002;Rush, *et al.* 1998c) et diminue le pourcentage de neutrophiles dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire en 3 à 10 jours(Robinson, *et al.* 2002;Rush, *et al.* 1998b). A une dose plus faible de 0,04 mg/kg, la dexaméthasone, qu'elle soit administrée par voie intraveineuse ou intramusculaire, semble avoir un effet sur la fonction respiratoire, mais pas sur l'inflammation broncho-alvéolaire(Lavoie, *et al.* 2002;Robinson, *et al.* 2002).

L'acétonide de triamcinolone est capable d'améliorer la fonction respiratoire de chevaux atteints de souffle pendant plus de 3 semaines grâce à une seule injection intramusculaire de 0,09 mg/kg(Lapointe, *et al.* 1993).

Par contre la prednisone administrée par voie entérale à 1 mg/kg ne semble pas avoir d'effet significatif sur la fonction respiratoire des chevaux atteints de souffle(Jackson, *et al.* 2000;Robinson, *et al.* 2002). Ces résultats sont probablement reliés à la mauvaise biodisponibilité de ce médicament par voie orale(Peroni, *et al.* 2002).

2-Voies locales

Pour limiter les effets secondaires systémiques des glucocorticoïdes et augmenter leur concentration, et donc leur efficacité au site d'action, ceux-ci sont fréquemment utilisés par voie locale chez le cheval.

Tout d'abord, dans le cadre du souffle, en se référant au modèle de l'asthme chez l'humain, plusieurs traitements par inhalation ont été testés. Parmi eux, la béclométhasone a été la plus étudiée et semble efficace pour améliorer la fonction respiratoire(Ammann, *et al.* 1998;Rush, *et al.* 1998c;Rush, *et al.* 2000) et la neutrophilie pulmonaire (Rush, *et al.* 1998b)des chevaux atteints de souffle. La fluticasone a montré elle aussi de bons résultats(Viel, *et al.* 1999).

D'autre part, une des voies d'administration les plus fréquentes des glucocorticoïdes chez le cheval est la voie intra-articulaire. Ceux-ci semblent avoir un effet bénéfique sur l'inflammation et la dégénérescence cartilagineuse(Harkins, *et al.* 1993).

Ces principes actifs sont également très utilisés en ophtalmologie équine, et notamment pour le traitement des uvéites récurrentes (Gilger 2003).

Enfin, les glucocorticoïdes sont utilisés par voie intra-lésionnelle dans des cas de granulomes éosinophiliques et de sarcoïdes.

V. Effets secondaires

L'utilisation des glucocorticoïdes chez le cheval, en particulier par voie systémique, est limitée par la crainte des effets secondaires. En plus des effets secondaires communs à toutes les espèces, tels que les effets endocriniens, immunosuppresseurs, hématologiques et électrolytiques, certains effets cliniques semblent plus spécifiques au cheval.

1-Effets cliniques

La fourbure est l'effet secondaire des glucocorticoïdes le plus appréhendé chez les vétérinaires équins. Il semble que l'utilisation de glucocorticoïdes chez le cheval est un facteur déclenchant ou favorisant l'apparition de fourbure. La fourbure est une affection ischémique du tissu podophylleux du pied qui induit un décrochement entre la troisième phalange et la boite cornée et le basculement ou la descente de la phalange dans le sabot. Elle est à l'origine d'une boiterie intense qui peut être aiguë ou chronique, très souvent réfractaire aux traitements et donc d'un pronostic réservé à sombre. L'hyperadrénocorticisme, qu'il soit naturel (syndrome de Cushing) ou iatrogénique, semble être un facteur de risque de la fourbure. Quelques cas de fourbure induite par l'administration de glucocorticoïdes à doses excessives(Cohen et Carter 1992) ou usuelles(Lose 1980;Muylle et Oyaert 1973), ont été rapportés. Pourtant, la pathogénie de ce phénomène reste encore obscure. De nombreuses expériences ont été réalisées pour comprendre le mécanisme de l'induction de la fourbure par les glucocorticoïdes. Plusieurs hypothèses ont été émises, telles que la potentialisation de la vasoconstriction induite par les catécholamines(Eyre, *et al.* 1979), l'angio-oedème induit par la rétention de sodium(Slone, *et al.* 1981), la diminution du métabolisme du glucose(French, *et al.* 2000;Pass, *et al.* 1998). Malheureusement, aucune d'entre elles n'est complètement démontrée et il n'a jamais été possible de reproduire expérimentalement le phénomène(French, *et al.* 2000).

D'autres effets secondaires cliniques de l'administration de glucocorticoïdes peuvent être craints chez le cheval. Un cas d'hépatopathie induite par la triamcinolone a été décrit(Cohen et Carter 1992). D'autre part une étude a démontré que la triamcinolone inhibait le métabolisme osseux et pouvait donc être à l'origine d'ostéopénie(Lepage, *et al.* 1993).

2-Effets endocriniens

Le principal effet endocrinien des glucocorticoïdes est le rétrocontrôle négatif qu'ils exercent sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. L'administration de glucocorticoïdes à un cheval induit une diminution marquée de la production de CRF et d'ACTH et donc une diminution du cortisol sérique qui signe une suppression surrénalienne. Cet effet est d'ailleurs utilisé dans le test de suppression surrénalienne pratiqué pour diagnostiquer l'hyperadrénocorticisme(Dybdal 2001). Cet effet a été démontré pour la dexaméthasone(Eiler, *et al.* 1979), la triamcinolone(Lapointe, *et al.* 1993;Slone, *et al.* 1983), la prednisolone(Toutain, *et al.* 1984), et même pour la béclométhasone utilisée par inhalation(Rush, *et al.* 1998a). Par contre, aucun des chevaux utilisés dans ces études n'a démontré des signes cliniques d'insuffisance surrénalienne tels que de l'anorexie, de la dépression ou de la faiblesse musculaire. De plus, bien que plusieurs cas aient été suspectés(Kirk 1974), aucun cas d'hypoadrénocorticisme n'a pu être réellement démontré chez le cheval.

L'effet des glucocorticoïdes sur l'axe hypothalamo-hypophysaire semble transitoire, puisque les valeurs de cortisol sérique reviennent dans les normales en moins de 28 jours après l'arrêt des traitements. De plus les tests de stimulation à l'ACTH induisent une augmentation significative du cortisol sérique, ce qui démontre l'absence d'atrophie surrénalienne(Lapointe, *et al.* 1993;MacHarg, *et al.* 1985).

3-Effets immunosuppresseurs

En temps qu'anti-inflammatoires puissants, les glucocorticoïdes ont des effets non négligeables sur la fonction immunitaire. Dans le rappel de leur mode d'action, nous avons vu qu'ils inhibaient la production de nombreuses cytokines, ce qui leur donne un effet immuno-modulateur puissant. Une étude réalisée in vitro sur des cellules immunitaires équines a montré que la dexaméthasone administrée par voie intraveineuse à 0,1 mg/kg induisait une suppression de l'immunité cellulaire(Tarr et Olsen 1978). La conséquence clinique que l'on peut craindre suite à une immunosuppression est la prédisposition aux infections. Des pneumonies bactériennes secondaires à l'administration de glucocorticoïdes ont d'ailleurs été rapportées(Mair 1996). C'est

pourquoi il est recommandé d'exclure la présence d'un foyer infectieux avant d'entamer un traitement glucocorticoïde, chez le cheval comme dans les autres espèces.

4-Effets hématologiques

Les effets des glucocorticoïdes sur la formule sanguine ont été parfaitement décrits chez le cheval et sont communément appelés « formule de stress ». L'administration de glucocorticoïdes induit une leucocytose neutrophilique, une lymphopénie et une éosinopénie pendant 10 à 18 heures(Eiler, *et al.* 1979;Osbaldiston et Johnson 1972). La neutrophilie semble reliée à une démargination des neutrophiles circulants, ainsi qu'à une stimulation de la production par la moëlle osseuse. La lymphopénie est associée à la redistribution des lymphocytes dans les organes lymphoïdes secondaires, une diminution de leur demi-vie, ainsi qu'une inhibition de leur production(McDonald 1988).

5-Effets minéralocorticoïdes

Nous avons vu précédemment que les glucocorticoïdes, dépendamment de leur structure moléculaire, pouvaient avoir plus ou moins d'affinité pour les récepteurs à l'aldostérone, et donc plus ou moins d'effets minéralocorticoïdes. Ces effets, qui se traduisent principalement par une hypernatrémie et une hypokaliémie, ont été très peu étudiés chez le cheval. Après une ablation bilatérale des surrénales, 4 chevaux ont survécu plus de 11 jours grâce à l'administration de glucocorticoïdes(Slone, *et al.* 1983). Dans cette expérience, l'utilisation de dexaméthasone ou de triamcinolone a permis de contrôler des crises d'hyperkaliémie et d'hyponatrémie sévères, ce qui prouve le potentiel minéralocorticoïde de ces deux molécules. Une autre étude a relaté la présence d'hypokaliémie sur 4 de 7 chevaux traités à la dexaméthasone(Straub et Gerber 1975). Par contre, Eiler a rapporté une augmentation significative de la kaliémie quelques heures après l'administration de 20 mg de dexaméthasone par voie intramusculaire. Ce changement a été attribué aux effets cataboliques des glucocorticoïdes sur les tissus musculaires(Eiler, *et al.* 1979).

Les effets minéralocorticoïdes de l'acétate d'isofluprédone n'ont pas encore été étudiés chez le cheval. Par contre, chez l'humain, cette molécule semble avoir des effets aussi puissants que l'aldostérone(Vita, *et al.* 1987). De même, chez les bovins, l'administration

de glucocorticoïdes, en particulier l'isofluprédone, semble être un facteur de risque pour le développement d'hypokaliémie sévère pouvant entraîner des myopathies et même la mort de certains animaux(Peek, *et al.* 2000;Sattler, *et al.* 1998;Sielman, *et al.* 1997). Le syndrome a pu être reproduit expérimentalement en associant le jeûne à l'administration répétée d'isofluprédone(Sattler, *et al.* 2002).

En conclusion, la majorité des connaissances accumulées sur l'utilisation des glucocorticoïdes chez le cheval sont issues de l'extrapolation et de l'expérience clinique. Il existe toutefois quelques recherches prospectives sur l'administration des glucocorticoïdes chez le cheval, en particulier dans le domaine du souffle. Mais de nombreuses questions restent sans réponses au sujet de la pharmacocinétique et de l'efficacité et la toxicité relatives des différentes molécules à différents dosages.

ETUDE EXPERIMENTALE

A. Raisons, objectifs et hypothèses

I. Raisons de l'étude

L'étude bibliographique sur le souffle et les glucocorticoïdes chez le cheval nous a montré que, bien que plusieurs molécules aient démontré leur efficacité dans contrôle du souffle, l'arsenal thérapeutique reste limité et les informations concernant les dosages sont restreintes. Plusieurs glucocorticoïdes présents sur le marché sont utilisés en pratique sans que des informations sur leur efficacité ou leur innocuité aient été publiées. On s'est rendu compte dans des études récentes, qu'une molécule utilisée couramment depuis plusieurs années, la prednisone par voie orale, avait une efficacité très limitée liée à une biodisponibilité réduite. L'acétate d'isofluprédone est elle aussi une molécule très utilisée par les cliniciens, avec des résultats qui semblent favorables. De plus, sa voie d'administration intramusculaire la rend pratique d'utilisation pour les propriétaires. Malheureusement, le syndrome d'hypokaliémie relié à l'administration d'isofluprédone défini récemment chez les bovins nous a fait craindre le même genre d'effets secondaires chez le cheval.

II. Objectif de l'étude

L'objectif de cette étude était donc d'évaluer l'efficacité et l'innocuité de l'acétate d'isofluprédone chez les chevaux atteints de souffle, en les comparant à celles de la dexaméthasone, qui est la molécule de choix pour le traitement de cette maladie. Il était fondé sur trois hypothèses.

III. Hypothèses préliminaires

a) L'efficacité de l'isofluprédone pour améliorer la fonction respiratoire des chevaux atteints de souffle est comparable à celle de la dexaméthasone.

b) Les effets secondaires cliniques, endocriniens, et hématologiques de l'isofluprédone sont comparables à ceux de la dexaméthasone chez les chevaux atteints de souffle.

c) Les effets minéralocorticoïdes de l'isofluprédone sont plus importants que ceux de la dexaméthasone chez les chevaux atteints de souffle.

B. Matériel et méthodes

Toutes les procédures expérimentales ont été réalisées en accord avec les recommandations du Canadian Council for Animal Care et approuvées par le Comité d'Utilisation des Animaux de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Montréal.

I. Animaux

Pour cette étude, 12 chevaux ont été utilisés : 7 femelles et 5 hongres, âgés de 12 à 25 ans. La répartition des races était comme suit : 5 Quarter-horses, 3 croisés, 2 Standardbreds, 1 Thoroughbred, et 1 Arabe.

Le principal critère d'inclusion pour la participation à l'étude était un diagnostic de souffle. Celui-ci était fondé sur une histoire et des signes cliniques compatibles, l'exclusion d'autres problèmes respiratoires par une hématologie, des radiographies pulmonaires, et une endoscopie des voies respiratoires, et des mesures de fonction respiratoire et une cytologie de lavage broncho-alvéolaire compatibles avec le souffle.

En particulier, les chevaux n'ont été admis dans l'étude que s'ils présentaient une ΔPpl supérieure à 15 cm d'H_2O au début de l'étude.

Un des chevaux présentait une hémiplégie laryngée de grade 4 à l'endoscopie des voies respiratoires, mais la présence d'une réversibilité complète de l'obstruction respiratoire au pâturage ainsi qu'après l'administration de broncho-dilatateurs, a prouvé que cette anomalie ne participait pas de manière sensible à l'obstruction respiratoire de ce cheval, et n'interférait donc pas avec les mesures de fonction respiratoire au repos.

L'ensemble des chevaux de l'étude était vacciné et vermifugé sur une base régulière et n'avait reçu aucun traitement pendant les 2 mois précédant le début de l'étude. Préalablement à l'étude, ils ont été habitués à être maintenus immobiles dans un travail et à supporter un masque facial et un ballonnet œsophagien.

II. Environnement

Trois semaines avant le début de l'étude, les chevaux ont été placés dans la même écurie peu ventilée. Les conditions de température et d'hygrométrie ont été contrôlées et sont restées stables pendant toute la durée de l'étude. Les chevaux étaient nourris avec du foin de graminées sec et des concentrés deux fois par jour. La litière était faite de paille et les chevaux étaient autorisés à sortir deux heures par jour dans un petit paddock. Du foin moisi était secoué devant eux tous les jours. Les conditions sont restées les mêmes pendant toutes la durée de l'expérimentation.

