
annales de médecine vétérinaire

TABLE DES MATIERES

La virothérapie oncolytique médiée par le virus de la myxomatose KRYGIER D., GILLET L., MARLIER D.	5
Résistances aux fluoroquinolones : la situation actuelle MUYLAERT A., MAINIL J.G.	15
Critères d'appréciation et facteurs de variation des caractéristiques de la carcasse et de qualité de la viande bovine SALIFOU C.F.A., YOUSAO A.K.I., AHOUNOU G.S., TOUGAN P.U., FAROUGOU S., MENSAH G.A., CLINQUART A.	27
Trachéotomie temporaire chez le cheval GABRIEL A., HONTOIR F., VAN GALEN G., VERWILGHEN V., CARSTANJEN C.	45
L'insuffisance mitrale chez le cheval : revue de la littérature et comparaison avec la pathologie chez l'homme et chez le chien AL-HAIDAR A., LEROUX A., AMORY H.	52

PERIODIQUE

2013 - Tome 157 N° **1**

ANNALES DE MEDECINE VETERINAIRE

Publiées par le Personnel Enseignant et Scientifique de la Faculté de Médecine
Vétérinaire de l'Université de Liège.

CONSEIL DE GESTION

B. Nicks

P. Leroy

S. Vandenput

P. Lekeux

EDITEURS RESPONSABLES

B. Nicks et S. Vandenput

GESTION DE LA REVUE

Vandenput (Tél. 04/366 41 94).

CONDITIONS D'INSERTION

Les publications sont signées par les auteurs qui en assument seuls la responsabilité.

ADRESSE

Faculté de Médecine Vétérinaire

Université de Liège,

B43, Sart Tilman

B - 4000 Liège - Belgique

amv@misc.ulg.ac.be

Site Internet: <http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/>

CONTENTS

Oncolytic virotherapy with myxoma virus KRYGIER D., GILLET L., MARLIER D.	5
Fluoroquinolones resistances: the current situation MUYLAERT A., MAINIL J.G.	15
Assessment criteria and factors of variation of bovine carcass trait and beef quality SALIFOU C.F.A., YOUSAO A.K.I., AHOUNOU G.S., TOUGAN P.U., FAROUGOU S., MENSAH G.A., CLINQUART A.	27
Temporary tracheotomy in horses GABRIEL A., HONTOIR F. , VAN GALEN G., VERWILGHEN V., CARSTANJEN C.	45
Mitral regurgitation in the horse: literature review AL-HAIDAR A., LEROUX A., AMORY H.	52

La virothérapie oncolytique médiée par le virus de la myxomatose

KRYGIER D., GILLET L.¹, MARLIER D.²

¹ Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Laboratoire d'Immunologie-Vaccinologie, bâtiment B43bis

² Clinique aviaire, des Rongeurs et des Lagomorphes, Département clinique des Animaux de Compagnie et des Équidés, bâtiment B42

Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster, 20, 4000 Liège, Belgique

Correspondance : Prof. D. Marlier - Email : dmarlier@ulg.ac.be

RÉSUMÉ : Le virus de la myxomatose est un poxvirus du genre *Leporipoxvirus* qui induit une pathologie spécifique, la myxomatose, chez le lapin européen (*Oryctolagus cuniculus*). Ce virus a la particularité d'être non pathogène pour les autres espèces de vertébrés y compris l'homme. Le virus de la myxomatose (MYXV) présente aussi, de manière inattendue, un tropisme pour les cellules cancéreuses humaines in vitro ainsi qu'un potentiel oncolytique in vivo. La tolérance de ces cellules au MYXV est intimement liée au niveau intracellulaire d'Akt phosphorylée. Cette enzyme, est une serine/thréonine protéine kinase qui joue un rôle essentiel dans de nombreux processus cellulaires et fait partie de la voie de signalisation PI3k/Akt/mTOR (*mammalian target of rapamycin*), fréquemment amplifiée par l'oncogénèse. La protéine virale à répétitions ankyrines, M-T5, interagit avec Akt ce qui module le tropisme du MYXV pour les cellules tumorales humaines. Un régulateur de la croissance cellulaire et du métabolisme situé en aval d'Akt, mTOR, est spécifiquement inhibé par la rapamycine. Ainsi, l'utilisation de la rapamycine en combinaison avec le MYXV permet d'augmenter la concentration d'Akt phosphorylée, et par conséquent, d'amplifier l'oncolyse. Un meilleur contrôle chimique de la voie de signalisation d'Akt ou de la modification génétique de son génome constituera une étape décisive pour que le MYXV devienne l'un des nouveaux traitements des cancers chez l'homme.

INTRODUCTION

Avec plusieurs dizaines de millions de nouveaux cas chaque année et en dépit de dépistages toujours plus précoces, le cancer est l'une des maladies les plus dévastatrices pour l'humanité. De part la multiplicité des étiologies et des types de cancers, l'existence d'un traitement unique actif sur tous les cas et capable de les guérir ou, à défaut, de les stabiliser est utopique. Dans ce cadre, la recherche de nouveaux traitements toujours plus efficaces est permanente. Parmi ces nouvelles thérapies, la virothérapie semble très prometteuse.

La « virothérapie oncolytique » se définit comme l'utilisation d'un virus pour cibler et détruire des cellules cancéreuses. Cette nouvelle forme de traitement repose sur l'observation

qu'une infection virale pouvait avoir un effet positif sur la régression des tumeurs (Dock, 1904).

L'efficacité d'une telle thérapie va dépendre du type de virus utilisé, l'« agent oncolytique idéal » se présentant comme un virus qui possède un tropisme hautement sélectif pour le tissu tumoral ainsi qu'une incapacité à causer une infection significative dans les tissus sains de l'hôte. D'autres propriétés comme la possibilité de facilement modifier le génome viral et, surtout, d'être totalement non pathogène pour l'homme sont primordiales pour être utilisé comme thérapie chez ce dernier (Lun *et al.*, 2007).

Il existe plusieurs virus qui correspondent à cette définition tels que

les adénovirus, les herpèsvirus, les réovirus, le virus de la rougeole, le virus de la vaccine, ces virus étant des candidats potentiels pour être utilisés comme traitement oncolytique. Dans la plupart des cas, ces virus oncolytiques utilisés sont des souches spontanément atténuées ou modifiées génétiquement afin de les rendre les plus inoffensives possibles pour les tissus sains de l'hôte (Gillet *et al.*, 2005). Récemment, les recherches sur le virus de la myxomatose (MYXV) semblent indiquer que ce virus pourrait également être utilisé dans ce cadre (Sypula *et al.*, 2004).

Le MYXV est un poxvirus, appartenant à la famille des *Poxviridae*, à la sous-famille des *Chordopoxvirinae*, genre *Leporipoxvirus*. Les hôtes naturels du MYXV sont les lapins

américains du genre *Sylvilagus* chez lesquels la maladie est bénigne. Le MYXV possède la particularité d'être un virus spécifique des léporidés, non pathogène pour les autres espèces de vertébrés, incluant l'homme (McFadden, 2005). La myxomatose peut se présenter sous deux formes cliniques, la forme « nodulaire classique » et la forme « amyxomateuse ». La forme nodulaire classique est une maladie très sévère entraînant l'apparition sur l'animal de lésions cutanées, nommées myxomes, suivi de la mort de l'animal dans les dix jours qui suivent l'infection. Des formes nodulaires plus atténuées sont également observées avec des taux de mortalités moindres et une évolution clinique plus lente, le dessèchement progressif des myxomes laissant apparaître des lésions cicatricielles cutanées. La forme amyxomateuse diffère des formes nodulaires de part une

expression cutanée très réduite, voire absente. Dans les deux formes, une détresse respiratoire sévère est souvent observée suite au développement de complications bactériennes secondaires pulmonaires faisant suite à l'intense immunosuppression induite chez l'hôte par la multiplication virale (Marlier *et al.*, 2001).

La myxomatose se transmet par contacts directs ou indirects, le plus souvent via des insectes piqueurs qui lors d'un repas sanguin vont permettre au MYXV d'infecter directement les cellules dendritiques présentes dans le derme. Celles-ci migrent alors jusqu'au nœud lymphatique dans lequel le MYXV infecte principalement les lymphocytes T de la région paracorticale, ce qui conduit à une très forte réduction du nombre de lymphocytes T, plus particulièrement

les LTCD4+. La réplication du virus entraîne une réduction massive de ces cellules ce qui explique la chute brutale de l'immunité et la surinfection bactérienne fatale qui s'en suit (Stanford *et al.*, 2007b).

Comme tous les poxvirus, le MYXV se réplique exclusivement dans le cytoplasme de la cellule hôte. Le MYXV est un virus de grande taille (286 X 230 X 75 nm) qui possède un génome de grande taille, d'environ 162 kilo-paires de bases facilement modifié tant par délétion de gènes d'intérêts que par insertion de gènes eucaryotes dans un but vaccinal (Bertagnoli *et al.*, 1996) ou thérapeutique (Johnston et McFadden, 2004).

De nombreuses protéines sont synthétisées par le MYXV (tableau I). Parmi

Tableau I : liste des virokines, des virorécepteurs et des protéines virales impliquées dans la tolérance de la cellule hôte et dans le contrôle de l'action des macrophages et des lymphocytes T, d'après Stanford et collaborateurs (2007b)

Cytokine	Gènes-Protéines	Propriétés/fonctions	Requis pour l'infection	
			<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>
Virokines et Virorécepteurs	MT1	liaison et inhibition des propriétés chemo-tactiques des chemokines	N	N
	MT2	récepteurs homologues de TNF	uniquement RL5	O
	MT7	récepteurs homologues d'IFN γ	N	O
	SERP1	sécrétion de Serpine	N	O
	MGF	facteur de croissance	N	O
Facteurs anti-apoptotiques	MT4	régulateur de l'apoptose	uniquement RL5	O
	MT5	protéine à répétitions ankyrines et inhibiteur du cycle cellulaire/apoptose	RL5 et cellules cancéreuses	O
	M11L	protéines membranaires et régulateur de l'apoptose	uniquement RL5	O
	SERP2	serpine intracellulaire	N	O
Modulateurs de l'immunité	vOx2/vCD200	domaines d'immunoglobines et homologues OX2	N	O
	vCD47	protéines associées aux intégrines et homologues CD47	N	O
	MNF	protéines à répétitions ankyrines et inhibiteur de NF κ B	N	O
	M13L	inhibiteur de la pyrine contenant l'inflammation	uniquement RL5	O
	SERP-3	facteur de virulence, serpine virale	N	O
	MV-LAP	promoteur de la régulation en aval du CMH1 et de CD4 sur les cellules T	N	N

O ou N : infection possible (O) ou non (N) dans les cellules testées

celles-ci, une (MT5) module à la fois sa virulence et son tropisme cellulaire. Cette protéine anti-apoptotique appartient au groupe de protéines possédant des répétitions ankyrines, séquences impliquées dans les interactions protéine-protéine. Après délétion du gène codant pour la MT5, les virus délétés possèdent *in vitro* une infectiosité très réduite vis-à-vis des cellules RL-5 et des cellules cancéreuses et *in vivo* une virulence très atténuée envers les lapins infectés par rapport au virus sauvage (Werden et McFadden, 2008). Au niveau moléculaire, la protéine MT5 se fixe, au moins, à deux protéines cellulaires distinctes : Akt et cullin1. L'interaction entre MT5 et Akt est la base du tropisme du MYXV pour les cellules cancéreuses humaines, faisant de ce dernier un excellent candidat oncolytique.

Facteurs de spectre d'hôte et de permissivité

Les mécanismes moléculaires contrôlant le spectre d'hôte et la permissivité du MYXV ne sont toujours pas totalement connus et diffèrent lors de l'infection d'une cellule normale ou d'une cellule cancéreuse (McFadden, 2005).

Le spectre d'hôte limité aux léporidés

Les premières études portant sur les risques d'infection de l'homme remontent aux années '60 suite à l'épidémie californienne de myxomatose de 1963. L'absence de séroconversions humaines vis-à-vis du MYXV a conduit à la conclusion que ce dernier n'infectait pas l'homme même si la raison de ce spectre d'hôte sélectif ne pouvait être expliquée (Jackson *et al.*, 1966). Depuis, les études fondamentales sur le MYXV ont conduit à proposer la cascade de signalisation de l'interféron de type 1 comme étant responsable de la barrière d'espèce du MYXV (Johnston *et al.*, 2005). L'interféron de type 1 (IFN α et IFN β) est une cytokine sécrétée par les cellules de l'immunité innée suite à une infection virale. Le mécanisme expliquant la stricte barrière d'espèce du MYXV n'est pas encore décrit avec précision notamment celui régulant l'infection du lapin européen. Il a cependant été démontré que cette barrière existe au niveau de certaines cellules isolées en culture (Wang *et al.*, 2004).

En effet, après avoir pénétré dans des fibroblastes embryonnaires de souris

in vitro, le MYXV induit un signal toujours inconnu qui active les deux protéines kinases régulatrices du signal extracellulaire, Erk 1/2. En conséquence, ces dernières vont phosphoryler le facteur 3 de régulation de l'interféron, IRF3, qui en retour va induire la synthèse *de novo* d'IRF7. L'activation de ces deux facteurs entraîne la transcription, la synthèse et la sécrétion d'interférons de type 1 par la cellule infectée. Les IFN1 se lient aux récepteurs membranaires des cellules voisines et provoquent la phosphorylation du transducteur de signal et activateur de la transcription 1, STAT1. Ce facteur de transcription déclenche la transcription et la synthèse d'une kinase inconnue qui va phosphoryler le facteur de translation eucaryote 2 α (eIF2 α), responsable du blocage de la synthèse des protéines virales (Wang *et al.*, 2004).

Ainsi, lorsque le MYXV infecte un organisme autre que le lapin européen, il déclencherait la cascade de signalisation Erk1/2-IFN-STAT1 (figure 1) conduisant à l'inhibition de la réplication virale. Cette cascade de phosphorylation constituerait donc un mécanisme permettant d'expliquer la barrière cellulaire innée qui empêche la transmission du MYXV à d'autres

espèces que le lapin européen. L'altération de cette cascade permet de supprimer cette barrière comme le démontre la mortalité de souris mutantes, déficientes en STAT1, après inoculation intracrâniale du MYXV (Wang *et al.*, 2004).

L'absence de permissivité des cellules normales humaines

Wang et collaborateur (2008) ont découvert que l'inhibition de la permissivité au MYXV dans des cultures de fibroblastes humains nécessite la présence conjointe d'IFN1, comme pour les fibroblastes de souris, mais également du facteur de nécrose tumorale (TNF). Ils ont également démontré que l'infection de macrophages humains en cultures primaires par le MYXV induisait la sécrétion de ces deux cytokines et que l'induction de ce phénomène était contrôlée par un ARN récepteur cytoplasmique appelé le gène 1 inducteur d'acide rétinolique (RIG1) qui activerait la protéine MAVS afin d'initier la cascade IRF3/IRF7 responsable de la sécrétion d'IFN1 et de TNF. Une autre étude a également prouvé que la synergie entre le TNF et l'IFN β permettait de bloquer la multiplication du MYXV dans plusieurs souches de fibroblastes

Figure 1 : Cascade de signalisation Erk1/2-IFN-STAT1 (d'après Vilcek, 2004)

L'inoculation du virus de la myxomatose (MYXV) à une culture de fibroblastes embryonnaires de souris induit la signalisation de ERK1/2, l'activation de IRF3 par phosphorylation et la synthèse de novo de IRF7. IRF3 et IRF7 activés migrent vers le noyau et entraînent la transcription des gènes d'IFN α et IFN β , suivis de leur synthèse et de leur sécrétion. Les IFN α et IFN β produits par les cellules qui ont été infectées par le MYXV se lient à leurs récepteurs situés sur les autres cellules de la culture, ce qui provoque l'activation de STAT1 et la synthèse de protéines qui rendent les cellules résistantes à l'infection du MYXV. Le blocage cellulaire de la réplication virale est corrélé avec la phosphorylation du facteur de translation eIF2 α , qui est responsable de l'inhibition de la synthèse des protéines virales.

Je n'ai pas trouvé l'illustration de la Figure 1

Tableau II : corrélation entre le niveau d'Akt phosphorylée dans différentes lignées de cellules tumorales humaines et leur tolérance à l'infection par le virus de la myxomatose (MYXV) sauvage et délété de la protéine virale MT5, d'après Wang et collaborateurs (2006)

	Lignée cellulaire	Origine cellulaire	Akt endogène	[Phospho-Akt] endogène	Phospho-Akt		Multiplication	
					MYXV sauvage	MYXV délétée MT5	MYXV sauvage	MYXV délétée MT5
Contrôle	RK13	rein (lapin)	+	haute	+	+	O	O
	BGMK	rein (primate)	+	haute	+	+	O	O
	HEK293	rein (humain)	+	haute	+	+	O	O
Type I	HOS	ostéosarcome	+	haute	+	+	O	O
	Caki1	cancer du rein	+	haute	+	+	O	O
	PC3	cancer de la prostate	+	haute	+	+	O	O
Type II	HCT116	cancer du colon	+	basse	+	-	O	N
	7860	cancer du rein	+	basse	+	-	O	N
	ACHN	cancer du rein	+	basse	+	-	O	N
	U373	gliome	+	basse	+	-	O	N
	SKOV3	cancer des ovaires	+	basse	+	-	O	N
Type III	MCF7	cancer du sein	+	nulle	-	-	N	N
	COLO205	cancer du colon	+	nulle	-	-	N	N
	MD-AMB435	cancer du sein	+	nulle	-	-	N	N
	SKMEL5	mélanome	+	nulle	-	-	N	N

+ ou - : niveau endogène de protéine Akt phosphorylée ou phospho-Akt détectable (+) ou non détectable (-) par d'immunoblotting

O ou N : multiplication virale possible (O) ou non (N) dans les cellules considérées

humains (Bartee *et al.*, 2009). Enfin, Bartee et McFadden (2009) ont montré qu'un grand nombre de lignées cellulaires tumorales humaines avaient perdu cette capacité d'induire cette action synergique entre le TNF et l'IFN β .

L'absence de permissivité du virus envers les cellules normales est aussi influencée par la présence d'une protéine virale nommée M062. En effet, les lapins européens (*Oryctolagus cuniculus*) infectés expérimentale-

ment par des souches virales délétés pour la séquence codant cette protéine ne développent aucun signe clinique. La plupart des cellules normales humaines et de lapins sont résistantes à l'infection de ces mêmes virus mutants. Il semblerait que cette protéine s'associe avec une autre protéine virale, M063, pour former un complexe protéique. Lors de l'infection, ce complexe se lie à la protéine cellulaire 9 contenant le domaine motif α stérile (SAMD9), inhibe cette dernière et rend la cellule tolérante à l'infection. Ce résultat prouve que SAMD9

jouerait le rôle d'un facteur antiviral inné. Les protéines M062 et M063 doivent être présentes ensemble dans les cellules de lapin pour antagoniser SAMD9 alors que M062 peut réaliser cette action seule dans les cellules humaines (Liu *et al.*, 2011).

En dépit d'un spectre d'hôte *in vivo* limité aux léporidés le MYXV est aussi capable d'infecter *in vitro* certaines populations cellulaires d'autres espèces comme les cellules rénales de singe vert (BGMK) ou les cel-

lules rénales embryonnaires humaines (HEK293). Il semblerait que la concentration endogène élevée de ces cellules en Akt phosphorylée jouer un rôle dans cette permissivité (Wang *et al.*, 2006). Ces lignées cellulaires sont d'ailleurs utilisées par plusieurs équipes de recherche comme cellules de contrôle du tropisme des différentes souches du MYXV envers les cellules cancéreuses testées (tableau II).

Rôle central de la protéine virale MT5

Bien que le tropisme du MYXV pour les cellules du lapin puisse être expliqué par la spécificité des interférons de type 1 et du TNF, son tropisme pour une lignée de lymphocytes T CD4+ de lapin, appelée RL5, et pour les cellules tumorales est basé sur une interaction moléculaire différente faisant intervenir la protéine virale MT5 (Sypula *et al.*, 2004).

Lorsque des lapins sont infectés par des souches virales délétées pour la séquence codant pour la protéine MT5, la myxomatose clinique observée après inoculation est très atténuée, l'infection ne dépassant pas le stade des myxomes primaires au site d'inoculation (Mossman *et al.*, 1996). De même, lorsque des cellules de la lignée RL5 sont infectées par ces souches délétées pour MT5, les cellules entrent rapidement en apoptose avec une sévère inhibition de la synthèse tant des protéines virales que cellulaires (Mossman *et al.*, 1996). Ces observations montrent que MT5 est un facteur de virulence majeur du MYXV en empêchant l'arrêt du cycle cellulaire en phase G0/G1 et donc l'entrée en apoptose, induite naturellement comme mécanisme de défense cellulaire contre l'infection virale (Everett et McFadden., 2002). Le tropisme du MYXV pour les cellules de la lignée RL5 est donc lié à une dérégulation du cycle cellulaire par MT5. En bloquant l'apoptose, le MYXV peut se multiplier activement dans les cellules-hôtes.

Sypula et collaborateurs (2004) ont démontré pour la première fois que le MYXV pouvait infecter et se multiplier dans une majorité (15/21) des lignées de cellules cancéreuses humaines. Cette tolérance était maintenue pour les souches délétées dans les gènes codant pour les protéines MT2 et M11L mais disparaissait pour les

virus délétés pour le gène codant pour MT5. À l'inverse, certaines lignées de cellules tumorales humaines se montraient non tolérantes à l'infection par des souches sauvages ou mutantes du MYXV.

La voie de signalisation PI3K/Akt/mTOR

La transformation tumorale induit plusieurs dysfonctionnements cellulaires qui rendent les cellules malades tolérantes au MYXV. Certaines modifications touchent notamment les voies de transduction du signal et sont causées par la mutation de certains gènes codant pour des protéines intervenant dans ces mêmes voies. Parmi ces voies, la cascade phosphatidylinositol 3-kinase (PI3k)/ kinase Akt est une des plus importantes (Faivre *et al.*, 2006).

Une fois activée, Akt stimule la prolifération, la croissance, la survie cellulaire ainsi que d'autres processus qui amplifient le développement tumoral par phosphorylation de protéines intracellulaires comme la protéine mTOR (*mammalian target of rapamycin*). Cette protéine est une kinase agissant en aval de l'activation de l'Akt (Faivre *et al.*, 2006). Ainsi, la dérégulation de la voie de signalisation PI3K/Akt/mTOR amplifie considérablement la réponse cellulaire, contribuant alors à renforcer le processus oncogénique qui l'a engendrée.

Classement des cellules cancéreuses humaines selon leur tolérance à l'infection par le virus de la myxomatose

Les cellules cancéreuses humaines peuvent être réparties sur base de leur sensibilité ou non à une infection par le MYXV. Ce classement se base sur la concentration intracellulaire en Akt phosphorylée ou phospho-Akt (Wang *et al.*, 2006). Trois catégories ont été déterminées et désignées comme type 1, 2 ou 3 (tableau II) sur base de leur capacité à supporter l'infection par une souche de MYXV sauvage ou délétée pour la protéine MT5 :

les lignées cellulaires tumorales humaines de type 1 présentent une concentration endogène élevée en phospho-Akt (rapport des concentrations en phospho-Akt / Akt total supérieur à 0,3). Ces cellules sont uniformément tolérantes au MYXV ;

les lignées cellulaires de type 2 possèdent une concentration faible en phospho-Akt (rapport des concentrations en phospho-Akt / Akt total compris entre 0,1 et 0,3) et ne sont sensibles qu'à l'infection par une souche virale produisant la protéine MT5. L'activation d'Akt par MT5 constitue une condition essentielle pour permettre la multiplication du MYXV dans ces cellules ;

les lignées cellulaires de type 3 ne contiennent pas de phospho-Akt (rapport des concentrations en phospho-Akt / Akt total inférieur à 0,1) endogène et sont uniformément non tolérantes au MYXV.

La capacité du MYXV de se multiplier dans les cellules de type 1 et 2 correspond aux connaissances actuelles sur les interactions MT5/Akt. Par contre, les raisons pour lesquelles le MYXV est incapable d'initier l'activation d'Akt après l'infection de cellules de type 3 sont encore inconnues. L'ajout de phospho-Akt dans une culture de cellules de ce même type rend ces dernières sensibles à une infection par le MYXV ce qui suggère que le blocage de l'infection pourrait être dû à l'incapacité de MT5 à se lier et activer Akt (Wang *et al.*, 2006). Il semblerait que, contrairement aux cellules de type 1 dont l'Akt est en conformation « complètement phosphorylée », les cellules de types 3 possèdent une Akt en conformation « non phosphorylée ». Cette conformation est peut-être liée à une surexpression ou à une activité excessive de phosphatases responsables de la déphosphorylation comme la protéine phosphatase 2A (PP2A) (Werden et McFadden., 2010). Ce classement des cellules tumorales permet de prévoir les utilisations cliniques potentielles du MYXV en fonction de la nature des différents cancers. Il apparaît aussi que la manipulation pharmacologique d'Akt permettrait d'augmenter la capacité oncolytique de ce virus et d'étendre son tropisme aux cellules de type 3.

L'interaction entre MT5 et Akt

L'oncogenèse se traduit par une concentration intracellulaire en Akt anormalement élevée ce qui a pour conséquence de sensibiliser les cellules cancéreuses à l'infection par le MYXV. Compte tenu de son rôle central dans la régulation de la signalisation cellulaire, de nombreux

virus comme le virus d'Epstein-Barr, les polyomavirus, les virus de l'hépatite A et B ont développé divers mécanismes qui leur permettent de déréguler la voie de signalisation de l'Akt afin de maintenir un environnement cellulaire favorable à la réplication virale. Dans ce cadre, la protéine MT5 agit en augmentant le niveau intracellulaire d'Akt phosphorylée (Werden et McFadden., 2008). Après pénétration du MYXV dans une cellule cancéreuse, MT5 se fixe à l'Akt. Cette liaison entraîne la phosphorylation et l'activation de cette protéine, qui dès lors bloque l'entrée en apoptose de la cellule infectée (Werden et McFadden., 2010). En conséquence, le MYXV peut se multiplier activement puis infecter d'autres cellules après lyse de la cellule-hôte. Ce processus s'observe en culture cellulaire par la formation de zones de lyse au sein des tapis cellulaires. Cette interaction entre MT5 et Akt est donc indispensable à la tolérance de l'infection par les cellules cibles. À l'inverse, le niveau endogène en Akt phosphorylée des cellules non cancéreuses n'est pas suffisamment élevé pour que le MYXV puisse y bloquer l'apoptose, ce qui constitue une protection supplémentaire des cellules humaines saines à l'infection par le MYXV.

Les agents thérapeutiques complémentaires

Des les premiers essais cliniques, l'oncolyse produite par l'utilisation du MYXV seule est apparue rapidement insuffisante, notamment lors des tests sur des souris immunocompétentes (Lun *et al.*, 2010). En effet, la réponse du système immunitaire à l'infection du MYXV implique la production d'IFN de type 1 qui inhibe la multiplication du virus (Lun *et al.*, 2010). Pour remédier à ce problème, une action combinée du MYXV avec des agents thérapeutiques complémentaires tels que la rapamycine a été proposée (Lun *et al.*, 2007). L'efficacité réelle de cette association à savoir sa capacité à amplifier considérablement le potentiel oncolytique du MYXV a ensuite été démontrée (Stanford *et al.*, 2007a).

La rapamycine

La rapamycine est un macrolide aux propriétés antifongiques et antibiotiques, utilisée en clinique comme médicament immunosuppresseur. L'étude de ses activités au niveau moléculaire a conduit à la découverte du rôle fondamental d'une protéine kinase dans la prolifération cel-

lulaire, la protéine (*mammalian target of rapamycin*) mTOR (Stanford *et al.*, 2007a). Le mécanisme d'action de la rapamycine est lié à l'inhibition de la protéine mTOR qui favorise l'infection des cellules par le MYXV de trois manières. Premièrement, la rapamycine possède un effet antiprolifératif sur de nombreux types cellulaires qui explique ses effets immunosuppresseurs ainsi que son activité antitumorale *in vitro* et *in vivo* (Lun *et al.*, 2007). Deuxièmement, l'activation d'Akt tend à augmenter le niveau de phospho-Akt ce qui augmente en corolaire la réceptivité cellulaire à une infection par le MYXV ainsi que l'oncolyse tissulaire (O'Reilly *et al.*, 2006). Troisièmement, la stimulation des cellules néoplasiques par les IFN de type 1 est empêchée, ce qui augmente les possibilités de multiplication du MYXV au sein du tissu (Lun *et al.*, 2010).

In vitro, les effets de la rapamycine n'augmentent pas la réplication virale dans les cellules tumorales de type 1, améliorent la réplication et la dissémination des souches sauvages et délétées en MT5 dans les cellules de type 2 mais ne permet pas d'induire une multiplication dans les cellules de type 3 (Stanford *et al.*, 2007a).

Cette incapacité à induire une lyse des cellules tumorales de type 3 peut être levée par une double administration de rapamycine et d'acide okadaïque, un inhibiteur de la phosphatase PP2A. Cette observation soulève l'hypothèse d'une surexpression ou d'une activité excessive de cette phosphatase dans les tissus de type 3, cette phosphatase étant capable d'annuler l'activation d'Akt par la protéine MT5 en la déphosphorylant (Werden et McFadden, 2010).

Lors d'essais cliniques sur des cellules tumorales tolérantes, la combinaison entre la rapamycine et le MYXV accentua la capacité oncolytique du virus *in vitro* et *in vivo* (Lun *et al.*, 2007).

Les autres agents complémentaires

La « *convection-enhanced delivery* » (CED) est une technique d'infusion locale qui permet d'atteindre directement le système nerveux central (SNC) en contournant la barrière hémato-méningée et en limitant les effets systémiques. Adaptée au MYXV, cette technique optimise sa concentration et sa biodistribution au

sein de tumeurs touchant le SNC tels que les gliomes. L'infusion peut être constituée soit de MYXV libres (Lun *et al.*, 2010), soit de cellules infectées par le virus (Josiah *et al.*, 2010). Dans ce deuxième cas, les cellules utilisées sont des cellules souches dérivées du tissu adipeux (ADSCs) qui sont tolérantes à l'infection du MYXV, pour des raisons encore inconnues. Après infection par le MYXV, ces ADSCs sont capables de migrer spécifiquement vers les cellules tumorales et de se comporter comme structures transporteuses qui amènent le MYXV directement dans le tissu cancéreux (Josiah *et al.*, 2010).

La gemcitabine est un médicament utilisé dans les chimiothérapies contre les cancers et appartient au groupe des anti-métabolites. Woo et collaborateurs (2008) ont montré que les cellules cancéreuses sensibles à la gemcitabine ne l'étaient pas pour le MYXV et inversement. Des voies pro-apoptotiques encore inconnues permettraient d'expliquer cette différence de sensibilité.

La collagénase et la relaxine sont des protéines qui sont capables de dégrader la matrice extracellulaire. Elles sont utilisées lors de la synthèse *de novo* de fibres de collagène par les tumeurs, en réponse à une virothérapie oncolytique ce qui empêche la dissémination du virus dans le tissu cancéreux (Stanford *et al.*, 2008).