III. Mesures de fonction respiratoire

Les mesures de débit d'air inspiré et expiré ont été obtenues à l'aide d'un pneumotacographe[1] chauffé associé à un transducteur de pression différentiel[2], installés sur un masque. Le masque était placé sur le nez du cheval quelques minutes avant le début de l'enregistrement des mesures. L'intégration électronique du signal de débit en fonction du temps nous a fourni les mesures de volume courant (V). Avant chaque série de mesures, le système était calibré en soumettant le pneumotacographe à des débits d'air connus entre 0 et 10 l/s.

La pression intrapleurale (Ppl) était mesurée par un transducteur de pression différentiel[3] en soustrayant la pression dans le masque de la pression œsophagienne. La pression œsophagienne était mesurée avec un ballon scellé autour d'un cathéter en polyéthylène (diamètre interne 4,8 mm; diamètre externe 7,9 mm) placé dans le tiers distal de l'œsophage. Le ballon était distendu avant chaque mesure avec 5 ml d'air. Pour chaque cheval, la position du ballon œsophagien était ajustée pour obtenir le maximum de variation de pression entre l'inspiration et l'expiration, ainsi que pour éviter les artéfacts liés aux mouvements cardiaques. La position optimale du ballon a été notée, et la même position a été utilisée pour chaque cheval tout au long de l'étude. Avant chaque série de mesure, le transducteur était calibré à l'aide d'un manomètre à eau.

---

[1] Fleisch No.4, Oern Medical, Richmond, Virginia, USA.
[2] Model 143PC03D, Micro switch, Honeywell, Scarborough, Ontario, Canada.
[3] Model HCXPM005D6V, Sensor Tecnics, Newport News, Virginia, USA.

Les signaux provenant des deux transducteurs étaient amplifiés et traités simultanément par un convertisseur analogique/digital et envoyés à un ordinateur équipé d'un logiciel d'acquisition et de traitement de données[4]. Le programme fournissait, pour chaque respiration, des valeurs de volume courant, de volume minute, de fréquence respiratoire, de temps d'inspiration et d'expiration et de ΔPpl. Les valeurs de résistance (R_L) et d'élastance (E_L) pulmonaires étaient obtenues par l'équation :

$$P_L = (E_L \times V) + (R_L \times V') + K$$

Ou V est le volume, V' est le débit et K est la pression intra-pleurale en fin d'expiration. Le coefficient de détermination de l'équation était calculé pour chaque respiration.

Lors de chaque prise de mesure, les signaux étaient enregistrés à une fréquence de 120Hz pendant 100 secondes et seules les respirations valides étaient utilisées pour l'analyse. Pour qu'une respiration soit considérée valide, le volume courant devait être supérieur à 2 litres, le temps d'inspiration entre 0,5 et 5 secondes et la ΔPpl supérieure à 3 cm d'eau. Ceci a permis d'éliminer les artéfacts reliés aux irrégularité dans la respiration, aux reniflements, aux défécations et aux épisodes de toux. Une séquence d'enregistrement était considérée comme valide quand elle contenait au moins 10 respirations valides.

- **Test de réversibilité à l'atropine**

Le caractère réversible de l'obstruction respiratoire a été évalué juste avant le début de l'étude à l'aide d'un test à l'atropine. Pour chaque cheval, pour que l'obstruction respiratoire soit considérée comme réversible, il fallait que ΔPpl, R_L, et E_L soient significativement diminuées 30 minutes après l'administration de 0,015 mg/kg de sulfate d'atropine[5] par voie intraveineuse.

[4] Anadat and Labdat 5.1, RHT Infodat, Montréal, Québec, Canada.
[5] Atropine Sulphate, MTC Pharmaceuticals, Cambridge, Ontario, Canada

IV. Examen physique

Un examen clinique était réalisé sur chaque cheval tous les jours pendant toue la durée de l'étude. Une attention particulière était portée à l'appétit, à la présence de boiterie ou de chaleur au niveau des pieds, ainsi qu'au degré de difficulté respiratoire. Pour ce dernier, un score clinique sur 8 points était établi à chaque évaluation en fonction du degré d'amplitude des mouvements thoraciques (de 1 à 4) et de dilatation nasale (de 1 à 4). La description et la validation de ce score clinique ont été rapportés(Robinson, *et al* 2000).

V. Prélèvements sanguins et analyse

Les prises de sang pour les dosages de cortisol et d'électrolytes sériques ont été effectuées à l'aide de tubes secs entre 6 heures et 8 heures du matin pour éviter que les fluctuations circadiennes du cortisol biaisent l'interprétation des résultats. Les échantillons ont sédimenté pendant 2 à 4 heures, puis ont été centrifugés. Le sérum a été séparé et congelé à -70^{o}C jusqu'à l'analyse au laboratoire de pathologie clinique de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Montréal. Le cortisol sérique a été dosé par radio-immunologie et les électrolytes, i.e. sodium (Na^{+}), chlore (Cl^{-}), potassium (K^{+}), par un appareil photométrique automatique[6].

Le sang a été prélevé dans des tubes contenant de l'EDTA pour les analyses d'hématologie. Celles-ci ont été réalisées le jour même au laboratoire de pathologie clinique de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Montréal à l'aide d'un analyseur automatique[7].

VI. Test de stimulation surrénalienne

Afin de réaliser les tests de stimulation surrénalienne, on a administré une forme synthétique d'ACTH[8], 100 unités par voie intraveineuse à chaque cheval entre 6 heures et 8 heures du matin. Des prises de sang pour le dosage du cortisol ont été réalisées immédiatement avant et 2 heures après l'injection.

---

[6] Synchron CX5, Beckman Coulter Inc., Fullerton, California, USA.
[7] Cell Dyne, Abbott Laboratories, Mississauga, Ontario, Canada.
[8] Cortrosyn, Organon Canada Ltd.,Scarborough, Ontario, Canada.

VII. Protocole expérimental (cf. Figure 4)

Cette étude prospective a été réalisée à l'aide d'un essai sur deux groupes parallèles. Tout d'abord, les chevaux ont été évalués pendant une période contrôle de 2 semaines qui a servi de témoin négatif. Durant cette période, les 12 chevaux étaient gardés dans le même environnement sans recevoir de traitement.

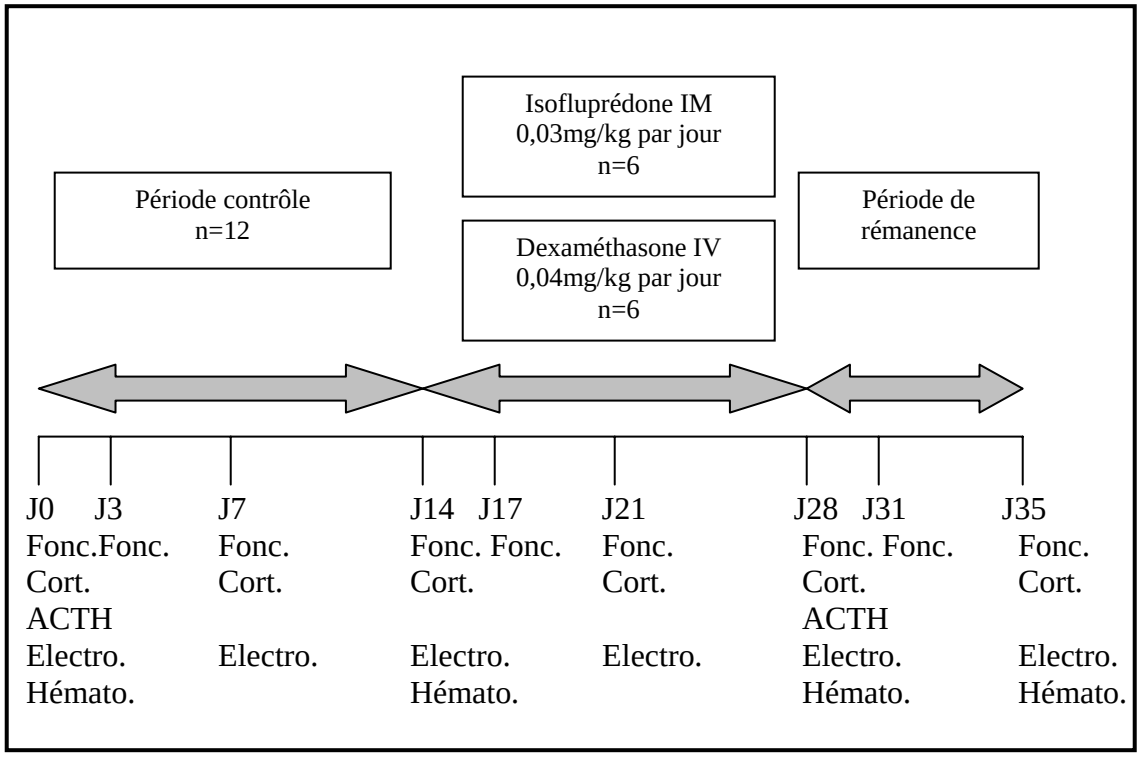
Ensuite, au jour 14, les chevaux ont été attribués à 2 groupes en équilibrant les groupes en fonction de la gravité del'atteinte clinique de chaque cheval. On a posé aux 6 chevaux du premier groupe un cathéter intraveineux long-terme puis ils ont reçu de la dexaméthasone[9], 0,04 mg/kg une fois par jour par ce cathéter pendant 14 jours. De plus le cathéter était rincé 2 fois par jour avec de la solution saline pour éviter les thromboses. Les 6 chevaux du deuxième groupe ont reçu de l'acétate d'isofluprédone[10], 0,03 mg/kg par voie intramusculaire une fois par jour pendant 14 jours.

A la fin des traitements, au jour 28, les traitements ont été arrêtés et les cathéters retirés. Tous les chevaux ont été évalués pendant encore 7 jours dans les mêmes conditions, pour déterminer la rémanence des traitements, et ce jusqu'au jour 35.

Des mesures de fonction respiratoire ont été réalisées au jours 0, 3, 7, 14, 17, 21, 28, 31 et 35. Les évaluations cliniques ont été réalisées quotidiennement pendant les 35 jours du projet. Le cortisol et les électrolytes sériques ont été dosés au jour 0, puis une fois par semaine jusqu'au jour 35. Les tests de stimulation surrénalienne à l'ACTH ont été effectués avant le début de la période de traitement, puis le lendemain de l'arrêt des traitements, au jour 29. Les hématologies ont été réalisées aux jours 0, 14, 28 et 35.

[9] Azium, Scheering-Plough Animal Health, Pointe-Claire, Québec, Canada.
[10] Predef 2X, Pharmacia and Upjohn Animal Health, Orangeville, Ontario, Canada.

Figure 4 : Schéma du protocole expérimental (Fonc. : mesure de fonction respiratoire; Cort. :dosage de cortisol sérique; ACTH :test de stimulation surrénalienne à l'ACTH; Electro. : dosage des électrolytes sériques; Hémato. :hématologie; les évaluations cliniques quotidiennes ne sont pas mentionnées)



VIII. Analyses statistiques

Un test de normalité de Kolmogorov-Smirnov a été utilisé pour déterminer si les données étaient distribuées de façon normale. Les valeurs au jour 0 ont été comparées entre les groupes en utilisant un test de Student. Puis les données ont été étudiées en utilisant une analyse de variance à 2 groupes sur des mesures répétées en incorporant le temps et les groupes comme effets principaux, et l'effet d'interaction entre temps et groupes. Quand un effet d'interaction significatif était détecté entre temps et groupes entre les jours 0 et 14, les valeurs étaient comparées avec la valeur de base au jour 0 en utilisant un test de Fischer. De même, quand un effet d'interaction significatif était détecté entre temps et groupes entre les jours 14 et 35, les valeurs étaient comparées avec la valeur de base au jour 14. Pour le test de réversibilité à l'atropine, les mesures de fonction respiratoire avant et après l'administration ont été comparées par un test de Student pairé. De même, pour le test de stimulation surrénalienne à l'ACTH, les dosages de cortisol avant et après l'administration ont été comparés par un test de Student pairé. Les résultats sont reportés tels que : moyenne $\pm$ erreur standard (ES). Un résultat a été considéré significatif quand $P < 0,05$.

C. Résultats

I. Test de réversibilité à l'atropine

Il a été détecté une différence significative entre les mesures de ΔPpl, R_L, E_L, avant et après l'administration d'atropine (cf. Figures 5, 6, 7). L'obstruction des voies respiratoires a donc été considérée comme réversible.

II. Mesures de fonction respiratoire

Les résultats des principales mesures de fonction respiratoire (ΔPpl, R_L, E_L, volume courant ,fréquence respiratoire) sont résumés dans le Tableau 3.

*Tableau 3 :Mesures de fonction respiratoire (moyenne±ES). V=volume courant; FR=fréquence respiratoire. *Différence significative par rapport au jour 14 (P<0.05).*

	Période contrôle			Période de traitement			Période de rémanence	
	Jour 0	Jour 7	Jour 14	Jour 17	Jour 21	Jour 28	Jour 31	Jour 35
Chevaux traités à l'isofluprédone								
ΔPpl(cm d'H_2O)	35,1±6,1	29,0±6,2	32,9±5,4	22,2±6,6*	7,2±0,9*	7,9±1,5*	14,4±6,0*	19,2±4,4*
R_L(cm d'H_2O/l/s)	3,2±0,46	2,6±0,37	3,0±0,26	2,0±0,52*	0,7±0,11*	0,8±0,23*	1,1±0,39*	2,3±0,44*
E_L(cm d'H_2O/l)	3,6±0,66	3,4±1,47	4,3±1,91	2,5±1,00*	0,8±0,08*	0,8±0,13*	1,2±0,47*	1,7±0,42*
V (l)	5,1±0,7	5,1±0,6	5,0±0,6	4,9±0,7	4,8±0,5	5,3±0,4	5,6±0,6	5,3±0,5
FR(min^{-1})	16,3±3,1	17,7±5,7	18,5±6,3	17,8±3,7	14,7±1,1	13,0±1,9	15,5±1,3	11,3±0,8
Chevaux traités à la dexaméthasone								
ΔPpl(cm d'H_2O)	43,7±6,2	31,5±5,3	35,0±3,9	17,1±4,0*	8,1±1,4*	6,7±0,7*	14,6±4,0*	17,3±5,7*
R_L(cm d'H_2O/l/s)	2,9±0,33	2,5±0,36	2,8±0,34	1,4±0,26*	0,7±0,10*	0,6±0,05*	1,2±0,28*	1,5±0,27*
E_L(cm d'H_2O/l)	4,9±1,55	3,4±1,14	3,8±1,04	1,4±0,51*	0,6±0,09*	0,6±0,07*	0,9±0,18*	1,9±0,85*
V (l)	5,4±0,8	5,6±0,8	5,5±0,7	6,3±1,1	6,3±0,9	5,8±1,0	6,1±0,8	5,3±0,7
FR(min^{-1})	20,5±4,3	18,5±4,7	17,7±2,9	15,2±1,7	11,8±0,8	13,3±1,1	13,8±1,0	14,7±3,2

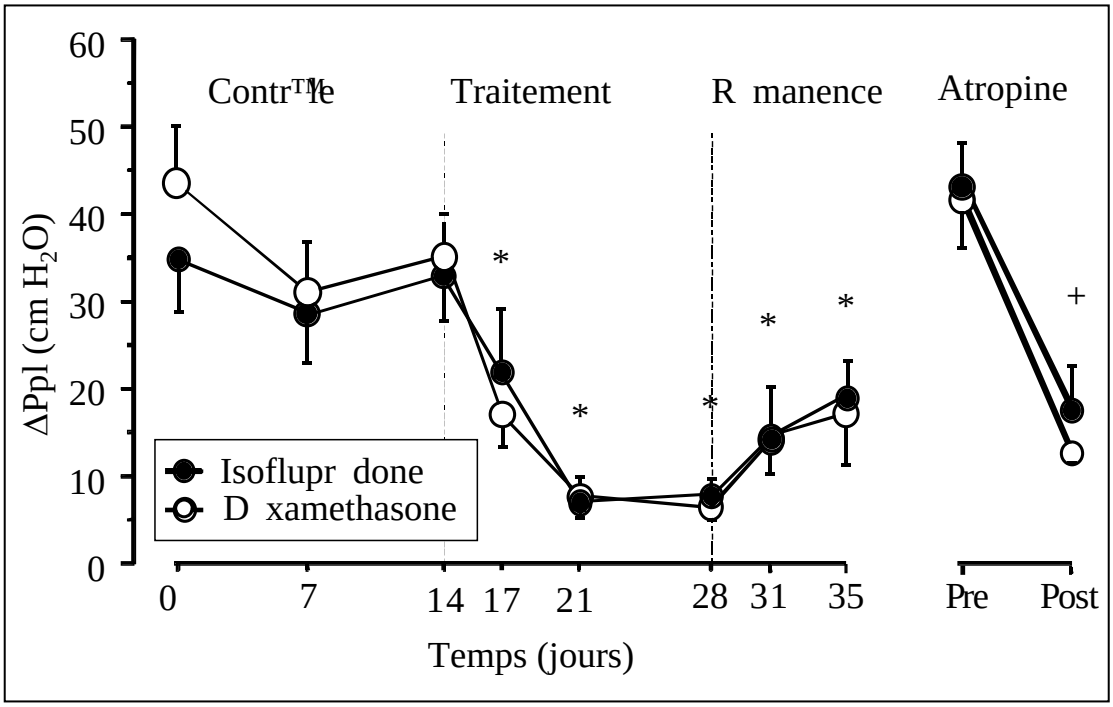
La distribution de chacune de ces valeurs au jour 0 était normale d'après le test de Kolmogorov-Smirnov. Il n'a pas été décelé de différence significative entre les groupes au jour 0. Il n'y a pas eu de variation significative de ces valeurs pendant la période contrôle, c'est à dire entre les jours 0 et 14.

Il n'y a pas eu de variation significative du volume courant et de la fréquence respiratoire pendant les périodes de traitement et de rémanence dans aucun des 2 groupes.

1-Variations maximales de pression pleurale (ΔPpl)

La ΔPpl était significativement diminuée dès le jour 17, c'est à dire 3 jours après le début des traitements, et cette différence a persisté jusqu'au jour 35, c'est à dire 7 jours après l'arrêt du traitement, et ce dans les 2 groupes (cf. Figure 5).

*Figure 5 : Variations maximales de pression pleurale moyenne(ΔPpl) ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone (cercles noirs) et à la dexaméthasone (cercles blancs) avant, pendant et après une période de traitements de 14 jours, comparée à la ΔPpl de ces mêmes chevaux avant et 30 minutes après l'administration d'atropine IV; *significativement différent du jour 14 pour les 2 groupes; +significativement différent de la valeur pré-atropine pour les 2 groupes (données issues du Tableau 3).*



Sans qu'il y ait de différence significative entre les 2 groupes, la ΔPpl au jour 17 avait tendance à être moins élevée chez les chevaux traités à la dexaméthasone que chez les chevaux traités à l'isofluprédone. Pour les 2 groupes la réponse maximale a été obtenue dès le jour 21, c'est à dire une semaine après le début des traitements.

2-Élastance (E_L) et résistance (R_L) pulmonaires

L'élastance (E_L) et la résistance (R_L) pulmonaires étaient elles aussi significativement diminuées dès le jour 17 jusqu'au jour 35. Il n'y avait pas de différence significative entre les 2 groupes (cf. Figures 6 et 7).

Figure 6 : *Élastance pulmonaire moyenne(E_L) $\pm$ ES des chevaux traités à l'isofluprédone (cercles noirs) et à la dexaméthasone (cercles blancs) avant, pendant et après une période de traitements de 14 jours, comparée à l'élastance pulmonaire de ces mêmes chevaux avant et 30 minutes après l'administration d'atropine IV; *significativement différent du jour 14 pour les 2 groupes; +significativement différent de la valeur pré-atropine pour les 2 groupes (données issues du Tableau 3).*

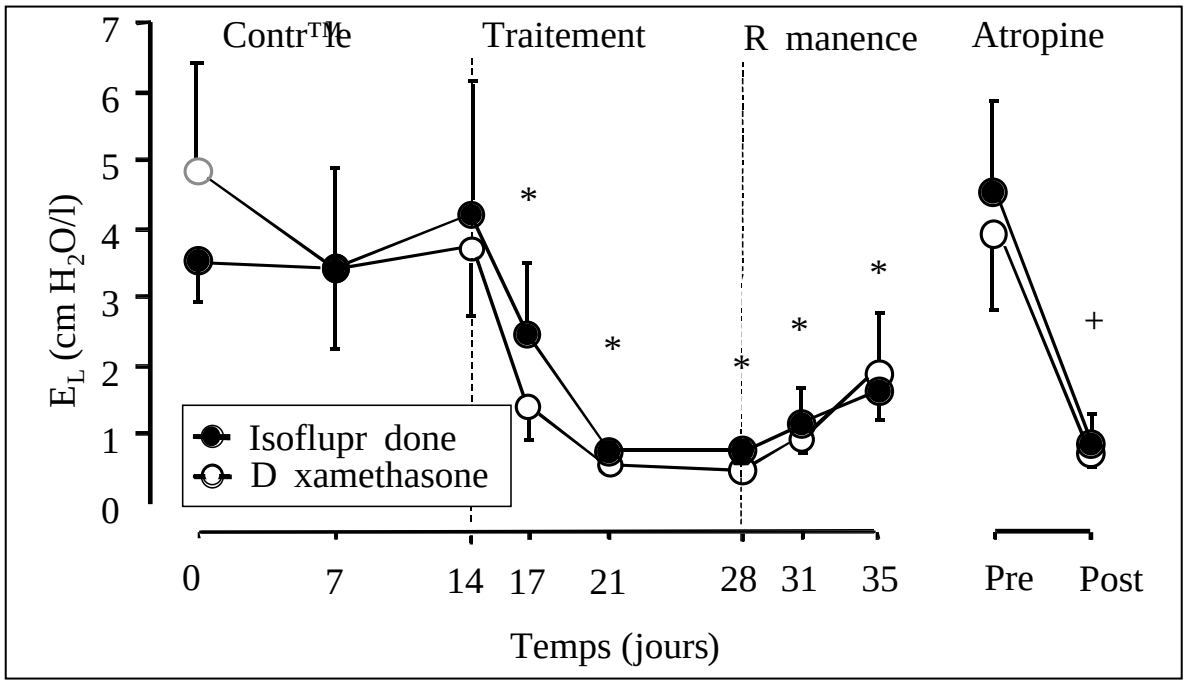
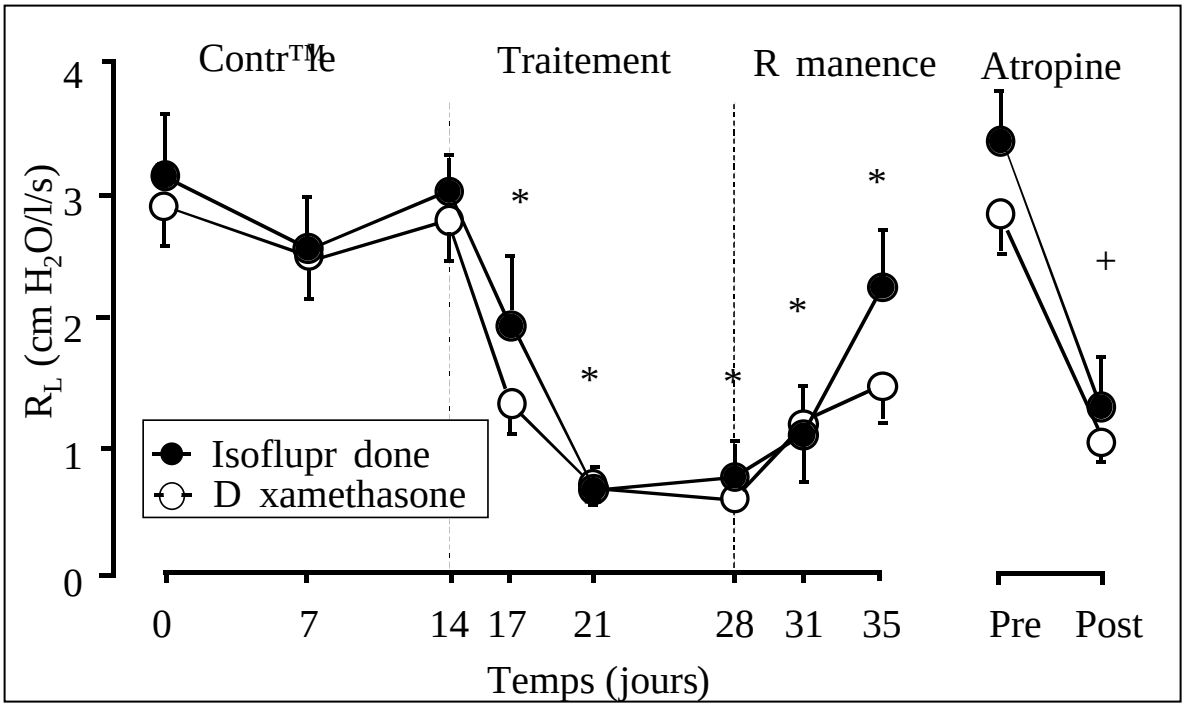


Figure 7 : *Résistance pulmonaire moyenne (R_L) ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone (cercles noirs) et à la dexaméthasone (cercles blancs) avant, pendant et après une période de traitements de 14 jours, comparée à la résistance pulmonaire de ces mêmes chevaux avant et 30 minutes après l'administration d'atropine IV; *significativement différent du jour 14 pour les 2 groupes; +significativement différent de la valeur pré-atropine pour les 2 groupes (données issues du Tableau 3).*



De plus, les variations maximales de ΔPpl, R_L, E_L étaient au moins équivalentes aux variations obtenues lors du test à l'atropine.

III. Examen clinique

1-Score clinique de fonction respiratoire (cf. Figure 8)

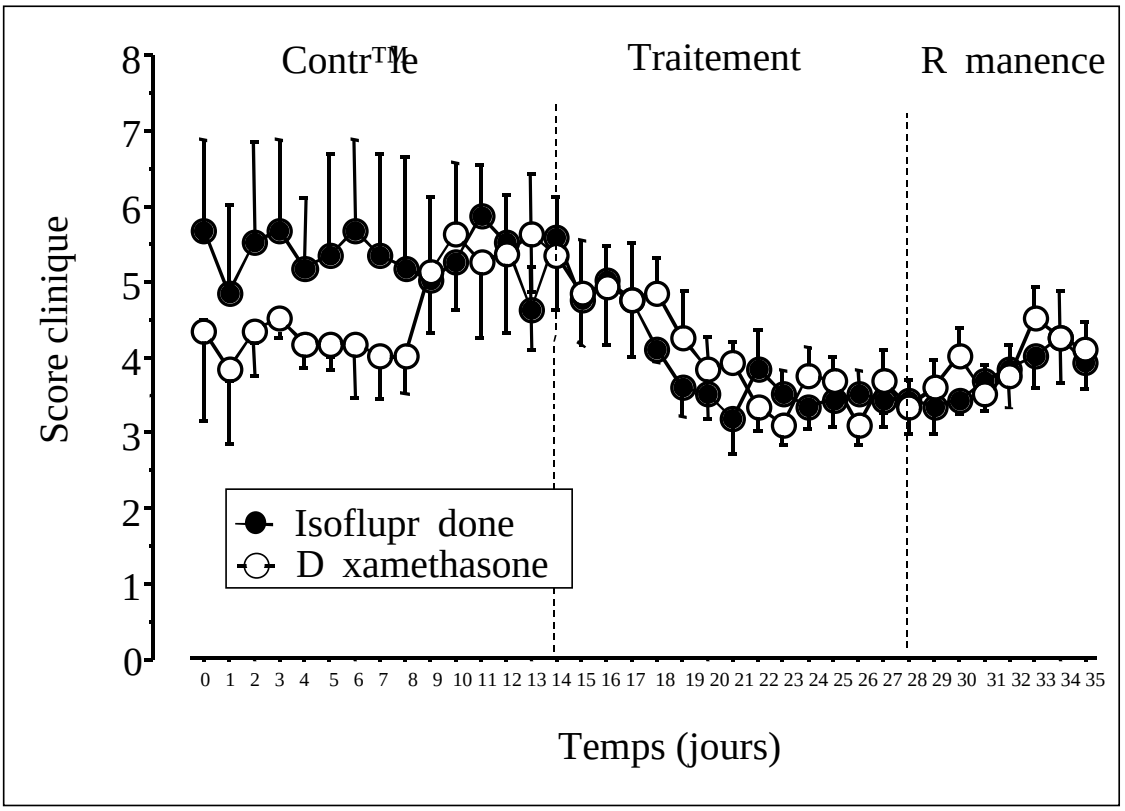
Les variations de score clinique n'ont pas été analysées statistiquement, car il manquait de nombreuses données, en particulier dans la période contrôle. De plus, cette évaluation subjective n'a pas été réalisée à l'aveugle, puisque les scores cliniques étaient attribués par la personne qui administrait les traitements. Pourtant les variations de score clinique dans le temps montrent une tendance à la diminution durant les périodes de traitement et de rémanence, sans différence marquée entre les groupes.

Tableau 4 : Score clinique moyen ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone et à la dexaméthasone avant, pendant et après une période de traitements de 14 jours.