L'acide okadaïque est un inhibiteur spécifique de la phosphatase PP2A qui rend les cellules de type 3 tolérantes à l'infection en évitant que la majorité des protéines Akt ne restent bloquées en conformation « non phosphorylée ». La combinaison de cet acide avec la rapamycine augmente significativement la réplication du MYXV dans le troisième type cellulaire (Werden et McFadden, 2010).

Les essais cliniques

Dès le départ, les essais cliniques d'utilisation du MYXV comme agent oncolytique ont ciblé diverses tumeurs malignes humaines extrêmement agressives et ne répondant pas aux traitements connus. Sur base des excellents résultats obtenus sur différentes lignées de cellules cancéreuses humaines *in vitro*, le MYXV fut d'abord utilisé seul (Lun *et al.*, 2005) puis en combinaison avec des agents

thérapeutiques complémentaires (Lun *et al.*, 2007). *In vivo*, l'utilisation oncolytique du MYXV a été testée sur des modèles animaux de souris immunodéprimées ou immunocompétentes ayant subi une greffe ou une injection de différents types de cellules cancéreuses. La combinaison du MYXV avec des agents thérapeutiques complémentaires s'est avérée très efficace sur les souris immunodéprimées (Lun *et al.*, 2007) et obligatoire sur les souris immunocompétentes (Lun *et al.*, 2010).

Les essais précliniques (*in vitro*)

Les premières études (Lun *et al.*, 2005) ont démontré que la majorité des lignées cellulaires de gliome humain testées étaient tolérantes à une infection par le MYXV et que ces cellules cancéreuses étaient lysées lors du cycle de multiplication viral. Par la suite, la réceptivité de lignées cellulaires de médulloblastome humain à une infection létale par le MYXV a été confirmée, la combinaison de l'infection par le MYXV avec un traitement par la rapamycine amplifiait même fortement l'oncolyse induite (Lun *et al.*, 2007).

Plus récemment l'infection et la lyse de quatre lignées cellulaires de tumeurs rhabdoïdes (Wu *et al.*, 2008) puis de six lignées cellulaires d'adénocarcinome pancréatique humain ont été démontrées (Woo *et al.*, 2008). Pour les adénocarcinomes pancréatiques, les taux d'oncolyse variaient de 39 % à 90 % pour les lignées les plus résistantes ou les plus sensibles respectivement (Woo *et al.*, 2008).

Afin d'améliorer les résultats, des essais de traitement par la rapamycine conjointement avec une infection par le MYXV ont permis d'augmenter les effets oncolytiques en comparaison à la seule infection par le MYXV (Lun *et al.*, 2010) dans plusieurs lignées de gliome humain.

L'utilisation d'une technique d'infusion locale au moyen de cellules souches dérivées du tissu adipeux infectées par le MYXV a permis une augmentation notable de l'oncolyse induite expérimentalement dans deux lignées cellulaires de glioblastome multiforme humain avec un pourcentage de cellules infectées passant de 15 à 45 % (Josiah *et al.*, 2010).

Dernièrement, Wennier et collaborateurs (2012) ont prouvé que le MYXV était capable de se répliquer dans une large gamme de cellules tumorales pancréatiques et que l'oncolyse était augmentée lorsque le virus était associé à la gemcitabine.

Les essais cliniques (*in vivo*)

Les premiers essais *in vivo* ont été effectués sur des souris immunodéprimées ayant subi une xélogreffe de tumeurs de gliomes humains. Après inoculation intracérébrale par le MYXV, une diminution importante de la taille des tumeurs et une augmentation du temps de survie des souris ont été observées (Lun *et al.*, 2005). Malheureusement l'oncolyse n'est observée qu'au sein des tumeurs directement inoculées mais pas dans les tumeurs contralatérales non inoculées (Lun *et al.*, 2005).

Les effets positifs d'amélioration de l'oncolyse observés *in vitro* par traitement conjoint à la rapamycine ont été confirmés dans un modèle animal *in vivo* de souris immunodéprimées ayant reçu une xélogreffe de médulloblastome humain. Les pourcentages de survie à 100 jours post-implantation tumorale ont atteint 80 % chez les souris traitées par la combinaison sans présence de métastases contre 50 % et présence conjointe de métastases chez celles traitées avec le MYXV uniquement (Lun *et al.*, 2007).

L'efficacité et l'innocuité de l'oncolyse induite par le MYXV ont été confirmées dans un modèle animal de souris immunocompétentes inoculées par voie intraveineuse avec des cellules du mélanome de la souris puis traitées par la même voie par inoculation du MYXV. Le MYXV n'a pas pu être isolé des organes sains alors que le nombre de métastases pulmonaires a été réduit de 120 à 40 par souris ; les effets positifs d'un traitement conjoint MYXV/rapamycine étant également confirmés (Stanford *et al.*, 2008).

Lorsque le MYXV est utilisé seul par injection intra-tumorale dans un modèle de souris immunocompétentes ayant subi des xélogreffes de tumeurs de gliomes humains, la capacité oncolytique diminue très fortement, toutes les souris testées mourant 20 jours après l'implantation de la tumeur. Chez les souris traitées par une mé-

thode d'infusion locale au moyen de cellules souches dérivées du tissu adipeux et infectées par le MYXV la durée de survie augmente jusqu'à 30 jours. Enfin la combinaison de cette méthode avec un traitement à la rapamycine permet d'obtenir un temps de survie de plus de 45 jours chez 50 % des animaux testés (Lun *et al.*, 2010).

La méthode d'infusion locale au moyen de cellules souches dérivées du tissu adipeux et infectées par le MYXV a également été testée dans un modèle expérimental de souris inoculées avec des cellules de glioblastome multiforme. L'effet oncolytique observé est fortement accru, le temps de survie post greffe dépassant les 120 jours alors que la moyenne de survie était de 19,5 jours chez les animaux témoins (Josiah *et al.*, 2010).

Récemment, l'efficacité du MYXV a été évaluée dans un modèle expérimental de cancer pancréatique disséminé. Le MYXV est globalement plus efficace que l'administration de gemcitabine seule et permet d'atteindre des taux de survie de 60 % de survie à long-terme alors que ces taux atteignent même 100 % lors d'administration séquentielle du MYXV suivie de celle de gemcitabine (Wennier *et al.*, 2012).

L'utilisation *ex vivo* de la virothérapie oncolytique

Les hémopathies malignes incluent la leucémie, le lymphome, le myélome multiple ainsi que le syndrome myélodysplasique. Communément, ce type de cancer se traite en premier lieu par chimio- ou radiothérapie mais les rechutes sont fréquentes. Dans ce cas, des transplantations de cellules souches hématopoïétiques contenues dans la moelle osseuse sont pratiquées par autogreffes. Malheureusement, ces autogreffes sont souvent contaminées par des cellules cancéreuses et nécessitent des manipulations *ex vivo* destinées à les purifier. L'efficacité de ces manipulations est limitée et elles se révèlent souvent inefficaces par un manque de spécificité d'action sur les cellules malignes et une action délétère sur les cellules souches normales. L'utilisation *ex vivo* de la virothérapie oncolytique pour épurer ces autogreffes représenterait une solution à ce problème (Bais *et al.*, 2012).

Tableau III : liste non exhaustive de traitements théoriques à base du virus de la myxomatose dépendant du niveau de concentration d'Akt phosphorylée et de la localisation des cancers humains

Type de néoplasme	Concentration en phospho-Akt	Localisation de la tumeur	Traitement théorique		Voie d'administration
I	élevée	superficielle SNC	MYXV (1)		IT
			MYXV-CED (2)		IC
II	basse	superficielle	MYXV + rapamycine (3)		MYXV : IT rapamycine : IP
		SNC	MYXVCED + rapamycine (4)		MYXVCED : IC rapamycine : IP
III	nulle	superficielle	MYXV + gemcitabine (5)	MYXV + acide okadaïque + rapamycine (6)	MYXV : IT gemcitabine : IP acide okadaïque : IT
			MYXV-CED + gemcitabine (2, 5)	MYXV-CED + acide okadaïque + rapamycine (4, 6)	MYXV-CED : IC gemcitabine : IP acide okadaïque : IT rapamycine : IP
		SNC			
Hémapathie maligne	toutes	toutes	première intension	chimiothérapie/radiothérapie	IV
			seconde intension	autogreffes purifiées par le MYXV (8)	<i>ex vivo</i>

IT : intratumorale, IC : intracérébrale, IV : intraveineuse, IP : intrapéritonéale, MYXV : virus de la myxomatose, CED : *Convection-Enhanced Delivery*, SNC : système nerveux central

D'après (1) Stanford *et al.*, 2008, (2) Josiah *et al.*, 2010, (3) Lun *et al.*, 2007, (4) Lun *et al.*, 2010, (5) Wennier *et al.*, 2012, (6) Werden et McFadden, 2010, (7) Rahman *et al.*, 2010.

Une action sélective du MYXV sur les cellules cancéreuses sans atteintes des cellules normales d'une autogreffe (Kim *et al.*, 2009) a été démontrée et utilisée avec succès dans des d'autogreffes contaminées par des cellules cancéreuses provenant de patients atteint de leucémie myéloïde aigüe (Rahman *et al.*, 2010).

Conclusion

Un grand nombre d'essais d'utilisation du MYXV comme agent anticancéreux en modèles animaux sont encourageants et prouvent que ce virus aurait bien les capacités de cibler

et de lyser spécifiquement les cellules cancéreuses humaines *in situ* sans avoir recours à la manipulation génétique du génome viral et sans induire d'infections secondaires au niveau des tissus sains, même chez des souris immunodéprimées. Les résultats de ces différents essais sont résumés sous la forme d'un protocole thérapeutique théorique dans le tableau III.

À ce jour, aucun essai clinique n'a encore été effectué sur des patients humains permettant de confirmer ou non les résultats obtenus en modèles animaux et, à ce stade, l'utilisation du

virus de la myxomatose dans un cadre de virothérapie oncolytique est toujours purement spéculatif.

ONCOLYTIC VIROTHERAPY WITH MYXOMA VIRUS

SUMMARY: The myxoma virus (MYXV) is a poxvirus that causes myxomatosis in European rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). The MYXV is non-pathogenic for the others vertebrate species, including the man. The MYXV has also an unexpected tropism for human cancer cells *in vitro* and an oncolytic potential *in vivo*. The permissiveness of these cells for the MYXV is intimately linked to the basal level of endogenous phosphorylated Akt. This enzyme is a serine/threonine protein kinase that plays a key role in multiple cellular processes and belongs to the PI3k/Akt/mTOR signaling pathway, which is amplified by the oncogenesis. The viral ankyrin-repeat protein, M T5, interacts with Akt and modulates the tropism of MYXV for human tumour cells. A regulator of cell growth and metabolism downstream of Akt, mTOR, is specifically inhibited by rapamycin. Thus, the use of rapamycin in combination with MYXV enhances the level of phosphorylated Akt, and consequently, increases its oncolytic capacity. A better pharmacological control of Akt signaling pathway or a genetic modification of its genome is a key step to create one of the new treatments of human's cancers.

BIBLIOGRAPHIE

- BAIS S., BARTEE E., RAHMAN M.M., MCFADDEN G., COGLE C.R. Oncolytic virotherapy for hematological malignancies. *Adv. Virol.*, 2012, doi:10.1155/2012/186512.
- BARTEE E., MOHAMED M.R., LOPEZ M.C., BAKER H.V., MCFADDEN G. The addition of tumor necrosis factor plus beta interferon induces a novel synergistic antiviral state against poxviruses in primary human fibroblasts. *J. Virol.*, 2009, **83**, 498-511.
- BARTEE E., MCFADDEN G. Human cancer cells have specifically lost the ability to induce the synergistic state caused by tumor necrosis factor plus interferon-beta. *Cytokine*, 2009, **47**, 199-205.
- BERTAGNOLI S., GELFI J., LE GALL G., BOILLETOT E., VAUTHEROT J.F., RASSCHAERT D., LAURENT S., PETIT F., BOUCRAUT-BARALON C., MILON A. Protection against myxomatosis and rabbit viral hemorrhagic disease with recombinant myxoma viruses expressing rabbit hemorrhagic disease virus capsid protein. *J. Virol.*, 1996, **70**, 5061-5066.
- DOCK G. Influence of complicating diseases upon leukemia. *Am. J. Med. Sci.*, 1904, **127**, 563-592.
- EVERETT H., MCFADDEN G. Poxviruses and apoptosis: a time to die. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2002, **5**, 395-402.
- FAIVRE S., KROEMER G., RAYMOND E. Current development of mTOR inhibitors as anticancer agents. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2006, **5**, 671-688.
- GILLET L., DEWALS B., FARNIR F., DE LEVAL L., VANDERPLASSCHEN A. Bovine Herpesvirus 4 induces apoptosis of human carcinoma cell lines *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res.* 2005, **65**, 9463-9472
- JACKSON E.W., DORN C.R., SAITO J.K., McKERCHER D.G. Absence of serological evidence of myxoma virus infection in humans exposed during an outbreak of myxomatosis. *Nature*, 1966, **211**, 313-314.
- JOHNSTON J.B., MCFADDEN G. Technical knockout: understanding poxvirus pathogenesis by selectively deleting viral immunomodulatory genes. *Cell. Microbiol.*, 2004, **6**, 695-705.
- JOHNSTON J.B., NAZARIAN S.H., NATALE R., MCFADDEN G. Myxoma virus infection of primary human fibroblasts varies with cellular age and is regulated by host interferon responses. *Virology*, 2005, **332**, 235-248.
- JOSIAH D.T., ZHU D., DREHER F., OLSON J., MCFADDEN G., CALDAS H. Adipose-derived stem cells as therapeutic delivery vehicles of an oncolytic virus for glioblastoma. *Mol. Ther.*, 2010, **18**, 377-385.
- KIM M., MADLAM BAYAN G.J., RAHMAN M.M., SMALLWOOD S.E., MEACHAM A.M., HOSAKA K., SCOTT E.W., COGLE C.R., MCFADDEN G. MYXOMA VIRUS TARGETS PRIMARY HUMAN LEUKEMIC STEM and progenitor cells while sparing normal hematopoietic stem and progenitor cells. *Leukemia*, 2009, **23**, 2313-2317.
- LIU J., WENNIER S., ZHANG L., MCFADDEN G. M062 is a host range factor essential for myxoma virus pathogenesis and functions as an antagonist of host SAMD9 in human cells. *J. Virol.*, 2011, **85**, 3270-3282.
- LUN X.Q., YANG W., ALAIN T., SHI Z.Q., MUZIK H., BARRETT J.W., MCFADDEN G., BELL J., HAMILTON M.G., SENGER D.L., FORSYTH P.A. Myxoma virus is a novel oncolytic virus with significant antitumor activity against experimental human gliomas. *Cancer Res.*, 2005, **65**, 9982-9990.
- LUN X.Q., ZHOU H., ALAIN T., SUN B., WANG L., BARRETT J.W., STANFORD M.M., MCFADDEN G., BELL J., SENGER D.L., FORSYTH P.A. Targeting human medulloblastoma: oncolytic virotherapy with myxoma virus is enhanced by rapamycin. *Cancer Res.*, 2007, **67**, 8818-8827.
- LUN X.Q., ALAIN T., ZEMP F.J., ZHOU H., RAHMAN M.M., HAMILTON M.G., MCFADDEN G., BELL J., SENGER D.L., FORSYTH P.A. Myxoma virus virotherapy for glioma in immunocompetent animal models: optimizing administration routes and synergy with rapamycin. *Cancer Res.*, 2010, **70**, 598-608.
- MARLIER D., HERBOTS J., DETILLEUX J., LEMAIRE M., THIRY E., VINDEVOGEL H. Cross-sectional study of the association between pathological conditions and myxoma-virus seroprevalence in intensive rabbit farms in Europe. *Prev. Vet. Med.*, 2001, **48**, 55-64.
- MCFADDEN G. Poxvirus tropism. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2005, **3**, 201-213.
- MOSSMAN K., LEE S.F., BARRY M., BOSHKOV L., MCFADDEN G. Disruption of M-T5, a novel myxoma virus gene member of poxvirus host range superfamily, results in dramatic attenuation of myxomatosis in infected European rabbits. *J. Virol.*, 1996, **70**, 4394-4410.
- O'REILLY K.E., ROJO F., SHE Q.-B., SOLIT D., MILLS G.B., SMITH D., LANE H., HOFMANN F., HICKLIN D.J., LUDWIG D.L., BASELGA J., ROSEN N. mTOR inhibition induces upstream receptor Tyrosine Kinase signaling and activates Akt. *Cancer Res.*, 2006, **66**, 1500-1508.

- RAHMAN M.M., MADLAMBAYAN G.J., COGLE C.R., MCFADDEN G. Oncolytic viral purging of leukemic hematopoietic stem and progenitor cells with Myxoma virus. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2010, **21**, 169-75.
- STANFORD M.M., BARRETT J.W., NAZARIAN S.H., WERDEN S., MCFADDEN G. Oncolytic virotherapy synergism with signaling inhibitors: rapamycin increases myxoma virus tropism for human tumor cells. *J. Virol.*, 2007a, **81**, 1251-1260.
- STANFORD M.M., WERDEN S.J., MCFADDEN G. Myxoma virus in the European rabbit: interactions between the virus and its susceptible host. *Vet. Res.*, 2007b, **38**, 299-318.
- STANFORD M.M., SHABAN M., BARRETT J.W., WERDEN S.J., GILBERT P.A., BONDY-DENOMY J., MACKENZIE L., GRAHAM K.C., CHAMBERS A.F., MCFADDEN G. Myxoma virus oncolysis of primary and metastatic B16F10 mouse tumors in vivo. *Mol. Ther.*, 2008, **16**, 52-59.
- SYPUŁA J., WANG F., MA Y., BELL J., MCFADDEN G. Myxoma virus tropism in human tumor cells. *Gene Ther. Mol. Biol.*, 2004, **8**, 103-114.
- VILCEK J. Why are rabbits uniquely sensitive to myxoma virus? Cherchez l'interferon! *Nat. Immunol.*, 2004, **5**, 1205-1206.
- WANG F., MA Y., BARRETT J.W., GAO X., LOH J., BARTON E., VIRGIN H.W., MCFADDEN G. Disruption of Erk-dependent type I interferon induction breaks the myxoma virus species barrier. *Nat. Immunol.*, 2004, **5**, 1266 - 1274.
- WANG G., BARRETT J.W., STANFORD M., WERDEN S.J., JOHNSTON J.B., GAO X., SUN M., CHENG J.Q., MCFADDEN G. Infection of human cancer cells with myxoma virus requires Akt activation via interaction with a viral ankyrin-repeat host range factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, **103**, 4640-4645.
- WANG F., GAO X., BARRETT J.W., SHAO Q., BARTEE E., MOHAMED M.R., RAHMAN M., WERDEN S., IRVINE T., CAO J., DEKABAN G.A., MCFADDEN G. RIG-I mediates the co-induction of tumor necrosis factor and type I interferon elicited by myxoma virus in primary human macrophages. *PLoS Pathog.*, 2008, **4**, e1000099.
- WENNIER S.T., LIU J., LI S., RAHMAN M.M., MONA M., MCFADDEN G. MYXOMA VIRUS SENSITIZES CANCER CELLS to gemcitabine and is an effective oncolytic virotherapeutic in models of disseminated pancreatic cancer. *Mol. Ther.*, 2012, **20**, 759-768.
- WERDEN S.J., MCFADDEN G. The role of cell signaling in poxvirus tropism: the case of the M-T5 host range protein of myxoma virus. *Biochim. Biophys. Acta*, 2008, **1784**, 28-37.
- WERDEN S.J., MCFADDEN G. Pharmacological manipulation of the akt signaling pathway regulates myxoma virus replication and tropism in human cancer cells. *J. Virol.*, 2010, **84**, 3287-3302.
- WOO Y., KELLY K.J., STANFORD M.M., GALANIS C., CHUN Y.S., FONG Y., MCFADDEN G. Myxoma virus is oncolytic for human pancreatic adenocarcinoma cells. *Ann. Surg. Oncol.*, 2008, **15**, 2329-2335.
- WU Y., LUN X.Q., ZHOU H., WANG L., BEICHEN S., BELL J.C., BARRETT J.W., MCFADDEN G., BIEGEL J.A., SENER D.L., FORSYTH P.A. Oncolytic efficacy of recombinant vesicular stomatitis virus and myxoma virus in experimental models of rhabdoid tumors. *Clin. Cancer Res.*, 2008, **14**, 1218-1227.

Résistances aux fluoroquinolones : la situation actuelle

MUYLAERT A., MAINIL J.G.

Service de Bactériologie, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, 20 Boulevard de Colonster, bâtiment 43a, 4000 Liège.

Correspondance : Adeline Muylaert Email : amuylaert@ulg.ac.be

RÉSUMÉ :

Au terme de six décennies d'utilisation des antimicrobiens, les bactéries pathogènes humaines et animales ont atteint des niveaux alarmants de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. Les fluoroquinolones, antibiotiques dont l'usage en derniers recours tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire aurait dû être privilégié, n'ont d'ailleurs pas été épargnées par ce phénomène. Deux mécanismes chromosomiques sont responsables des résistances cliniques aux fluoroquinolones : l'accumulation de mutations au sein des gènes qui codent pour l'ADN gyrase et topoisomérase IV, et la diminution de leur concentration intracellulaire par une augmentation de l'activité de pompes à efflux et/ou la diminution de la perméabilité membranaire. Depuis quelques années, des souches sont apparues, qui présentent des niveaux sub-cliniques de résistance médiée par des gènes à localisation plasmidique nommé PMQR pour « *Plasmid-mediated quinolone resistance* ».

Ces mécanismes PMQR ne confèrent pas seulement des niveaux sub-cliniques de résistances, mais ils augmentent également la probabilité d'émergence de souches cliniquement résistantes en présence de niveaux thérapeutiques en fluoroquinolone.

Cette revue de la littérature envisagera une description des mécanismes chromosomiques et plasmidiques de résistance aux fluoroquinolones, et abordera l'épidémiologie de ces phénomènes.

1. INTRODUCTION

L'acide nalidixique fut la première quinolone à être introduite pour un usage clinique au début des années soixante (Ball, 2000). La ciprofloxacine, une fluoroquinolone, molécule bactéricide à large spectre d'activité *in vitro* et particulièrement active vis-à-vis des bactéries de la famille *Enterobacteriaceae*, fut quant à elle disponible en clinique au cours des années quatre-vingt (Paton et Reeves, 1988). Durant les décennies qui suivront l'introduction commerciale des fluoroquinolones, les résistances parmi les entérobactéries n'auront de cesse d'augmenter, pour ensuite se généraliser, avec une apparition habituellement non clonale, laissant supposer des émergences indépendantes à de multiples occasions (Garau *et al.*, 1999 ; Strahilevitz *et al.*, 2009).

Le mécanisme principal de résistance aux quinolones et fluoroquinolones implique une accumulation de mutations au sein des gènes codant pour les enzymes l'ADN gyrase et topoisomérase IV, les cibles principales de ces antibiotiques (Drlica et Hooper, 2003). En fait, de multiples mutations sont, en général, nécessaires pour déterminer un niveau clinique de résistance, car les bactéries sauvages sont hautement sensibles à ces molécules (Hooper, 1998). Pourtant, les doubles mutations spontanées sont des événements génétiques rares (avec une fréquence comprise entre 10^{-14} et 10^{-16} pour les fluoroquinolones) (Zhao *et al.*, 1997), ne permettant pas au phénomène mutationnel d'expliquer pleinement la fréquence élevée d'observation des résistances, plutôt compatible avec des éléments transférables hori-

zontalement et capables d'induire une réduction de sensibilité aux quinolones et fluoroquinolones telle qu'elle permette une survie en leur présence. La découverte, en 1998, d'une résistance subclinique plasmidique aux fluoroquinolones (PMQR pour *plasmid-mediated quinolone resistance*) lève le voile sur ce phénomène (Martinez-Martinez *et al.*, 1998). Depuis lors, les mécanismes PMQR se sont révélés largement répandus au sein d'une grande diversité d'environnements plasmidiques et parmi de nombreux genres bactériens, en conférant de faibles niveaux de résistance aux fluoroquinolones, tout en facilitant l'émergence de niveaux de résistance supérieurs en présence de l'antibiotique en conditions thérapeutiques (Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010).

Cette revue de la littérature s'inscrit dans la continuité d'un article précédent reprenant une description des principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques rapportés à ce jour. Cet article envisagera une description des mécanismes chromosomiques et plasmidiques de résistance aux fluoroquinolones, antibiotiques dont l'usage en derniers recours tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire devrait être privilégié, et abordera l'épidémiologie de ces phénomènes.

2. RÉSISTANCES CHROMOSOMIQUES

2.1. Modification de la cible enzymatique des fluoroquinolones

Les cibles principales des fluoroquinolones sont les enzymes bactériennes ADN gyrase et ADN topoisomérase IV (Drlica et Zhao, 1997). Il s'agit de larges complexes enzymatiques constitués de deux paires de sous-unités, la protéine de 97 kDa GyrA, codée par le gène *gyrA* et la protéine de 90 kDa GyrB, codée par le gène *gyrB* pour l'ADN gyrase, et la protéine de 75 kDa ParC, codée par le gène *parC* et la protéine de 70 kDa ParE, codée par le gène *parE* pour la topoisomérase IV. Les deux enzymes interviennent au cours des processus de réplication, de transcription, de recombinaison et de réparation de l'ADN. L'ADN gyrase principalement responsable du surenroulement négatif de l'ADN, est également impliquée dans le retrait de surenroulement négatif ou positif de l'ADN et dans la liaison (caténation) ou la séparation (décaténation) de molécules circulaires d'ADN. La topoisomérase IV est, quant à elle, également impliquée dans le retrait de surenroulement négatif ou positif et possède une activité de décaténation plus puissante que celle de l'ADN gyrase (Jacoby, 2005). Les fluoroquinolones bloquent la réaction catalysée par l'enzyme en piégeant l'ADN gyrase ou la topoisomérase sur l'ADN en formant un complexe léthal antibiotique-enzyme-ADN suivi de la libération consécutive de fragments d'ADN double brin (Drlica *et al.*, 2008).

Seul un petit nombre de bactéries ne possèdent que l'ADN gyrase pour ac-

complir les activités enzymatiques décrites ci-dessus. Par contre, lorsque les bactéries disposent des deux enzymes, la sensibilité de ces dernières à l'action des fluoroquinolones est variable en fonction de l'identité du germe. Ainsi, chez les bactéries à Gram négatif, l'ADN gyrase est plus sensible à l'inhibition médiée par les fluoroquinolones et les mutations responsables de résistance surviendront d'abord au niveau de *gyrA*, alors que chez les germes Gram positifs, la topoisomérase IV représente habituellement la cible primaire de l'antibiotique, l'ADN gyrase étant intrinsèquement moins sensible, et les mutations responsables de résistance se produiront d'abord au niveau de *parC*. En fait, les mutations impliquent des substitutions en acides aminés qui apparaissent dans une région particulière des sous-unités Gyr et Par, nommée QRDR pour *quinolone resistance determining region*. Dans la structure tertiaire des topoisomérases, le domaine QRDR des sous-unités GyrA et ParC est proche de la région impliquée dans la liaison de l'ADN aux enzymes, alors que le domaine QRDR des sous-unités GyrB et ParE se trouve à proximité de la région correspondante de GyrA et ParC, suggérant la formation par les deux domaines QRDR d'une sorte de poche de liaison aux fluoroquinolones durant le cycle catalytique de l'enzyme (Berger et Wang, 1996 ; Morais Cabral *et al.*, 1997 ; Hooper, 2003 ; Jacoby, 2005). Ainsi, le domaine QRDR de la sous-unité GyrA d'*Escherichia coli* se situe entre les acides aminés 67 et 106, avec des *hot spots* de mutations au niveau des acides aminés en positions 83 et 87. Cette QRDR est proche de la tyrosine 122 impliquée dans la liaison covalente de l'enzyme aux groupements phosphate de l'ADN (Yoshida *et al.*, 1990 ; Hooper, 2003 ; Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010). À l'inverse, les mutations initiales de la cible surviendront plus fréquemment au niveau de *parC* chez *Staphylococcus aureus* et chez *Streptococcus pneumoniae*, alors que pour les souches hautement résistantes des mutations additionnelles seront également observées au niveau de *gyrA* et *parE* (Ng *et al.*, 1996 ; Eliopoulos *et al.*, 2004 ; Jacoby, 2005).

Lorsqu'une première mutation au niveau de *gyrA* réduit la sensibilité d'une bactérie à Gram négatif aux fluoroquinolones, des mutations additionnelles dans le gène *gyrA* ou des mutations dans les gènes *gyrB* ou

parC augmenteront le niveau de résistance du germe. Cependant, seules, ces mutations complémentaires seraient inefficaces dans une bactérie de type sauvage. En outre, la part du phénotype de résistance apportée par une mutation donnée est déterminée par l'ampleur de la réduction de sensibilité de la topoisomérase mutée et du niveau de sensibilité à l'action inhibitrice des fluoroquinolones de l'autre enzyme (Hooper, 2003). Deux hypothèses expliquent comment ces mutations réduisent la sensibilité des bactéries vis-à-vis des fluoroquinolones. La première propose une diminution de l'affinité de l'enzyme mutée pour l'antibiotique en diminuant la liaison du composé antimicrobien sur le complexe formé par l'ADN et la topoisomérase (Willmott et Maxwell, 1993 ; Barnard et Maxwell, 2001 ; Jacoby, 2005). La seconde suggère une altération des fonctions de l'enzyme lors des mutations, réduisant la formation des complexes ADN-enzyme et la liaison subséquente des fluoroquinolones sur ces complexes, s'accompagnant toutefois d'un désavantage lors d'une multiplication rapide des bactéries (Ince et Hooper, 2003). Le tableau I présente les augmentations de la CMI vis-à-vis de différentes fluoroquinolones chez *E. coli* associées à la modification de la cible enzymatique de ces dernières.

2.2. Diminution de la concentration intracellulaire

Une diminution de la concentration intracellulaire peut également causer une résistance aux fluoroquinolones par réduction de la production de porines ou par modification de l'activité de diverses pompes à efflux.

2.2.1. Perméabilité réduite

La plupart des fluoroquinolones traversent de manière passive la membrane externe des bactéries à Gram négatif via les porines OmpF et OmpC (chez *E. coli*), bien que certaines molécules soient capables de diffuser directement au travers la bicouche phospholipidique (Jacoby, 2005 ; Walker et Dowling, 2006). La réduction de l'influx des fluoroquinolones dans la cellule, liée à une sous-expression des gènes codant pour ces porines, est habituellement responsable de résistances à bas niveau et permet d'expliquer les différences d'efficacité observées parfois entre certains composés de cette famille. Cependant, il

Tableau I : les différents mécanismes de résistance aux fluoroquinolones et les modifications de la concentration minimale inhibitrice chez *Escherichia coli* y associées.