Période contrôle			Période de traitement			Période de rémanance		
Jour	Score clinique		Jour	Score clinique		Jour	Score clinique	
	isofluprédone	dexaméthasone		isofluprédone	dexaméthasone		isofluprédone	dexaméthasone
0	4,3±1,2	5,7±1,2	15	4,8±0,7	4,8±0,6	29	3,6±0,4	3,3±0,4
1	3,8±1,0	4,8±1,2	16	4,9±0,8	5,0±0,4	30	4,0±0,4	3,4±0,2
2	4,3±0,6	5,5±1,3	17	4,8±0,8	4,8±0,3	31	3,5±0,2	3,6±0,2
3	4,5±0,3	5,7±1,2	18	4,8±0,5	4,1±0,2	32	3,7±0,4	3,8±0,3
4	4,2±0,3	5,2±0,9	19	4,2±0,6	3,6±0,4	33	4,5±0,4	4,0±0,4
5	4,2±0,3	5,3±1,3	20	3,8±0,4	3,5±0,3	34	4,2±0,3	4,2±0,6
6	4,2±0,7	5,7±1,2	21	3,9±0,3	3,2±0,5	35	4,0±0,3	3,0±0,4
7	4,0±0,6	5,3±1,3	22	3,3±0,3	3,8±0,5			
8	4,0±0,5	5,2±1,5	23	3,1±0,3	3,5±0,3			
9	5,1±1,0	5,0±0,7	24	3,8±0,4	3,3±0,3			
10	5,6±0,9	5,2±0,6	25	3,7±0,3	3,4±0,4			
11	5,2±1,0	5,9±0,7	26	3,1±0,3	3,5±0,3			
12	5,4±1,1	5,5±0,6	27	3,7±0,4	3,4±0,4			

2 1 3	5,6±0,8	4,6±0,6	7 2 8	3,3±0,4	3,4±0,2
1 4	5,3±0,7	5,6±0,5			

Figure 8 : Score clinique moyen ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone (cercles noirs) et à la dexaméthasone (cercles blancs) avant, pendant et après une période de traitements de 14 jours (données issues du Tableau 4).



2-Appétit

Deux chevaux ont présentés de l'anorexie pendant l'expérimentation, et ce dès la période de contrôle. Un cheval (cheval 64) a eu une baisse d'appétit du jour 6 au jour 13 pendant la période de contrôle, puis les jours 31 et 32 pendant la période de rémanence. Un autre cheval (cheval 96) a eu une baisse d'appétit du jour 8 au jour 19, ainsi que les jours 21, 23, 24, 28, et 35; c'est à dire 7 jours pendant la période contrôle, 9 jours pendant la période de traitement et 1 jour pendant la période de rémanence. Ces 2 chevaux appartenaient au groupe traité à l'isofluprédone.

3-Examen myoarthrosquelettique

Aucun des chevaux n'a présenté de boiterie ni de chaleur excessive des pieds pendant toute la durée du projet. Un test à la pince exploratrice réalisé au jour 35 sur tous les chevaux n'a révélé aucune sensibilité en pince sur les 2 membres antérieurs.

4-Autres anomalies cliniques

La jument 41 a présenté un léger jetage hémorragique ainsi qu'un pic de fièvre à 39,7^{O}C pendant la période de rémanence. A la suite du projet, un diagnostic de carcinome gastrique a été posé. La jument n'a pas été retirée du projet, étant donné l'apparition tardive des signes cliniques.

IV. Évaluation de la fonction surrénalienne

1-Dosage du cortisol sérique (cf. Tableau 4 et Figure 9)

L'ensemble des résultats de cortisol et d'électrolytes sériques sont résumés dans le Tableau 4.

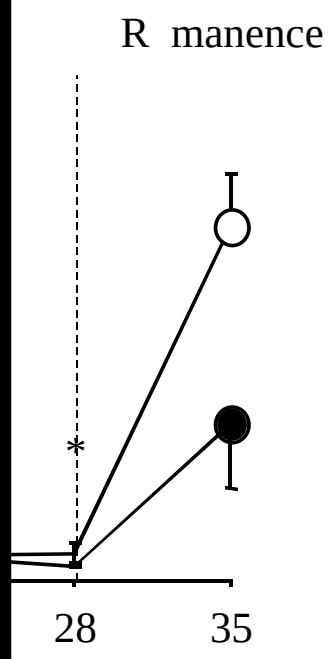
*Tableau 5: Dosage de cortisol et d'électrolytes sériques (moyenne±ES). *Différence significative par rapport au jour 14 (P<0.05).*

	Période contrôle			Période de traitement		Période de rémanence
	Jour 0	Jour 7	Jour14	Jour 21	Jour 28	Jour 35
Chevaux traités à l'isofluprédone						
cortisol (nmol/l)	138±18,5	127±21,7	120±13,2	6,9±0,7*	4,1±0,5*	46,7±19,5*
Na^+(mmol/l)	137±0,4	138±0,5	139±0,6	142±1,3	140±0,4	140±1,0
Cl^- (mmol/l)	100±0,8	100±0,4	100±0,8	100±0,6	99±1,2	103±0,5*
K^+ (mmol/l)	3,9±0,10	3,7±0,14	3,6±0,17	2,5±0,12*	2,7±0,17*	4,0±0,27
Chevaux traités à la dexaméthasone						
cortisol (nmol/l)	122±21,1	106±22,6	110±14,6	7,2±1,3*	7,5±3,7*	107±15,5
Na^+(mmol/l)	137±0,8	139±0,5	138±1,3	138±0,8	138±0,8	139±0,5
Cl^- (mmol/l)	97±1,1	100±1,2	98±1,0	100±0,5	99±0,7	102±0,9*
K^+ (mmol/l)	3,7±0,09	3,8±0,08	4,0±0,25	3,6±0,08	3,7±0,10	3,7±0,15

La distribution des valeurs de cortisol sérique au jour 0 a été considérée comme normale et aucune différence n'a été observée entre les 2 groupes. Il n'y pas eu de variation significative du cortisol sérique au cours de la période contrôle.

Par contre, il y a eu une variation significative dans le temps et une interaction entre temps et groupes pendant les périodes de traitement et de rémanence. En effet, le cortisol sérique était significativement diminué aux jours 21, 28 et 35 pour le groupe traité à l'isofluprédone, et aux jours 21 et 28 pour le groupe traité à la dexaméthasone.

s à l'isofluprédone (cercles
nt et après une période de
lu jour 14 pour les 2
upe traité à l'isofluprédone

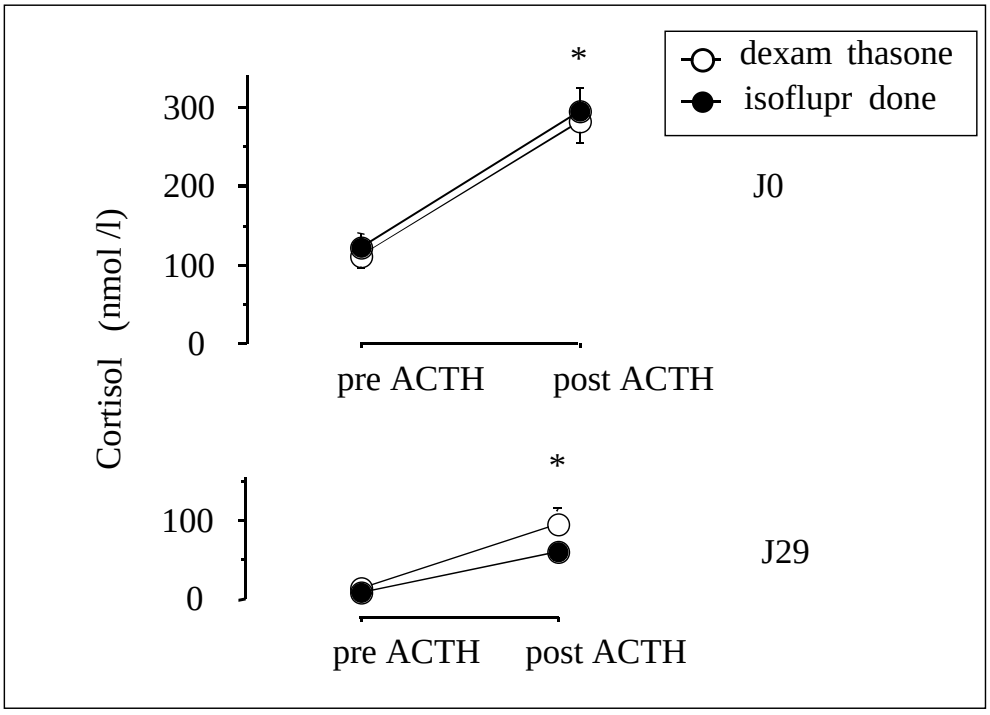


et Figure 10)

a révélé une

Le lendemain de l'arrêt des traitements, au jour 29, bien que les valeurs de cortisol basales aient été extrêmement basses, la stimulation à l'ACTH a induit une augmentation marquée de la cortisolémie (+1245±206%).
Aucune différence dans la réponse surrénalienne à l'ACTH n'a été observée entre les groupes à aucun moment.

*Figure 10 : Cortisol sérique moyen ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone (cercles noirs) et à la dexaméthasone (cercles blancs) avant et 2 heures après l'administration de 100 UI d'ACTH IV, pendant la période contrôle, puis le lendemain de l'arrêt des traitements, au jour29 ; *significativement différent de la valeur pré-ACTH pour les 2 groupes (données issues du Tableau 6).*



V. Résultats d'hématologie (cf. Tableau 6)

La distribution des valeurs d'hématocrite, de leucocytes sanguins, ainsi que du différentiel leucocytaire au jour 0, a été considérée comme normale. De plus, aucune différence n'a été observée entre les groupes au jour 0, ni aucune variation pendant la période contrôle.

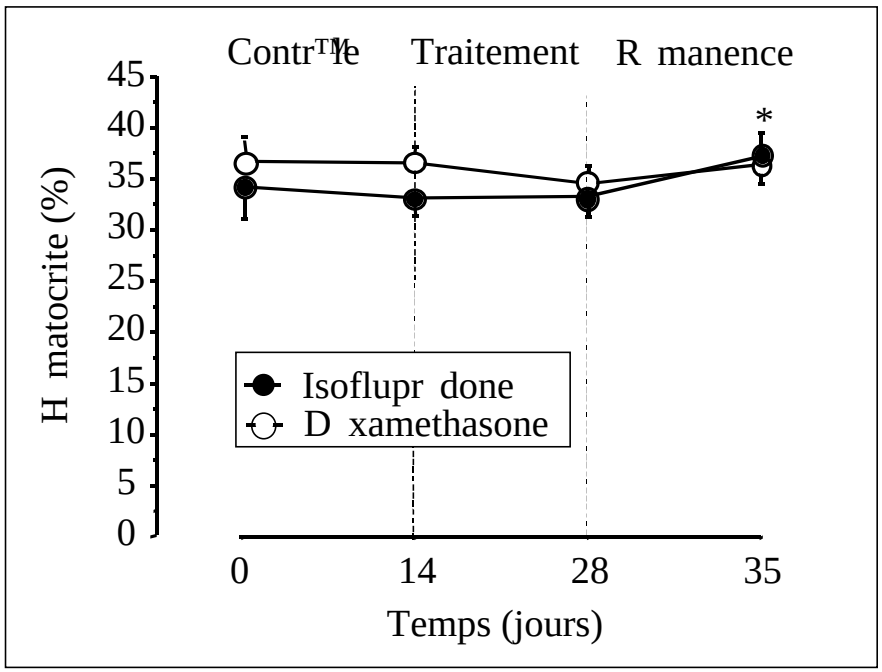
*Tableau 7 : Valeurs d'hématologie (moyenne±ES); *Différence significative avec la valeur au jour 14 (P<0,05).*

	Période contrôle		Période de traitement	Période de rémanence
	Jour 0	Jour 14	Jour 28	Jour 35
Chevaux traités à l'isofluprédone				
Hématocrite (%)	34,2±2,73	33,2±2,06	33,3±2,11	37,2±2,44
Leucocytes (10^9/L)	7,6±1,45	6,4±0,77	9,3±1,26*	6,9±0,94
Neutrophiles (10^9/L)	4,6±0,96	3,5±0,43	7,7±1,04*	4,4±0,71
Lymphocytes (10^9/L)	2,5±0,45	2,5±0,36	1,4±0,20*	2,2±0,32
Eosinophiles (10^9/L)	0,06±0,02	0,05±0,01	0,01±0,00*	0,02±0,00*
Chevaux traités à la dexaméthasone				
Hématocrite (%)	36,7±2,03	36,5±1,69	34,5±1,72	36,3±1,82
Leucocytes (10^9/L)	6,9±0,39	6,7±0,50	7,6±0,79	6,4±0,50
Neutrophiles (10^9/L)	4,1±0,23	4,0±0,23	5,8±0,64*	4,2±0,32
Lymphocytes (10^9/L)	2,4±0,30	2,4±0,34	1,6±0,23*	1,8±0,2*
Eosinophiles (10^9/L)	0,07±0,02	0,07±0,01	0,03±0,01*	0,04±0,01*

1-Hématocrite (cf. Figure 11)

Une augmentation significative de l'hématocrite a été observée entre les jours 28 et 35. Aucune variation entre les groupes n'a été démontrée.

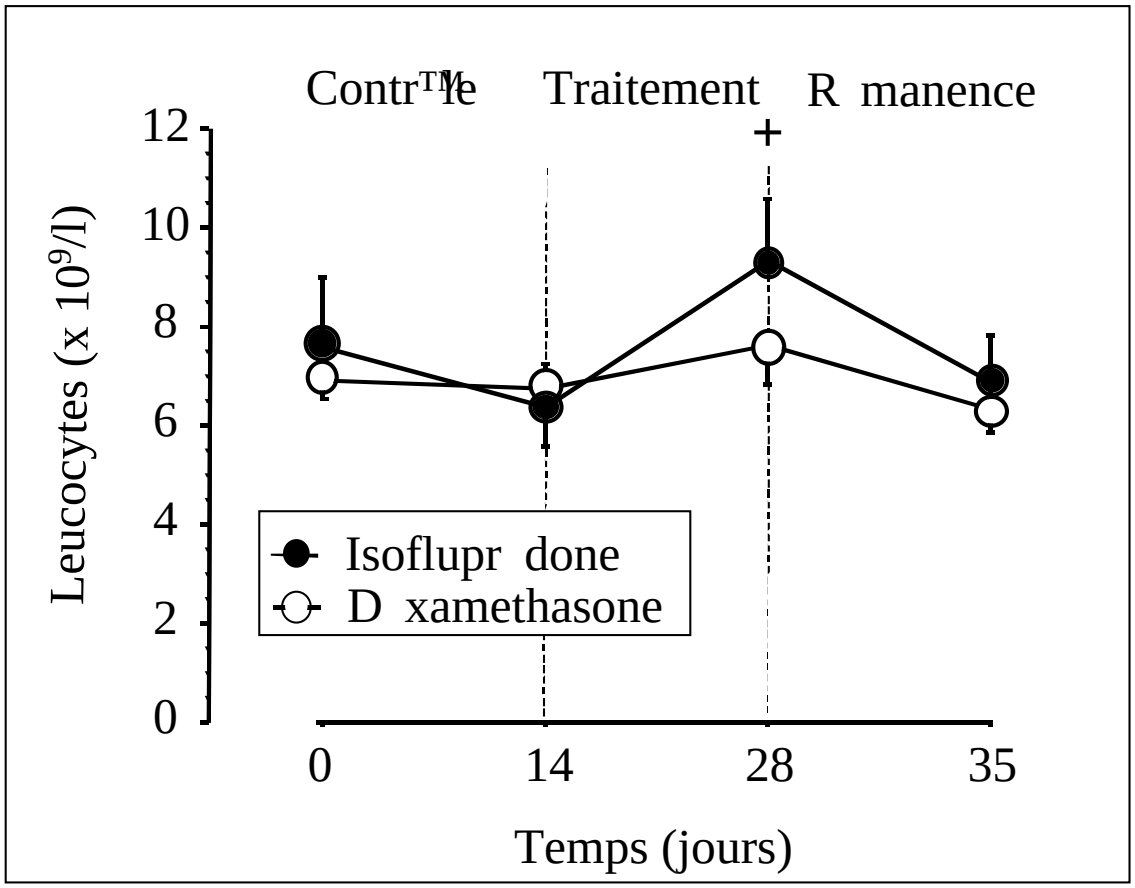
*Figure 11 : Hématocrite moyen ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone (cercles noirs) et à la dexaméthasone (cercles blancs) avant, pendant et après une période de traitements de 14 jours ;*significativement différent du jour 28 pour les 2 groupes (données issues du Tableau 7).*



2-Leucocytes sanguins (cf. Figure 12)

Aucune variation significative des leucocytes n'a été notée dans le groupe traité à la dexaméthasone. Par contre, dans le groupe traité à l'isofluprédone, le comptage leucocytaire était significativement augmenté au jour 28, à la fin de la période de traitement, mais revenu aux valeurs de base au jour 35, une semaine après l'arrêt des traitements.

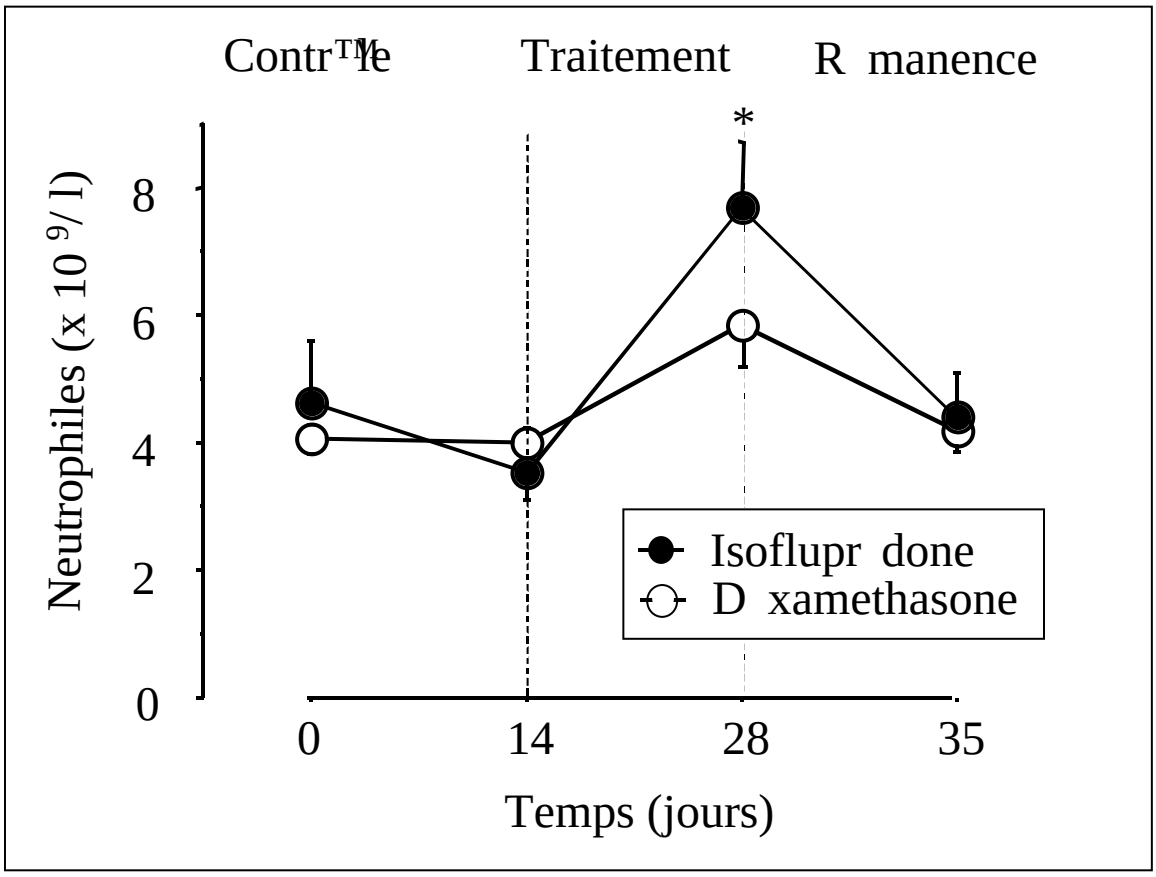
Figure 12 : Comptage moyen de leucocytes sanguins ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone (cercles noirs) et à la dexaméthasone (cercles blancs) avant, pendant et après une période de traitements de 14 jours; + significativement différent du jour 14 pour le groupe traité à l'isofluprédone seulement(données issues du Tableau 7).



3-Neutrophiles sanguins (cf. Figure 13)

Le comptage de neutrophiles a significativement augmenté au jour 28, pour revenir à ses valeurs de base au jour 35, et ce dans les 2 groupes. Bien qu'aucune différence significative n'ait été démontrée entre les groupes, l'augmentation de neutrophiles chez les chevaux traités à l'isofluprédone semble plus élevée que chez les chevaux traités à la dexaméthasone.

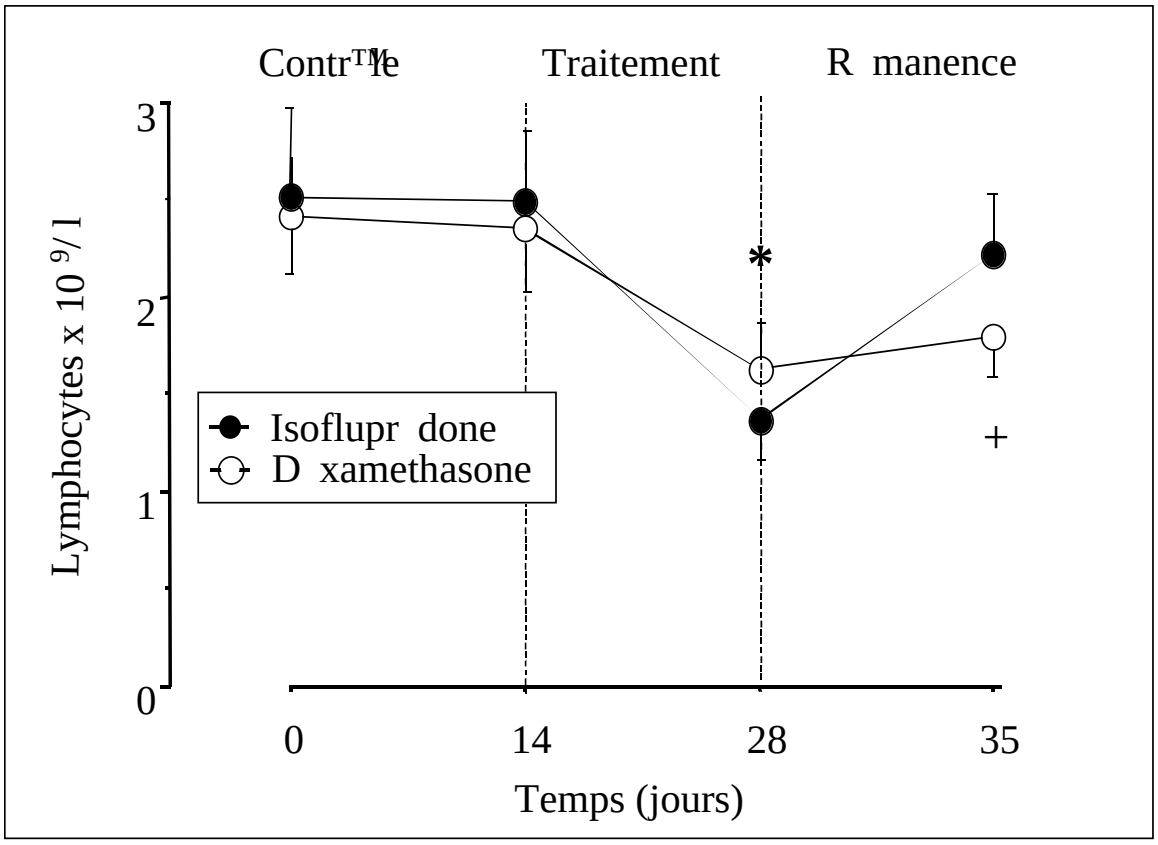
*Figure 13 : Comptage moyen de neutrophiles sanguins ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone (cercles noirs) et à la dexaméthasone (cercles blancs) avant, pendant et après une période de traitements de 14 jours; *significativement différent du jour 14 pour les 2 groupes(données issues du Tableau 7).*



4-Lymphocytes sanguins (cf. Figure 14)

Le comptage lymphocytaire était significativement diminué au jour 28 dans les 2 groupes. Au jour 35, c'est à dire une semaine après l'arrêt des traitements, alors que les lymphocytes avaient retrouvé leur valeur de base chez les chevaux traités à l'isofluprédone, ils étaient encore élevés chez les chevaux traités à la dexaméthasone.

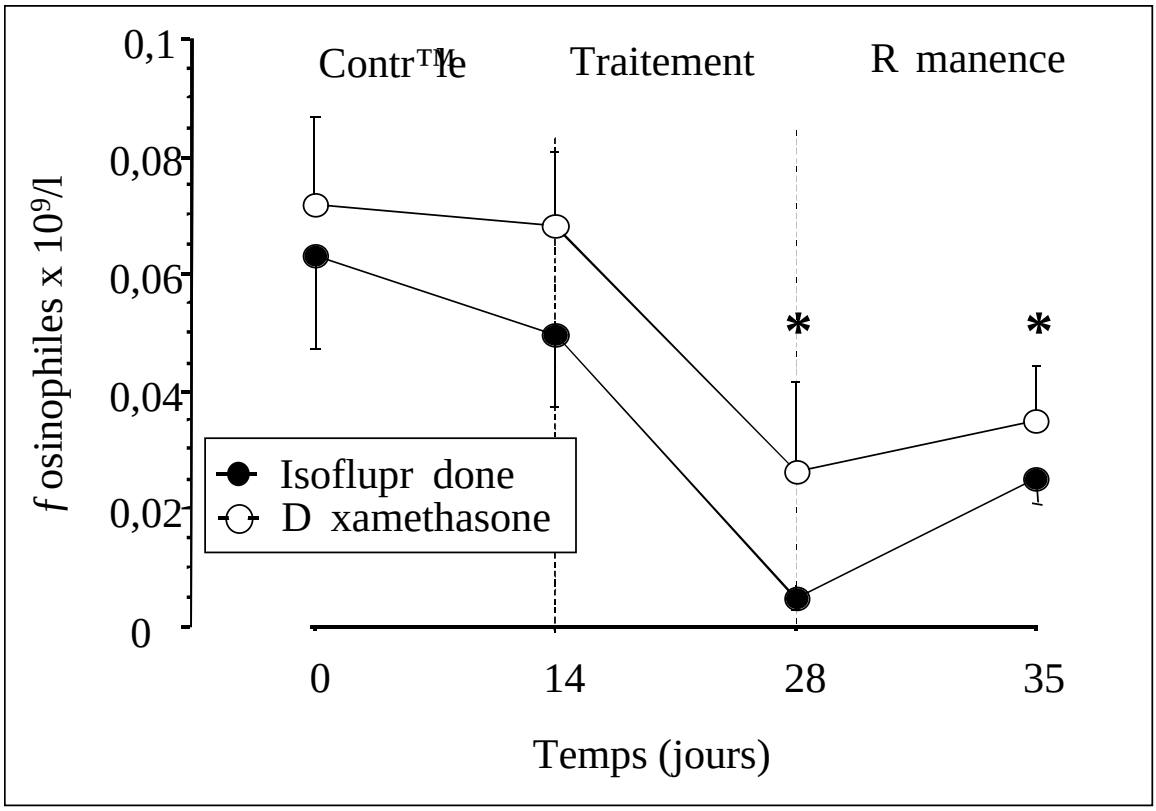
*Figure 14 : Comptage moyen de lymphocytes sanguins ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone (cercles noirs) et à la dexaméthasone (cercles blancs) avant, pendant et après une période de traitements de 14 jours; *significativement différent du jour 14 pour les 2 groupes ; significativement différent du jour 14 pour le groupe traité à la dexaméthasone seulement(données issues du Tableau 7).*



5-Eosinophiles sanguins (cf. Figure 15)

Dans les 2 groupes, on a observé une diminution significative du comptage éosinophilique au jour 28, qui a persisté jusqu'au jour 35.

*Figure 15 : Comptage moyen d'éosinophiles sanguins ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone (cercles noirs) et à la dexaméthasone (cercles blancs) avant, pendant et après une période de traitements de 14 jours; *significativement différent du jour 14 pour les 2 groupes(données issues du Tableau 7).*



6-Basophiles et monocytes

Aucune variation significative n'a été observée pour les valeurs sanguines de basophiles et de monocytes pendant les périodes de traitement et de rémanence.