Mécanismes de résistance			Augmentation (X) de la CMI (FQ concernée(s))
Modification de la cible enzymatique des FQ (mutations du gène cible)	gyrA		4 à 32 (CIP) ^a
	gyrB		4 à 16 (CIP) ^a
	parC		
	parE		
Diminution de la concentra- tion intracellulaire des FQ	Réduction de la production de porines		2 à 8 (NM) ^b
	Augmentation de l'activité des pompes à efflux		
Résistances plasmidiques	Protection de la cible des FQ	Qnr	16 à 125 (NM) ^c
	Modification enzymatique des FQ	Aac(6')- Ib-cr	3 à 4 (CIP et NOR) ^d
	Pompes à efflux	QepA	32 (CIP) à 64 (NOR) ^e
		OqxAB	16 (CIP) ^f

^a: Tankovic et Soussy, 1998 - ^b: Walker et Dowling, 2006 - ^c: Wang *et al.*, 2004 - ^d: Robicsek *et al.*, 2006b - ^e: Yamane *et al.*, 2007 - ^f: Hansen *et al.*, 2007

X : facteur multiplicatif, FQ : fluoroquinolones, CIP : ciprofloxacine, NOR : norfloxacine, NM : non mentionné.

est souvent difficile de déterminer la part de la déficience en porine dans la résistance observée. En effet, les modifications de perméabilité dues à une moindre production de porines sont fréquemment la conséquence d'une réponse cellulaire coordonnée à la présence de nombreuses molécules toxiques telles que des antibiotiques et qui impliquent simultanément une sur-expression de diverses pompes à efflux. Par exemple, chez *E. coli*, la dé-répression de loci de régulation comme *marA* (pour *multiple antibiotic resistance*) conduit à une diminution de la sensibilité aux fluoroquinolones via une sur-expression de la pompe à efflux AcrAB-TolC (Okusu *et al.*, 1996) et une sous-expression des porines OmpF (Cohen *et al.*, 1988). Des loci analogues de régulation sont décrits dans diverses autres espèces bactériennes (Cohen *et al.*, 1993 ; Walker et Dowling, 2006).

2.2.2. Pompes à efflux

Les bactéries à Gram négatif et Gram positives disposent de systèmes actifs d'efflux non spécifiques, dont certains sont exprimés de façon constitutive, d'autres sont contrôlés et exprimés par différents systèmes de régulation globale, et enfin, d'autres sont encore inductibles par diverses mutations. Ainsi, chez *E. coli*, la pompe à efflux

AcrAB-TolC, sous contrôles multiples, joue un rôle majeur dans la résistance aux fluoroquinolones par efflux. Les mutations survenant dans le gène *acrR* (répresseur de *acrAB*) augmentent l'activité de la pompe (Wang *et al.*, 2001), et inversement, les mutations inactivant *marR* (répresseur de *marA*) permettent à MarA d'activer *acrAB*, *tolC* et un gène diminuant la traduction de *ompF*, aboutissant à une diminution de l'influx et une augmentation de l'efflux des fluoroquinolones (Cohen *et al.*, 1989 ; Alekshun et Levy, 1997). *E. coli* possède pas moins de vingt pompes à efflux responsables de résistances à de multiples antibiotiques dont les fluoroquinolones (Nishino et Yamaguchi, 2001) et d'autres bactéries entériques semblent équipées de façon analogue (Cohen *et al.*, 1993). *Pseudomonas aeruginosa* possède quant à elle au moins quatre pompes à efflux liées à l'expulsion des fluoroquinolones et d'autres antibiotiques, dont la plus connue, MexAB-OprM, est exprimée de façon constitutive contrairement aux autres pompes à efflux dont l'activité est inductible. Chez *S. aureus*, la résistance aux fluoroquinolones est associée à une augmentation de l'expression de *norA*, un gène qui code pour un transporteur à large spectre dont les fluoroquinolones et d'autres agents antimicrobiens. L'efflux actif est également décrit

chez d'autres bactéries à Gram positif comme *S. pneumoniae*, ainsi que chez les mycobactéries. La présence de ces pompes à efflux non spécifiques dans une cellule signifie, en outre, une possibilité d'activation par une large variété de composés, incluant des antibiotiques autres que les quinolones et fluoroquinolones, des antiseptiques, des détergents et le salicylate de sodium (un anti-inflammatoire non stéroïdien) (Alekshun et Levy, 1999 ; Jacoby, 2005).

2.2.3. Interactions entre les différents mécanismes de résistance

L'interaction entre différents mécanismes de résistance conduit généralement à des niveaux élevés de résistance aux fluoroquinolones et à d'autres antibiotiques lorsque les pompes à efflux et une diminution de la perméabilité de la membrane externe des bactéries à Gram négatif sont impliquées (Everett *et al.*, 1996 ; Lee *et al.*, 2000 ; Schwarz *et al.*, 2006). Des études *in vitro* ont ainsi montré que des souches d'*E. coli*, mutantes de premier niveau, résistantes aux fluoroquinolones présentent une mutation au sein de *gyrA*, alors qu'au deuxième niveau, celles-ci possèdent un phénotype de résistance multiple

associé à une augmentation de l'efflux. Enfin, au troisième niveau de mutation, l'efflux est d'avantage augmenté et on constate des mutations additionnelles dans les gènes codant pour les topoisomérases. De plus, la situation semble comparable parmi les souches isolées en clinique. Les altérations de la cible et l'activation de pompes à efflux sont des mécanismes généralement rencontrés ensemble au sein des souches cliniquement résistantes, et des mutations au niveau de différents locichromosomiques sont habituellement nécessaires pour conférer un haut niveau de résistance aux fluoroquinolones (Everett *et al.*, 1996 ; Oethinger *et al.*, 2000 ; Schwarz *et al.*, 2006). Il est ainsi remarquable de constater que l'inactivation du système d'efflux AcrAB-TolC dans une souche d'*E. coli* présentant des mutations dans les gènes cibles des fluoroquinolones, rend la bactérie hypersensible à cette famille d'antibiotiques. Par conséquent, en absence de pompes à efflux AcrAB-TolC fonctionnelles, les mutations dans les gènes codant pour les sous-unités de l'ADN gyrase ne suffiront pas à l'induction d'un niveau clinique de résistance (Oethinger *et al.*, 2000 ; Schwarz *et al.*, 2006). Le même phénomène est observé chez *P. aeruginosa*, chez qui la délétion de la pompe à efflux MexAB-OprM, l'homologue de AcrAB-TolC dans cette espèce, conduit à une diminution significative du niveau de résistance aux fluoroquinolones même en présence de mutations dans les gènes cibles (Lomovskaya *et al.*, 1999 ; Schwarz *et al.*, 2006).

3. RÉSISTANCES PLASMIDIQUES

3.1. Les mécanismes Qnr

3.1.1. Découverte des gènes qnr

Les PMQR ont été découvertes en 1998 par Martinez-Martinez et ses collaborateurs, lors de l'étude d'un plasmide porteur d'un gène codant pour une bêta-lactamase, provenant d'une souche multi-résistante de *Klebsiella pneumoniae*, isolée d'un échantillon d'urine prélevé en 1994 chez un patient de l'Université d'Alabama. Ce plasmide confère une résistance sub-clinique vis-à-vis de différentes quinolones et fluoroquinolones, en produisant une augmentation

de la concentration minimale inhibitrice (CMI) vis-à-vis de l'acide nalidixique de 8 fois et vis-à-vis de différentes fluoroquinolones de 8 à 64 fois. En outre, ce plasmide facilite la sélection de souches mutantes à niveaux élevés de résistance aux fluoroquinolones (Martinez-Martinez *et al.*, 1998). Le gène de 657 paires de bases (pb) responsable de ce phénotype code pour une protéine nommée Qnr pour *quinolone resistance* (Tran et Jacoby, 2002), de la famille des pentapeptides répétés (PRP pour *pentapeptide repeat protein*), et rebaptisée plus récemment QnrA1 après l'identification de différentes protéines Qnr et de différents variants pour chacune d'entre elles. Actuellement, sept variants du gène *qnrA* sont décrits (*qnrA1* à *qnrA7*) (Cheung *et al.*, 2005 ; Nordmann et Poirel, 2005 ; Poirel *et al.*, 2005a ; Cambau *et al.*, 2006 ; Jacoby, 2012). En 2003, un clone de *Shigella flexneri* 2b causa une épidémie d'entérocolites au Japon. Parmi les huit souches isolées de ce clone, une présentait une résistance à la ciprofloxacine et possédait une unique plasmide conjugatif responsable du transfert de ce phénotype et porteur d'un gène codant pour une protéine de 218 acides aminés. Cette protéine PRP présentait 59 pourcent d'identité en acides aminés avec la protéine QnrA1 et fut nommée QnrS (Hata *et al.*, 2005). Depuis, cinq autres variants du gène *qnrS* ont été identifiés (*qnrS1* à *qnrS6*) (Gay *et al.*, 2006 ; Yue *et al.*, 2008 ; Torpdahl *et al.*, 2009 ; Han *et al.*, 2012 ; Jacoby, 2012). Jacoby et collaborateurs (2006) en étudiant des souches de *K. pneumoniae* provenant d'Inde, ont mis en évidence la présence d'une résistance transférable à bas niveau aux fluoroquinolones en excluant la présence de *qnrA*. Le gène PMQR responsable de ce phénotype code pour une protéine de 214 acides aminés désignée QnrB (Cattoir *et al.*, 2008a ; Wang *et al.*, 2009b). Cette protéine appartient également à la famille PRP et partage 43 et 44 pourcent d'identité en acides aminés avec respectivement QnrA1 et QnrS1 (Jacoby *et al.*, 2006). Aujourd'hui, 54 variants du gène *qnrB* sont décrits (*qnrB1* à *qnrB54*) (Jacoby, 2012). Le gène *qnrC*, produisant une augmentation de la CMI de la ciprofloxacine de 32 fois, a ensuite été identifié sur un plasmide conjugatif provenant d'une souche de *Proteus mirabilis* isolée à Shanghai en Chine. Le gène de 666 pb code pour une protéine de la famille des PRP, QnrC, de 221 acides aminés et qui partage 64, 41 et 59 pourcent d'identité en acides aminés avec QnrA1, QnrB1, QnrS1 et QnrD respectivement. À ce jour, un seul variant du gène est identi-

fié (Wang *et al.*, 2009a). Enfin, le gène *qnrD* a été découvert sur un petit plasmide provenant de souches de *Salmonella enterica* isolées d'humains en Chine et présentant une réduction transférable de sensibilité à la ciprofloxacine. Le gène *qnrD* responsable d'une augmentation de la CMI de la ciprofloxacine de 32 fois, code pour une protéine de type PRP de 214 acides aminés qui présente 48, 61, 32 et 43 pourcent de similarité avec respectivement QnrA1, QnrB1, QnrS1 et QnrC (Cavaco *et al.*, 2009 ; Wang *et al.*, 2009a).

3.1.2. L'origine des gènes qnr

Différentes espèces de bactéries à Gram négatif ont été analysées pour la recherche de gènes analogues aux gènes *qnr*, dans le but d'identifier le réservoir naturel de ces déterminants de résistance. De cette étude, le chromosome de la bactérie *Shewanella algae* apparaît comme une origine probable du gène *qnrA3* (Poirel *et al.*, 2005a). Ensuite, d'autres gènes de type *qnr*, non mobilisables, seront identifiés dans le chromosome de nombreuses bactéries de la famille *Shewanellaceae* ainsi que parmi des bactéries de la famille *Vibrionaceae* telles que *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus* et *Photobacterium profundum* (Poirel *et al.*, 2005b ; Sanchez *et al.*, 2008). Les protéines codées par ces gènes présentent au plus 67 pourcent d'identité avec QnrA1, et confèrent après une expression hétérologue dans une souche d'*E. coli* une augmentation de la CMI de la ciprofloxacine similaire au niveau de résistance observé en présence des variants du gène *qnrA* (Poirel *et al.*, 2005b). Un autre gène de type *qnr* a également été localisé sur le chromosome d'un clone de *Vibrio cholerae* O1 responsable d'une épidémie de choléra au Brésil. Le gène nommé *Vcqr1* est associé à un site de recombinaison *attC* et est incorporé en tant que cassette de résistance dans un intégron de type 1 (Fonseca *et al.*, 2008). *qnrB* semble également avoir une origine chromosomique après l'identification d'un analogue de *qnrB12* dans le chromosome de souches de *Citrobacter werkmanii* isolées de volaille en Allemagne (Kehrenberg *et al.*, 2008). Le chromosome de *Stenotrophomonas maltophilia* présente également un gène codant pour une protéine de 219 acides aminés qui partage 60 pourcent d'identité avec QnrB1, soulignant le rôle potentiel de cette espèce bactérienne en tant que source de nou-

veaux déterminants *qnr*. En outre, un homologue très proche du gène *qnrB* a été identifié lors de l'analyse métagénomique d'un échantillon aquatique marin. Cependant l'origine chromosomique ou plasmidique de ce gène n'a pas pu être déterminée (Sanchez *et al.*, 2008). D'autres études ont révélé la présence du variant *qnrS2* au niveau de plasmides de souches aquatiques du genre *Aeromonas* suggérant ainsi un autre type de réservoir environnemental, cette fois secondaire, et soulignant un possible rôle de lien dans la transmission du gène entre le réservoir primaire probable que représente la famille des *Vibrionaceae* et les entérobactéries (Picao *et al.*, 2008). Le chromosome de *Serratia marcescens*, une bactérie à Gram négatif pathogène opportuniste, présente lui aussi un gène codant pour une protéine qui partage 80 pourcent d'identité avec QnrB1, suggérant l'implication de cette espèce bactérienne comme réservoir des gènes de type *qnr* (Velasco *et al.*, 2010). Enfin, l'étude du génome d'une souche de *Vibrio splendidus* a révélé la présence chromosomique d'un gène codant pour une protéine PRP de 219 paires de bases qui partage 84 et 87 pourcent d'identité avec QnrS1 et QnrS2, et qui confère après une expression hétérologue chez *E. coli* une augmentation de la CMI de l'acide nalidixique de 8 fois et de différentes fluoroquinolones de 4 à 16 fois (Cattoir *et al.*, 2007).

Les bactéries à Gram positif ne sont pas en reste. En effet, de nombreuses protéines PRP de type Qnr sont codées par des gènes présents dans le chromosome de bactéries telles que *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*. Cependant, ces protéines partagent seulement 16 à 22 pourcent d'identité de séquence en acides aminés avec QnrA1, QnrB1 et QnrS1 (Arsène *et al.*, 2007 ; Rodriguez-Martinez *et al.*, 2008). Toutefois, après un clonage dans une souche d'*E. coli*, les plasmides recombinants créés et porteurs des gènes codant pour ces protéines confèrent également une réduction de sensibilité vis-à-vis de nombreuses quinolones et fluoroquinolones. Tous ces éléments suggèrent que les gènes *qnr* plasmidiques tels que nous les connaissons aujourd'hui trouvent leur origine au sein de bactéries aquatiques et d'autres microorga-

nismes environnementaux (Strahilevitz *et al.*, 2009 ; Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010).

3.1.3. Structure, mode d'action des protéines Qnr et fonctions naturelles

Les protéines Qnr appartiennent à la famille des pentapeptides répétés qui se définit comme un groupe de plus de mille protéines aux fonctions naturelles bien souvent inconnues et constituées de tandem de cinq acides aminés répétés de façon semi-conservative [Ser, Thr, Ala ou Val] [Asp ou Asn] [Leu ou Phe] [Ser, Thr ou Arg] [Gly] (Vetting *et al.*, 2006). En termes de mécanisme d'action exploité par les protéines PRP pour conférer une résistance aux fluoroquinolones, deux protéines retiennent notre attention. MfpA, une protéine PRP qui partage 18,6 pourcent d'identité en acides aminés avec QnrAa été largement étudiée. Le gène *mfpA* identifié initialement sur le chromosome de *Mycobacterium smegmatis*, est, lorsqu'il est exprimé sur un plasmide multi-copies, responsable d'une augmentation de la CMI de la ciprofloxacine de 4 à 8 fois, alors que son inactivation est associée à une augmentation de la sensibilité du germe à cette même fluoroquinolone (Montero *et al.*, 2001). En outre, un variant de ce gène identifié dans le génome de *Mycobacterium tuberculosis* est quant à lui capable d'inhiber l'activité de l'ADN gyrase en interagissant directement avec celle-ci (Hegde *et al.*, 2005). En fait, la structure tridimensionnelle de la protéine de même que la répartition de ses charges électrostatiques ressemblent étroitement à celles observées au niveau d'une molécule d'ADN, suggérant pour MfpA un rôle inhibiteur de l'ADN gyrase par compétition avec l'ADN pour la liaison sur cette enzyme. De plus, le complexe formé par la protéine PRP et l'ADN gyrase rend l'enzyme indisponible pour la formation ultérieure du complexe clivé et létal fluoroquinolone-ADN-gyrase. Lamicrocine B17 est un pentapeptide naturel et un poison bactérien au mécanisme d'action similaire à celui des fluoroquinolones, à savoir une inhibition de l'ADN gyrase (Hedde *et al.*, 2001). La protéine McbG, une PRP qui partage 19,6 pourcent d'identité avec QnrA, est quant à elle produite par les microorganismes synthétisant la microcine afin de protéger l'ADN gyrase de

l'effet toxique de B17 (Garrido *et al.*, 1988 ; Jacoby *et al.*, 2003).

Le mécanisme par lequel les protéines Qnr exercent un effet protecteur sur l'ADN gyrase et la topoisomérase IV contre l'action inhibitrice des fluoroquinolones n'est pas complètement élucidé. La protéine QnrA, modèle le plus souvent utilisé, est capable de se lier à l'ADN gyrase et à la topoisomérase IV au niveau de leurs deux sous-unités et en l'absence du complexe ternaire composé de la fluoroquinolone, de l'ADN et de l'enzyme (Tran *et al.*, 2005). Par conséquent, la protection exercée par QnrA est le résultat d'une liaison de cette protéine au niveau d'une des deux enzymes sur un site chevauchant le site de liaison de l'ADN, et contrairement à MfpA, QnrA entre en compétition avec l'ADN pour la liaison au niveau de l'enzyme sans inhiber l'action de celle-ci *in vitro* (Strahilevitz *et al.*, 2009).

La fonction biologique première et naturelle des gènes *qnr* n'est par contre pas claire, mais trois hypothèses ont ainsi été proposées. Selon la première théorie, les protéines Qnr sont en quelque sorte des antitoxines protégeant l'ADN gyrase et la topoisomérase IV de l'action délétère de toxines naturelles non identifiées à ce jour (Ellington et Woodford, 2006). La seconde hypothèse reconnaît aux protéines Qnr un rôle similaire à la protéine GyrI, un régulateur de l'ADN gyrase également capable d'exercer un certain effet « antiquinolone » (Chatterji et Nagaraja, 2002 ; Chatterji *et al.*, 2003). Enfin, la troisième suggestion attribue aux protéines Qnr un rôle naturel dans la protection des bactéries contre des agents naturels occasionnant des dommages à l'ADN. En effet, certains plasmides porteurs de différents allèles du gène *qnrB* présente un site de liaison de la protéine LexA impliquée dans la réponse SOS (Wang *et al.*, 2009b).

3.1.4. L'activité de résistance de Qnr

L'acquisition d'un plasmide porteur d'un gène *qnr* n'est pas suffisante pour transformer une bactérie de type sauvage sensible aux fluoroquinolones en souche résistante selon les normes standards de sensibilité fixées par des comités scientifiques internationaux

tels que le CLSI (pour *Clinical and Laboratory Standards Institute*). On détermine l'effet de la présence d'un tel plasmide sur la sensibilité d'une souche vis-à-vis d'une fluoroquinolone particulière en déterminant et en comparant les CMI de cette molécule pour une souche porteuse ou non du dit plasmide (Strahilevitz *et al.*, 2009). Pour la plupart des composés de cette famille, on observe une augmentation de la CMI de 16 à 125 fois (tableau I). La CMI de l'acide naladixique est, quant à elle, augmentée de 2 à 8 fois, mais cette augmentation est suffisante pour exprimer un phénotype de résistance vis-à-vis de cet antibiotique (Wang *et al.*, 2004).

La modification apportée à la concentration de prévention des mutants (CPM) est une autre façon d'exprimer l'effet sur la résistance conféré lors de l'acquisition d'un gène *qnr*. Ainsi, les protéines Qnr en augmentant la CPM facilitent l'apparition de souches mutantes présentant des niveaux élevés de résistance aux fluoroquinolones. En conclusion, le faible niveau de résistance associé à la présence des gènes *qnr* n'assure donc pas la survie totale d'une population bactérienne en présence de fluoroquinolones à dose thérapeutique, mais il accroît substantiellement le nombre de bactéries mutées sélectionnées dans cette population (Martinez-Martinez *et al.*, 1998 ; Jacoby, 2005 ; Robicsek *et al.*, 2005 ; Rodriguez-Martinez *et al.*, 2007). Par ailleurs, les gènes *qnr* sont fréquemment observés en présence d'autres mécanismes de résistance avec lesquels ils agissent en synergie au sein de souches cliniques, et de nombreuses études ont également identifié des bactéries porteuses de plusieurs gènes *qnr* possédant dès lors un effet additif sur la CMI (Strahilevitz *et al.*, 2009).

3.1.5. Les plasmides *Qnr* et l'environnement génétique des gènes *qnr*

Les gènes *qnr* ont été identifiés sur des plasmides de taille allant de 2,7 à 340 kilobases et de groupes d'incompatibilité très différents. Cette grande variabilité de localisation suggère qu'une dispersion de nombreux plasmides est probablement responsable de la dissémination de ces déterminants de résistance à travers le monde. Toutefois, l'environnement génétique immédiat de chacun de ces gènes est suffisamment similaire

pour suggérer un nombre limité d'événements d'acquisition, suivis ensuite de multiples réarrangements génétiques à la base de la diversité de structure plasmidique observée actuellement (Strahilevitz *et al.*, 2009 ; Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010).

Les gènes *qnrA* et *qnrB* sont souvent associés à la recombinase d'une structure du type ISCR (pour *insertion sequence common region*) et localisés à l'intérieur d'un intégron complexe contenant de nombreuses cassettes de résistance sans toutefois y être apparentés (Robicsek *et al.*, 2006a). En outre, les allèles de *qnrB* sont parfois associés à un autre de type de transposase et à des gènes chromosomiques de bactéries marines non liés à des résistances aux antibiotiques, ou encore retrouvés dans divers types de transposons (Jacoby *et al.*, 2006). Contrairement aux gènes *qnrA* et *qnrB*, les gènes *qnrS* ne sont ni associés à une ISCR ni à un intégron complexe. La plupart des plasmides porteurs des différents allèles de *qnrS* sont relativement plus petits, non conjugatifs, souvent identifiés au sein de divers sérovars de *S. enterica* (Bonemann *et al.*, 2006 ; Kehrenberg *et al.*, 2007 ; Wu *et al.*, 2007 ; Wu *et al.*, 2008 ; Garcia-Fernandez *et al.*, 2009 ; Strahilevitz *et al.*, 2009). Des allèles du gène *qnrS* ont été identifiés à proximité de séquences d'insertion (Gay *et al.*, 2006 ; Poiriel *et al.*, 2006a ; 2006b ; Kehrenberg *et al.*, 2007 ; Poiriel *et al.*, 2007) ou à l'intérieur d'une structure ressemblant à un transposon (Cattoir *et al.*, 2008b). De plus, les plasmides porteurs des gènes *qnrA* et *qnrB* sont fréquemment porteurs de gènes de résistance aux bêta-lactames, au chloramphénicol, aux aminoglycosides, aux tétracyclines, aux sulfamidés, au triméthoprim, et à la rifampicine, alors que ce n'est pas le cas des plasmides porteurs du gène *qnrS* probablement à cause de leur taille plus petite (Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010).

3.2. Le mécanisme *Aac(6')-Ib-cr*

En 2006, plusieurs années après la découverte des gènes *qnr*, l'existence de plasmides porteurs du gène *qnrA*, isolés de souches cliniques d'*E. coli* collectées à Shanghaï et conférant une augmentation de la CMI de la ciprofloxacine à 1mg/L non liée à une augmentation du niveau d'expression de *qnrA*, fut révélée par Robicsek et

collaborateurs. Le gène *aac(6')-Ib* qui code pour une aminoglycoside-acyl-transférase, une enzyme produisant une résistance à la kanamycine, à la tobramycine et à l'amikacine, fut découvert responsable de ce phénotype particulier. Cependant l'allèle du gène *aac(6')-Ib* alors identifié se révéla unique par la présence de deux mutations, au niveau du codon 102 (Trp→Arg) et au niveau du codon 179 (Asp→Tyr), nécessaires et suffisantes à la production du phénotype de résistance vis-à-vis de la ciprofloxacine. Le variant du gène *aac(6')-Ib*, nommé *AAC(6')-IB-CR* pour *ciprofloxacin resistant*, est ainsi capable d'acytyler l'azote amine d'un groupement pipérazine en position 7 du noyau des fluoroquinolones. La haute spécificité de cette réaction enzymatique pour ce substitut particulier explique pourquoi seules la ciprofloxacine et la norfloxacine sont affectées, les autres fluoroquinolones ne possédant pas ce type de groupement (Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010). Bien que l'augmentation de la CMI produite soit modeste (environ trois à quatre fois la CMI d'une souche sauvage) (tableau I), la présence du gène *aac(6')-Ib-cr* affecte plus la CPM. Ainsi, à une concentration de 1,6 mg/L, approximativement le pic de concentration plasmatique en ciprofloxacine libre atteint au cours d'une thérapie, on identifie déjà des clones résistants d'une souche sauvage d'*E. coli* (Robicsek *et al.*, 2006b). Aujourd'hui, le variant *-crse* révèle largement répan- du à travers le monde, et bien souvent en association à d'autres gènes PMQR incluant *qepA*, de nombreux allèles des gènes *qnrA*, *qnrB* et *qnrS*, et à d'autres gènes de résistance tels que de nombreuses bêta-lactamases *aac(6')-Ib-cr*, tout comme *aac(6')-Ib* font partie d'une cassette d'intégration en association à un site *attC*, et sont souvent identifiés dans différents intégrons et plus spécifiquement sur des plasmides du groupe d'incompatibilité IncFII exprimant une bêta-lactamase à large spectre, CTX-M-15, dont la prévalence est la plus élevée dans de nombreux pays à travers le monde (Strahilevitz *et al.*, 2009).

3.3. Les pompes à efflux plasmidiques

3.3.1. La pompe à efflux *QepA*

En 2002, au Japon, une nouvelle pompe à efflux, nommée *QepA*, est

découverte. Elle est codée par un gène situé sur un plasmide de résistance d'une souche clinique d'*E. coli* isolée d'urine. Ce plasmide confère un profil de résistance multiple vis-à-vis des aminoglycosides, des fluoroquinolones et des bêta-lactames à large spectre. Le gène *qepA* code pour une protéine de 511 acides aminés qui est une pompe à efflux du type 14-TMS (pour *transmembrane segment*) de la famille des transporteurs MFS (pour *major facilitator superfamily*). Cette pompe à efflux présente une importante homologie de séquence avec les transporteurs membranaires de type MFS, codés au niveau du chromosome de microorganismes environnementaux tels que les bactéries à Gram positif de l'ordre des Actinomycetales. Cette pompe à efflux confère une résistance à bas niveau en produisant une augmentation de la CMI de fluoroquinolones hydrophiles comme la ciprofloxacine, l'enrofloxacine et la norfloxacine de 32 à 64 fois (tableau I). Une augmentation modeste de la CMI (deux fois) de l'érythromycine, de l'acriflavine et du bromure d'éthidium a également été observée. Par contre la CMI de substrats habituels des pompes à efflux et d'autres familles d'antibiotiques reste inchangée (Yamane *et al.*, 2007). Depuis la découverte du gène *qepA*, un variant de ce gène, nommé *qepA2*, qui présente deux substitutions en acides aminés a été mis en évidence. Ce variant confère un phénotype de résistance similaire à *qepA*, renommé depuis *qepA1* (Cattoir *et al.*, 2008c). Le gène *qepA1*, localisé sur un plasmide conjugatif du groupe IncFI, se trouve sur un transposon composite encadré de deux séquences d'insertion IS26 et comprenant le gène *rmtB*, codant pour une résistance à haut niveau aux aminoglycosides d'usage thérapeutique (Yamane *et al.*, 2007 ; Périchon *et al.*, 2008 ; Yamane *et al.*, 2008 ; Park *et al.*, 2009). Le gène *qepA2*, localisé sur un plasmide mobilisable mais non conjugatif et encadré par une séquence d'insertion du type ISCR, n'est quant à lui pas associé au gène *rmtB* (Cattoir *et al.*, 2008c).

3.3.2. La pompe à efflux OqxAB

Un plasmide conjugatif porteur d'une résistance à l'olaquinox, un antibiotique dérivé de la quinoxaline, utilisé en agriculture dans certains pays du monde comme promoteur de croissance, a été identifié parmi

des souches d'*E. coli* provenant d'élevages de porcs (Sorensen *et al.*, 2003). Le mécanisme de résistance impliqué est une pompe à efflux non spécifique nommée OqxAB (Hansen *et al.*, 2004). Le gène qui code pour ce déterminant a également été trouvé sur le chromosome de *K. pneumoniae* où il présente différents niveaux d'expression corrélés à des différences de sensibilité à l'antibiotique (Kim *et al.*, 2009). En outre, un plasmide porteur de *oqxAB* a été mis en évidence récemment en Corée du sud dans une souche clinique d'*E. coli* provenant d'un homme (Kim *et al.*, 2009). Ce mécanisme rare confère aussi une résistance aux fluoroquinolones à bas niveau, en augmentant la CMI d'une souche d'*E. coli* vis-à-vis de l'acide nalidixique et de la ciprofloxacine de 8 à 16 fois respectivement (Hansen *et al.*, 2007) (tableau I).

4. CONCLUSIONS

Au cours de la décennie suivant la découverte du gène *qnrA*, on a pu assister à une explosion des connaissances concernant un phénomène dont on était jusqu'alors convaincu qu'il n'existait pas, à savoir les résistances plasmidiques aux fluoroquinolones. Nous avons lancé un défi aux bactéries, en les exposant à une classe d'antibiotiques totalement synthétique contre laquelle le développement de résistance par mutation au cours d'un traitement était peu probable. Et pourtant, les résistances aux fluoroquinolones ont bel et bien émergé d'innombrables fois et indépendamment, partout à travers le monde, sur les cinq continents et même dans les océans les séparant. En parallèle au développement de l'usage de ces antibiotiques à large spectre d'action, les bactéries à Gram négatif organisaient et assemblaient un arsenal d'éléments génétiques préexistants, tout en leur attribuant des propriétés de transfert horizontal, qui faciliteraient ensuite leur dissémination ainsi que l'émergence mutationnelle de résistance vis-à-vis de ces composés. C'est ainsi que des gènes chromosomiques, initialement inexistantes parmi les *Enterobacteriaceae*, ont été recrutés et mobilisés au sein de cette famille de bactéries, pour protéger leurs topoisomérases des effets inhibiteurs des quinolones et des fluoroquinolones, ou encore

de médier l'efflux de ces composés à l'extérieur des microorganismes ; alors qu'un gène de résistance naturellement existant s'est vu adapté par mutation et codé maintenant pour une nouvelle enzyme au spectre catalytique élargi. À ce stade, il est encore impossible de déterminer si ces événements ont joué un rôle déterminant, ou ont simplement contribué secondairement à l'émergence des résistances aux fluoroquinolones. Cependant, il apparaît évident que ces gènes PMQR ont progressé de façon extensive, pour envahir de nombreux germes pathogènes humains et animaux, partout où cette famille de composés antimicrobiens est ou a été utilisée.