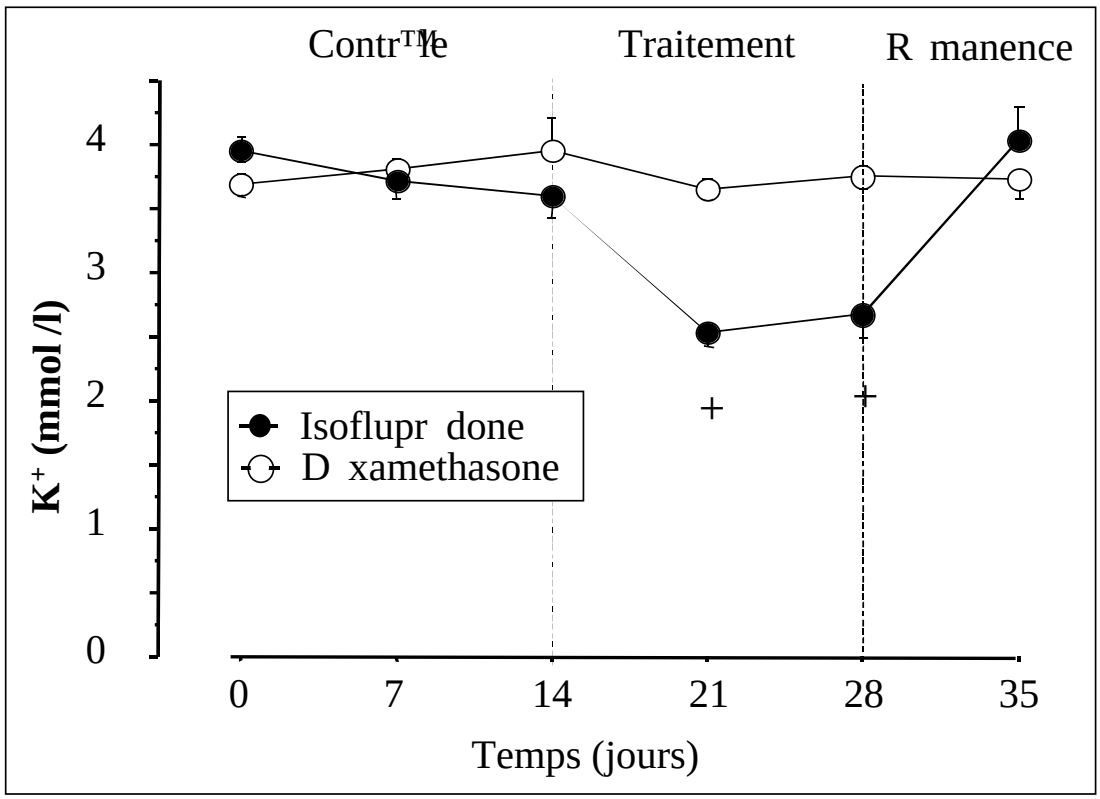
VI. Evaluation de l'effet minéralocorticoïde (cf. Tableau 4)

La distribution des dosages d'électrolytes sériques (Na^+, Cl^-, K^+) a été considérée comme normale au jour 0. De plus, aucune différence n'a été observée entre les groupes au jour 0, ni aucune variation pendant la période de contrôle.

1-Potassium sérique (cf. Figure 16)

Aucune variation n'a été observée chez les chevaux traités à la dexaméthasone. Par contre, les chevaux traités à l'isofluprédone ont démontré une diminution significative du potassium sérique aux jours 21 et 28. Les valeurs ont retrouvé leur niveau de base au jour 35, une semaine après l'arrêt des traitements. Il est à noter que les 2 chevaux anorexiques traités à l'isofluprédone (chevaux 64 et 96)sont ceux qui ont présenté les valeurs de potassium sérique les plus basses pendant la période de traitement, respectivement 2,20 mmol/l au jour 28 et 2,02 mmol/l au jour 21.

Figure 16 : Dosage moyen du potassium sanguin ± ES des chevaux traités à l'isofluprédone (cercles noirs) et à la dexaméthasone (cercles blancs) avant, pendant et après une période de traitement de 14 jours; + significativement différent du jour 14 pour le groupe traité à l'isofluprédone seulement(données issues du Tableau 5).



2-Sodium et chlore sériques

Aucune variation significative du sodium sérique n'a été observée pendant les périodes de traitement et de rémanence, et ce dans les 2 groupes. Par contre, une diminution significative du chlore sérique a été observée au jour 35, dans les 2 groupes.

Discussion

L'acétate d'isofluprédone est commercialisé en Amérique du Nord pour le traitement des maladies respiratoires chez les chevaux. Bien qu'il ait été proposé pour le traitement du souffle, il y avait jusqu'à présent peu d'information concernant son efficacité et son innocuité dans l'espèce équine.

I. Premier objectif : efficacité de l'isofluprédone comparée à la dexaméthasone

Dans cette étude, l'évaluation de l'efficacité de l'isofluprédone a été réalisée sur un modèle expérimental de confinement et d'exposition à du foin moisi, qui semble reproduire les effets du souffle chez les chevaux atteints. Ce modèle a déjà été utilisé dans plusieurs études avec des résultats cohérents (Ammann, *et al.* 1998;Lapointe, *et al.* 1993;Lavoie, *et al.* 2002;Leguillette, *et al.* 2002). La stabilité de l'obstruction respiratoire obtenue chez les chevaux a été démontrée par l'absence de variation significative dans les résultats pendant les 2 semaines de période contrôle.

La dexaméthasone, dont l'efficacité a déjà été prouvée dans le traitement du souffle chez le cheval (Lavoie, *et al.* 2002), a été utilisée dans cette étude comme témoin positif. Comparativement, la réponse des chevaux atteints de souffle à l'administration de dexaméthasone était semblable à celle obtenue dans des études précédentes, qui utilisaient un dosage équivalent (Lavoie, *et al.* 2002) ou plus élevé (Robinson, *et al.* 2002;Rush, *et al.* 1998b). Ceci est en faveur de l'utilisation de faibles doses de dexaméthasone (0,04 mg/kg), qui semblent aussi efficaces, et entraînent moins de risques d'effets secondaires.

Les résultats de notre étude indiquent que l'isofluprédone est un médicament efficace pour soulager l'obstruction respiratoire des chevaux atteints de souffle. Aux dosages utilisés, un effet positif sur la fonction respiratoire a été obtenu en moins de 3 jours de traitement pour les 2 groupes et il a persisté pour au moins 7 jours après l'arrêt des traitements. L'amélioration de la fonction respiratoire obtenue avec l'isofluprédone était de même ampleur qu'avec la dexaméthasone, qui est considérée comme la molécule de référence dans le traitement du souffle (Lavoie, *et al.* 2002;Robinson 2001).Toutefois, sans qu'il y ait de différence significative, la réponse après 3 jours semblait moins

marquée dans le groupe traité à l'isofluprédone. Ceci tend à indiquer que l'isofluprédone est efficace moins rapidement que la dexaméthasone. D'autre part, l'évaluation des chevaux sur une période de rémanence plus longue nous aurait permis de discerner si l'une ou l'autre des molécules avait un effet plus prolongé.

Les 2 groupes ont montré une amélioration de la fonction respiratoire pendant la période de traitement égale ou supérieure à celle obtenue après l'administration d'atropine, un broncho-dilatateur puissant. Ceci s'explique par le fait que les glucocorticoïdes, par leur effet direct sur l'inflammation pulmonaire, sont plus efficaces dans le traitement du souffle que les broncho-dilatateurs.

Dans cette étude, seul l'effet sur la fonction respiratoire a été étudié en utilisant les valeurs de variation maximale de pression pleurale (ΔPpl), de résistance (R_L) et d'élastance (E_L) pulmonaires. Le volume courant et la fréquence respiratoire n'ont pas paru des paramètres sensibles d'évaluation. Ces résultats corroborent avec ceux d'études précédentes (Hoffman 2002). Le score clinique a été prouvé utile dans l'évaluation de la fonction respiratoire des chevaux atteints de souffle (Robinson, *et al.* 2000). Malheureusement, dans notre étude, des données ont manqué et l'évaluation du score clinique n'a pas pu être réalisée à l'aveugle, ce qui ne nous a pas permis d'utiliser le score clinique comme un critère objectif de jugement de l'évolution de la fonction respiratoire.

D'autres mesures d'efficacité auraient pu être utilisées, telles que la cytologie du lavage broncho-alvéolaire. Ce test diagnostic permet d'évaluer l'effet d'un produit sur l'inflammation pulmonaire. Toutefois, Lavoie a montré qu'un traitement de 14 jours de dexaméthasone à 0,04 mg/kg, qui a été considéré dans cette étude comme le témoin positif, n'a pas d'effet significatif sur la neutrophilie pulmonaire (Lavoie, *et al.* 2002). De plus, le pourcentage de neutrophiles obtenu dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire ne semble pas être corrélé à la sévérité des signes cliniques (Robinson 2001).

II. Deuxième objectif : évaluation des effets secondaires cliniques, endocriniens et hématologiques

1-Effets secondaires cliniques

Aucune anomalie clinique pouvant être attribuée à l'un ou l'autre des traitements n'a pu être mise en évidence. En particulier, les chevaux n'ont démontré aucun signe de

fourbure. Cet effet secondaire très redouté des glucocorticoïdes n'a d'ailleurs été rapporté que dans une étude expérimentale (Muylle et Oyaert 1973). De nombreuses autres études utilisant des doses équivalentes (Lavoie, *et al.* 2002) ou plus élevées (French, *et al.* 2000;Lapointe, *et al.* 1993;Rush, *et al.* 1998a) de glucocorticoïdes n'ont pas rapporté non plus d'apparition de fourbure.

Les traitements ne semblent pas avoir induit d'anorexie. Pourtant, deux chevaux du groupe traité à l'isofluprédone ont perdu l'appétit pendant l'étude; mais, ces signes ont commencé pendant la période contrôle pour les deux chevaux, et ont été attribués à l'inconfort engendré par l'obstruction respiratoire.

Les signes cliniques du cheval 41 ont été attribués à sa maladie sous-jacente, et ne peuvent pas être corrélés à l'administration d'isofluprédone.

Les nombreux autres effets secondaires usuellement attribués à l'utilisation de glucocorticoïdes n'ont pas été observés dans cette étude. Par exemple, les chevaux n'ont pas démontré de susceptibilité accrue aux infections (Mair 1996), ni de signes cliniques d'affection hépatique (Cohen et Carter 1992).

2-Effets endocriniens

L'utilisation de glucocorticoïdes, chez le cheval comme dans les autres espèces, induit un effet de rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire qui est à l'origine d'une suppression surrénalienne iatrogénique. Étant donné qu'il existe une variation circadienne marquée des valeurs de cortisol sérique, les prélèvements ont toujours été réalisés à la même période de la journée, c'est à dire entre 6 heures et 8 heures du matin.

Dans cette étude, le suivi du cortisol sérique a permis de mettre en évidence une suppression surrénalienne après une semaine de traitement (jour 28), dans les 2 groupes. Les résultats obtenus pour la dexaméthasone sont comparables à ceux rapportés dans des études précédentes (MacHarg, *et al.* 1985;Rush, *et al.* 1998a;Slone, *et al.* 1983;Toutain, *et al.* 1984). Au dosage utilisé dans cette étude, une période de traitement de 14 jours d'acétate d'isofluprédone semble avoir un effet suppresseur plus long que pour la dexaméthasone. Ceci peut être attribué à sa forme pharmaceutique, estérifiée, qui a pour but de prolonger sa demi-vie. Cette prolongation de la suppression peut indiquer un effet secondaire prolongé, mais elle peut aussi être la preuve d'une durée d'action plus

longue. En effet plusieurs auteurs utilisent la suppression surrénalienne comme évaluation de l'action glucocorticoïde (MacHarg, *et al.* 1985;Toutain, *et al.* 1984).

De plus, même si les niveaux de cortisol sérique de certains chevaux sont restés en dessous des valeurs normales de notre laboratoire (50-640 nmol/l) après la stimulation à l'ACTH à la fin de la période de traitement (jour 29), l'augmentation supérieure à 10 fois la valeur de base obtenue dans les 2 groupes est considéré comme une réponse normale de la glande surrénale (Cohen et Carter 1992;Dybdal 2001;Rush, *et al.* 1998a). Ceci indique que le traitement glucocorticoïde n'a pas été à l'origine d'une atrophie surrénalienne. Les réponses obtenues pour les 2 groupes suite à la stimulation à l'ACTH sont similaires à celles observées dans la littérature avec la dexaméthasone (Rush, *et al.* 1998a) et la triamcinolone (Lapointe, *et al.* 1993).

3-Effets hématologiques

Les effets des glucocorticoïdes sur la cellularité sanguine des chevaux sont connus sous le nom de « formule de stress », puisqu'ils sont semblables à ceux observés lors d'augmentation du cortisol sérique suite à un évènement stressant. Les principaux effets sont une leucocytose neutrophilique, une lymphopénie et une éosinopénie (Eiler, *et al.* 1979;Osbaldiston et Johnson 1972;Tarr et Olsen 1978). Dans cette étude, comme attendu, **l'administration de dexaméthasone et d'isofluprédone a induit une augmentation du nombre de neutrophiles sanguins, ainsi qu'une diminution du nombre de lymphocytes et d'éosinophiles. Les changements semblaient plus marqués dans le groupe traité à l'isofluprédone**, même si une différence significative n'a pas pu être démontrée. De plus, seuls les chevaux traités à l'isofluprédone ont présenté une variation significative du comptage de leucocytes sanguins.

III. Troisième objectif :Évaluation des effets minéralocorticoïdes

Malgré leur plus grande affinité pour leurs récepteurs spécifiques, les glucocorticoïdes peuvent avoir une action sur les récepteurs aux minéralocorticoïdes. L'importance de ses effets est fonction de la structure moléculaire du principe actif. Les effets attendus sont une augmentation de la volémie et de la pression artérielle, une légère hypernatrémie, une hypochlorémie, ainsi qu'une hyperkaliémie. Bien que considérés comme négligeables dans les ouvrages de références (Ferguson et Hoenig 2001; Plumb 1999), les effets

minéralocorticoïdes de la dexaméthasone ont été démontrés chez le cheval (Slone, *et al.* 1983;Straub et Gerber 1975). Ceux de l'isofluprédone semblent marqués chez l'homme (Vita, *et al.* 1987) et les bovins (Sattler, *et al.* 2002).

La seule méthode d'évaluation de la volémie utilisée dans cette étude a été la mesure de l'hématocrite, qui est un reflet approximatif de l'hémoconcentration. Celui-ci n'a pas connu de variation significative durant la période de traitement dans aucun des 2 groupes. L'augmentation d'hématocrite pendant la période de rémanence est en faveur d'une diminution de la volémie suite à l'arrêt des traitements. Pourtant, ces observations ne suffisent pas pour évaluer les variations de volémie. D'autres types de mesures, telles que le dosage des protéines totales, la mesure de la pression artérielle ou de la pression veineuse centrale, ou l'utilisation de méthodes de dilution auraient été nécessaires pour pouvoir évaluer adéquatement la volémie. D'autre part, l'effet des glucocorticoïdes sur la natrémie et la chlorémie n'a pas été démontré dans cette étude.

Par contre, **contrairement à la dexaméthasone, l'isofluprédone a induit une hypokaliémie marquée chez les chevaux atteints de souffle dès 7 jours de traitement**. Cette hypokaliémie n'a pas persisté 7 jours après l'arrêt du traitement. La différence peut s'expliquer par la présence d'un groupement méthyle en C-16 qui permet de réduire l'action minéralocorticoïde de la dexaméthasone, comparée à l'isofluprédone (Ferguson et Hoenig 2001). Toutefois le dosage de potassium sérique n'est pas un indicateur précis de la réserve corporelle de potassium, puisque la majeure partie du potassium est dans le compartiment intracellulaire (Johnson 1995). Des dosages de potassium dans les globules rouges ainsi que des mesures de fraction d'excrétion urinaire du potassium auraient permis d'évaluer la présence ou non d'une déplétion en potassium induite par l'administration d'isofluprédone.

D'autre part, **aucun signe clinique associé à l'hypokaliémie n'a pu être observé chez les chevaux traités à l'isofluprédone**. D'après Johnson, les signes d'hypokaliémie sont observés chez le cheval lorsque le potassium sérique atteint un seuil de 1,8 mmol/l et se manifestent par de la faiblesse musculaire, des myopathie, de la dysrythmie, des perturbations de la motilité intestinale, de l'hypertension et de la fourbure (Johnson 1995). Bien que de telles valeurs de kaliémie n'aient pas été atteintes dans cette étude, les doses d'isofluprédone utilisées étaient de loin supérieures à celles rapportées comme

induisant des myopathies hypokaliémiques sévères chez les bovins (Peek, *et al.* 2000;Sattler, *et al.* 1998;Sielman, *et al.* 1997). On peut donc supposer que les chevaux sont moins sensibles aux effets minéralocorticoïdes de l'isofluprédone que les bovins. Toutefois, l'apparition de myopathies subcliniques n'a pas été évaluée dans cette étude, et l'utilisation de dosages d'enzymes musculaires ou de biopsies musculaires aurait pu mettre en évidence des anomalies.

Chez les bovins, le jeûne semble être un facteur de risque associé à l'induction de myopathies hypokaliémiques par l'isofluprédone (Sattler, *et al.* 2002). Dans notre étude, les 2 chevaux anorexiques du groupe traité à l'isofluprédone sont ceux qui ont présentés l'hypokaliémie la plus sévère. Malheureusement, le faible nombre d'animaux ne permet pas de tirer des conclusions de cette observation, et de plus amples recherches seront à mener pour évaluer l'effet combiné du jeûne et de l'isofluprédone sur la kaliémie des chevaux.

CONCLUSION

Cette thèse nous a permis de rassembler de nombreuses données concernant le souffle, qui est une maladie très fréquente chez le cheval, ainsi que sur l'utilisation des glucocorticoïdes dans l'espèce équine. La partie expérimentale de la thèse, en s'appuyant sur les données bibliographiques, avait pour objet de comparer l'efficacité et l'innocuité de deux médicaments utilisés dans le traitement du souffle :l'acétate d'isofluprédone et la dexaméthasone. Nous avons démontré que l'isofluprédone était un glucocorticoïde efficace dans le traitement du souffle chez le cheval, tout comme la dexaméthasone. Une période de traitement de 14 jours a été bien tolérée par les chevaux et aucun effet secondaire clinique n'a pu être observé pour aucun des deux traitements. Ces deux glucocorticoïdes ont induit une suppression surrénalienne et des modifications hématologiques comparables à celles décrites dans la littérature, sans répercussion clinique observée. Toutefois, une hypokaliémie significative a été démontrée chez les chevaux traités à l'isofluprédone. Celle-ci a été attribuée aux effets minéralocorticoïdes puissants de la molécule, et mérite des investigations supplémentaires. En particulier, des études concernant la pharmacocinétique de l'isofluprédone seraient nécessaires pour ajuster la dose et le rythme d'administration de ce principe actif afin de conserver son efficacité tout en limitant ses effets secondaires. De plus, une étude sur les effets du jeûne lors d'utilisation d'isofluprédone permettrait d'évaluer les facteurs de risques pour l'induction de myopathie hypokaliémique chez le cheval.

REFERENCES

Ammann VJ, Vrins AA et Lavoie JP (1998) Effects of inhaled beclomethasone dipropionate on respiratory function in horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Equine Vet J,* **30**, 152-157.

Art T, McGorum BC et Lekeux P (2002). (mise à jour le 20/03/02) Environmental control of respiratory disease. *In:Lekeux, P. Respiratory diseases of the horse.* [en ligne]. Ithaca: IVIS http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/toc.asp (consulté le 21/05/02).

Aviza GA, Ainsworth DM, Eicker SW, Santiago MA et Divers TJ (2001) Outcome of horses diagnosed with and treated for heaves (recurrent airway obstruction). *Equine Vet Education,* **13**, 243-246.

Beech J (2001) Chronic obtructive pulmonary disease (chronic recurrent airway obstruction). *In:*Smith BP, editor. *Large Animal Internal Medicine:diseases of horses, cattle, sheep and goats,*3rd ed. St Louis: Mosby, 517-522.

Beech J et Gunson DE (1981) Intradermal skin testing in horses with chronic obstructive pulmonary disease. *California Vet,* **1**, 10-13.

Bracher V, von Fellenberg R, Winder CN, Gruenig G, Hermann M et Kraehenmann A (1991) An investigation of the incidence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in random populations of Swiss horses. *Equine Vet ,J* **23**, 136-141.

Broadstone RV, Scott JS, Derksen FJ et Robinson NE (1988) Effects of atropine in ponies with recurrent airway obstruction. *J Appl Physiol,* **65**, 2720-2725.

Chen CL, Sailor JA, Collier J et Wiegand J (1992) Synovial and serum levels of triamcinolone following intra-articular administration of triamcinolone acetonide in the horse. *J Vet Pharmacol Ther,* **15**, 240-246.

Cohen ND et Carter GK (1992) Steroid hepatopathy in a horse with glucocorticoid-induced hyperadrenocorticism. *J Am Vet Med Assoc,* **200**, 1682-1684.

Derksen FJ et Robinson NE (1980) Esophageal and intrapleural pressures in the healthy conscious pony. *Am J Vet Res,* **41**, 1756-1761.

Derksen FJ, Brown CM, Sonea I, Darien BJ et Robinson NE (1989) Comparison of transtracheal aspirate and bronchoalveolar lavage cytology in 50 horses with chronic lung disease. *Equine Vet J,* **21**, 23-26.

Derksen FJ, Olszewski MA, Robinson NE, Berney C, Hakala JE, Matson CJ, *et al.* (1999) Aerosolized albuterol sulfate used as a bronchodilator in horses with recurrent airway obstruction. *Am J Vet Res,* **60**, 689-693.

Derksen FJ, Olszewski M, Robinson NE, Berney C, Lloyd JW, Hakala J, *et al.* (1996) Use of a hand-held, metered-dose aerosol delivery device to administer pirbuterol acetate to horses with 'heaves'. *Equine Vet J,* **28**, 306-310.

Dixon PM (1992) Respiratory mucociliary clearance in the horse in health and disease, and its pharmaceutical modification. *Vet Rec,* **131**, 229-235.

Dixon PM, Railton DI et McGorum BC (1995a) Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 3: Ancillary diagnostic findings. *Equine Vet J,* **27**, 428-435.

Dixon PM, Railton DI et McGorum BC (1995b) Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 2: Details of animals and of historical and clinical findings. *Equine Vet J,* **27**, 422-427.

Dixon PM, Railton DI et McGorum BC (1995c) Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 1:Examination techniques, diagnostic criteria and diagnoses. *Equine Vet J,* **27**, 416-421.

Dixon PM, Railton DI et McGorum BC (1995d) Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 4:Treatments and re-examination findings. *Equine Vet J,* **27**, 436-439.

Doucet MY, Vrins AA et Ford-Hutchinson AW (1991) Histamine inhalation challenge in normal horses and in horses with small airway disease. *Can J Vet Res,* **55**, 285-293.

Dybdal NO (2001) Endocrine disorders. *In:*Smith BP, editor. *Large Animal Internal Medicine:diseases of horses, cattle, sheep and goats,*3rd ed. St Louis: Mosby, 1237.

Eiler H, Oliver J et Goble D (1979) Adrenal gland function in the horse: effect of dexamethasone on hydrocortisone secretion and blood cellularity and plasma electrolyte concentrations. *Am J Vet Res*, **40**, 727-729.

Erichsen DF, Aviad AD, Schultz RH et Kennedy TJ (1994) Clinical efficacy and safety of clenbuterol HCl when administered to effect in horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Equine Vet J,* **26**, 331-336.

Eyre P, Elmes PJ et Strickland S (1979) Corticosteroid-potentiated vascular responses of the equine digit: a possible pharmacologic basis for laminitis. *Am J Vet Res,* **40**, 135-138.

Ferguson DC et Hoenig M (2001) Glucocortoids, mineralocorticoids, and steroid synthesis inhibitors. *In:* Booth NH et McDonald LE, editors. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics.* 8th ed. Ephata: Iowa State University Press,649-671.

French K, Pollitt CC et Pass MA (2000) Pharmacokinetics and metabolic effects of triamcinolone acetonide and their possible relationships to glucocorticoid-induced laminitis in horses. *J Vet Pharmacol Ther,* **23**, 287-292.

Giguere S, Viel L, Lee E, MacKay RJ, Hernandez J et Franchini M (2002) Cytokine induction in pulmonary airways of horses with heaves and effect of therapy with inhaled fluticasone propionate. *Vet Immunol Immunopathol,* **85**, 147-158.

Gilger B C (2003) Equine recurrent uveitis. *In:* Robinson NE. *Current Therapy in Equine Medicine.* 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company,468-473.

Gonzalez MV, Jimenez B, Berciano MT, Gonzalez-Sancho JM, Caelles C, Lafarga M, *et al.* (2000) Glucocorticoids antagonize AP-1 by inhibiting the Activation/phosphorylation of JNK without affecting its subcellular distribution. *J Cell Biol,* **150**, 1199-1208.

Gray PR, Derksen FJ, Robinson NE, Carpenter-Deyo LJ, Johnson HG et Roth RA (1989) The role of cyclooxygenase products in the acute airway obstruction and airway hyperreactivity of ponies with heaves. *Am Rev Respir Dis,* **140**, 154-160.

Halliwell RE, McGorum BC, Irving P et Dixon PM (1993) Local and systemic antibody production in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease. *Vet Immunol Immunopathol,* **38**, 201-215.

Harkins JD, Carney JM et Tobin T (1993) Clinical use and characteristics of the corticosteroids. *Vet Clin North Am Equine Pract,* **9**, 543-562.

Henrikson SL et Rush BR (2001) Efficacy of salmeterol xinafoate in horses with recurrent airway obstruction. *J Am Vet Med Assoc*, **218**, 1961-1965.

Hoffman A, Dhupa N et Cimetti L (1999) Airway reactivity measured by barometric whole body plethysmography in healthy cats. *Am J Vet Res,* **60**, 1487-1492.

Hoffman A, Kuehn H, Riedelberger K, Kupcinskas R et Miskovic MB (2001) Flowmetric comparison of respiratory inductance plethysmography and pneumotachography in horses. *J Appl Physiol*, **91**, 2767-2775.

Hoffman AM (2002) (mis à jour le 01/08/02)Clinical application of pulmonary testing in horses. *In: Lekeux P. Respiratory diseases of the horse.* [en ligne]. Ithaca: IVIS http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/toc.asp. (consulté le 25/03/03).

Hoffsis GF et Murdick PW (1970) The plasma concentrations of corticosteroids in normal and diseased horses. *J Am Vet Med Assoc,* **157**, 1590-1594.

Jackson CA, Berney C, Jefcoat AM et Robinson NE (2000) Environment and prednisone interactions in the treatment of recurrent airway obstruction (heaves). *Equine Vet J,* **32**, 432-438.

Jean D, Lavoie JP et Vrins A (1996) Respiratory effects of massive saline infusion in COPD horses. *In:14th Annual American College of Veterinary Internal Medicine Forum.* San Antonio, CA, June 1996, 770.

Kirk MD (1974) Field diagnosis and treatment of secondary adrenocortical insufficiency in the horse. *Vet Med Small Anim Clin,* **69**, 1383-1386.

Klein HJ et Deegen E (1986) Histamine inhalation provocation test: method to identify nonspecific airway reactivity in equids. *Am J Vet Res,* **47**, 1796-1800.

Lane PJ, Lees P et Fink-Gremmels J (1990) Action of dexamethasone in an equine model of acute non-immune inflammation. *Res Vet Sci*, **48**, 87-95.

Lapointe JM, Lavoie JP et Vrins AA (1993) Effects of triamcinolone acetonide on pulmonary function and bronchoalveolar lavage cytologic features in horses with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Vet Res,* **54**, 1310-1316.

Larson VL et Busch RH (1985) Equine tracheobronchial lavage: comparison of lavage cytologic and pulmonary histopathologic findings. *Am J Vet Res*, **46**, 144-146.

Lavoie JP (1997) Chronic obstructive pulmonary disease. *In:* Robinson NE. *Current therapy in equine medicine.* 4th ed. W.B. Philadelphia: Saunders company,431-435.

Lavoie JP, Maghni K, Desnoyers M, Taha R, Martin JG et Hamid QA (2001) Neutrophilic airway inflammation in horses with heaves is characterized by a Th2-type cytokine profile. *Am J Respir Crit Care Med*, **164**, 1410-1413.

Lavoie JP, Leguillette R, Pasloske K, Charette L, Sawyer N, Guay D, *et al.* (2002) Comparison of effects of dexamethasone and the leukotriene D4 receptor antagonist L-708,738 on lung function and airway cytologic findings in horses with recurrent airway obstruction. *Am J Vet Res*, **63**, 579-585.

Leguillette R, Desevaux C et Lavoie JP (2002) Effects of pentoxifylline on pulmonary function and results of cytologic examination of bronchoalveolar lavage fluid in horses with recurrent airway obstruction. *Am J Vet Res,* **63**, 459-463.

Lepage OM, Laverty S, Marcoux M et Dumas G (1993) Serum osteocalcin concentration in horses treated with triamcinolone acetonide. *Am J Vet Res,* **54**, 1209-1212.

Lose MP (1980) Drug-induced laminitis in a colt. *Mod Vet Pract,* **61**, 608-610.

MacHarg, MA, Bottoms GD, Carter GK et Johnson MA (1985) Effects of multiple intramuscular injections and doses of dexamethasone on plasma cortisol concentrations and adrenal responses to ACTH in horses. *Am J Vet Res,* **46**, 2285-2287.

Mair TS (1996) Bacterial pneumonia associated with corticosteroid therapy in three horses. *Vet Rec*, **138**, 205-207.

Marr KA, Lees P, Page CP et al., e (1998a). Effect of the 5-lipoxygenase inhibitor, fenleuton, on antigen-induced neutrophil accumulation and lung function changes in horses with chronic obstrustive pulmonary disease. *J Vet Pharmacol Ther,* **21**, 241-246.

Marr KA, Lees P, Page CP et Cunningham FM (1998b) Inhaled leukotrienes cause bronchoconstriction and neutrophil accumulation in horses. *Res Vet Sci,* **64**, 219-224.

Marti E, Gerber H, Essich G, Oulehla J et Lazary S (1991) The genetic basis of equine allergic diseases. 1. Chronic hypersensitivity bronchitis. *Equine Vet J,* **23**, 457-460.

Maxwell LK, Stanley SD et Kollias-Baker C (2003) Bioequivalence testing and cortisol suppression of two dexamethasone formulations administered orally to horses. *In:21st Annual American College of Veterinary Internal Medicine Forum.* Charlotte, N.C., Jun e 2003, 111.

McDonald LE (1988) Hormones Influencing Metabolism. *In:* Booth NH et McDonald LE. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics.* 6th ed. Ephata: Iowa State University Press,616-655.