Si la présence des gènes plasmidiques de résistance aux fluoroquinolones est peu importante à ce jour sur le plan clinique comparé aux mutations identifiées dans les gènes codant pour les enzymes ciblées par ces antibiotiques, elle représente par contre un danger potentiel en augmentant d'un facteur 10 la probabilité d'apparition de souches à haut niveau de résistance lors de croissance en présence de fluoroquinolones. En outre, la localisation plasmidique de ces gènes leur assure une transmission horizontale souvent efficace, et leur accumulation sur un même support peut conduire à des niveaux cliniques de résistance aux fluoroquinolones. Soulignons également l'existence fréquente sur les plasmides porteurs de gènes PMQR, de gènes codant pour des résistances à d'autres antimicrobiens tels que des bêta-lactames, des macrolides et des aminosides, laissant craindre des phénomènes de co-sélection de résistances et une accélération de l'émergence de bactéries multi-résistantes. Aujourd'hui plus que jamais, l'utilisation des fluoroquinolones doit donc s'appuyer sur les résultats de laboratoire démontrant non seulement leur efficacité sur le pathogène isolé responsable du problème clinique observé, mais aussi la sensibilité du germe aux autres antibiotiques envisageables. Dès maintenant, le praticien doit être conscient qu'un usage raisonné et raisonnable des fluoroquinolones et de tout autre composé antibactérien assurera la pérennité de leur efficacité clinique face aux pathogènes humains et animaux ainsi que le maintien de leur autorisation pour la profession vétérinaire.

FLUOROQUINOLONES RESISTANCES: THE CURRENT SITUATION

After six decades of antimicrobial use, pathogenic bacteria of human and animal origin have reached alarming levels of antibiotics resistances. Fluoroquinolones, antibiotics whose use of last resort both in human and veterinary medicine should be preferred, have also not been spared by this phenomenon. Two chromosomal mecha-

nisms are responsible for clinical fluoroquinolones resistances: the accumulation of mutations within genes either encoding the DNA gyrase and/or the topoisomerase IV, or regulating the expression of efflux pumps and decreasing the membrane permeability. Recently, strains with sub-clinical levels of fluoroquinolones resistance mediated by plasmid-located genes, the so-called PMQR genes for "plasmid-mediated quinolone resistance", have emerged.

These mechanisms do not only confer sub-clinical levels, but they also increase the likelihood of clinically resistant strains emergence in the presence of therapeutic levels of fluoroquinolone.

This literature review will present a description and the epidemiology of plasmidic and chromosomal fluoroquinolone resistances and will consider the epidemiology of these phenomena.

BIBLIOGRAPHIE

- ALEKSHUN M.N., LEVY S.B. Regulation of chromosomally mediated multiple antibiotic resistance: the *mar* regulon. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1997, **41**, 2067-2075.
- ALEKSHUN M.N., LEVY S.B. Alteration of the repressor activity of MarR, the negative regulator of the *Escherichia coli* *marRAB* locus, by multiple chemicals in vitro. *J.Bacteriol.*, 1999, **181**, 4669-4672.
- ARSENE S., LECLERCQ R. Role of a *qnr*-like gene in the intrinsic resistance of *Enterococcus faecalis* to fluoroquinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, **51**, 3254-3258.
- BALL P. Quinolone generations: natural history or natural selection? *J. Antimicrob. Chemother.*, 2000, **46** : Suppl T1, 17-24.
- BARNARD F.M., MAXWELL A. Interaction between DNA gyrase and quinolones: effects of alanine mutations at GyrA subunit residues Ser(83) and Asp(87). *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001, **45**, 1994-2000.
- BERGER J.M., WANG J.C. Recent developments in DNA topoisomerase II structure and mechanism. *Curr.Opin.Struct. Biol.*, 1996, **6**, 84-90.
- BONEMANN G., STIENS M., PUHLER A., SCHLUTER A. Mobilizable IncQ-related plasmid carrying a new quinolone resistance gene, *qnrS2*, isolated from the bacterial community of a wastewater treatment plant. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006, **50**, 3075-3080.
- CAMBAU E., LASCOLS C., SOUGAKOFF W., BEBEAR C., BONNET R., CAVALLO J.D., GUTMANN L., PLOY M.C., JARLIER V., SOUSSY C.J., ROBERT J. Occurrence of *qnrA*-positive clinical isolates in French teaching hospitals during 2002-2005. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2006, **12**, 1013-1020.
- CATTOIR V., POIREL L., MAZEL D., SOUSSY C.J., NORDMANN P. *Vibrio splendidus* as the source of plasmid-mediated *QnrS*-like quinolone resistance determinants. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, **51**, 2650-2651.
- CATTOIR V., NORDMANN P., SILVA-SANCHEZ J., ESPINAL P., POIREL L. ISEcp1-mediated transposition of *qnrB*-like gene in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008a, **52**, 2929-2932.
- CATTOIR V., POIREL L., AUBERT C., SOUSSY C.J., NORDMANN P. Unexpected occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in environmental *Aeromonas spp.* *Emerg. Infect. Dis.*, 2008b, **14**, 231-237.
- CATTOIR V., POIREL L., NORDMANN P. Plasmid-mediated quinolone resistance pump QepA2 in an *Escherichia coli* isolate from France. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008c, **52**, 3801-3804.
- CAVACO L.M., HASMAN H., XIA S., AARESTRUP F.M. *qnrD*, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Kentucky and *Bovis morbificans* strains of human origin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009, **53**, 603-608.
- CHATTERJI M., NAGARAJA V. GyrI: a counter-defensive strategy against proteinaceous inhibitors of DNA gyrase. *EMBO Rep.*, 2002, **3**, 261-267.
- CHATTERJI M., SENGUPTA S., NAGARAJA V. Chromosomally encoded gyrase inhibitor GyrI protects *Escherichia coli* against DNA-damaging agents. *Arch. Microbiol.*, 2003, **180**, 339-346.
- CHEUNG T.K., CHU Y.W., CHU M.Y., MA C.H., YUNG R.W., KAM K.M. Plasmid-mediated resistance to ciprofloxacin and cefotaxime in clinical isolates of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis in Hong Kong. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2005, **56**, 586-589.

- COHEN S.P., MCMURRY L.M., LEVY S.B. *marA* locus causes decreased expression of OmpF porin in multiple-antibiotic-resistant (Mar) mutants of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 1988, **170**, 5416-5422.
- COHEN S.P., MCMURRY L.M., HOOPER D.C., WOLFSON J.S., LEVY S.B. Cross-resistance to fluoroquinolones in multiple-antibiotic-resistant (Mar) *Escherichia coli* selected by tetracycline or chloramphenicol: decreased drug accumulation associated with membrane changes in addition to OmpF reduction. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1989, **33**, 1318-1325.
- COHEN S.P., YAN W., LEVY S.B. A multidrug resistance regulatory chromosomal locus is widespread among enteric bacteria. *J. Infect. Dis.*, 1993, **168**, 484-488.
- DRLICA K., ZHAO X. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 1997, **61**, 377-392.
- DRLICA K., HOOPER D.C. Mechanisms of quinolone action. In : Hooper D.C., Rubinstein, E. (Eds), Quinolone antimicrobial agents. 3rd edition. ASM Press : Washington, 2003, 19-40.
- DRLICA K., MALIK M., KERNS R.J., ZHAO X. Quinolone-mediated bacterial death. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008, **52**, 385-392.
- ELIOPOULOS G.M. Quinolone resistance mechanisms in pneumococci. *Clin. Infect. Dis.*, 2004, **38** : Suppl 4, S350-356.
- ELLINGTON M.J., WOODFORD N. Fluoroquinolone resistance and plasmid addiction systems: self-imposed selection pressure? *J. Antimicrob. Chemother.*, 2006, **57**, 1026-1029.
- EVERETT M.J., JIN Y.F., RICCI V., PIDDOCK L.J. Contributions of individual mechanisms to fluoroquinolone resistance in 36 *Escherichia coli* strains isolated from humans and animals. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1996, **40**, 2380-2386.
- FONSECA E.L., DOS SANTOS FREITAS F., VIEIRA V.V., VICENTE A.C. New *qnr* gene cassettes associated with superintegron repeats in *Vibrio cholerae* O1. *Emerg. Infect. Dis.*, 2008, **14**, 1129-1131.
- GARAU J., XERCAVINS M., RODRIGUEZ-CARBALLEIRA M., GOMEZ-VERA J.R., COLL I., VIDAL D., LLOVET T., RUIZ-BREMON A. Emergence and dissemination of quinolone-resistant *Escherichia coli* in the community. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999, **43**, 2736-2741.
- GARCIA-FERNANDEZ A., FORTINI D., VELDMAN K., MEVIUS D., CARATTOLI A. Characterization of plasmids harbouring *qnrS1*, *qnrB2* and *qnrB19* genes in *Salmonella*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2009, **63**, 274-281.
- GARRIDO M.C., HERRERO M., KOLTER R., MORENO F. The export of the DNA replication inhibitor microcin B17 provides immunity for the host cell. *EMBO J.*, 1988, **7**, 1853-1862.
- GAY K., ROBICSEK A., STRAHILEVITZ J., PARK C.H., JACOBY G., BARRETT T.J., MEDALLA F., CHILLER T.M., HOOPER D.C. Plasmid-mediated quinolone resistance in non-Typhi serotypes of *Salmonella enterica*. *Clin. Infect. Dis.*, 2006, **43**, 297-304.
- HAN J.E., KIM J.H., CHERESCA C.H. Jr., SHIN S.P., JUN J.W., CHAI J.Y., HAN S.Y., PARK S.C. First description of the *qnrS*-like (*qnrS5*) gene and analysis of quinolone resistance-determining regions in motile *Aeromonas* spp. from diseased fish and water. *Res. Microbiol.*, 2012, **163**, 73-79.
- HANSEN L.H., JENSEN L.B., SORENSEN H.I., SORENSEN S.J. Substrate specificity of the OqxAB multidrug resistance pump in *Escherichia coli* and selected enteric bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2007, **60**, 145-147.
- HANSEN L.H., JOHANNESSEN E., BURMOLLE M., SORENSEN A.H., SORENSEN S.J. Plasmid-encoded multidrug efflux pump conferring resistance to olaquinox in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2004, **48**, 3332-3337.
- HATA M., SUZUKI M., MATSUMOTO M., TAKAHASHI M., SATO K., IBE S., SAKAE K. Cloning of a novel gene for quinolone resistance from a transferable plasmid in *Shigella flexneri* 2b. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005, **49**, 801-803.
- HEDDLE J.G., BLANCE S.J., ZAMBLE D.B., HOLLFELDER F., MILLER D.A., WENTZELL L.M., WALSH C.T., MAXWELL A. The antibiotic microcin B17 is a DNA gyrase poison: characterisation of the mode of inhibition. *J. Mol. Biol.*, 2001, **307**, 1223-1234.
- HEGDE S.S., VETTING M.W., RODERICKS L., MITCHENALL L.A., MAXWELL A., TAKIFF H.E., BLANCHARD J.S. A fluoroquinolone resistance protein from *Mycobacterium tuberculosis* that mimics DNA. *Science*, 2005, **308**, 1480-1483.
- HOOPER D.C. Bacterial topoisomerases, anti-topoisomerases, and anti-topoisomerase resistance. *Clin. Infect. Dis.*, 1998, **27** : Suppl 1, S54-63.
- HOOPER D.C. Mechanisms of quinolone resistance. In : Hooper D.C., Rubinstein, E. (Eds), Quinolone antimicrobial agents. 3rd edition. ASM Press : Washington, 2003, 41-67.
- INCE D., HOOPER D.C. Quinolone resistance due to reduced target enzyme expression. *J. Bacteriol.*, 2003, **185**, 6883-6892.
- JACOBY G.A., CHOW N., WAITES K.B. Prevalence of plasmid-

- mediated quinolone resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2003, **47**, 559-562.
- JACOBY G.A. Mechanisms of resistance to quinolones. *Clin. Infect. Dis.*, 2005, **41** : Suppl 2, S120-126.
- JACOBY G.A., WALSH K.E., MILLS D.M., WALKER V.J., OH H., ROBICSEK A., HOOPER D.C. qnrB, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006, **50**, 1178-1182.
- JACOBY G.A. qnr numbering and sequence [en ligne] (30/05/12) Adresse URL : <http://www.lahey.org/qnrStudies/>, consulté le 31/05/12.
- KEHRENBURG C., HOPKINS K.L., THRELFALL E.J., SCHWARZ S. Complete nucleotide sequence of a small qnrS1-carrying plasmid from *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* Typhimurium DT193. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2007, **60**, 903-905.
- KEHRENBURG C., FRIEDERICH S., DE JONG A., SCHWARZ S. Novel variant of the qnrB gene, qnrB12, in *Citrobacter werkmanii*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008, **52**, 1206-1207.
- KIM H.B., WANG M., PARK C.H., KIM E.C., JACOBY G.A., HOOPER D.C. oqxAB encoding a multidrug efflux pump in human clinical isolates of *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009, **53**, 3582-3584.
- LEE A., MAO W., WARREN M.S., MISTRY A., HOSHINO K., OKUMURA R., ISHIDA H., LOMOVSKAYA O. Interplay between efflux pumps may provide either additive or multiplicative effects on drug resistance. *J. Bacteriol.*, 2000, **182**, 3142-3150.
- LOMOVSKAYA O., LEE A., HOSHINO K., ISHIDA H., MISTRY A., WARREN M.S., BOYER E., CHAMBERLAND S., LEE V.J. Use of a genetic approach to evaluate the consequences of inhibition of efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999, **43**, 1340-1346.
- MARTINEZ-MARTINEZ L., PASCUAL A., JACOBY G.A. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet*, 1998, **351**, 797-799.
- MONTERO C., MATEU G., RODRIGUEZ R., TAKIFF H. Intrinsic resistance of *Mycobacterium smegmatis* to fluoroquinolones may be influenced by new pentapeptide protein MfpA. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001, **45**, 3387-3392.
- MORAIS CABRAL J.H., JACKSON A.P., SMITH C.V., SHIKOTRA N., MAXWELL A., LIDDINGTON R.C. Crystal structure of the breakage-reunion domain of DNA gyrase. *Nature*, 1997, **388**, 903-906.
- NG E.Y., TRUCKSIS M., HOOPER D.C. Quinolone resistance mutations in topoisomerase IV: relationship to the flqA locus and genetic evidence that topoisomerase IV is the primary target and DNA gyrase is the secondary target of fluoroquinolones in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1996, **40**, 1881-1888.
- NISHINO K., YAMAGUCHI A. Analysis of a complete library of putative drug transporter genes in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 2001, **183**, 5803-5812.
- NORDMANN P., POIREL L. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in *Enterobacteriaceae*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2005, **56**, 463-469.
- OETHINGER M., KERN W.V., JELLEN-RITTER A.S., MCMURRY L.M., LEVY S.B. Ineffectiveness of topoisomerase mutations in mediating clinically significant fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* in the absence of the AcrAB efflux pump. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2000, **44**, 10-13.
- OKUSU H., MA D., NIKAIDO H. AcrAB efflux pump plays a major role in the antibiotic resistance phenotype of *Escherichia coli* multiple-antibiotic-resistance (Mar) mutants. *J. Bacteriol.*, 1996, **178**, 306-308.
- PARK Y.J., YU J.K., KIM S.I., LEE K., ARAKAWA Y. Accumulation of plasmid-mediated fluoroquinolone resistance genes, qepA and qnrS1, in *Enterobacter aerogenes* co-producing RmtB and class A beta-lactamase LAP-1. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 2009, **39**, 55-59.
- PATON J.H., REEVES D.S. Fluoroquinolone antibiotics: microbiology, pharmacokinetics and clinical use. *Drugs*, 1988, **36**, 193-228.
- PERICHON B., BOGAERTS P., LAMBERT T., FRANGEUL L., COURVALIN P., GALIMAND M. Sequence of conjugative plasmid pIP1206 mediating resistance to aminoglycosides by 16S rRNA methylation and to hydrophilic fluoroquinolones by efflux. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008, **52**, 2581-2592.
- PICAO R.C., POIREL L., DEMARTA A., SILVA C.S., CORVAGLIA A.R., PETRINI O., NORDMANN P. Plasmid-mediated quinolone resistance in *Aeromonas allosaccharophila* recovered from a Swiss lake. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2008, **62**, 948-950.
- POIREL L., RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., MAMMERI H., LIARD A., NORDMANN P. Origin of plasmid-mediated quinolone resistance determinant QnrA. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005a, **49**, 3523-3525.
- POIRELL., LIARDA., RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., NORDMANN P. *Vibrionaceae* as a possible source of Qnr-like quinolone

- resistance determinants. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2005b, **56**, 1118-1121.
- POIREL L., LEVIANDIER C., NORDMANN P. Prevalence and genetic analysis of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QnrA and QnrS in *Enterobacteriaceae* isolates from a French university hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006a, **50**, 3992-3997.
- POIREL L., NGUYEN T.V., WEINTRAUB A., LEVIANDIER C., NORDMANN P. Plasmid-mediated quinolone resistance determinant qnrS in *Enterobacter cloacae*. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2006b, **12**, 1021-1023.
- POIREL L., CATTOIR V., SOARES A., SOUSSY C.J., NORDMANN P. Novel Ambler class A beta-lactamase LAP-1 and its association with the plasmid-mediated quinolone resistance determinant QnrS1. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, **51**, 631-637.
- ROBICSEK A., SAHM D.F., STRAHILEVITZ J., JACOBY G.A., HOOPER D.C. Broader distribution of plasmid-mediated quinolone resistance in the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005, **49**, 3001-3003.
- ROBICSEK A., JACOBY G.A., HOOPER D.C. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect. Dis.*, 2006a, **6**, 629-640.
- ROBICSEK A., STRAHILEVITZ J., JACOBY G.A., MACIELAG M., ABBANAT D., PARK C.H., BUSH K., HOOPER D.C. Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat. Med.*, 2006b, **12**, 83-88.
- RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., VELASCO C., GARCIA I., CANO M.E., MARTINEZ-MARTINEZ L., PASCUAL A. Mutant prevention concentrations of fluoroquinolones for *Enterobacteriaceae* expressing the plasmid-carried quinolone resistance determinant qnrA1. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, **51**, 2236-2239.
- RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., VELASCO C., BRIALES A., GARCIA I., CONEJO M.C., PASCUAL A. Qnr-like pentapeptide repeat proteins in gram-positive bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2008, **61**, 1240-1243.
- RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., CANO M.E., VELASCO C., MARTINEZ-MARTINEZ L., PASCUAL A. Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. *J. Infect. Chemother.*, 2010, **17**, 149-182.
- SANCHEZ M.B., HERNANDEZ A., RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., MARTINEZ-MARTINEZ L., MARTINEZ J.L. Predictive analysis of transmissible quinolone resistance indicates *Stenotrophomonas maltophilia* as a potential source of a novel family of Qnr determinants. *BMC Microbiol.*, 2008, **8**, 148.
- SCHWARZ S., CLOECKAERT A., ROBERTS M.C. Mechanisms and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents. In : Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*. ASM Press : Washington, 2006, 73-98.
- SORENSEN A.H., HANSEN L.H., JOHANNESSEN E., SORENSEN S.J. Conjugative plasmid conferring resistance to olaquinox. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2003, **47**, 798-799.
- STRAHILEVITZ J., JACOBY G.A., HOOPER D.C., ROBICSEK A. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2009, **22**, 664-689.
- TANKOVIC J., SOUSSY C.J. Mécanismes de résistance aux fluoroquinolones: données récentes. *Lett. Infect.*, 1998, **13**, 195-202.
- TORPDAHL M., HAMMERUM A.M., ZACHARIASEN C., NIELSEN E.M. Detection of qnr genes in *Salmonella* isolated from humans in Denmark. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2009, **63**, 406-408.
- TRAN J.H., JACOBY G.A. Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, **99**, 5638-5642.
- TRAN J.H., JACOBY G.A., HOOPER D.C. Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein Qnr with *Escherichia coli* DNA gyrase. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005, **49**, 118-125.
- VELASCO C., RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., BRIALES A., DIAZ DE ALBA P., CALVO J., PASCUAL A. Smaqnr, a new chromosome-encoded quinolone resistance determinant in *Serratia marcescens*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2010, **65**, 239-242.
- VETTING M.W., HEGDE S.S., FAJARDO J.E., FISER A., RODERICK S.L., TAKIFF H.E., BLANCHARD J.S. Pentapeptide repeat proteins. *Biochemistry*, 2006, **45**, 1-10.
- WALKER R.D., DOWLING P.M. Fluoroquinolones. In : Giguère S., Prescott J.F., Baggot J.D., Walker R.D., Dowling P.M. (Eds), *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. 4th edition. Blackwell publishing : Ames, 2006, 263-284.
- WANG H., DZINK-FOX J.L., CHEN M., LEVY S.B. Genetic characterization of highly fluoroquinolone-resistant clinical *Escherichia coli* strains from China: role of *acrR* mutations. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001, **45**, 1515-1521.
- WANG M., SAHM D.F., JACOBY G.A., ZHANG Y., HOOPER D.C. Activities of newer quinolones against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* containing the plasmid-mediated quinolone resistance determinant qnr.

- Antimicrob. Agents Chemother.*, 2004, **48**, 1400-1401.
- WANG M., GUO Q., XU X., WANG X., YE X., WU S., HOOPER D.C. New plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009a, **53**, 1892-1897.
- WANG M., JACOBY G.A., MILLS D.M., HOOPER D.C. SOS regulation of qnrB expression. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009b, **53**, 821-823.
- WILLMOTT C.J., MAXWELL A. A single point mutation in the DNA gyraseA protein greatly reduces binding of fluoroquinolones to the gyrase-DNA complex. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1993, **37**, 126-127.
- WU J.J., KO W.C., TSAI S.H., YAN J.J. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QnrA, QnrB, and QnrS among clinical isolates of *Enterobacter cloacae* in a Taiwanese hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, **51**, 1223-1227.
- WU J.J., KO W.C., WU H.M., YAN J.J. Prevalence of Qnr determinants among bloodstream isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a Taiwanese hospital, 1999-2005. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2008, **61**, 1234-1239.
- YAMANE K., WACHINO J., SUZUKI S., KIMURA K., SHIBATA N., KATO H., SHIBAYAMA K., KONDA T., ARAKAWA Y. New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, **51**, 3354-3360.
- YAMANE K., WACHINO J., SUZUKI S., ARAKAWA Y. Plasmid-mediated qepA gene among *Escherichia coli* clinical isolates from Japan. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008, **52**, 1564-1566.
- YOSHIDA H., BOGAKI M., NAKAMURA M., NAKAMURA S. Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrasegyrA gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1990, **34**, 1271-1272.
- YUE L., JIANG H.X., LIAO X.P., LIU J.H., LI S.J., CHEN X.Y., CHEN C.X., LU D.H., LIU Y.H. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance qnr genes in poultry and swine clinical isolates of *Escherichia coli*. *Vet. Microbiol.*, 2008, **132**, 414-420.
- ZHAO X., XU C., DOMAGALA J., DRLICA K. DNA topoisomerase targets of the fluoroquinolones: a strategy for avoiding bacterial resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, **94**, 13991-13996.

Critères d'appréciation et facteurs de variation des caractéristiques de la carcasse et de qualité de la viande bovine

SALIFOU C.F.A.¹, YOUSAO A.K.I.¹, AHOUNOU G.S.¹, TOUGAN P.U.¹, FAROUGOU S.¹, MENSAH G.A.², CLINQUART A.³

¹ Ecole polytechnique d'Abomey-Calavi, Département de Production et Santé animales, 01 BP 2009 Cotonou, Bénin

² Centre de Recherches agricoles d'Agonkanmey, Institut national des Recherches agricoles du Bénin, 01 BP 884, Recette principale, Cotonou, Bénin

³ Université de Liège, Faculté de Médecine vétérinaire, Département des Sciences des Denrées alimentaires, bâtiment B43b, 4000 Liège, Belgique

Correspondance : Professeur I. Youssao Email : iyousao@yahoo.fr

RÉSUMÉ :

La qualité de la viande est une notion extrêmement variable et évolutive à l'image de la transformation depuis l'animal vivant jusqu'à la carcasse puis la viande. Cet article passe en revue d'une part les critères d'appréciation subjective c'est-à-dire ceux qui varient selon le comportement et les préférences du consommateur et d'autre part les critères d'appréciation objective de la qualité de la carcasse et de la viande bovine. Pour ce qui concerne la qualité de la carcasse, ceux-ci sont principalement le poids, le classement (conformation et état d'engraissement), la composition, le rendement d'abattage et la teneur en viande de la carcasse. Enfin, la composition du muscle, les caractéristiques organoleptiques et technologiques permettant d'apprécier la qualité de la viande bovine sont présentées et discutées

1. INTRODUCTION

La carcasse de bovin est le corps entier de l'animal abattu tel qu'il se présente après les opérations de saignée, d'éviscération et de dépouillement. Elle se présente sans les organes sexuels et muscles attenants, sans mamelles et graisses mammaires (Conseil de l'Union européenne, 2007). La carcasse est essentiellement composée de squelette osseux et de muscles squelettiques. Immédiatement après l'abattage, le muscle est souple et est le siège de nombreuses réactions biochimiques qui le transforment en viande en quelques heures. De manière générale, le terme « viande » recouvre un ensemble très disparate de produits très diversifiés dans leur composition anatomique (Dumont, 1960). Le règlement (CE) n°852/2004 du Parlement européen et du Conseil relatif à l'hygiène des denrées alimentaires définit la viande comme « les parties comestibles des animaux (ongulés domestiques, volailles, lagomorphes, gibier sauvage, gibier d'élevage, petit gibier sauvage et gros gibier sauvage)

y compris le sang ». Cette définition est donnée dans le contexte de la maîtrise de l'hygiène des aliments, elle ne correspond pas à la définition qui pourrait être donnée dans un contexte nutritionnel. Pour cet aspect, on peut se référer à la directive 2001/101 de la Commission européenne ; celle-ci restreint la définition de la viande aux muscles rattachés au squelette avec indication systématique des espèces animales et admettant qu'une partie de la matière grasse, quand elle est adhérente aux muscles peut être assimilée à de la viande dans le respect des limites maximales prévues.

D'après l'Association française de Normalisation (AFNOR) (Association française de Normalisation, 1982), la qualité est l'« aptitude d'un produit ou d'un service à satisfaire les besoins des utilisateurs ». La qualité peut être également définie comme l'« ensemble des propriétés et des caractéristiques d'un service ou d'un produit qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire les besoins exprimés ou implicites » (International Organization for Standar-

dization, 1994). La qualité d'un produit est la résultante de nombreux et divers facteurs liés aux contextes, aux besoins et aux attentes des consommateurs (Bernard *et al.*, 2007). La qualité de la viande est l'ensemble des caractéristiques que lui confèrent ses propriétés organoleptiques, technologiques et nutritionnelles. Elle est une notion complexe, très variable selon les consommateurs et évolue dans le temps. Aux différents produits, correspondent des critères spécifiques. Pour le même produits, les attentes qualitatives varient selon l'interlocuteur concerné et chaque maillon de la filière viande possède sa propre conception de la qualité en fonction du produit concerné et des contraintes de production (Verbeke *et al.*, 2010). La maîtrise de la qualité, en tant que notion complexe et variable, doit reposer sur la connaissance du produit et des systèmes de production (Clinquart *et al.*, 1999). La qualité est le résultat du professionnalisme et celui-ci requiert un niveau de connaissance qui peut conduire à des spécifications extrêmes et différentes du produit « viande de

bœuf ». Cela exige, d'une part, une recherche à long terme et, d'autre part, une transmission efficiente des connaissances existantes, aussi bien vers le producteur que vers le consommateur. Cette synthèse vise à décrire les critères subjectifs et objectifs d'appréciation de la qualité de carcasse et de la viande des bovins.

2. LES CRITÈRES SUBJECTIFS D'APPRÉCIATION DE LA QUALITÉ DE LA CARCASSE ET DE LA VIANDE

Contrairement aux critères objectifs qui portent sur des paramètres mesurables techniquement sur la viande et utilisables en routine afin de pouvoir diagnostiquer les non-conformités en temps réel et d'engager, le cas échéant, des actions correctives, les critères subjectifs correspondent à des jugements que le consommateur porte sur la viande avant la décision d'achat et durant la consommation. Ils sont à mettre en relation avec l'image et les valeurs sociales. Ils varient selon le comportement et les préférences du consommateur. Ces critères varient dans l'espace et dans le temps.

En Europe, la perception de la qualité de la viande fraîche a évolué dans le temps. Les travaux d'enquête consommateur réalisés par Grunert (1997) auprès de 200 sujets en Allemagne, en Grande-Bretagne, en Espagne et en France et utilisant une panoplie de méthodes d'enquête déclarative (discussion de groupe, analyse conjointe de la valeur des attributs et mesure des valeurs guidant les attitudes envers la viande à l'aide de la méthode des chaînes cognitives) ont révélé qu'avant la première crise de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB), les motivations d'achat et la perception de la qualité de la viande fraîche de bovin sont unidimensionnelles en Allemagne, en Grande-Bretagne et en Espagne et multidimensionnelles en France. Le point de vente, en particulier le boucher, est considéré comme le garant de la qualité dans tous les pays, mais dans une moindre mesure en Grande-Bretagne. Les plus importants critères d'appréciation de la qualité sont la couleur - dont la perception varie selon la région - et le gras de

couverture. Les effets positifs du gras sur le goût et la tendreté ne sont pas perçus.

De 1996 à 2003, les critères d'appréciation de la qualité de la viande fraîche de bovin ont évolué, notamment, au lendemain des deux crises de l'ESB (Bernués *et al.*, 2003 ; Verbeke et Vackier, 2004). Le pays d'origine, la race, le cahier des charges et le prix d'achat ont gagné en importance. À ces derniers, est souvent associée l'éthique (environnement et bien-être animal). L'importance de chacun de ces critères d'appréciation varie d'une région à une autre en fonction de la qualité gustative ou de la qualité sanitaire. Enfin, il existe une minorité de personnes qui ne consomment que de la viande issue de l'agriculture biologique.

De 2003 à ce jour, les critères sont restés semblables, mais les consommateurs sont de plus en plus sensibles au bien-être animal et au respect de l'environnement.

En dehors de l'Europe, les critères peuvent être quelque peu différents. Ainsi, au Québec par exemple, les choix des consommateurs vont des viandes relativement maigres vers des viandes plus persillées. Aux États-Unis, le critère de choix d'une viande de qualité est le dépôt de gras intramusculaire. Le même critère est observé en Amérique du sud en général dont le Brésil et l'Argentine qui sont aujourd'hui les plus grands exportateurs de viande bovine dans le monde. Le prix demeure un facteur déterminant et les morceaux de viande plus nobles demeurent un produit réservé aux occasions spéciales, contrairement à des produits comme le steak haché (Zarnovican et Guillaume, 2005).

Dans les sociétés chinoise et indienne, la consommation de la viande bovine demeure un tabou religieux assez complexe. En Inde, 20 % de la population appartiennent à des castes strictement végétariennes et 60 % des castes hindoues respectent l'interdit sur la viande bovine mais pas forcément sur la viande de buffle, de mouton ou de chèvre, sur la volaille, sur le poisson ou sur les œufs (Barbier *et al.*, 2004). En Chine, l'interdit de la consommation de la viande bovine constitue une révélation divine. En plus des considérations religieuses,

les bovins sont considérés comme des animaux de trait et leur viande comme une nourriture du ciel (sacrifices impériaux au ciel). La mise à mort de bovins est parfois comparée à un meurtre, comme chez les humains, car le bœuf est l'animal le plus proche de l'homme, étant son compagnon de travail privilégié dans cette civilisation agricole. De nos jours, l'interdit du bœuf est un marqueur qui différencie les groupes sociaux étroitement structurés et les marginaux, c'est-à-dire, les mangeurs de viande bovine (Goossaert, 2005).

Dans certaines communautés musulmanes ou juives, l'abattage selon les prescriptions halal ou kasher est le premier critère de qualité de la viande bien qu'étant une garantie sur les conditions d'abattage. Dans certaines communautés de l'Afrique subsaharienne, outre les facteurs d'appréciation observés en Europe avant la crise de l'ESB, la couleur rouge vive est également un facteur très déterminant dans l'appréciation de la qualité de la viande. Pour renforcer ce caractère, les bouchers badigeonnent les carcasses avec du sang issu de la saignée (Dognon, 2010). L'achat le jour même de l'abattage est une garantie de la fraîcheur de la viande.

3. LES CRITÈRES OBJECTIFS D'APPRÉCIATION DE LA QUALITÉ DE LA CARCASSE ET DE LA VIANDE

Les critères objectifs sont des critères que l'on constate (sexe, âge, race) ou que l'on mesure sur les carcasses ou sur les viandes tels que le poids, le pH, la couleur...

3.1. Qualité des carcasses des bovins

La qualité de la carcasse est appréciée sur base de critères qui déterminent les aptitudes bouchères. Il s'agit du poids et de la longueur de la carcasse, du poids du dos, du poids et de l'épaisseur de la cuisse, du poids des épaules, du rendement en viande et des teneurs en coproduits (« cinquième quartier »). Cette appréciation peut être

synthétisée sous la forme de deux critères majeurs : la conformation et la composition de la carcasse (proportions de viande maigre, de tissu conjonctivo-adipeux et d'os), qui sont positivement corrélées et indépendantes de la vitesse de croissance pendant l'engraissement et varient selon la race et l'âge des animaux (Renand *et al.*, 2002).

3.1.1. Le poids de la carcasse

Le poids de la carcasse est généralement mesuré à l'issue du processus d'abattage ; on parle alors de poids de la carcasse chaude. Il peut être également mesuré entre 24 à 48 h *post mortem* après refroidissement complet de la carcasse : il s'agit du poids de la carcasse ressuyée ou du poids de la carcasse froide. La perte de poids des carcasses lors du refroidissement et du stockage au frigo est de l'ordre de 2 % après 48 h et 3 % après 8 jours (Cartier et Moëvi, 2007). C'est au début du refroidissement que les carcasses perdent le plus de poids (Dudouet, 2010).

Le poids de la carcasse est un paramètre qui renseigne sur l'aptitude bouchère de l'animal abattu. Dans les mêmes conditions d'élevage et pour un même poids vif, le poids de la carcasse varie en fonction du type génétique (Cliquart *et al.*, 1998). Le poids de carcasse est le critère qui intéresse en premier lieu l'éleveur, car il sert de base à la détermination de sa rémunération. Dans les pays développés, il est un déterminant important de l'orientation de la carcasse vers le circuit de commercialisation le plus approprié. Par contre, dans les pays en voie de développement, la quasi-totalité des tueries ne disposent pas de balance. Le poids à l'abattage est estimé à partir de la conformation de l'animal et constitue l'élément fondamental dans la détermination du prix de vente de l'animal sur pied. Plus le poids estimé est élevé et plus cher est vendu l'animal. Les carcasses issues des animaux, quels que soient leurs poids, ont la même destination (découpées et vendues avec ou sans os selon les désirs des clients). Il n'existe aucune méthode de découpe de référence. De tous les muscles de la carcasse, le faux filet et le filet sont les plus prisés dans les grandes villes des pays en voie de développement.

Dans l'Union européenne, les carcasses sont présentées sans la tête et sans les pieds ; la tête est séparée de la carcasse au niveau de l'articulation atloïdo-occipitale, les pieds sont sectionnés au niveau des articulations carpo-métacarpiennes ou tarso-métatarsiques ; sans les organes contenus dans les cavités thoracique et abdominale ; avec ou sans les reins, la graisse entourant les reins, ainsi que la graisse de bassin ; sans les organes sexuels avec les muscles attenants, sans la mamelle et la graisse mammaire (Conseil de l'Union européenne, 2007). Mais, aux fins de la fixation des prix du marché, une présentation différente peut être prévue. Chaque pays ou région adopte ainsi une forme de présentation qui lui convient.

L'individu, la race, l'âge, la catégorie (jeune bovin, taureau, vache, génisse, bœuf), la conduite d'élevage (utilisation des matières grasses par exemple), les pertes de poids avant abattage, l'émoussage, le dégraissage (Cartier et Moëvi, 2007), la réfrigération et le stockage, sont des facteurs de variation du poids de la carcasse (Cliquart *et al.*, 2000 ; Renand *et al.*, 2002 ; Cartier et Moëvi, 2007). Le système de production ou le régime alimentaire (niveau d'incorporation d'un aliment concentré) influence également le poids des carcasses (Serano *et al.*, 2005).

3.1.2. Rendement de la carcasse

Le rendement de la carcasse est le rapport entre le poids de la carcasse et le poids avant abattage. Il dépend de nombreux facteurs, tels que la race, l'âge et le sexe de l'animal, le régime alimentaire (Cliquart *et al.*, 1998 ; Renand *et al.*, 2002). Chez les ruminants en général et le bovin en particulier, la mise à jeun n'est pas souvent observée surtout dans les pays de l'Afrique subsaharienne. Le rendement de la carcasse à l'abattage est ainsi biaisé à cause de la contribution au poids vif que représente l'aliment en cours de digestion dans les poches gastriques. Pour ce faire, le rendement vrai permet d'estimer avec moins de biais le rendement de la carcasse. Le rendement de la carcasse à l'abattage est également influencé par le délai entre la sortie de l'élevage et l'abattage. Plus la durée du transport est importante, plus le rendement d'abattage est faible. Le rendement et le rendement vrai se calculent à partir des

formules suivantes :

$$\text{Rendement} = \frac{(\text{Poids carcasse chaude}) * 100}{\text{Poids vif}}$$

$$\text{Rendement vrai} = \frac{(\text{Poids carcasse chaude}) * 100}{\text{Poids vif} - \text{poids contenu rumen}}$$

3.1.3. Composition des carcasses

La composition corporelle varie selon le développement différentiel de chacun des éléments constituant le corps de l'animal. Selon Béranger et Robelin (1977), il existe pour un même poids vif, de très grandes variations de la composition corporelle. Celles-ci ont certes une moins grande amplitude que celles qu'on observe lorsqu'on compare à un même âge des animaux de poids différents, mais elles demeurent importantes et sont liées au sexe, au génotype, à l'alimentation et au mode d'élevage des animaux (Micol *et al.*, 1993). L'appréciation de la composition de la carcasse des animaux de boucherie vise beaucoup plus la masse des muscles et des gras (situés à différentes localisations anatomiques) de la carcasse qui sont économiquement très importants dans l'industrie de la viande (Cavanagh *et al.*, 2010). Elle s'évalue de nos jours par de nombreuses méthodes qui sont basées sur la mesure des caractéristiques de la carcasse *post mortem* voire sur la mesure *in vivo* des performances d'engraissement de l'animal, celles-ci étant fortement corrélées avec la composition corporelle (Youssao *et al.*, 2002). L'estimation *post mortem* peut être faite de façon visuelle à partir de la notation de la conformation et de l'état d'engraissement de la carcasse mais elle reste quelque peu subjective. La dissection manuelle après abattage est la méthode la plus objective pour estimer ou prédire la composition de la carcasse. Toutefois, elle présente l'inconvénient d'être destructive, coûteuse et de nécessiter beaucoup de temps. Chez les bovins, elle est souvent réalisée à partir d'un segment de la carcasse correspondant à une ou plusieurs côtes prélevé au niveau de la section des quartiers avant et arrière (Michaux *et al.*, 1983). Dans une étude réalisée par Olivan et collaborateurs (2001) sur des segments monocostaux correspondant aux 6^e et 10^e côtes prélevés sur des taureaux Asturiana de los Valles, l'utilisation de la 6^e côte paraît plus appropriée du fait qu'elle permet une meilleure estima-

tion de la composition de la carcasse ; la composition de la 10^e côte tendant à surestimer la proportion de gras dans la carcasse. Compte tenu des contraintes liées à la dissection et des évolutions techniques, d'autres méthodes ont été développées pour prédire la composition de la carcasse des bovins. Il s'agit de la spectroscopie dans le proche infrarouge, de l'ultrasonographie ou de l'analyse d'images obtenues par caméra sur la carcasse ou l'animal vivant, et plus récemment de l'utilisation des rayons X particulièrement du *X-ray computed tomography* (CT) (Prieto *et al.*, 2010).

$$\text{Teneur en viande} = \frac{(\text{Poids net de viande de la carcasse} - \text{Poids de la carcasse froids}) \times 100}{\text{Poids de la carcasse froids}}$$

3.1.4. Teneur en viande maigre

La teneur en viande maigre est la quantité de viande maigre nette que contient une carcasse. Elle permet de calculer le rendement net en viande maigre commercialisable qui s'obtient par le rapport entre le poids de viande maigre et le poids de la carcasse froide. Ce rendement est un critère de qualité essentiel pour le transformateur. Le poids de la viande maigre se calcule en déduisant le poids des parties non maigres (graisse et os) du poids total de la carcasse avant dissection. La qualité de la carcasse est d'autant meilleure qu'elle présente un rendement en viande commercialisable élevé et que celle-ci est composée elle-même d'une plus grande proportion de morceaux à cuisson rapide.

3.1.5. Classement des carcasses des bovins

En Europe, le classement des carcasses se fait sur la base d'une règle-

mentation spécifique relative à la grille communautaire de classement des carcasses de gros bovins dont les modalités d'application sont précisées dans le règlement (CE) n°1249/2008 de la Commission européenne. Aux Etats-Unis, la classification des carcasses des bovins est appliquée sur base de normes spécifiques du Département de l'Agriculture (United States Department of Agriculture, 1997). Elle est basée sur la catégorie, la maturité et le « *marbling* ».

3.1.6. Classement des carcasses des bovins dans l'Union européenne

Le classement intervient en fin de chaîne d'abattage et consiste à exprimer un jugement sur base de la grille communautaire de classement. Cette grille a été conçue à l'origine pour standardiser le mode de communication des prix nationaux vers la Commission européenne. La qualité des carcasses est basée sur trois critères : la catégorie, la conformation et l'état d'engraissement.

3.1.6.1 La catégorie

Selon le règlement (CE) n°1234/2007 du Conseil de l'Union européenne, les carcasses de bovins sont réparties dans les catégories suivantes :

- A : carcasses de jeunes animaux mâles non castrés de moins de 2 ans ;
- B : carcasses d'autres animaux mâles non castrés ;
- C : carcasses d'animaux mâles castrés ;
- D : carcasses d'animaux femelles ayant déjà vêlé ;
- E : carcasses d'autres animaux femelles.

3.1.6.2 La conformation

La conformation est le développement des profils de la carcasse, et notamment des parties essentielles de celle-ci (cuisse, dos, épaule). Selon le règlement (CE) n°1249/2008 de la Commission européenne, la conformation est exprimée selon la grille SEUROP avec respectivement S pour la classe de conformation supérieure, E pour excellente, U pour très bonne, R pour bonne, O pour assez-bonne et P pour médiocre (figure 1). Pour chaque classe, des subdivisions en sous-classes sont possibles (trois au maximum) et matérialisées selon le degré croissant de conformation au sein de la classe. La conformation varie selon l'âge, la race et l'alimentation des animaux. Les races Blonde Aquitaine, Limousine et Charolaise présentent respectivement une conformation de l'ordre de E- à U=, U+ à U-, U= à U- alors que la Holstein (race laitière) présente une moins bonne conformation variant de O= à O-. La race Blanc bleu belge, plus particulièrement le type culard qui prédomine, présente une conformation exceptionnelle S allant parfois à E. Dans une même race, la conformation des carcasses est influencée par un effet catégorie (jeune, adulte, mâle, femelle, castré, etc.). Les jeunes bovins mâles sont mieux conformés que les bœufs. Leur conformation augmente avec le poids de la carcasse, plus le poids de l'animal est élevé, mieux il est conformé (Cartier et Moëvi, 2007). Des travaux portant sur l'alimentation des bovins ont montré que la quantité de protéines de la ration des animaux élevés en étable influençait également la conformation : de meilleures conformations ont été obtenues avec des rations dont la teneur en protéines était plus importante (Clinquart *et al.*, 2000).

Figure 1 : Classes de conformations de la carcasse des bovins (Office de l'Elevage, 2007)



3.1.6.3. Etat d'engraissement

L'état d'engraissement exprime l'importance de la graisse à l'extérieur de la carcasse (gras de couverture) et sur la face interne de la cage thoracique. La présence du gras sur les carcasses peut être influencée par plusieurs facteurs tels l'âge, le sexe, le génotype et la vitesse de croissance (Micol *et al.*, 1993). Les femelles s'engraissent plus vite que les mâles, les mâles castrés étant en position intermédiaire (Cartier et Moëvi, 2007). En moyenne l'état d'engraissement augmente des jeunes bovins aux bœufs, des bœufs aux génisses et des génisses aux vaches (Cartier et Moëvi, 2007). Les travaux de French et collaborateurs (2000) sur de jeunes bœufs croisés d'un poids initial de $504 \pm 38,5$ kg, nourris pendant 85 jours avec du fourrage supplémenté avec des niveaux différents de concentré et ceux de Sami et collaborateurs (2004) sur des taureaux Simmental âgés de 15 mois, d'un poids initial de 489 kg, nourris pendant 100 jours et 138 jours avec de l'ensilage de maïs associé à des niveaux différents de concentré, ont révélé que, les vitesses de croissance élevées sont associées à des carcasses plus grasses. Serrano et collaborateurs (2005) n'ont, par contre établi aucun lien entre la vitesse de croissance et le niveau d'engraissement de la carcasse de veaux rosés Salers abattus à 10 mois d'âge et nourris à base de fourrage supplémenté avec différents niveaux de concentré à partir de 4,5 mois d'âge. Des contradictions existent donc en ce qui concerne la relation entre vitesse de croissance et niveau d'engraissement de la carcasse. Dans la grille de classement européenne (Commission européenne, 2008), l'état d'engraissement se juge sur une échelle de 1 à 5 avec des subdivisions en sous-classes possibles (trois au maximum) et matérialisées selon le degré croissant de l'état d'engraissement. Chacune des classes indique dans l'ordre croissant, un état d'engraissement très faible (1), faible (2), moyen (3), fort (4) et très fort (5). Des grilles de notations peuvent différer en fonction des races bovines ou en fonction du type laitier ou allaitant.

Il convient de noter que l'évaluation de la conformation et de l'état d'engraissement est réalisée de manière visuelle par des classificateurs qualifiés. Les modalités d'application visent à réduire autant que possible la subjectivité du classement. L'utili-

sation de techniques automatisées est autorisée dans des conditions qui sont, elles aussi, précisées et qui concernent notamment leur validation. À titre d'exemple, en Europe, une machine à classer simplifiée appelée Normaclass (figure 2), a été mise au point pour apprécier la conformation et l'état d'engraissement des carcasses de gros bovins à partir des images de l'extérieur et de l'intérieur de chaque carcasse.

3.1.7. Classement des carcasses de bovins aux Etats Unis

Aux USA, le secteur de la viande avait développé de longue date sa propre terminologie pour discriminer différents niveaux de qualité de viande. Le système de classement proposé par le Département de l'Agriculture (*United States Department of Agriculture*) il y a près de 100 ans a donc pris en compte des critères de classement étroitement reliés à la qualité de la viande, en particulier le dépôt de graisse intramusculaire visible (« *marbling* », que l'on peut traduire en français par le caractère persillé de la viande), facteur déterminant du grade attribué. Dans sa forme actuelle, il prend en compte trois facteurs :

3.1.7.2. La catégorie

Le système américain distingue cinq classes de carcasses : *steers* (jeune boeuf), *bullock* (bœuf), *bulls* (taureaux), *heifers* (génisses) et *cows* (vaches). La distinction entre ces classes est faite en fin de ligne d'abattage selon des critères détaillés dans ces normes.

3.1.7.2. L'âge ou la maturité de l'animal

La maturité de l'animal est classée sur une échelle de A à E (5 classes) par ordre croissant de maturité. Les classes A et B incluent les jeunes taureaux et les génisses ; les classes C, D et E incluent les vaches laitières de réforme, les taureaux de reproduction et les animaux présentant un retard de croissance ou un degré de finition excessif.

3.1.7.3. Le caractère persillé

Ce caractère est évalué sur la surface de coupe du muscle *longissimus dorsi* qui apparaît lors de la séparation des

Figure 2 : machine à classer simplifiée MAC S (Normaclass)



quartiers avant et arrière. Si la texture et la couleur des zones maigres du muscle est acceptable, le degré de « *marbling* » est décrit par une série de termes subjectifs en fonction du pourcentage de la surface de la viande sur laquelle la graisse est visible : « *slightly abundant* », « *moderate* », « *modest* », « *small* », « *slight* », « *traces* » et « *practically devoid* » par ordre décroissant.

Le « *quality grade* » de la carcasse est établi sur base de l'évaluation combinée de ces facteurs : pour les degrés de maturité A et B, les carcasses sont discriminées « *prime* », « *choice* », « *select* » et « *standard* » ; pour les degrés de maturité C, D et E, on distingue les classes « *commercial* », « *utility* », « *cutter* » et « *canner* » par ordre décroissant de qualité. Ce système présente l'avantage de prendre en compte la qualité de la viande mais pour inconvénient, de nécessiter un entraînement considérable pour être utilisé de manière correcte, en particulier pour ce qui concerne le caractère persillé.

Le « *yield grade* » (ou classe de rendement) de la carcasse est quant à lui établi sur base d'une équation prenant en compte quatre paramètres : la quantité de graisse externe, la quantité de graisse péri-rénale, pelvienne et péri-cardiaque, la surface de section du

muscle *longissimus dorsi* et le poids de la carcasse chaude. Sur base du résultat, cinq classes sont distinguées, la classe I correspondant au rendement le plus élevé.

3.3. Qualité de la viande

En général, le terme qualité d'un aliment regroupe : la qualité organoleptique ou sensorielle, la qualité nutritionnelle ou diététique, la qualité technologique, la qualité hygiénique ou sécurité sanitaire c'est-à-dire la maîtrise des dangers chimiques, biologiques et physiques associés à l'aliment. Cette dernière ne sera pas développée dans la présente synthèse. La viande est le produit de transformation du muscle après la mort de l'animal. Ce muscle correspond à un terme anatomique définissant une partie précise d'un organisme ; en aucun cas ce terme n'est utilisé pour définir un aliment, c'est le terme viande qui est alors employé (Coibion, 2008).

3.2.1. Composition du muscle

Le muscle est composé d'eau, de protéines, de lipides, de glucides, de vitamines et des minéraux tels que le fer, le zinc et le sélénium (Clinquart *et al.*, 1999 ; Volatier et Dufour, 2006 ; Bauchart *et al.*, 2008). Hormis l'eau, les protéines et les lipides constituent les nutriments majeurs de la viande, la teneur en hydrates de carbone des tissus musculaires étant faible (Coibion, 2008). La composition du muscle varie d'un animal à l'autre et d'un muscle à l'autre chez le même animal. La carcasse d'un bovin est constituée de 105 muscles différents (Coibion, 2008).

3.2.1.1. Structure du muscle

L'unité de base du tissu musculaire est la fibre musculaire, constituée de myofibrilles, du réticulum sarcoplasmique et du sarcoplasme. Chaque fibre est entourée par l'*endomysium* et chaque groupe ou faisceau de fibres musculaires est entouré par le *perimysium*. Le muscle dans son ensemble est, quant à lui, enveloppé par l'*epimysium* qui, avec le *perimysium*, attache le muscle à l'os par le tendon. Les fibres musculaires striées se distinguent en trois types de fibres pures en fonction de l'isoforme de myosine qu'elles

contiennent et des caractéristiques morpho-fonctionnelles de celles-ci (Picard *et al.*, 2003) : les fibres de type I dites « fibres rouges à métabolisme oxydatif », car riches en myoglobine, de petit calibre et à contraction lente ; les fibres de type IIB dites « fibres blanches à métabolisme glycolytique », pauvres en myoglobine, de plus grand diamètre de section et à contraction rapide ; et les fibres de type IIA dites « intermédiaires » et possédant certaines caractéristiques des fibres du type I et d'autres de celles du type IIB. Ce sont des fibres à vitesse de contraction rapide ayant un métabolisme oxydatif et glycolytique. Une catégorie supplémentaire de fibres pures à vitesse de contraction rapide et à métabolisme oxydo-glycolytique intermédiaire entre celui des fibres IIA et IIB a été identifiée plus tard chez certaines espèces. Il s'agit des fibres IIX qui ont été découvertes d'abord chez les rongeurs puis mises en évidence chez le porc. Dans le muscle des bovins (comme chez l'humain, le cheval, le mouton), il s'avère que les fibres dénommées IIB par les méthodes histo-chimiques, correspondent en fait aux fibres IIX (Picard et Cassar-Malek, 2008). Les fibres IIB sont quasi absentes, l'isoforme de la chaîne lourde de myosine (MyHC) Iib était considérée comme non exprimée, exception faite pour le muscle extra-oculaire. En 2008, celle-ci a été mise en évidence dans les muscles *semitendinosus* et *longissimus dorsi* de certains taurillons de race Blonde d'Aquitaine. Les techniques classiques d'histochimie ne permettent pas une séparation des fibres IIB et IIX tandis qu'une séparation par électrophorèse des isoformes de la MyHC en fonction de leur poids moléculaire permet de les différencier. Les isoformes MyHC Iix ont un poids moléculaire inférieur aux isoformes MyHC Iib (Picard *et al.*, 2003 ; Picard et Cassar-Malek, 2008 ; Picard *et al.*, 2009). Outre ces quatre types de fibres pures, des types hybrides tels que les fibres IIC renfermant à la fois les isoformes de MyHC I et Iia et les fibres IIAX contenant les isoformes Iia et Iix ont été mis en évidence au moyen d'anticorps anti-MyHC (Picard *et al.*, 2003 ; Picard et Cassar-Malek, 2008 ; Picard *et al.*, 2009).

3.2.1.2. Le collagène

Le collagène est une protéine extracellulaire fibreuse contenu dans le tissu

conjonctif qui enveloppe les fibres musculaires. Il existe différents types de collagènes : le type IV et des traces des types I et III sont présents dans l'*endomysium* alors que les types I et III sont contenus dans le *perimysium* et contribuent, en synergie avec les fibres musculaires à la dureté de la viande (Dransfield, 1994). Le taux et l'insolubilité du collagène d'un muscle déterminent sa destination culinaire de sorte que le prix d'un morceau de viande est inversement corrélé à sa teneur en collagène et/ou à l'insolubilité de celui-ci. Selon le taux et l'insolubilité du collagène d'un muscle, on distingue ainsi des muscles dits à cuisson rapide et d'autres dits à cuisson lente.

3.2.1.3. Les protéines

Les produits animaux, plus particulièrement les viandes, sont considérés comme une source importante de protéines. La viande rouge crue contient en moyenne 20-24 g de protéines par portion de 100 g ; une fois cuite, sa teneur est de 27-35 g (Williamson *et al.*, 2005). La qualité de la protéine se reflète par sa composition en acides aminés essentiels. La composition en acides aminés de la viande varie selon que les protéines appartiennent aux fibres musculaires ou aux tissus conjonctifs associés. Aux protéines myofibrillaires dont l'actine et la myosine sont les plus abondantes, s'ajoutent les protéines du tissu conjonctif constituées principalement de collagène et d'élastine. Les protéines myofibrillaires contiennent plus d'acides aminés essentiels (plus particulièrement la lysine, la leucine, l'isoleucine et les acides aminés soufrés) que le tissu conjonctif dont les acides aminés sont riches en glycine, proline et hydroxyproline avec une absence quasi-totale de tryptophane et de méthionine. La teneur en acides aminés d'un muscle dépend donc de sa teneur en collagène puisque celle-ci est variable. En effet, la proportion entre protéines myofibrillaires et protéines du tissu conjonctif varie selon l'animal (race, sexe), le type de muscle et les traitements auxquels celui-ci a été soumis, ce qui entraîne des différences de composition en acides aminés.

3.2.1.4. Les lipides

On distingue généralement deux types de gras : le gras sous-cutané visible et

le gras inter- et intramusculaire (correspondant au persillé de la viande) plus ou moins visible. La teneur en lipides est le paramètre le plus variable de la composition des viandes. La graisse contenue dans la viande rouge varie généralement selon l'espèce, la race, le régime alimentaire et le muscle (Clinquart *et al.*, 2000 ; Sauvart, 2001 ; Williamson *et al.*, 2005 ; Bauchart *et al.*, 2008). Des analyses réalisées sur les morceaux de muscles et abats de vaches de réforme de races Charolaise et Holstein ont révélé que les morceaux les plus pauvres en lipides sont le tendon de tranche ou muscle *gracilis* (2,3 g/100 g) et la macreuse ou *Triceps brachii* (3,4 g/100 g) et les plus riches sont l'entrecôte, la hampe et le plat de côte ou muscles *Intercostales externus* et *internus* (8,7 ; 8,6 et 7,6 g/100 g respectivement) ; la teneur moyenne en lipides des morceaux est de 6 g/100 g (Bauchart *et al.*, 2008). Dans 100 g de muscle *longissimus dorsi* de taurillons des races Blanc Bleu Belge, Limousine et Aberdeen Angus, il a été obtenu respectivement 0,52, 1,11 et 1,50 g de lipides totaux (Cuvelier *et al.*, 2006). Les lipides de la viande sont essentiellement composés d'acides gras dont la composition varie fortement selon l'espèce, la proportion de maigre et la localisation de la graisse. Les viandes maigres contiennent proportionnellement plus d'acides gras polyinsaturés et moins d'acides gras saturés ; le gras visible est plus riche en acides gras saturés (Li et Siriamornpun, 2005). La graisse du bœuf (suif) contient moins d'acide linoléique que la graisse du porc (saindoux). Par ordre croissant de la teneur en acides gras polyinsaturés on trouve : la graisse de bœuf, de mouton, de porc, de lapin et de volaille. Elle passe de 2 à environ 20 %, en fonction du degré d'adiposité chez toutes les espèces (Clinquart *et al.*, 1999). Chez les ruminants, la composition en acides gras du tissu adipeux est peu influencée par l'alimentation contrairement aux porcs, poulets et autres monogastriques. Les acides gras monoinsaturés représentent 41 à 45 % des acides gras intramusculaires totaux chez le bovin, le porc et la poule (Chesneau *et al.*, 2004). Le gras intramusculaire chez le bovin montre un caractère plus saturé que celui des monogastriques, mais les différences sont fonction du degré d'adiposité totale (Clinquart *et al.*, 1999).

Chez les ruminants, un accroissement des teneurs en lipides intramusculaires

est observé lorsque le régime est à base de concentrés. Ceux-ci sont essentiellement constitués de triglycérides dont la composition est riche en acides gras monoinsaturés et en acides gras saturés (Sauvart, 2001). Par contre, lorsque ils sont nourris à l'herbe, il est observé une augmentation de la teneur en acide α -linoléique -un acide gras polyinsaturé de type oméga 3- et de celles de ses dérivés à chaînes plus longues (Dufey, 2010). Selon qu'il s'agisse d'une alimentation riche en énergie contenant des concentrés ou d'une alimentation à base de fourrages, les différences liées à l'alimentation sont sous-estimées, notamment sur le plan de l'équilibre entre les acides gras polyinsaturés des familles n-6 et n-3 (Chesneau *et al.*, 2004).

3.2.1.5. Les minéraux

La viande est une excellente source de minéraux notamment en fer et en zinc. Elle est pauvre en manganèse, chrome et sélénium (teneurs inférieures à 1 ppm). La teneur en fer de la viande de bœuf n'est pas négligeable : à titre d'exemple, 100 g de viande de vaches de réforme des races Charolaise et Holstein apportent entre 2,2 et 3,8 mg de fer (Bauchart *et al.*, 2008). Des analyses effectuées sur des viandes issues des races bovines françaises ont révélé que la hampe (muscle plus oxydatif) est le muscle le plus riche en fer (3,7 mg/100 g), suivi de la bavette (3,3 mg), de la macreuse (*triceps brachii*), de la tendon de tranche (*gracilis*) et du paleron (en moyenne 2,7 mg/100 g de viande). Les muscles glycolytiques (le faux filet et l'entrecôte ou *longissimus thoracis*, et le plat de côtes ou *intercostales externus* et *internus*) sont les morceaux les moins riches en fer (2,3 mg/100 g). Les abats de bovins sont en moyenne deux fois plus riches en fer total que les muscles et leur teneur est fonction du type d'abats et de la race (Bauchart *et al.*, 2008). La concentration en fer dans les muscles augmente avec l'âge (Boccard *et al.*, 1979). La majorité du fer (70 % du fer des viandes hors abats) contenu dans la viande est sous forme héminique (Williamson *et al.*, 2005 ; Bauchart *et al.*, 2008). Le type de muscle et la race expliquent respectivement 63 % et 32 % de la variabilité de la teneur en fer héminique (analyses réalisées sur les morceaux de muscles et abats des vaches de réforme des races Charolaise et Holstein). Ce dernier est

bien absorbé par les entérocytes de l'intestin grêle (Lombardi-Boccia *et al.*, 2002 ; Bauchart *et al.*, 2008). Les proportions de fer héminique (70 %) et non héminique (30 %) ne sont pas fonction du type de muscle (Williamson *et al.*, 2005 ; Bauchart *et al.*, 2008). La viande bovine est riche en zinc (2,7 mg/100 g) et sa teneur varie en fonction du muscle, le morceau le plus riche est la bavette (6,8 mg/100 g) et le plus pauvre est la joue (2,7 mg) (Bauchart *et al.*, 2008). La viande apporte 9,8 à 14,6 μ g de sélénium/100 g. La teneur de ce dernier dépend autant du morceau que de l'individu, mais elle n'est pas influencée par la race.

3.2.1.6. Les vitamines

La viande est une excellente source de vitamines en particulier les vitamines B₆ (pyridoxine) B₃ (niacine) et B₁₂. Par portion de 100 g, elle apporte 3,7 à 5,8 mg de vitamine B₃, 0,15 à 0,51 mg de B₆ et 1,2 à 7,2 μ g de B₁₂, selon le morceau considéré (Rock, 2002 ; Bauchart *et al.*, 2008). Cent grammes de viande crue couvrent environ 20 % des besoins journaliers en vitamines B₃ et B₆, et la totalité des besoins en vitamines B₁₂ (Cartier et Moëvi, 2007). Ces apports dépendent du morceau et de l'individu. Les muscles glycolytiques tendent à être plus pauvres en vitamines B₆ et B₁₂ mais plus riches en vitamine B₃ tandis que les muscles oxydatifs sont plus riches en vitamines B₆ et B₁₂ et plus pauvres en vitamine B₃. Les vitamines liposolubles telles que les vitamines A et D ne se retrouvent en quantités significatives que dans quelques abats, notamment le foie (Demeyer *et al.*, 1999). La viande constitue également une bonne source de vitamine E, antioxydant naturel qui permet de limiter l'oxydation des lipides et des pigments responsable de l'altération de la flaveur et de la couleur de la viande au cours de sa conservation (Clinquart *et al.*, 2000). Une alimentation riche en herbe augmente naturellement la teneur en vitamine E, permettant de stabiliser la couleur et de prévenir les déviations de goût (Dufey, 2010). Des teneurs en vitamine E voisines de 6,5-7 μ g/g ont été observées par Durand *et collaborateurs* (2001) dans le rums-teak de bovins nourris à l'herbe.