McGorum BC, Dixon PM et Halliwell RE (1993a) Evaluation of intradermal mould antigen testing in the diagnosis of equine chronic obstructive pulmonary disease. *Equine Vet J,* **25**, 273-275.

McGorum BC, Dixon PM et Halliwell RE (1993b) Responses of horses affected with chronic obstructive pulmonary disease to inhalation challenges with mould antigens. *Equine Vet J,* **25**, 261-267.

McKiernan BC, Koritz GD, Scott JS, Berney C et Robinson NE (1990) Plasma theophylline concentration and lung function in ponies with recurrent obstructive lung disease. *Equine Vet J,* **22**, 194-197.

Munk A, Mendel DB, Smith LI et Orti E (1990) Glucorticoids receptors and actions. *Am rev resp Dis,* **141**, s2-s11.

Muylle E et Oyaert W (1973) Lung function tests in obstructive pulmonary disease in horses. *Equine Vet J,* **5**, 37-44.

Nyman G, Lindberg R, Weckner D, Bjork M, Kvart C, Persson SG*, et al.* (1991) Pulmonary gas exchange correlated to clinical signs and lung pathology in horses with chronic bronchiolitis. *Equine Vet J,* **23**, 253-260.

Osbaldiston GW et Johnson JH (1972) Effect of ACTH and selected glucocorticoids on circulating blood cells in horses. *J Am Vet Med Assoc,* **161**, 53-56.

Pass MA, Pollitt S et Pollitt CC (1998) Decreased glucose metabolism causes separation of hoof lamellae in vitro: a trigger for laminitis? *Equine Vet J, Suppl N^{o}26,* 133-138.

Peek SF, Divers TJ, Guard C, Rath A et Rebhun WC (2000) Hypokalemia, muscle weakness, and recumbency in dairy cattle. *Vet Therapeutics*, **1**, 235-244.

Peroni DL, Stanley S, Kollias-Baker C et Robinson NE (2002) Prednisone per os is likely to have limited efficacy in horses. *Equine Vet J*, **34**, 283-287.

Petsche VM, Derksen FJ et Robinson NE (1994) Tidal breathing flow-volume loops in horses with recurrent airway obstruction (heaves). *Am J Vet Res*, **55**, 885-891.

Plumb DC (1999) *Veterinary drug handbook.* 3rd ed. White Bear Lake:Pharma Vet Publishing,853p.

Robinson NE (2001) International workshop on equine chronic airway disease. *Equine Vet J*, **33**, 5-19.

Robinson NE, Derksen FJ, Berney C et Goossens L (1993) The airway response of horses with recurrent airway obstruction (heaves) to aerosol administration of ipratropium bromide. *Equine Vet J*, **25**, 299-303.

Robinson NE, Derksen FJ, Olszewski MA et Buechner-Maxwell VA (1995) The pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease of horses. *Br Vet J*, **152**, 283-306.

Robinson NE, Jackson C, Jefcoat A, Berney C, Peroni D et Derksen FJ (2002) Efficacy of three corticosteroids for the treatment of heaves. *Equine Vet J*, **34**, 17-22.

Robinson NE, Olszewski MA, Boehler D, Berney C, Hakala J, Matson C, *et al.* (2000) Relationship between clinical signs and lung function in horses with recurrent airway obstruction (heaves) during a bronchodilator trial. *Equine Vet J*, **32**, 393-400.

Rush BR, Worster AA, Flaminio MJ, Matson CJ et Hakala JE (1998a) Alteration in adrenocortical function in horses with recurrent airway obstruction after aerosol and parenteral administration of beclomethasone dipropionate and dexamethasone, respectively. *Am J Vet Res*, **59**, 1044-1047.

Rush BR, Flaminio MJ, Matson CJ, Hakala JE et Shuman W (1998b) Cytologic evaluation of bronchoalveolar lavage fluid from horses with recurrent airway obstruction after aerosol and parenteral administration of beclomethasone dipropionate and dexamethasone, respectively. *Am J Vet Res*, **59**, 1033-1038.

Rush BR, Raub ES, Thomsen MM, Davis EG, Matson CJ et Hakala JE (2000) Pulmonary function and adrenal gland suppression with incremental doses of aerosolized beclomethasone dipropionate in horses with recurrent airway obstruction. *J Am Vet Med Assoc,* **217**, 359-364.

Rush BR, Raub ES, Rhoads WS, Flaminio MJ, Matson CJ, Hakala JE, *et al.* (1998c) Pulmonary function in horses with recurrent airway obstruction after aerosol and parenteral administration of beclomethasone dipropionate and dexamethasone, respectively. *Am J Vet Res,* **59**, 1039-1043.

Sasse HH (1971) *Some pulmonary function tests in horses:an aid toearly diagnosis of chronic obstructive pulmonary disease (heaves) in horses*.PhD thesis,University of Utrecht.

Sattler N, Fecteau G et Pare J (2002) Experimental reproduction of the bovine hypokalemia syndrome. *In:20th Annual American College of Veterinary Internal Medicine Forum.* Dallas TX June 2001, 771.

Sattler N, Fecteau G, Girard C et Couture Y (1998) Description of 14 cases of bovine hypokalaemia syndrome. *Vet Rec,* **143**, 503-507.

Schmallenbach KH, Rahman I, Sasse HH, Dixon PM, Halliwell RE, McGorum BC, *et al.* (1998) Studies on pulmonary and systemic Aspergillus fumigatus-specific IgE and IgG antibodies in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Vet Immunol Immunopathol,* **66**, 245-256.

Seahorn TL et Beadle RE (1993) Summer pasture-associated obstructive pulmonary disease in horses: 21 cases (1983-1991). *J Am Vet Med Assoc,* **202**, 779-782.

Sielman ES, Sweeney RW, Whitlock RH et Reams RY (1997) Hypokalemia syndrome in dairy cows: 10 cases (1992-1996). *J Am Vet Med Assoc,* **210**, 240-243.

Slone DE, Purohit RC et Ganjam VK (1981) Effects of dexamethasone and triamcinolone that may predispose to laminitis in horses. *In:27th Annual Convention of the American Association of Equine Practitionners.* New Orleans LA, 469-471.

Slone DE, Purohit RC, Ganjam VK et Lowe JL (1983) Sodium retention and cortisol (hydrocortisone) suppression caused by dexamethasone and triamcinolone in equids. *Am J Vet Res,* **44**, 280-283.

Straub R et Gerber H (1975) Effects of prolonged use of corticoids. *In:1st International Symposium in Equine Hematology*. Michigan State University, MI, 28-30 May 1975. Golden:AAEP, 536-553.

Tarr MJ et Olsen RG (1978) Supression of the cell mediated immune system of the horse by systemic corticosteroid administration. *J Equine Med Surg,* **2**, 129-134.

Tesarowski DB, Viel L et McDonell WN (1996) Pulmonary function measurements during repeated environmental challenge of horses with recurrent airway obstruction (heaves). *Am J Vet Res*, **57**, 1214-1219.

Tesarowski DB, Viel L, McDonell WN et Newhouse MT (1994) The rapid and effective administration of a beta 2-agonist to horses with heaves using a compact inhalation device and metered-dose inhalers. *Can Vet J,* **35**, 170-173.

Thomson JR et McPherson EA (1981) Prophylactic effects of sodium cromoglycate on chronic obstructive pulmonary disease in the horse. *Equine Vet J,* **13**, 243-246.

Thomson JR et McPherson EA (1984) Effects of environmental control on pulmonary function of horses affected with chronic obstructive pulmonary disease. *Equine Vet J,* **16**, 35-38.

Toutain PL, Brandon RA, de Pomyers H, Alvinerie M et Baggot JD (1984) Dexamethasone and prednisolone in the horse: pharmacokinetics and action on the adrenal gland. *Am J Vet Res*, **45**, 1750-1756.

Traub-Dargatz JL, McKinnon AO, Thrall MA, Jones RL, Bruyninckx W, Blancquaert AM, *et al.* (1992) Evaluation of clinical signs of disease, bronchoalveolar and tracheal wash analysis, and arterial blood gas tensions in 13 horses with chronic obstructive pulmonary disease treated with prednisone, methyl sulfonmethane, and clenbuterol hydrochloride. *Am J Vet Res*, **53**, 1908-1916.

Turgut K et Sasse HH (1989) Influence of clenbuterol on mucociliary transport in healthy horses and horses with chronic obstructive pulmonary disease. *Vet Rec,* **125**, 526-530.

Viel L, Celly C, Staempfli H et Tesarowski D (1999) Therapeutic efficacy of inhaled fluticasone propionate in horses with chronic obstructive pulmonary disease. *In:45th Annual Convention of the American Association of equine practitionners.* Albuquerque, NM, 5-8 december 1999. Lexington: AAEP, 306-307.

Vita G, Bartolone S, Santoro M, Toscano A, Carrozza G, Girlanda P, *et al.* (1987) Hypokalemic myopathy in pseudohyperaldosteronism induced by fluoroprednisolone-containing nasal spray. *Clin Neuropathol*, **6**, 80-85.

Votion D, Ghafir Y, Vandenput S, Duvivier DH, Art T et Lekeux P (1999) Analysis of scintigraphical lung images before and after treatment of horses suffering from chronic pulmonary disease. *Vet Rec*, **144**, 232-236.

Williams W (1874) Asthma, broken wind. *In: The principles and practice of veterinary medicine.* Edinburgh: Maclachlam and Steward,358-363.

Wilson WD et Lofstedt J (2001) Alterations in respiratory function. *In:*Smith BP, editor. *Large Animal Internal Medicine:diseases of horses, cattle, sheep and goats*, 3rd ed. St Louis: Mosby, 46-87.

Woods PS, Robinson NE, Swanson MC, Reed CE, Broadstone RV et Derksen FJ (1993) Airborne dust and aeroallergen concentration in a horse stable under two different management systems. *Equine Vet J*, **25**, 208-213.

Young SS, Tesarowski D et Viel L (1997) Frequency dependence of forced oscillatory respiratory mechanics in horses with heaves. *J Appl Physiol*, **82**, 983-987.

COMPARAISON DE L'EFFICACITE ET DE L'INNOCUITE DE L'ISOFLUPREDONE ET DE LA DEXAMETHASONE DANS LE TRAITEMENT DES CHEVAUX ATTEINTS DE SOUFFLE (COPD)

NOM et Prénom :PICANDET Valérie

RESUME : Le souffle (maladie pulmonaire obstructive chronique) est une maladie inflammatoire des voies respiratoires du cheval très fréquente. Pour l'instant, les glucocorticoïdes se sont avérés les médicaments les plus efficaces pour son traitement. Malheureusement, il existe peu d'informations concernant les molécules utilisées en pratique. La dexaméthasone et l'isofluprédone font partie des glucocorticoïdes les plus utilisés. C'est pourquoi l'objectif de cette étude était de comparer leur efficacité et tolérabilité dans le traitement du souffle.

Douze chevaux atteints de souffle ont été étudiés en parallèle. La fonction respiratoire, l'examen clinique, le dosage de cortisol sérique et la réponse surrénalienne à l'ACTH, l'hématologie et les électrolytes sériques ont été évalués séquentiellement pendant une période contrôle de 14 jours, puis une période de 14 jours durant lesquels 6 chevaux ont reçu de la dexaméthasone (0,04 mg/kg IV), et 6 chevaux de l'isofluprédone (0,03 mg/kg IM). Les 12 chevaux ont encore été évalués pendant une période de rémanence de 7 jours sans traitement.

La dexaméthasone et l'isofluprédone ont induit une amélioration de la fonction respiratoire et ont été bien tolérées cliniquement. Le cortisol sérique était diminué pendant la période de traitement, mais une réponse normale à la stimulation surrénalienne était conservée. Les deux traitements ont induit une formule de stress à l'hématologie. Les électrolytes sériques des chevaux traités à la dexaméthasone n'ont subi aucune variation. Par contre, l'isofluprédone a été à l'origine d'une diminution significative du potassium sérique.

L'isofluprédone semble donc aussi efficace que la dexaméthasone dans le traitement du souffle chez le cheval. Mais son administration est associée à une hypokaliémie marquée probablement reliée à ses effets minéralocorticoïdes. C'est pourquoi, même si aucun effet clinique n'a pu être observé durant cette étude, cet effet secondaire mérite de plus amples investigations.

Mots-Clés :équidés, souffle, maladie pulmonaire obstructive chronique, maladie respiratoire, thérapeutique, isofluprédone, dexaméthasone, endocrinologie.

JURY :

	President	Pr
	Directeur	Pr Robert MORAILLON
	Assesseur	Pr Jean-Marie DENOIX

Adresse de l'auteur: Hôpital des Grands Animaux, Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Montréal, CP5000, St-HYACINTHE, J2S7C6, QC, CANADA

COMPARISON OF EFFICACY AND TOLERABILITY OF ISOFLUPREDONE AND DEXAMETHASONE IN THE TREATMENT OF HORSES AFFECTED WITH HEAVES (RECURRENT AIRWAY OBSTRUCTION)

SURNAME : PICANDET

Given name: Valérie

SUMMARY : Heaves (recurrent airway obstruction) is a common inflammatory disease of the horse's upper airways in temperate climates. Corticosteroids are currently the most effective drugs for the treatment of this disease. However, there is limited information concerning the comparative efficacy and tolerability of the various corticosteroids when used for treatment. Dexamethasone and isoflupredone are among the most used corticosteroids. That is why the objective of this study was to compare efficacy and tolerability of these two drugs in the treament of heaves.

To do so, a parallel design was used on 12 heaves affected horses. Respiratory function, clinical exam, serum cortisol concentrations and response to ACTH stimulation, hematology and serum electrolytes concentrations were sequentially evaluated during a 14 day control period, followed by 14 day treatment with either isoflupredone acetate (0,03 mg/kg IV, s.i.d., n=6), or dexaméthasone (0.04 mg/kg IM, s.i.d., n=6) and 7 days of wash-out.

Dexamethasone and isoflupredone both resulted in a significant improvement in lung function that started on day 3 of treatment and lasted for the treatment and wash-out periods. Both drugs were well tolerated clinically. Blood cortisol levels were significantly decreased during the treatment period in both groups of horses, but a normal response to ACTH stimulation was preserved. Both treatments induced stress changes in hematology. Serum electrolytes concentrations of horses receiving dexamethasone were not affected by the treatment, but horses treated with isoflupredone demonstrateda significant decrease in serum potassium level.

Then, isoflupredone is as effective as dexamethasone in the treatment of heaves affected horses, but associated with hypokalemia, probably due to its mineralocorticoid potency. Even if clinical signs of hypokalemia were not observed in this study, this is a side effect that deserve further investigation.

KEY WORDS :Horse, heaves, recurrent airway obstruction, respiratory disease, isoflupredone, dexamethasone, therapeutics, endocrinology.

JURY :

	President	Pr
	Director	Pr Robert MORAILLON
	Assessor	Pr Jean-Marie DENOIX

Author's Adress : Hôpital des Grands Animaux, Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Montréal, CP5000, St-HYACINTHE, J2S7C6, QC, CANADA