3.2.1.7. Facteurs de variation des constituants nutritionnels de la viande

La composition nutritionnelle de la viande varie selon l'espèce (Williamson *et al.*, 2005). Au sein d'une même espèce, il existe des variations dues à de nombreux paramètres tels que les facteurs de production liés à l'animal (la race, le sexe et l'âge), les facteurs de production d'ordre technique (le régime alimentaire, le logement, le stress), les facteurs de conservation, de cuisson (Williamson *et al.*, 2005 ; Bauchart *et al.*, 2008 ; Dufey, 2010). Au sein d'un même animal, la qualité des viandes peut varier selon les muscles et leur type métabolique.

3.2.2. Transformation du muscle en viande

Après l'abattage, le muscle est souple et est immédiatement le siège de nombreuses réactions biochimiques. On considère généralement que l'évolution de la viande se fait en trois phases successives : l'état pantelant, la phase de rigidité cadavérique et la phase de maturation. L'état pantelant se caractérise par une succession de contractions et de relaxations du muscle associée à une diminution des réserves énergétiques et au recours à la glycolyse anaérobie. Le glycogène est transformé en acide lactique qui s'accumule dans le muscle et l'acidifie. L'épuisement des réserves énergétiques entraîne le raidissement des muscles : c'est la rigidité cadavérique ou *rigor mortis* qui apparaît quelques heures après la mort chez les bovins dont la carcasse est soumise à la réfrigération. L'augmentation de la dureté qu'elle confère à la viande sera progressivement compensée par la maturation. Celle-ci est une phase d'évolution favorable de la tendreté qui devient perceptible après l'apparition de la *rigor mortis* bien que la plupart des réactions d'hydrolyse de certaines protéines myofibrillaires qui y sont associées aient commencé dès l'abattage. Elle contribue à la transformation du muscle en viande. C'est également au cours de cette phase que se forment les précurseurs des arômes et de la saveur de la viande (Cartier et Moëvi, 2007 ; Coibion, 2008 ; Eadmusik, 2008). Plusieurs systèmes protéolytiques sont impliqués dans le phénomène d'attendrissement. Il s'agit du système calpaïnes-calpastatine, du système cathepsines-cystatines et plus hypothétiquement du système protéasome. La μ - et la m -calpaïne et, dans une moindre mesure, les protéases lysosomales (les cathepsines D, B, L

et H) sont considérées comme les éléments majeurs du processus d'attendrissement de la viande *post mortem* (Christensen *et al.*, 2003 ; Koohmaraie et Geesink, 2006 ; Chéret *et al.*, 2007). Des actions de complémentarité et/ou de synergie ont été envisagées. Zamora et collaborateurs (2005) et Herrera-Mendez et collaborateurs (2006) ont évoqué l'implication majoritaire des caspases (cystéines peptidases intervenant dans les processus apoptotiques) dans la maturation des viandes. Une étude plus récente réalisée *in vitro* par Mohrhauser et collaborateurs (2011) réfute les thèses précédentes en révélant que c'est la μ -calpaïne et non la caspase-3 qui est responsable de la dégradation des principales protéines myofibrillaires du bovin. Des contradictions demeurent donc en ce qui concerne la participation des caspases dans l'attendrissement de la viande bovine.

Outre l'action des protéases de la famille des calpaïnes principalement responsables de la maturation de la viande, plusieurs auteurs (Ouali *et al.*, 2006) suggèrent l'implication du phénomène d'apoptose par lequel, dès la mort de l'animal, les cellules musculaires s'engagent sur la voie de la mort cellulaire. Le rôle de ce mécanisme dans l'amélioration de la tendreté est cependant controversé (Guillemin *et al.*, 2009 ; Mohrhauser *et al.*, 2011).

3.2.3. Qualité organoleptique de la viande bovine

Les qualités organoleptiques des viandes regroupent les propriétés sensorielles à l'origine des sensations de plaisir associées à leur consommation. La qualité sensorielle de la viande est déterminée par sa couleur, sa flaveur, sa jutosité et sa tendreté. Chez le bovin, ces caractéristiques varient selon le type génétique, l'âge (à ne considérer que pour des différences d'âge importantes et en absence de toute influence d'autres facteurs), le sexe des animaux, la conduite de la production (niveau énergétique et protéique de la ration, vitesse de croissance, utilisation du pâturage, apports en vitamine E), le stress, voire l'utilisation des promoteurs de croissance lorsque celle-ci est autorisée (Clinquart *et al.*, 2000 ; Hocquette *et al.*, 2005). Par ailleurs, les phénomènes biochimiques et structuraux qui se produisent au cours des 24 premières heures *post mortem*

ont une très grande influence sur la qualité organoleptique ultérieure de la viande, en particulier sur la couleur et la tendreté (Savell *et al.*, 2005).

3.2.3.1. La couleur de la viande

La couleur de la viande est la première caractéristique qualitative de la viande perçue à l'achat. Le consommateur la considère comme un critère de fraîcheur du produit (Clinquart *et al.*, 2000 ; Coibion, 2008). Elle est la résultante de quatre composantes dont les deux premières expliquent la couleur du produit frais et les deux dernières, son évolution lors de sa conservation (Normand, 2005 ; Cartier et Moëvi, 2007) :

- la composante structurale de la couleur est liée à la structure physique du muscle et en particulier à son degré d'acidification (pH) qui modifie la luminosité du produit (rouge plus ou moins clair) ;
- la composante quantitative, c'est-à-dire la quantité de pigment rouge dans le muscle, qui détermine la saturation de la couleur (rouge vif ou terne, grisâtre). La myoglobine (transporteur de l'oxygène dans le muscle) est le principal pigment responsable de la couleur de la viande. Elle est une chromoprotéine constituée d'un groupement héminique contenant l'hème (atome de fer associé à la protoporphyrine) et d'une protéine, la globine. À une teneur en fer héminique plus élevée, est associée une viande moins claire avec une intensité du rouge plus élevée et une intensité du jaune plus faible (Renand *et al.*, 2002). Au cours de la conservation, les composantes structurale et quantitative évoluent peu ;
- la composante qualitative, relative à la forme chimique du pigment musculaire, qui évolue au cours du temps. La myoglobine réduite (Mb, Fe²⁺) correspond au pigment en profondeur du muscle ou à la surface de la viande lorsque celle-ci est conservée en l'absence d'oxygène. Exposé à l'air, le pigment se combine à l'oxygène pour former l'oxymyoglobine (MbO₂, Fe²⁺) de couleur rouge vif, synonyme de fraîcheur et attractive pour le consommateur. La formation de MbO₂ est d'autant plus importante que la pression par-

tielle en oxygène est élevée, ce qui explique que la couleur rouge vive apparaît en surface d'une viande conservée à l'air atmosphérique ou sous oxygène. La myoglobine réduite peut aussi se combiner avec d'autres ligands comme le monoxyde de carbone (CO) ou l'oxyde nitrique (NO) pour former la carboxy- ou la nitroso-myoglobine. Avec le temps, le contact de la MbO₂ avec l'oxygène de l'air va conduire à la formation de myoglobine oxydée (Fe⁺⁺⁺) ou metmyoglobine (MetMb), de couleur brune indésirable et non attractive (Mohamed *et al.*, 2008). Ce phénomène est plus important à une pression partielle en oxygène faible qu'à une pression partielle élevée ce qui explique que, lors de la conservation d'une viande à l'air atmosphérique, la décoloration apparaît d'abord dans la couche sous-jacente à la surface. Rapidement après l'abattage, à l'air libre, et à basse température, la consommation d'oxygène par les mitochondries diminue, et au contact de l'air, la diffusion de l'oxygène atmosphérique augmente à la surface de la viande. De ce fait, la couche d'oxymyoglobine (MbO₂) en surface s'épaissit et la viande devient plus rouge (*blooming* en anglais). Au cours de la conservation, la couche de metmyoglobine (MetMb) s'épaissit et se rapproche de la surface de la viande et la couleur passe du rouge au brun (Mancini et Hunt, 2005).

- la composante bactériologique, liée au développement de bactéries en surface de la viande et à de possibles interactions avec le pigment.

La stabilité de la couleur dépend essentiellement de la vitesse de consom-

mation d'oxygène par les mitochondries, de la vitesse d'autooxydation de la myoglobine, en relation avec l'oxydation des lipides musculaires et de la réduction de la myoglobine oxydée par des systèmes enzymatiques ou non enzymatiques (Rennerre, 2000).

La couleur de la viande peut être déterminée par une méthode sensorielle ou par une méthode instrumentale. La méthode sensorielle consiste à juger de manière visuelle en se basant sur des grilles de classement de couleur plus ou moins standardisées et officialisées (figure 3). Cette évaluation porte sur la pigmentation ou l'altération de la couleur (Cartier et Moëvi, 2007). La méthode instrumentale repose sur l'évaluation physico-chimique, notamment, le dosage du fer héminique, des différentes formes de la myoglobine, de l'hémoglobine et de l'hématocrite (Moëvi, 2006). En présence de lumière visible, les spectres d'absorbance ou de réflectance des différentes formes de la myoglobine sont très différents. Il est dès lors possible, par spectrophotométrie, d'estimer les proportions de ces différentes formes sur base des valeurs d'absorbance ou réflectance mesurées à des longueurs d'ondes spécifiques sur un extrait de viande ou en surface de celle-ci. Une autre approche consiste à déterminer par colorimétrie la couleur de la viande exposée à un illuminant imitant la lumière du jour (D65 généralement) et à l'exprimer d'une manière standardisée, le plus souvent dans l'espace de couleur C.I.E. L*a*b (American Meat Science Association, 1991 ; Mancini et Hunt, 2005 ; Tapp III *et al.*, 2011). Il s'agit d'un espace colorimétrique à trois dimensions, dans lequel chaque couleur est définie par trois paramètres indépendants, correspondant à chacun des axes de cet espace : la clarté L* exprimée en pourcent, allant

de 0 pour le noir à 100 pour le blanc ; l'indice de rouge a* (de + 60 pour le rouge à - 60 pour le vert) et l'indice de jaune b* (de + 60 pour le jaune à - 60 pour le bleu) (Moëvi, 2006). Ces deux derniers peuvent être combinés pour définir la saturation $[(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}]$, qui dépend de la quantité de pigments présents dans le muscle et l'angle de teinte ($\tan^{-1} b^*/a^*$), qui varie en fonction de l'état chimique des pigments. La clarté L* est influencée par l'état de surface de la viande (Coibion, 2008). Chez les bovins adultes, c'est la clarté qui rend le plus compte de la couleur de la viande, telle qu'elle est perçue par l'homme. Les valeurs de L* couramment mesurées après la coupe primaire sur le muscle *longissimus dorsi*, oscillent entre 28 et 30 pour les viandes de couleur rouge foncé et entre 50 et 55 pour les viandes de couleur rouge très clair (Moëvi, 2006). Durant le stockage, l'augmentation de l'angle de la teinte et la diminution de la saturation indiquent un changement de couleur du rouge au jaune-marron et donc une oxydation. L'oxydation peut aussi être suivie par la diminution de la valeur de a* (Rennerre, 2006).

La couleur de la viande apparaît plus rouge et plus foncée avec l'augmentation de l'âge (Cliquart *et al.*, 2000 ; Priolo *et al.*, 2001) et du poids de la carcasse (Keane et Allen, 1999 ; Vestergaard *et al.*, 2000) et avec nature du régime alimentaire : les animaux engraisés au pâturage donnent des viandes plus sombres que ceux finis avec des aliments concentrés (Serrano *et al.*, 2005 ; Insani *et al.*, 2008 ; Mohamed *et al.*, 2008 ; Schor *et al.*, 2008), la précocité de l'animal (Normand, 2005 ; Cartier et Moëvi, 2007), le type métabolique du muscle et la composition en fibres musculaires (Cuvelier *et al.*, 2006), le taux de persillé et la teneur en pigments héminiques (Moë-

Figure 3 : classes de couleurs de viande (Moëvi, 2006).



vi, 2006 ; Bodas *et al.*, 2007 ; Mohamed *et al.*, 2008), la période précédant immédiatement l'abattage (conditions stressantes) et la période *post mortem* (Moëvi, 2006 ; Bodas *et al.*, 2007 ; Mohamed *et al.*, 2008), influencent également la couleur de la viande.

3.2.3.2. La tendreté de la viande

La tendreté est le critère de qualité le plus important pour le consommateur lorsqu'il consomme une viande. Elle mesure la facilité avec laquelle la structure de la viande peut être désorganisée au cours de la mastication (Ouali *et al.*, 2006). Elle s'oppose à la dureté de la viande. Trois types de paramètres fondamentaux caractérisent la tendreté d'une viande : le paramètre structurel (les composantes de la tendreté : le tissu conjonctif et les fibres musculaires), le paramètre temporel (évolution de la tendreté au cours du temps) et le paramètre enzymatique ou physico-chimique (protéine intramusculaire ainsi que l'activité des différents systèmes protéolytiques impliqués dans la maturation *post mortem* de la viande) (Evrat-Georgel, 2008). Selon Hocquette et collaborateurs (2005), les caractéristiques du muscle à l'abattage – surface et type de fibres, propriétés du collagène et teneur en lipides – n'expliquent au plus que 36 % de la variabilité de tendreté de la viande maturée estimée par un jury de dégustation. Aux carcasses les moins conformées, sont associés des muscles avec plus de collagène, plus de pigments, des fibres de plus grosse section et un pH plus élevé (Renand *et al.*, 2002). Par contre, l'hypertrophie musculaire s'accompagne de teneurs musculaires en collagène total ou insoluble plus faibles et d'une proportion plus élevée de fibres rapides glycolytiques. Ces caractéristiques sont associées à une bonne tendreté (Hocquette *et al.*, 2005). On peut dès lors considérer que les viandes tendres ont tendance à avoir les fibres fines, une faible teneur en collagène total ou insoluble et un faible pourcentage de fibres de type rapide oxydatif glycolytique (Dransfield *et al.*, 2002). Cependant, le facteur taille des fibres est peu important en comparaison des facteurs pH et type métabolique sur la tendreté de la viande, bien que la nature de la relation entre type métabolique et tendreté soit complexe (Dransfield *et al.*, 2002 ; Guillemain *et al.*, 2009). Des études menées sur

des muscles différents (*longissimus dorsi* et *semi-tendinosus*) d'un même animal (vache de réforme) ont révélé des discordances entre les caractéristiques biochimiques et la tendreté. La tendreté de la viande peut donc être expliquée par des caractéristiques différentes selon le type du muscle. Aussi, aucun muscle de la carcasse ne peut être prédicteur de l'ensemble des autres muscle de la carcasse (Picard *et al.*, 2007). Lors d'une expérience menée sur des bœufs finis en 147 ou 175 jours, il a été démontré que l'augmentation de la durée de finition entraînant une augmentation des lipides intramusculaires peut conduire à une diminution de plus de 26 % de la force de cisaillement des viandes (Burson *et al.*, 1980). La teneur en lipides peut donc avoir un effet direct (résistance mécanique inférieure à celle des protéines myofibrillaires) ou indirect (fusion de la graisse lors de la cuisson préalable à la consommation ; la graisse passe de l'état solide à liquide) sur l'amélioration de la qualité sensorielle de la viande d'où la perception de viande « plus persillée plus tendre » par les consommateurs. Toutefois, des contradictions existent entre quelques études en ce qui concerne la relation entre la teneur en lipides et la tendreté. Geay et collaborateurs (2001) ont montré qu'il n'existe aucune corrélation entre la teneur en lipides et la tendreté sur des viandes crues et cuites. Par contre, Picard et collaborateurs (2007) ont montré qu'il existe une corrélation positive entre la teneur en lipides et la tendreté ($r = + 0,23$). Des études élargies aux différentes races, aux différents muscles et sur des effectifs plus importants permettront de conclure sur les relations possibles existantes entre les caractéristiques biochimiques et la tendreté de la viande. Le potentiel d'un bovin à produire une viande tendre est fortement dépendant de sa croissance avant la naissance (Hocquette *et al.*, 2005).

D'autres facteurs comme le traitement des animaux immédiatement avant ou pendant l'abattage, le régime de refroidissement et la méthode de découpe appliqués *post mortem* influencent également la tendreté de la viande (Cliquart *et al.*, 1999). La stimulation électrique utilisée *post mortem* peut influencer favorablement la tendreté de la viande (Hwang *et al.*, 2003). Un refroidissement trop rapide peut être préjudiciable à la tendreté de la viande. Le *cold shortening* (ou cryochoc) correspond à

une contracture musculaire irréversible dont l'impact négatif sur la tendreté est fonction du pourcentage de raccourcissement musculaire qui dépend lui-même de la vitesse de refroidissement. Ce phénomène peut se produire lorsque la température interne du muscle atteint une valeur égale ou inférieure à 10°C avant l'état de *rigor mortis* ou, autrement dit, avant que le pH n'atteigne une valeur inférieure à 6 (Sheridan, 1990). Olsson et collaborateurs (1994) mentionnent des conditions très proches, à savoir une température de 7°C et un pH supérieur à 5,7. En dehors de ces facteurs technologiques, il existe d'autres facteurs responsables de la variation de la tendreté, notamment au stade de l'élevage tels que les caractéristiques propres de l'animal (le type morphologique, l'âge, le sexe), le mode de conduite (activité physique, gestation et vêlage) et la conduite alimentaire (la courbe de croissance, le niveau alimentaire, le régime alimentaire et la durée de finition). Une synthèse bibliographique réalisée par Oury et collaborateurs (2007) a révélé que :

- au sein d'une même race (comparaison faite au sein des taureaux Charolais, des taurillons Angus, des taureaux Pirenaica, des bœufs issus du croisement entre une race anglaise et une race continentale, des bœufs Japanese Black), la morphologie n'a pas d'effet sur la tendreté de la viande ; des études de qualité sensorielle réalisées sur les viandes issues de races différentes (Charolais, Pirenaica et croisement race anglaise et race continentale) et de catégories différentes d'animaux (ascendants, descendants, génisses, taurillons) et ayant des conformations identiques ou différentes, n'ont pas mis en évidence de différence dans la tendreté de la viande ;
- la tendreté et la force de cisaillement de la viande de bœuf et de taurillons de diverses races (Charolaise, Simmental, White Cattle, Danish Red, Romagnola, Chianina, Hereford, Blonde d'Aquitaine et Limousine), n'évoluent pas avant l'âge de 2 ans. Avant 35 mois, elles n'évoluent que très rarement chez la femelle de plusieurs races françaises mais au-delà, un effet négatif de l'âge peut être mis en évidence ;
- l'activité physique est favorable à la tendreté des muscles locomoteurs sans influencer celle des muscles

non locomoteurs. Pour plusieurs auteurs, la viande des animaux produits au pâturage conduit à des appréciations de tendreté inférieures à celles des animaux en stabulation. Cette différence pouvant être liée à une faible croissance et à l'activité physique plus importante des animaux en pâture.

- la gestation et le vèlage n'ont pas d'effet sur la tendreté de la viande ;
- la croissance compensatrice, l'augmentation du niveau alimentaire et de la durée de finition peuvent influencer favorablement la tendreté de la viande mais ces effets positifs restent à confirmer. La nature de l'alimentation a également des effets limités sur la tendreté de la viande, variables selon les aliments étudiés et les conditions d'expérimentation.

La tendreté d'une viande peut être appréciée en temps réel sur le terrain par une méthode sensorielle dite de terrain et consistant pour le professionnel de la viande à exercer une pression du pouce sur le muscle afin de différencier relativement bien les zones tendres et les zones dures au sein d'un muscle (Cartier et Moëvi, 2007). Lorsqu'elle est réalisée sur la carcasse, elle doit l'être minimum 24 heures *post mortem* de façon à ce que la transformation du muscle en viande ait commencé. Le résultat est considéré comme subjectif car obtenu par un seul professionnel ayant son propre référentiel de tendreté. Au laboratoire, elle peut être estimée par des méthodes sensorielles, des méthodes physiques et des méthodes physico-chimiques. Des méthodes explicatives permettent également d'évaluer la tendreté. Nous nous intéresserons à celles qui sont les plus utilisées, généralement dans un contexte expérimental. Un bilan des méthodes de mesures réalisé par Evrat-Georgel (2008), à partir de trois types de sources bibliographiques (recherche bibliographique scientifique à partir de bases de données, travaux des centres techniques, résultats issus des revues de vulgarisation) a révélé ce qui suit : les méthodes sensorielles de laboratoire comprennent les méthodes sensorielles classiques et les méthodes sensorielles temporelles (moins utilisées). L'analyse sensorielle classique est constituée de deux approches (analytique et hédonique) qui s'opposent sur de nombreux plans et qui ne peuvent être utilisées simultanément. L'approche analytique

consiste à décrire les caractéristiques sensorielles d'un produit par un jury entraîné assimilable à un instrument de mesure. Il ne représente pas la population de consommation et le résultat individuel (de chaque membre du jury) est considéré comme subjectif. Le résultat final considéré est la moyenne des notes de tous les juges et il est objectif si le nombre de juges est au moins de 10 à 18 selon l'épreuve, indépendamment du moment de réalisation. L'approche hédonique traduit la réaction affective du consommateur face au produit à tester dans un contexte déterminé et à un moment donné (Association française de Normalisation, 1999). Il est réalisé par un jury de consommateurs naïfs qui donnent des réponses spontanées sans chercher à différencier les échantillons. L'objectif étant d'approcher l'opinion d'une population cible dont le jury doit être représentatif. Ce dernier est sélectionné selon le sexe, l'âge, la catégorie socioprofessionnelle, la fréquence de consommation de viande... Les résultats sont exprimés par fréquence et ne permettent pas de distinguer les critères organoleptiques à l'origine de l'appréciation. Le nombre de juge dépend de l'information recherchée et de la taille de la population à représenter ; pour une enquête quantitative, il ne doit pas être inférieur à 60.

Pour chacune des approches, l'analyse sensorielle peut-être comparative (comparaison de plusieurs produits simultanément pour les positionner les uns par rapport aux autres) ou nomadique (appréciation d'un seul produit pour le positionner par rapport aux références du dégustateur). Dans les travaux ayant pour but de tester l'effet d'une variante sur la tendreté des animaux, l'approche analytique de type nomadique est le plus souvent utilisée.

Les méthodes physiques correspondent pour la plupart à des tests mécaniques qui mesurent la résistance ou l'amplitude de la déformation du produit à différents types de forces qui lui sont appliquées. Ils sont réalisés sur des échantillons de viande crue ou cuite. Différents types de forces (force de cisaillement, force de compression et force de tension) sont utilisées ; la plus répandue est la force de cisaillement. Elle correspond à la contrainte nécessaire pour faire passer une arête tranchante à travers un morceau de viande perpendiculairement aux fibres musculaires ; celle-ci étant exprimée en kg ou Newton. Elle est réalisée

à l'aide de banc d'essai ou texturomètre de type Instron selon la méthode de Warner-Bratzler, la plus utilisée de nos jours dans l'ensemble des études. C'est une force qui est influencée par les conditions de mesure (orientation des fibres, température et temps de cuisson des échantillons, instruments de cuisson utilisés, nombre de répétitions réalisés) mais qui fournit des résultats de précision équivalente à ceux d'un jury d'analyse sensorielle (Shackelford *et al.*, 1997). La force de cisaillement est néanmoins considérée comme un très mauvais indicateur du niveau de maturation d'une viande puisqu'elle apprécie principalement la composante conjonctive de la tendreté, en particulier sur des échantillons maturés.

Les mesures physico-chimiques correspondent aux techniques physiques permettant de mesurer la quantité d'un ou plusieurs éléments chimiques dans une matière. Il s'agit de méthodes indirectes permettant de prédire la tendreté et ou le niveau de la maturation de la viande. Les techniques les plus investiguées sont celles qui sont basées sur la spectroscopie ou spectrométrie. Il existe trois classes de spectroscopie dont celle utilisée pour la viande est la spectroscopie électromagnétique. C'est une technique basée sur l'excitabilité des molécules organiques par un rayonnement lumineux. Parmi les nouvelles technologies, la spectroscopie dans le visible et ou le proche infrarouge est celle qui a fait plus objet d'étude pour prédire la tendreté de la viande bovine. Toutes ces technologies nécessitent une calibration préalable sur la base d'une méthode de référence, qui peut être la méthode de Warner-Bratzler. La prédiction se fait avec une marge d'erreur qui doit être la plus faible possible. L'outil fondé sur la mesure de la réflectance par spectroscopie dans le proche infrarouge le plus récent et utilisé en routine en Amérique et expérimenté en France est le *Quality Spec® Beef Tenderness* (Roze et Evrat-Georgel, 2007).

Les méthodes explicatives sont des méthodes qui mesurent les paramètres influençant la tendreté et pouvant donc expliquer les différences de tendreté observées. Les méthodes explicatives mesurent les éléments chimiques par méthode physico-chimique ou moléculaires via la génomique (Picard *et al.*, 2012). Il s'agit :

- du dosage du collagène total à partir du dosage de l'hydroxyproline, acide aminé spécifique du collagène ;
- du dosage du collagène insoluble à partir d'un traitement thermique en milieu aqueux appliqué à l'échantillon afin de déterminer la teneur résiduelle en collagène de l'échantillon selon le protocole de détermination du collagène total. De façon générale, le dosage de collagène total se fait selon la méthode ISO 3496-1994 tandis que, pour celui du collagène insoluble, le temps et la température du traitement thermique varient (2 h à 90°C ou 4 h à 100°C). Pour une discrimination de la tendreté d'un muscle par rapport à un autre, le dosage du collagène est peu déterminant du fait de sa grande variabilité dans le muscle. Toutefois, il s'est révélé intéressant pour caractériser un ou plusieurs produits en fonction de leur tendreté basale ;
- des mesures sur les myofibrilles ; elles concernent le typage des fibres réalisé en identifiant et/ou en dosant les molécules caractéristiques des propriétés contractiles et métaboliques (ATPase myofibrillaire, lactate déshydrogénase, isocitrate déshydrogénase, citrate syntase, succinate déshydrogénase, cytochrome-C oxydase ou β -hydroxylacyl-CoA déshydrogénase) et/ou en dosant les isoformes de la myosine ;
- de la mesure de l'activité des enzymes impliquées dans la maturation (les cathepsines, les calpaïnes et leurs inhibiteurs, les sérines peptidases et leurs inhibiteurs, le protéasome, les caspases). Leur quantification est réalisée sur la base de la mesure de leur activité biologique après fractionnement partiel ou plus rarement dans des extraits bruts de muscle cru. L'immunodiffusion radiale et la technique ELISA sont les nouvelles techniques utilisées, elles sont plus rapides, plus spécifiques, plus précises et adaptées à l'analyse d'un grand nombre d'échantillons. Ces techniques sont également utilisées pour des enzymes autres que les enzymes protéolytiques ;
- de la recherche des gènes polymorphes ayant un impact sur la qualité de la viande bovine et l'analyse de l'expression de ces gènes.

Pour le critère de la tendreté, des marqueurs basés sur des polymorphismes tels que CAPN1, LOX et CAST et le marqueur DNAJA1 basé sur la variation de l'expression des gènes, ont été respectivement découverts par Page et collaborateurs (2002), Schenkel et collaborateurs (2006), Barendse et collaborateurs (2007) et Bernard et collaborateurs (2007). Des programmes d'étude de la pertinence de ces marqueurs sont en cours dans différents pays. Des kits de génotypage ont été également développés par les chercheurs australiens et américains dont plusieurs, permettant de déterminer certaines enzymes impliquées dans la maturation, sont déjà commercialisés. Après avoir testé ces kits sur 2000 carcasses de bovins américains, Shackelford et Karplus (2007) ont conclu que ces tests ADN étaient performants et pourraient constituer un élément de prédiction de la tendreté des carcasses.

3.2.3.3. La flaveur de la viande

La flaveur de la viande correspond à « l'ensemble des impressions olfactives et gustatives » que l'on éprouve au moment de la dégustation (Lameloise *et al.*, 1984). Une expérience menée sur le muscle *longissimus thoracis* provenant de jeunes bovins des races Salers, Aubrac, Gasconne et Charolaise élevés dans des systèmes de production différents a révélé qu'elle est principalement corrélée à la teneur en lipides intramusculaires ($r = 0,28$ en moyenne), à la teneur en pigment ($r = 0,20$ en moyenne), aux caractéristiques de ces lipides et aux types de fibres sachant qu'on observe des différences de teneur et de composition en phospholipides selon le métabolisme des muscles (Renand *et al.*, 2002 ; Hocquette *et al.*, 2005). Les muscles « rouges », riches en pigments, sont généralement plus gras que les muscles « blancs » moins pigmentés (Cartier et Moëvi, 2007). Dans le faux-filet des bovins de race française, des niveaux supérieurs de persillé jusqu'au seuil de 4 %, sont associés à une flaveur supérieure ; les auteurs précisant cependant que ce chiffre reste à confirmer (Cartier et Moëvi, 2007). Des suppléments lipidiques (matières grasses issues du tournesol riche en acides gras polyinsaturés n-6 et représentant 4 % de la matière sèche) ne modifient pas la tendreté, ni la jutosité, mais augmentent la flaveur des

muscles *rectus abdominis* et *longissimus thoracis* après 2 jours de maturation (Durand *et al.*, 2001). Cette flaveur peut être reliée à une modification d'activité métabolique des fibres (plus oxydatives) en réduisant l'activité de la lactate déshydrogénase et en augmentant celle de la β OH acyl-CoA-déshydrogénase dans le cas du muscle *rectus abdominis* (muscle oxydo-glycolytique) et à une teneur plus élevée en acides gras polyinsaturés dans les deux types de muscles.

La conduite des animaux au pâturage influence également la flaveur des viandes (French *et al.*, 2000 ; Cartier et Moëvi, 2007 ; Dufey, 2009). Elle augmente le métabolisme oxydatif des muscles et la flaveur de la viande (Hocquette *et al.*, 2005). La viande des animaux nourris à l'herbe se distingue fréquemment par sa flaveur et son odeur pastorale. L'augmentation de la croissance en finition, par l'apport de rations riches en énergie, conduit à une augmentation du gras interne intermusculaire et sous-cutané mais l'augmentation de l'état d'engraissement de l'animal n'augmente pas systématiquement le taux de gras intramusculaire et donc la flaveur potentielle des viandes (Cartier et Moëvi, 2007). Dans toutes les espèces, une flaveur caractéristique se développe avec le vieillissement des animaux (Hocquette *et al.*, 2005). Les animaux les plus âgés et les plus précoces conduisent aux viandes les plus persillées. Outre les facteurs liés à l'animal, les divers traitements technologiques subis par la viande peuvent influencer la flaveur finale du produit, en particulier les phénomènes d'oxydation des lipides lors de la maturation et de la conservation, ainsi que la cuisson qui permet à la flaveur de s'exprimer, puisque de nombreux constituants de la flaveur sont synthétisés ou libérés au cours de cette étape (Cartier et Moëvi, 2007).

L'appréciation de la flaveur d'une viande se fait seulement par des méthodes de laboratoire. La méthode de référence, la plus utilisée, est l'analyse sensorielle (dégustation par un groupe de personnes plus ou moins qualifiées selon les objectifs recherchés). Des mesures de nature chimique et physico-chimique (teneur et composition en matières grasses de la viande et/ou du gras intermusculaire, stabilité oxydative des acides gras, proportion des différents types de fibres musculaires) apportent également des informations sur la flaveur, mais elles sont souvent partielles.

3.2.3.4. La jutosité

La jutosité, encore appelée succulence est la faculté qu'a une viande d'exsuder du jus lors de la mastication (Lame-loise *et al.*, 1984). On distingue généralement deux composantes : la jutosité initiale qui est associée à la quantité de jus qui s'écoule dans la bouche pendant les premières mastICATIONS et la jutosité finale ou seconde jutosité qui est liée à la sécrétion salivaire engendrée par le gras du morceau après la mastication (Lawrie, 1991). La jutosité est influencée par les caractéristiques musculaires telles le pH, les lipides intramusculaires et la capacité de rétention d'eau du muscle (Hocquette *et al.*, 2005). Selon Honikel et Hamm (1994), la capacité de rétention d'eau de la viande est l'aptitude de celle-ci à conserver la totalité ou une partie de son eau propre ou de l'eau qui lui est ajoutée. Les viandes contenant une teneur importante en gras et une faible proportion de fibres de type rapide glycolytique ont tendance à être juteuses et à avoir une saveur marquée (Dransfield *et al.*, 2002). Une viande à pH faible a tendance à perdre son eau et à être sèche. Par contre les viandes à pH « élevé » ont une très bonne rétention d'eau et présentent donc une jutosité supérieure (Renand *et al.*, 2002). Les facteurs influençant le pouvoir de rétention d'eau affectent également la jutosité (Monin, 1991 ; Vandendriessche et Casteels, 1999).

Il n'existe pas de méthode de mesure standardisée pour mesurer la jutosité d'une viande (Honikel et Hamm, 1994). Elle peut être appréciée au moyen d'une évaluation sensorielle (par un panel de dégustation) ou par des méthodes instrumentales mesurant des paramètres chimiques (dosage de la matière grasse) et les mesures physiques comme les pertes de masse (détermination de la capacité de rétention d'eau) ou l'évolution des dimensions du morceau suite à une compression et/ou à une cuisson (Cartier et Moëvi, 2007 ; Coibion, 2008).

3.2.4. Qualité technologique de la viande

La qualité technologique de la viande représente sa capacité à être transformée et conservée (Monin, 1991). Elle dépend du produit que l'on souhaite fabriquer (viande crue hachée et viande crue non hachée) et peut être exprimée principalement par le pH et par la capacité de rétention d'eau. La qualité technologique peut être également exprimée

par les paramètres tels que la capacité d'émulsification, la couleur et la capacité de formation de la couleur, la capacité de liaison par thermocoagulation ou par combinaison du séchage et de la diminution du pH, la capacité à produire une saveur, etc.

3.2.4.1. pH

Le pH est un paramètre chimique qui influence la capacité de conservation et de transformation de la viande (Cartier et Moëvi, 2007). En effet, après l'abattage, le pH du muscle passe d'une valeur proche de 7,0 à environ 5,5-5,7 en 48 h chez les bovins (Cartier et Moëvi, 2007). La diminution du pH est liée à l'accumulation d'acide lactique issu de la dégradation du glycogène contenu dans le muscle. Le pH se stabilise lorsque les réserves en glycogène sont épuisées : on parle alors de pH ultime (Clinquart *et al.*, 2000). Le pH influence les qualités organoleptiques, notamment la couleur (Monin, 1991). Il est possible de maîtriser la diminution du pH en prenant en compte plusieurs facteurs :

- le stress avant l'abattage : l'apparition des viandes à pH élevé est liée aux différents événements qui surviennent avant la mort de l'animal. La succession de perturbations que peut subir l'animal entraîne la diminution des réserves en glycogène dans le muscle ; ce qui après abattage, donne lieu à des viandes à pH élevé (Cartier et Moëvi, 2007) qu'on qualifie D.F.D. (pour *Dark, Firm, Dry* en anglais) ou viandes à coupe sombre. Les viandes dont le pH ultime est élevé (5,8 ou plus) se caractérisent par une couleur sombre, une moindre tendreté et un pouvoir de rétention d'eau élevé qui se manifeste par un aspect sec en surface (Monin, 1991 ; Eadmusik, 2008). Elles sont peu adaptées à la conservation à l'état frais en raison d'une sensibilité accrue à l'altération d'origine microbienne. De plus, ces viandes sont peu adaptées au traitement de dessiccation (Allen *et al.*, 1998). Les viandes dont le pH ultime est compris entre 5,5 et 5,7 sont dites à pH normal. Elles sont caractérisées par une couleur pâle normale et un faible pouvoir de rétention d'eau car la diminution normale du pH *post mortem* entraîne une diminution de la rétention d'eau par les protéines du système myofibrillaire ;
- une stimulation électrique effectuée sur l'animal après sa mise à mort et

avant que le pH n'ait atteint sa valeur finale, accélère la diminution du pH et l'apparition de la rigidité cadavérique (Pouliot *et al.*, 2009). Elle permet par ailleurs d'éviter une contracture irréversible des muscles si un refroidissement trop rapide est appliqué *post mortem* (voir la section relative à la tendreté).

3.2.4.2. Capacité de rétention d'eau

Une viande ayant une bonne capacité de rétention d'eau permet de limiter les pertes de poids au cours de sa conservation et de sa transformation en produits cuits (Clinquart *et al.*, 2000). Cette aptitude dépend de la manipulation et de l'état de la viande. L'eau est retenue dans la viande principalement par les protéines myofibrillaires par capillarité. Les modifications de la capacité de rétention d'eau s'expliquent souvent par des modifications des protéines myofibrillaires.

Les méthodes appliquées pour évaluer la capacité de rétention d'eau et l'état de la viande doivent être bien définis afin d'obtenir des résultats comparables. Il existe trois manières principales de traiter la viande qui impliquent trois méthodes de mesure de la capacité de rétention d'eau : la méthode sans application d'une force (évaluation de la perte d'eau par évaporation ou écoulement dans le sac d'emballage lors de la conservation sous réfrigération ou congélation), la méthode avec application d'une force mécanique (évaluation de la perte d'eau qui est obtenue par pression sur la viande et absorbée par un papier filtre) et la méthode avec application d'une force thermique (évaluation de la perte d'eau lors de la cuisson). Les deux dernières méthodes sont généralement les plus utilisées. En fonction des habitudes alimentaires des consommateurs, différentes températures de cuisson sont utilisées pour la détermination de la perte d'eau par cuisson : 55°C pour les viandes saignantes, 65°C pour les viandes moyennement cuites, 80°C pour les viandes bien cuites et 95°C pour les viandes entièrement cuites (Barton-Gade *et al.*, 1993). Quelle que soit la méthode de mesure, la capacité de rétention d'eau de la viande est influencée principalement par la vitesse et l'amplitude de la diminution du pH *post mortem*, la taille et la forme de l'échantillon, le traitement de la viande lors du conditionnement, la température de cuisson, de conservation ou de congélation, l'humidité relative du

local de conservation et le délai qui s'est écoulé entre l'abattage et la mesure.

4. CONCLUSION

La notion de qualité de la viande est une notion complexe qui englobe une multitude de propriétés différentes pouvant être influencées par le producteur, le transformateur et même le consommateur lors de la préparation finale de la viande. Les paramètres de variation de la qualité de la viande bovine font l'objet de nombreuses études. L'amélioration de la qualité de la carcasse n'est pas forcément accompagnée d'une amélioration de la qualité de la viande. De nombreuses méthodes de mesure existent pour apprécier la qualité de la carcasse et de la viande. Malgré la variation des critères d'appréciation de la qualité de la viande par les consommateurs, il existe dans la plupart des cas une cohérence entre les valeurs de ces critères d'appréciation et celles des méthodes de mesure. En somme, les critères subjectifs de la qualité de la carcasse et ceux de la viande correspondent à des jugements que le consommateur porte sur la viande avant la décision d'achat et durant la consommation. Ces critères sont diversifiés et varient d'un continent à l'autre ou d'une communauté à l'autre et sont en relation

avec l'image et les valeurs sociales. Ils varient selon le comportement et les préférences du consommateur. Par contre, les critères objectifs portent sur des paramètres mesurables techniquement sur la viande et utilisables en routine afin de pouvoir diagnostiquer les non-conformités en temps réel et d'engager, le cas échéant, des actions correctives. Les critères objectifs d'appréciation de la qualité de la carcasse ne sont pas pris en compte dans la filière viande en Afrique subsaharienne. De même les caractéristiques technologiques, nutritionnelles, organoleptiques et sensorielles de la viande des bovins de l'Afrique subsaharienne ne sont pas connues. Une caractérisation de la composition de carcasse et de la qualité de la viande des races bovines de l'Afrique subsaharienne est nécessaire pour que les viandes produites soient mieux connues par les consommateurs et plus compétitives sur le plan international.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la Coopération universitaire au Développement (Belgique) pour son appui à la réalisation de ces travaux à travers le troisième programme quinquennal (P3) de la Coopération universitaire institutionnelle (CUI) du Conseil interuniversi-

taire de la Communauté française de Belgique (CIUF). Les remerciements sont également adressés aux responsables de l'Activité UAC01.

Assessment criteria and factors of variation of bovine carcass trait and beef quality

Abstract

The meat quality concept is extremely variable and progressive in relation to the transformation of the live animal into carcass and into meat. This article reviews the criteria of subjective (criteria depending on consumer behavior and preferences) on the one hand and objective assessment of the quality of bovine carcass and meat on the other hand. The objective criteria for carcass quality assessment are mainly the weight, the classification (conformation and fat deposition), the composition, the slaughtering yield and the carcass meat content. Finally, the muscle composition, the organoleptic and the technological properties for the appreciation of the quality of beef are described and discussed.

BIBLIOGRAPHIE

ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION Norme X 50.109 : gestion de la qualité : vocabulaire, norme expérimentale. Association française de Normalisation : La Plaine Saint-Denis, 1982.

ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION Norme XP V09-501 : analyse sensorielle, guide générale pour l'évaluation sensorielle : description, différenciation et mesure hédonique. Association française de Normalisation : La Plaine Saint-Denis, 1999, 28 p.

ALLEN C.D., FLETCHER D.L., NORTHCUTT J.K. The relationship of broiler breast color to meat quality and shelf-life. *Poultry Sci.*, 1998, **77**, 361-366.

AMERICAN MEAT SCIENCE

ASSOCIATION Guidelines for meat color evaluation. American Meat Science Association : Savoy, 1991, 17 p.

BARBIER B., ALARY V., DEYBE D. L'agriculture et l'élevage dans les plaines indo-gangétiques de l'Inde : vers une nouvelle intégration. *Oléagineux Corps Gras Lipides*, 2004, **11**, 277-286.

BARENDSE W., HARRISON B.E., HAWKEN, R.J., FERGUSON D.M., THOMPSON J.M., THOMAS M.B., BUNCH R.J. Epistasis between calpain 1 and its inhibitor calpastatin within breeds of cattle. *Genetics*, 2007, **176**, 2601-2610.

BARTON-GADE P.A., DEMEYER D., HONIKEL K.O., JOSEPH R.L., PUOLANNE E., SEVERINI M., SMULDERS F.J.M., TORNBORG

E. Final version of reference methods for water holding capacity in meat and meat products. In : Organisation for Economic Co-operation and Development, 39th International Congress of Meat Science and Technology, Calgary, 1-6 août 1993, 1993, 5 p.

BAUCHART D.,CHANTELOT F., GANDEMER G. Qualités nutritionnelles de la viande et des abats chez le bovin : données récentes sur les principaux constituants d'intérêt nutritionnel. *Cah. Nutr. Diététique*, 2008, **43** : HS1, 29-39.

BEAUMONT A., CASSIER P., TRUCHOT J.-P., DAUÇA M. Les muscles et la concentration musculaire. In : Beaumont A., Cassier P., Truchot J.-P., Dauça M., Biologie et physiologie animales. 2^e édition. Dunod : Paris, 2004, 210-301.

- BERANGER C., ROBELIN J. Influence du mode d'élevage, de la sélection et de l'alimentation sur l'état d'engraissement des bovins. *Ann. Biol. Anim. Biophys.*, 1977, **17**, 905-921.
- BERNARD C., CASSAR-MALEK I., LECUNFF M., DUBROEUCQ H., RENAND G., HOCQUETTE J.F. New indicators of beef sensory quality revealed by expression of specific genes. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 5229-5237.
- BERNUÉS A., OLAIZOLA A., COROCAN K. Extrinsic attributes of red meat as indications of quality in Europe: an application for market segmentation. *Food Qual. Pref.*, 2003, **14**, 265-276.
- BOCCARD R., NAUDE R.T., CRONJE D.E., SMITH M.C., VENTER H.J., ROSSOUW E.J. The influence of age, sex and breed of cattle on their muscle characteristics. *Meat Sci.*, 1979, **4**, 261-281.
- BODAS R., RODRIGUEZ A.B., LOPEZ S., FERNANDEZ B., MANTECON A.R., GIRALDEZ F.J. Effects of the inclusion of sodium bicarbonate and sugar beet pulp in the concentrate for fattening lambs on acid-base status and meat characteristics. *Meat Sci.*, 2007, **77**, 696-702.
- BURSON D.E., HUNT M.C., ALLEN D.M., KASTNER C.L., KROPF D.H. Diet energy density and time on feed effects on beef *longissimus* muscle palatability. *J. Anim. Sci.*, 1980, **51**, 875-881.
- CARTIER P., MOËVI I. Le point sur la qualité des carcasses et des viandes de gros bovins. Institut de l'Élevage : Paris, 2007, 72 p.
- CAVANAGH R.C., JONAS E., HOBBS M., THOMSON C. P., TAMMEN I., RAADSMA W. H. Mapping Quantitative Trait Loci (QTL) in sheep. III. QTL for carcass composition traits derived from CT scans and aligned with a meta-assembly for sheep and cattle carcass QTL. *Genet. Sel. Evol.*, 2010, **42**, 36.
- CHERET R., DELBARRE-LADRAT C., DE LAMBALLERIE-ANTON M., VERREZ-BAGNES V. Calpain and cathepsin activities in *post-mortem* fish and meat muscle. *Food Chem.*, 2007, **101**, 1474-1479.
- CHESNEAU G., QUEMENER B., WEILL P. Qualité nutritionnelle des lipides de viandes : écarts liés à l'espèce, écarts liés à l'alimentation : quelques observations. In : 10^e Journées des Sciences du Muscle et Technologies de la Viande, Rennes, 25-26 octobre 2004, 2004, 59-60.
- CHRISTENSEN M.L., LARSEN L.M., ERTBJERG P., PURSLOW P.P. Effect of proteolytic enzyme activity and heating on mechanical properties of bovine single muscle fibres. *Meat Sci.*, 2003, **66**, 361-369.
- CLINQUART A., HORNICK J.L., VAN EENAEME C., ISTASSE L. Influence du caractère culard sur la production et la qualité de la viande des bovins Blanc Bleu Belge. *Prod. Anim.*, 1998, **11**, 285-297.
- CLINQUART A., DEMEYER D.I., CASTEELS M. La qualité de la viande : du muscle à la viande. In : Clinquart A., Fabry J., Casteels M., *Belgian Association for Meat Science and Technology* (éds), La viande ? Presses de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège : Liège, 1999, 75-96.
- CLINQUART A., LEROY B., DOTTREPE O., HORNICK J.L., DUFRASNE I.L., ISTASSE L. Les facteurs de production qui influencent la qualité de la viande des bovins Blanc Bleu belge. In : L'élevage du Blanc Bleu Belge, Journée du Centre d'Excellence du Secteur agricole et son Management (CESAM), 26 mai 2000, Mons, 2000, 19 p.
- COIBION L. Acquisition des qualités organoleptiques de la viande bovine : adaptation à la demande du consommateur. (Mémoire pour l'obtention du grade de Docteur vétérinaire). Ecole nationale vétérinaire de Toulouse : Toulouse, 2008, 97 p.
- COMMISSION EUROPEENNE Directive 2001/101/CE de la Commission du 26 novembre 2001 modifiant la directive 2000/13/CE du Parlement européen et du Conseil relative au rapprochement des législations des États membres concernant l'étiquetage et la présentation des denrées alimentaires ainsi que la publicité faite à leur égard. *J. Off. Commun. Eur.*, 2001, **L 310**, L 310/19-L 310/21.
- COMMISSION EUROPEENNE Règlement (CE) n°1249/2008 de la Commission du 10 décembre 2008 portant modalités d'application des grilles communautaires de classement des carcasses de bovins, de porcins et d'ovins et de la communication des prix y afférents. *J. Off. Commun. Eur.*, 2008, **L 337**, L 337/3-L 337/30.
- CONSEIL DE L'UNION EUROPEENNE. Règlement (CE) n° 1234/2007 du Conseil du 22 octobre 2007 portant organisation commune des marchés dans le secteur agricole et dispositions spécifiques en ce qui concerne certains produits de ce secteur (règlement OCM unique). *J. Off. Commun. Eur.*, 2007, **L 299**, L 299/1-L 299/149.
- CUVELIER C., CABARAUX J.F., DUFRASNE I., CLINQUART A., HOCQUETTE J.F., ISTASSE L., HORNICK J.L. Performance, slaughter characteristics and meat quality of young bulls from Belgian Blue, Limousin and Aberdeen Angus breeds fattened with a sugar-beet pulp or a cereal-based diet. *Anim. Sci.*, 2006, **82**, 125-132.
- DALY C.M., MOLONEY A.P., MONAHAN F.J. Lipid and colour stability of beef from grazing heifers supplemented with sunflower oil alone or with fish oil. *Meat Sci.*, 2007, **77**, 634-642.
- DEMEYER D.I., VAN BELLE M., VAN CAMP J. La viande et les produits de viande dans notre alimentation. In : Clinquart A., Fabry J., Casteels M., *Belgian Association for Meat Science and Technology* (éds), La viande ? Presses de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège : Liège, 1999, 141-161.
- DOGNON S.R. Evaluation de la qualité hygiénique des carcasses de bovins fraîchement abattus en milieu rural : cas de la Commune de Banikoara. (Mémoire de Master en Normes, Contrôle de Qualité et Technologie Alimentaire). Université d'Abomey-Calavi : Cotonou, 2010, 78 p.
- DRANSFIELD E. Tenderness of meat,

- poultry and fish. In : Pearson A.M., Dutson T.R. (Eds), Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products. Blackie Academic & Professional : London, 1994, 289-336.
- DRANSFIELD E., ABOUELKARAM A., BAUCHART D., CULIOLI J., JURIE C., LEPETIT J., LISTRAT A., MARTIN J.F., PICARD B. Qualité sensorielle de la viande provenant de trois muscles de taurillons de réforme de quatre races allaitantes du massif central. *Renc. Rech. Ruminants*, 2002, **9**, 255-258.
- DUFÉY P.A. Viande bovine de montagne et qualité. *Rev. suisse Agric.*, 2009, **41**, 245-250.
- DUFÉY, P.A. Qualité de la viande bovine produite à partir de l'herbe. [en ligne] (2010) Adresse URL : http://www.agroscope.admin.ch/praxis/00211/04453/index.html?lang=LpZeg7t,lnp610NTU04212Z6ln1acy4Zn4Z2qZpnO2Yuq2Z6gpJCEe393fGym162epYbg2c_JjKbNoKS6A--, consulté le 15/10/2012.
- DUDOUET C. La production des bovins allaitants, conduite, qualité et gestion. Editions *France Agricole* : Paris, 2010, 414 p.
- DUMONT B.L. Quelques aspects de la qualité des viandes de boucherie. *Bull. Soc. Sci. Hyg. Aliment*, 1960, **48**, 137-146.
- DURAND D., GRUFFAT-MOUTY D., HOCQUETTE J.F., MICOL D., DUBROEUCQ H., JAILLER R., JADHAO S.B., SCISLOWSKI V., BAUCHART D. Relations entre caractéristiques biochimiques et métaboliques des muscles et qualités organoleptiques et nutritionnelles de la viande chez le bouvillon recevant des rations supplémentées en huile de tournesol riche en AGPI n-6. *Renc. Rech. Ruminants*, 2001, **8**, 75-78.
- EADMUSIK S. Effets de la vitesse de glycolyse post mortem du muscle de dinde : une analyse biochimique et protéomique. (Rapport de thèse pour l'obtention du grade de Docteur). Université de Toulouse : Toulouse, 2008, 193 p.
- EV RAT-GEORGEL C. Bibliographie critique des méthodes instrumentales de mesure de la tendreté de la viande bovine. Département technique d'Elevage et Santé, Service Qualité des Viandes : Paris, 2008, 156 p.
- FRENCH P., O'RIORDAN E.G., MONAHAN F.J., CAFFREY P.J., VIDAL M., MOONEY M.T., TROY D.J., MOLONEY A.P. Meat quality of steers finished on autumn grass, grass silage or concentrate based diets. *Meat Sci.*, 2000, **56**, 173-180.
- GEAYY, BAUCHART D., HOCQUETTE J., CULIOLI J. Effect of nutritional factors on biochemical, structural and metabolic characteristics of muscle in ruminants, consequences on dietetic value and sensorial qualities of meat. *Reprod. Nutr. Dev.*, 2001, **41**, 1-26. Erratum, 341-377.
- GOOSSAERT V. L'interdit du bœuf en Chine : agriculture, éthique et sacrifice. Editions du Collège de France, Institut des Hautes Études Chinoises : Paris, 2005, 319p.
- GRUNERT K.G. What's in a steak? A cross-cultural study on the quality perception of beef. *Food Qual. Pref.*, 1997, **8**, 157-174.
- GUILLEMIN N., CASSAR-MALEK I., HOCQUETTE J. F., JURIE C., MICOL D., LISTRAT A., LEVEZIEL H., RENAND G., PICARD B. La maîtrise de la tendreté de la viande bovine : identification de marqueurs biologiques. *Prod. Anim.*, 2009, **22**, 331-344.
- HERRERA-MENDEZ C.H., BECIDA S., BOUDJELLAL A., OUALI A. Meat-aging: reconsideration of the current concept. *Trends Food Sci. Tech.*, 2006, **17**, 394-405.
- HOCH T, PICARD B, JURIE C, AGABRIEL J. Modélisation de l'évolution des caractéristiques des fibres musculaires des bovins. *Viandes Prod. Carnés*, 2002, Hors Série, 121-122.
- HOCQUETTE J.F., CASSAR-MALEK I., LISTRAT A., JURIE C., JAILLER R., PICARD B. Evolution des recherches sur le muscle des bovins et la qualité sensorielle de leur viande. II : Influence des facteurs d'élevage sur les caractéristiques musculaires. *Cah. Agric.*, 2005, **14**, 365-372.
- HONIKEL K.O., HAMM R. Measurement of water-holding capacity and juiciness. *Adv. Meat Res.*, 1994, **9**, 125-161.
- HWANG I.H., DEVINE C.E., HOPKINS D.L. The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. *Meat Sci.*, 2003, **65**, 677-691.
- INSANI E.M., EYHERABIDE A., GRIGIONI G., SANCHE A.M., PENSEL N.A., DESCALZO A.M. Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display of beef produced in Argentina. *Meat Sci.*, 2008, **79**, 444-452.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION ISO 8402-1994. Quality management and quality assurance : vocabulary. International Organization for Standardization : Geneva, 1994, 4 p.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION ISO 3496-1994. Meat and meat products : determination of hydroxyproline content. International Organization for Standardization : Geneva, 1994, 5 p.
- KEANE M.G., ALLEN P. Effects of pasture fertilizer N level on herbage composition, animal performance and on carcass and meat quality traits. *Livest. Prod. Sci.*, 1999, **61**, 233-244.
- KOOHMARAIE M., GEESINK G.H., Contribution of *post-mortem* muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Sci.*, 2006, **74**, 34-43.
- LAWRIE R.A. The eating quality of meat. In : Lawrie R.A (Ed.), Meat science. 5th edition. Pergamon Press : Oxford, 1991, 184-224.
- LAMELOISE P., ROUSSEL-CIQUARD N., ROSSET R. Evolution des qualités organoleptiques : les viandes : hygiène, technologie. *Inf. Tech. Serv. Vet.*, 1984, **88-91**, 121-125.
- LI D., SIRIAMORN PUN S. Lean meat and heart health. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 2005, **14**, 113-119.
- LOMBARDI-BOCCIA G., MARTÍNEZ-DOMÍNGUEZ B., AGUZZI A., RINCÓN-LEÓN F. Optimization of heme iron analysis in raw and cooked

- red meat. *Food Chem.*, 2002, **78**, 505-510.
- MANCINI R.A., HUNT M.C. Current research in meat color. *Meat Sci.*, **71**, 2005, 100-121.
- MICHAUX C., STASSE A., SONNET R., LEROY P.L., HANSET R. La composition de la carcasse de taureau culards Blanc Bleu Belge. *Ann. Méd. Vét.*, 1983, **127**, 349-375.
- MICOL D., ROBELIN J., GEAY Y. Composition corporelle et caractéristiques biologiques des muscles chez les bovins en croissance et à l'engrais. *Prod. Anim.*, 1993, **4**, 287-295.
- MOËVI I. Le point sur la couleur de la viande bovine. Interbev : Paris, 2006, 113 p.
- MOHAMED A., JAMILAH B., ABBAS K.A., ABDULRAHMAN R. A review on some factors affecting colour of fresh beef cuts. *J. Food Agric. Env.*, 2008, **6**, 181-186.
- MOHRHAUSER D.A., UNDERWOOD K.R., WEAVER A.D. In vitro degradation of bovine myofibrils is caused by μ -calpain, not caspase-3. *J. Anim. Sci.*, 2011, **89**, 798-808.
- MONIN G. Facteurs biologiques des qualités de la viande bovine. *Prod. Anim.*, 1991, **4**, 151-160.
- NORMAND J. Couleur de la viande de veau et de gros bovins. Interbev : Paris, 2005, 28 p.
- O'SULLIVAN A., GALVIN K., MOLONEY A.P., TROY D.J., O'SULLIVAN K., KERRY J.P. 2003. Effect of pre-slaughter rations of forage and/or concentrates on the composition and quality of retail packaged beef. *Meat Sci.*, **63**, 279-286.
- OFFICE DE L'ELEVAGE Pesée, classement, marquage : guide technique et réglementaire. Office de l'élevage : Paris, 2007, 24 p.
- OLIVAN M., MARTINEZ A., GARCIA P., NOVAL G., OSORO K. Estimation of the carcass composition of yearling bulls of Asturiana de los Valles breed from the dissection of a rib joint. *Meat Sci.*, 2001, **57**, 185-190.
- OLSSON U., HERZMAN C., ORNBERG E. The influence of low temperature, type of muscle and electrical stimulation on the course of rigor mortis, ageing and tenderness on beef muscles. *Meat Sci.*, 1994, **37**, 115-131.
- OUALI A., HERRERA-MENDEZ C.H., COULIS G., BECILA S., BOUDJELLAL A., AUBRY L., SENTANDREU M.A. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Sci.*, 2006, **74**, 44-58.
- OURY M.-P., PICARD B., ISTASSE L., MICOL D., DUMONT R. Mode de conduite en élevage et tendreté de la viande bovine. *Prod. Anim.*, 2007, **20**, 309-326.
- PAGE B.T., CASAS E., HEATON M.P., CULLEN N.G., HYNDMAN D.L., MORRIS C.A., CRAWFORD A.M., WHEELER T.L., KOOHARAIE M., KEELE J.W., SMITH T.P.L. Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in *capn1* for association with meat tenderness in cattle. *J. Anim. Sci.*, 2002, **80**, 3077-3085.
- PICARD B., JURIE C., BAUCHART D., DRANSFIELD E., OUALI A., MARTIN J.F., JAILLER R., LEPETIT J., CULIOLI J. Caractéristiques des muscles et de la viande des principales races bovines allaitantes du massif central. *Sci. Alim.*, 2007, **27**, 168-180.
- PICARD B., BERRI C., LEBRET B., LEFEVRE F., LIAUBET L., DAMON M., LE BIHAN-DUVALE, CASSAR-MALEK I., HOCQUETTE J.-F., RENAND G. Génomique et viande : quelles avancées, quelles applications. In : 14^e Journées Sciences du Muscle et Technologies des Viandes, Caen, 13-14 novembre 2012, 2012, 127-133.
- PICARD B., CASSAR-MALEK I. Evidence for expression of IIb myosin heavy chain isoform in some skeletal muscles of Blonde d'Aquitaine bulls. *Meat Sci.*, 2008, **82**, 30-36.
- PICARD B., CASSAR-MALEK I., HOCQUETTE J.F. Typologie et ontogenèse des fibres musculaires chez différentes espèces d'intérêt agronomique. *Prod. Anim.*, 2003, **16**, 117-123.
- PICARD B., ALLAIS S., JURIE C., LEVEZIEL H., JOURNAUX L., RENAND G. Une isoforme de chaîne lourde de myosine particulière, variable entre les races à viande bovines. *Renc. Rech. Ruminants*, 2009, **16**, 159.
- POULIOT E., CASTONGUAY F., THERIAULT M. Evaluation des pratiques post abattages sur la qualité de la viande d'agneau du Québec. Centre d'expertise en production ovine du Québec : Québec, 2009, 39 p.
- PRIETO N., NAVAJAS E.A., RICHARDSON R.I., ROSS D.W., HYSLOP J.J., SIMM G., ROEHE R. Predicting beef cuts composition, fatty acids and meat quality characteristics by spiral computed tomography. *Meat Sci.*, 2010, **86**, 770-779.
- PRIOLO A., MICOL D., AGABRIEL J. Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavor: a review. *Anim. Res.*, 2001, **50**, 185-200.
- RASKIN P., VAN EENAEME C., CLINQUART A., ISTASSE L. Dietary vitamin E supplementation of fattening diets for Belgium Blue double muscled cattle. In : Istasse L. (Ed.), Belgian Blue bulls: their management for growing and finishing. An assessment of their performance and of carcass and meat quality. Presses de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège : Liège, 1997, 91-96.
- RENAND G., HAVY A., TURIN F. Caractérisation des aptitudes bouchères et qualités de la viande de trois systèmes de production de viande bovine à partir des races rustiques françaises Salers, Aubrac et Gasconne. *Prod. Anim.*, 2002, **15**, 171-183.
- RENERRE M., VALIN C. Influence de l'âge sur les caractéristiques de la couleur des viandes bovines de race Limousine. *Ann. Tech. Agric.* 1979, **28**, 319-332.
- RENERRE M. Influence de facteurs biologiques et technologiques sur la couleur de la viande bovine. *Bull. Tech. C.R.Z.V. Theix*, 1986, **65**, 41-45.

- RENERRE M. Oxidative processes and myoglobin. In : Decker E., Faustman C., Lopez-Bote C.J. (Eds), *Antioxidants in muscle foods*. John Wiley & Sons : New-York, 2000, 113-133.
- RENERRE M. La mesure de la couleur de la viande. In : 11^e Journées des Sciences du Muscle et Technologies des Viandes, Clermont Ferrand, 4-5 octobre 2006, 2006, 257-258.
- ROCK E. Les apports en *micronutriments* par la viande. In : 9^e Journées des Sciences du Muscle et Technologies de la Viande, Clermont Ferrand, 15-16 octobre 2002, 2002.
- ROZE S., EVRA GEORGEL C. Vérification des performances du Quality Spec[®] BT à mesurer en ligne la tendreté de la viande bovine. Institut d'Élevage : Paris, 2008, 33 p.
- SAMI A.S., AUGUSTINI C., SCHWARS F.J. Effects of feeding intensity and time on feed on performance, carcass characteristics and meat quality of Simmental bulls. *Meat Sci.*, 2004, **67**, 195-201.
- SAUVANT D., MERTENS D.R. Empirical modeling of ruminal pH from dietary NDF and mean particle size. *Anim. Sci.*, 2001, **79**, 198-199.
- SAVELL J.W., MUELLER S.L., BAIRD B.E. The chilling of carcasses. *Meat Sci.*, 2005, **70**, 449-459.
- SCHENKEL F.S., MILLER S.P., JIANG Z., MANDELL I.B., YE X., LI H. WILTON J.W. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 2006, **84**, 291-299.
- SCHOR A., COSSU M.E., PICALLO A., MARTINEZ FERRER J., GRIGERA NAON J.J., COLOMBATTO D. Nutritional and eating quality of Argentinean beef. *Meat Sci.*, 2008, **79**, 408-422.
- SHACKELFORD S.D., KARPLUS K. Contact prediction using mutual information and neural nets. *Proteins*, 2007, **69**, Suppl. 8, 159-164.
- SHACKELFORD S.D., WHEELER T.L., KOOHMARAIE M. Tenderness classification of beef: I. evaluation of beef *longissimus* shear force at 1 or 2 days postmortem as a predictor of aged beef tenderness. *J. Anim. Sci.*, 1997, **75**, 2417-2422.
- SERRANO E., PRADEL P., AGABRIEL J., JAILLER R., DUBROEUCQ H., MICOL D. Production de veaux rosés Salers : effets du fourrage et de l'aliment concentré sur les caractéristiques zootechniques et sur les qualités organoleptiques de la viande. *Renc. Rech. Ruminants*, 2005, **12**, 383-386.
- SHERIDAN J.J. The ultra-rapid chilling of lamb carcasses. *Meat Sci.*, 1990, **28**, 31-50.
- TAPP III W.N., YANCEY J.W.S., APPLE J.K. How is the instrumental color of meat measured? *Meat Sci.*, **89**, 2011, 1-5.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE Regulations and standards under the agricultural marketing act of 1946 and the egg products inspection act. United States Department of Agriculture, Agricultural Marketing Service, Livestock and Seed Division : Washington, 1997, 218 p.
- VANDENDRIESSCHE F., CASTEELS M. Gestion de la qualité et contrôle. In : Clinquart A., Fabry J., Casteels M., *Belgian Association for Meat Science and Technology* (éds), La viande ? Presses de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège : Liège, 1999, 193-203
- VERBEKE W., VACKIER I. Profile and effects of consumers involvement in fresh meat. *Meat Sci.*, 2004, **67**, 159-168.
- VERBEKE W., VAN WEZEMAEL L., DE BARCELLOS M.D., KUGLER J.O., HOCQUETTE J.F., UELAND O., GRUNERT K.G. European beef consumers' interest in a beef eating-quality guarantee insights from a qualitative study in four eu countries. *Appetite*, **54**, 2010, 289-296.
- VESTERGAARD M., THERKILDSEN M., HENCKEL P., JENSEN L.R., ANDERSEN H.R., SEJRSEN K. Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on meat and eating quality of young bulls and the relationship between muscle fibre characteristics, fibre fragmentation and meat tenderness. *Meat Sci.*, 2000, **54**, 187-195.
- VOLATIER J.L., DUFOUR A. La place de la viande et des produits à base de viande comme aliments-vecteurs dans les apports nutritionnels de la population française. In : 11^e Journées des Sciences du Muscle et Technologies des Viandes, Clermont Ferrand, 4-5 octobre 2006, 2006, 55-60.
- WILLIAMSON C.S., FOSTER R.K., STANNER S.A. Red meat in the diet. *Brit. Nutr. Found. Nutr. Bull.*, 2005, **30**, 325-355.
- YANG A., LANARI M.C., BREWSTER M., TUME R.K. Lipid stability and meat colour of beef from pasture- and grain-fed cattle with or without vitamin E supplement. *Meat Sci.*, 2002, **60**, 41-50.
- YOUSAO A.K.I., VERLEYEN V., LEROY P.L. Evaluation de la composition de la carcasse et de la qualité de la viande par ultrasonographie chez le porc. *Ann. Méd. Vét.*, 2002, **146**, 19-29.
- YOUSAO A.K.I., VERLEYEN V., MICHAUX C., CLINQUART A., LEROY P.L. Prédiction de la teneur en gras intramusculaire du porc Piétrain par l'ultrasonographie en temps réel. In : 10^e Journées des Sciences du Muscle et Technologies de la Viande, Rennes, 25-26 octobre 2004, 2004, 153-154.
- ZAMORA F., AUBRY L., SAYD T., LEPETIT J., A LEBERT A., SENTANDREU M.A., OUALI A. Serine peptidase inhibitors, the best predictor of beef ageing amongst a large set of quantitative variables. *Meat Sci.*, 2005, **71**, 730-742.
- ZARNOVICAN M., GUILLAUME C. Constats et projections sur les tendances de consommation alimentaire au Québec. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec : Québec, 2006, 42 p.

Trachéotomie temporaire chez le cheval

GABRIEL A.¹, HONTOIR F.¹, VAN GALEN G.², VERWILGHEN V.², CARSTANJEN C.³

¹ Service d'anatomie, Département de Morphologie et Pathologie, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, 20, Boulevard de Colonster, bâtiment B43, 4000 Liège, Belgique

² Faculty of Health and Medical Sciences, Department of Large Animal Medicine and Surgery, University of Copenhagen, Denmark

³ Fachtierarzt für Pferde & Pferdechirurgie, Department of Large Animal Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences (SGGW), Nowoursynowska 100, 02-786 Warsaw, Poland

Correspondance : Prof. Annick Gabriel Email : annick.gabriel@ulg.ac.be

RÉSUMÉ :

Le terme trachéotomie signifie l'incision de la trachée dans le but d'y accéder ou de court-circuiter les cavités nasales, le larynx et la partie crâniale de la trachée afin de faciliter le passage de l'air. La trachéotomie est souvent réalisée en tant que procédure d'urgence dans des conditions difficiles. Cet article décrit dans un premier temps l'anatomie, l'histologie et l'examen clinique de la trachée. Dans un second temps, il aborde les indications pour la trachéotomie temporaire, la technique chirurgicale ainsi que les risques associés.

INTRODUCTION

La trachéotomie est une des plus vieilles techniques opératoires décrite (Sosath, 2007). Il s'agit de l'incision de la trachée pour accéder à sa lumière dans le but de lever une obstruction (extraction de corps étranger), de collecter un échantillon ou de faciliter le passage de l'air. Dans la plupart des pathologies trachéales, une trachéotomie ne sera pas utile comme traitement final, mais lors d'obstruction des voies respiratoires supérieures ou de suffocation, la trachéotomie temporaire pourra sauver la vie de l'animal. Elle permet de mettre au repos les voies respiratoires supérieures de manière temporaire ou simplement de contourner une obstruction inopérable des voies respiratoires supérieures comme une chondrite bilatérale des cartilages aryénoïdes. On peut également la réaliser pour une intubation endotrachéale lors d'anesthésie générale si l'intubation de routine, nasotrachéale ou orotrachéale limite l'accès au champ opératoire. La trachéotomie temporaire est une technique simple, facile à réaliser, pouvant être faite dans des conditions difficiles. Néanmoins, il est impératif que le vétérinaire qui la réalise ait une connaissance parfaite

de l'anatomie, des indications, de la technique chirurgicale et des risques associés, ainsi que des complications que la procédure peut engendrer.

ANATOMIE

La trachée fait partie des structures permettant le passage de l'air lors de la respiration, tout comme les cavités nasales ou le larynx. C'est un tube cylindrique, légèrement aplati dans le sens dorso-ventral, qui fait suite au larynx et se termine par deux bronches principales dans la cavité thoracique. Elle comporte une portion cervicale (*Pars cervicalis*) et une portion thoracique (*Pars thoracica*) (Waibl, 2004). Dans la région cervicale, elle est entourée par une gaine de tissu conjonctif lâche (adventice). Elle est en rapport par sa face dorsale avec les muscles long de la tête (*M. longuscapitis*) et long du cou (*M. longuscolli*) et par sa face ventrale avec les muscles sterno-hyoïdiens et sterno-thyroïdiens (*M. sterno-hyoidei*, *M. sterno-thyroidei*). Le tiers proximal de sa partie cervicale est couvert, latéralement, par les muscles omo-hyoïdiens (*M. omo-hyoidei*) qui convergent vers le corps

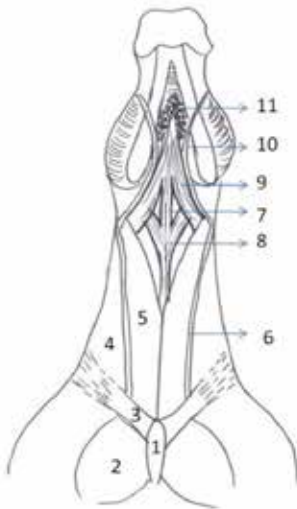
de l'hyoïde, tandis que sa portion distale est partiellement couverte par les muscles sterno-céphaliques (*M. sternocephalicus*) (figures 1a, 1b, 1c). L'œsophage longe d'abord la face dorsale de la trachée, puis, il se place sur sa face gauche jusqu'à l'entrée de la poitrine. La face latérale de la trachée est longée par l'artère carotide commune bordée dorsalement par le tronc vago-sympathique et un peu plus ventralement par le nerf laryngé caudal ou récurrent.

Chez le cheval la trachée mesure 75 cm en moyenne, son diamètre interne est de 6 à 7 cm de large sur 4 à 5 cm de haut. Elle se compose de 48 à 60 (52 en moyenne) anneaux cartilagineux (*Cartilagine tracheales*) (Waibl, 2004 ; Dyce *et al.*, 2010). Ces anneaux sont incomplets et sont constitués d'une mince lame de cartilage hyalin s'amincissant à ses extrémités. Ces extrémités peuvent légèrement se chevaucher ou se placer en regard l'une de l'autre. Elles sont réunies par un ligament annulaire (*Lig. anularia*) élastique au niveau de la face dorsale de la trachée. Ces ligaments forment une membrane fibro-élastique, qui entoure tous les anneaux trachéaux depuis le cartilage cricoïde du larynx jusqu'au

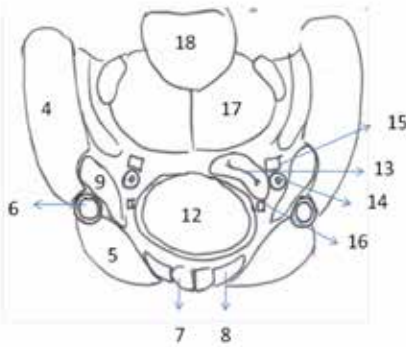
Figure 1 : 1a : vue ventrale du cou du cheval, **1b** : coupe transversale du cou du cheval dans la région cervicale moyenne, **1c**: dissection de la région cervicale moyenne

1. Manubrium sternal, 2. M. pectoral descendant, 3. M. cutané du cou, 4. M. brachio- céphalique, 5. M. sterno- céphalique, 6. veine jugulaire externe, 7. M. sterno-hyoidien, 8. M. sterno-thyroidien, 9. M. omo-hyoidien, 10. veine linguo-faciale, 11. noeud lymphatique mandibulaire, 12. trachée, 13. oesophage, 14. artère carotide commune, 15. tronc vago-sympathique, 16. nerf laryngé caudal (récurrent), 17 M. long du cou, 18. corps de la 4e vertèbre cervicale.

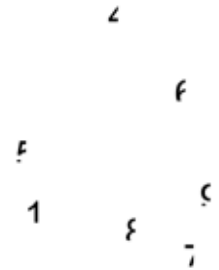
1a



1b



1c



niveau des bronches (figures 2a, 2b). Les anneaux cartilagineux confèrent à la trachée une certaine rigidité ; ils lui permettent de ne pas s'affaisser mais également de garder une certaine souplesse. Des variations de longueur et de calibre peuvent s'observer lors du cycle respiratoire ou lors de la toux.

Chez l'âne, la trachée compte 34 à 50 (43 en moyenne) anneaux cartilagineux, elle est aplatie dans le sens dorso-ventral, et présente très fréquemment des anomalies de forme des cartilages trachéaux ou des ligaments, avec un écart important entre les extrémités des anneaux, et une diminution de la surface interne, surtout entre les anneaux 15 à 30 (près de l'entrée du thorax) (Matthew *et al.*, 1997 ; Powell *et al.*, 2010). On retrouve également fréquemment ce problème chez les poneys miniatures.

seaux sanguins, des nerfs et un infiltrat lymphoïde important. Sous cette muqueuse, on trouve une sous-muqueuse composée de deux parties; une partie interne conjonctive, comprenant des glandes trachéales séreuses, et une partie externe constituée de cartilage hyalin formant les anneaux. Les extrémités des anneaux sont reliées par un muscle lisse, le muscle trachéal, et par des faisceaux de fibres collagènes et élastiques (*Lig. anularia*). Ces éléments s'insèrent sur le périchondre qui entoure les anneaux. L'adventice est constitué de tissu conjonctif, en continuité avec celui qui recouvre les

organes voisins. Dans la cavité thoracique, il se poursuit par la plèvre.

FONCTIONS DE LA TRACHÉE

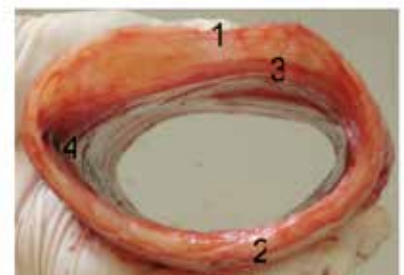
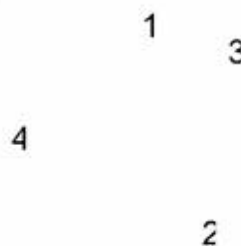
La trachée contribue au réchauffement et à l'humidification de l'air inspiré, grâce à sa vascularisation importante et aux sécrétions des glandes séreuses trachéales. Les particules en suspension dans l'air inspiré (par exemple les poussières, bactéries, virus) vont

Figure 2 : morphologie des anneaux cartilagineux. 2a planche anatomique, 2b photo

1. ligaments annulaire (*Lig. anularia*), 2. cartilage trachéal, 3. M. trachéal, 4. muqueuse trachéale.

Figure 2

a et b



HISTOLOGIE

L'épithélium de la trachée est pseudostratifié cilié (figure 3) (Banks, 1993). On y retrouve également des cellules caliciformes qui synthétisent le mucus. Sous l'épithélium, on trouve un chorion riche en fibres élastiques, qui contient de nombreux vais-

Figure 3 : histologie de la trachée chez le cheval.

1. épithélium pseudostratifié cilié, 2. cellules caliciformes, 3. muqueuse riche en fibres élastiques, vaisseaux sanguins, nerfs et cellules lymphoïdes, 4. partie interne conjonctive de la sous-muqueuse comprenant des glandes trachéales séreuses, 5. partie externe de la sous-muqueuse constituée de cartilage hyalin formant les anneaux trachéaux.

Figure 3



être captées par le film muco-ciliaire, qui, grâce aux battements des cils, va remonter vers le larynx et le pharynx pour y être dégluti. Des enzymes bactéricides sont également synthétisées par les glandes trachéales, et des anticorps sont produits par les lymphocytes présents en abondance au niveau du chorion. La trachée participe donc directement à la défense de l'organisme.

EXAMEN CLINIQUE DE LA TRACHÉE

Inspection

Dans un premier temps, il est important d'observer le cheval pour voir s'il souffre ou non de dyspnée (difficulté respiratoire) et d'évaluer l'urgence du problème.

Lors de détresse respiratoire importante, le cheval étend l'encolure et la tête, il montre une dilation des naseaux, des mouvements exagérés du thorax et de l'abdomen, ainsi qu'un regard anxieux. Dans certains cas, des sécrétions (séreuses, muqueuses, muco-purulentes, purulentes, hémor-

ragiques, alimentaires, mousseuses) sont visible au niveau des naseaux. Une cyanose des muqueuses est un signe de manque d'oxygène tissulaire sévère.

Dans ce cas, une prise en charge urgente est nécessaire afin d'éviter l'aggravation de la situation et le décès de l'animal suite à la détresse respiratoire.

Après s'être assuré que le problème ne se situe pas plutôt au niveau du larynx ou des cavités nasales et lorsque l'état clinique du cheval le permet (cheval stabilisé), une inspection plus spécifique de la trachée cervicale peut être réalisée. Elle inclut la recherche de signes de traumatisme visibles extérieurement, la présence d'un gonflement au niveau de l'encolure (emphysème, œdème, masse). Il faudra également vérifier, en particulier chez les poneys et les chevaux miniatures, qu'il n'y a pas de collapsus au niveau de la partie distale de la trachée cervicale (Aleman *et al.*, 2008). Celui-ci peut induire une respiration striduleuse pouvant éventuellement être confondue avec une obstruction des voies respiratoires supérieures mais pour lesquelles une trachéotomie

n'apportera aucune amélioration

Palpation de la trachée

Après l'inspection, la palpation de toute la trachée cervicale peut permettre de détecter de l'emphysème, de la douleur, de la chaleur, de l'œdème, ou une masse dans les tissus péri-trachéaux. Il est également important de vérifier la forme des anneaux trachéaux pour rechercher les formes anormales comme l'aplatissement dorso-ventral, le collapsus et la sténose de la trachée. Le réflexe trachéal est réalisé en pinçant les anneaux trachéaux entre les doigts. Il montre si le cheval a une sensibilité trachéale anormale. C'est un test aspécifique, qui est souvent positif lors de pathologie respiratoire.

Auscultation trachéale

L'auscultation trachéale peut se faire sur toute la longueur de la trachée cervicale, depuis le larynx jusqu'à l'entrée du thorax. L'auscultation permet d'entendre les bruits respiratoires normaux lors de l'inspiration et de l'expiration et parfois des sifflements (dans le cas de bronchoconstriction ou lors de diminution importante du diamètre de la trachée) et des crépitations (dans le cas où des sécrétions trachéales sont présentes). Pour mieux détecter la présence de sécrétions trachéales, il est préférable de placer le stéthoscope sur la trachée à l'entrée du thorax. À cet endroit, la trachée est à son niveau le plus ventral et les sécrétions s'y accumulent par gravité.

Examens complémentaires

L'**endoscopie** est l'examen complémentaire le plus utile pour examiner la trachée (figure 4). Il permet de visualiser la trachée cervicale et thoracique jusqu'aux divisions bronchiques. Le diamètre, l'aspect de la muqueuse, la présence de sécrétions, de masses ou de traumatismes sont vérifiés. De temps en temps des nodules trachéaux cartilagineux peuvent être observés, mais ce sont des trouvailles endoscopiques sans signification clinique. S'il y a présence de sécrétions ou de masses, un prélèvement (biopsie, lavage trachéal) est possible grâce à l'endoscope. Le lavage trachéal est aussi réalisable sans endoscope, par ponction trachéale.

La **radiographie** permet de visualiser la trachée cervicale et thoracique

Figure 4a et b : vue endoscopique de la trachée montrant la présence de mucus en grande quantité (a) et le collapsus du ligament annulaire (b) chez un poney.

Fig 4:



en vue latéro-latérale (profil). Cette technique ne permet pas la visualisation correcte des tissus péri-trachéaux. Elle permet l'observation du diamètre de la trachée, qui se réduit lors de sténose ou de compression (extramurale ou intramurale).

Il faut noter que cette technique donne une image statique de profil de la trachée et ne permet pas de visualiser une compression latéro-latérale de celle-ci. Dans le doute, l'utilisation d'un fluoroscope facilitera le suivi dynamique du diamètre de la trachée, c'est-à-dire durant l'inspiration et l'expiration.

L'échographie ne permet de visualiser que la trachée cervicale et les tissus péri-trachéaux. En raison de la présence de gaz à l'intérieur de la trachée et du blocage des ondes par le gaz, il est impossible de visualiser l'intérieur de la trachée.

Les nouvelles méthodes d'imagerie : le scanner (CT-scan : *computed tomography*), l'imagerie par résonance magnétique (IRM) et la scintigraphie sont des techniques d'imagerie en plein développement. Pour autant qu'elles soient mises à disposition, elles sont aussi utilisables pour examiner plus en détail la trachée chez le cheval.

Cependant, la plupart des systèmes IRM et scanner sont d'une taille insuffisante que pour visualiser le thorax et la partie thoracique de la trachée. Ces techniques sont donc uniquement applicables à la trachée cervicale.

INDICATIONS POUR LA TRACHÉOTOMIE

La plupart du temps, la trachéotomie temporaire est pratiquée comme procédure d'urgence lors d'obstruction des voies respiratoires supérieures (par exemple à la suite d'un corps étranger, d'une paralysie bilatérale des aryénoïdes, d'abcès au niveau des nœuds lymphatiques rétro-pharyngiens médiaux) (figure 5), lors de risque de suffocation (Turner et McIlwraith, 1989 ; Orsini et Kreuder, 2002). Lors de congestion nasale ou de collapsus pharyngien pendant la phase de réveil après une anesthésie générale, il est parfois nécessaire de pratiquer une trachéotomie d'urgence. Lors d'opération chirurgicale sur la tête ou le larynx, le cheval peut être intubé et ventilé via l'incision de trachéotomie (figure 6). Une trachéotomie temporaire peut être réalisée de manière occasionnelle en complé-

ment d'une intervention chirurgicale lorsqu'elle entraîne une gêne au niveau des cavités nasales ou du larynx (Turner et McIlwraith, 1989 ; Orsini et Kreuder, 2002).

TRACHÉOTOMIE TEMPORAIRE : PROCÉDURE

Dans un premier temps, un examen général du cheval est réalisé. Lorsque le statut de vaccination est inconnu, un sérum antitétanique doit être administré. Pour que la chirurgie puisse être réalisée sur animal debout, il faut au préalable mettre le cheval sous sédation à l'aide d'un α_2 -agoniste (par exemple la xylazine à 0,6 mg/kg). Néanmoins, la sédation est généralement contre-indiquée en raison du risque de collapsus respiratoire associé à la dyspnée. La trachéotomie d'urgence se déroule donc sous anesthésie locale.

Figure 5 : abcès au niveau des nœuds lymphatiques rétropharyngiens médiaux.



Figure 6 : trachéotomie pour ventiler un cheval lors d'une anesthésie générale.



Figure 7 : canules trachéales (a), canule trachéale de Pape (b); canule trachéale de Fields (c).

Fig 7a



Fig 7b



La trachéotomie peut aussi être réalisée sous anesthésie générale. Dans ce cas, le cheval est placé en décubitus dorsal ou latéral, le cou bien étiré pour que la trachée soit en évidence.

Sur cheval debout, en routine, la tête sera suspendue afin de permettre un accès aisé à l'encolure. Pour la réalisation d'une trachéotomie temporaire, le matériel nécessaire comprend de l'anesthésique local (environ 10 ml lidocaïne 2 %), un bistouri muni d'une lame #23 ou 10, une paire de ciseau Mayo, des pinces hémostatiques, des pinces Rochester, du fil de suture (monofilament non résorbable, par exemple polypropylène), des compresses et des gants stériles, et d'une canule trachéale stérile. La figure 7 illustre les différents types de canules trachéales. Dans les cas urgents, si aucune canule trachéale n'est à disposition, il est possible d'utiliser une seringue de 10 ou 20 ml à laquelle on a enlevé le cône et le piston comme canule de fortune. Durant la procédure, il faut être vigilant pour ne pas laisser tomber de matériel chirurgical dans la

trachée ni trop de sang ce qui n'est pas facile si le cheval inspire avec force.

Le site standard d'accès à la trachée pour une trachéotomie temporaire chez le cheval se situe à la jonction du tiers crânial et du tiers moyen de la région cervicale (figure 8a). À cet endroit, les cartilages trachéaux sont faciles d'accès et le risque de contamination post opératoire est moindre. Dans le cas d'une obstruction de la trachée, la trachéotomie doit évidemment être réalisée distalement par rapport à l'endroit d'obstruction. L'accès au tiers distal de la trachée nécessite la dissection des muscles sterno-céphalique, sterno-hyoïdiens et sterno-thyroïdiens.

La préparation du site chirurgical inclut successivement le repérage du site d'intérêt sur la face ventrale de la trachée, le rasage sur un carré de 10 cm de côté, la désinfection à l'aide d'isobétadine et d'alcool et l'infiltration de 10 ml d'anesthésique local en sous-cutané et en intra-musculaire (lido-

caine). Le chirurgien droitier se tient au niveau de l'épaule droite du cheval. Le cou du cheval est étiré au maximum. Le chirurgien fixe la trachée à l'aide de sa main gauche (figure 8b). Il réalise une incision de 6 cm de long à l'aide de son bistouri le long de la trachée en faisant très attention à bien rester centré pour éviter d'inciser la jugulaire, ce qui n'est pas évident lorsque le cheval se débat où qu'il se trouve coincé dans un box de réveil avec une encolure fléchie ou mal positionnée. Le tissu sous-cutané et les fascias des muscles sterno-hyoïdiens et sterno-thyroïdiens sont disséqués ; la trachée est dégagée par dissection mousse à l'aide des doigts ou à l'aide de ciseaux mayo. Une incision horizontale du ligament annulaire et de la muqueuse est réalisée à l'aide du bistouri entre deux cartilages trachéaux. Le ligament annulaire est ouvert sur environ 120° (au maximum 50 % de la surface). On fera bien attention à ne pas augmenter cette circonférence d'ouverture car cela génère un taux plus élevé de complications de cicatrisation dont le risque de collapsus de la trachée. De plus et particulièrement chez les chevaux âgés où la trachée a tendance à se décentrer, il faudra veiller à inciser dans le centre de la circonférence, sinon, il y a un risque plus élevé de collapsus trachéal. Quand la situation est dramatique, l'incision longitudinale de 2 anneaux cartilagineux est plus facile à réaliser même si le risque de complications postopératoires est plus élevé. Il faut à ce moment faire un choix entre laisser mourir le cheval, risquer d'inciser la jugulaire ou risquer plus de complications postopératoires.

Figure 8: 8a site standard d'accès à la trachée chez le cheval (entre le tiers crânial et le tiers moyen de la région cervicale), 8b le chirurgien droitier se tient au niveau de l'épaule droite du cheval et fixe la trachée à l'aide de sa main gauche, 8c et 8d la canule est introduite dans la trachée, en direction du poumon et est fixée.

Fig 8a



Fig 8b



Fig 8c, d



En cours de chirurgie, l'expiration du cheval peut provoquer l'expulsion de sécrétions ou de sang par l'ouverture chirurgicale. Il est préférable, dans la mesure du possible d'anticiper cette réaction. L'introduction du tube n'est pas toujours aisée, surtout dans les situations d'urgence. L'insertion d'une grande pince de Kelly ou Rochester permet d'ouvrir temporairement la trachée et de faciliter la respiration de l'animal. Une fois la phase de stress passée, le tube pourra alors être introduit. La canule est introduite dans la trachée, en direction distale et fixée à l'aide de rubans adhésifs ou d'une plaque à visser (en fonction du tube de trachéotomie utilisé) (figures 8c et 8d). Si l'incision de peau est trop grande, les bords peuvent être suturés à l'aide de quelques points réalisés avec un monofilament non résorbable (polypropylène).

SOINS POST-OPÉRATOIRES

Le cheval doit être mis sous antibiothérapie systémique et anti-inflammatoires non stéroïdiens en fonction de la pathologie primaire. La canule trachéale doit être nettoyée deux à trois fois par jour pour éviter qu'elle ne s'obstrue à cause des sécrétions. Il faut également enduire la peau de vaseline, autour de la plaie de trachéotomie pour la protéger des sécrétions et du risque d'inflammation. La canule de trachéotomie peut rester en place sept à 10 jours et moyennant des soins adéquats, peut même être utilisée pour de plus longues périodes.

Il est impératif de garder les animaux avec une trachéotomie dans des endroits propres et non poussiéreux. La barrière nasale et pharyngienne est court-circuitée et l'air est beaucoup moins filtré avant d'arriver dans les poumons. Une compresse dépliée avec de larges mailles peut être mise sur l'orifice afin de constituer une barrière pour de grosses particules. Ceci est particulièrement utile chez les poneys ou chez les poulains qui restent souvent couchés et sont donc plus proches des contaminants présents au niveau du sol. Pour la même raison, les chevaux qui possèdent une trachéotomie seront nourris au sol pour éviter que des poussières et des contaminants ne pénètrent par la trachéotomie lorsque l'animal se nourrit.

Quand la canule de trachéotomie n'est plus nécessaire, il faut, avant de l'enlever, boucher son orifice à l'aide de la main et s'assurer que le cheval reprend bien une respiration normale par les naseaux. Après l'enlèvement de la canule, la plaie cicatrisera par seconde intention en deux à trois semaines (figure 9). Pendant toute la durée de la phase de cicatrisation, la plaie doit être nettoyée une à deux fois par jour.

RISQUES ET COMPLICATIONS

Les risques de complication d'une trachéotomie temporaire sont liés à la cause primaire de la maladie du cheval. Les complications directes peuvent être l'infection de la peau, de l'emphysème (pouvant mener à un pneumothorax et/ou un pneumomédiastin) ou de l'œdème dans le voisinage de la plaie, ainsi que la formation d'abcès. Si la canule se bouche ou que le cheval l'enlève, il risque la suffocation si la cause primaire n'est pas résolue. Si l'on incise plus de la moitié du ligament annulaire, le cheval risque de développer une sténose de la trachée à cet endroit. La nécrose d'un cartilage peut survenir si un traumatisme a endommagé ce dernier. À l'endroit de la cicatrice sur la trachée, on peut retrouver des chondromes ou des granulomes au niveau de la muqueuse trachéale qui a été abîmée, qui vont diminuer le diamètre de la trachée et peuvent secondairement provoquer une sténose. La complication la plus fréquente de la trachéotomie est la pneumonie d'aspiration.

CONCLUSION

La trachéotomie temporaire peut être réalisée facilement en pratique sur cheval debout sous sédation, avec anesthésie locale. La trachéotomie d'urgence est souvent réalisée dans des conditions difficiles. Il faut tenir compte du risque plus élevé de complications pendant la chirurgie ainsi que pendant la période post-opératoire.

SUMMARY

TEMPORARY TRACHEOTOMY IN HORSES

Tracheotomy means the incision of the trachea with the aim to bypass the nasal area, larynx and cranial trachea. Tracheotomy is often performed as an emergency procedure under difficult conditions. This article firstly describes the anatomy, histology and clinical examination of the trachea in horses. Secondly, it gives the indications for temporary tracheotomy, surgical technique as well as associated risks.

Figure 9 : la plaie de trachéotomie cicatrisera par seconde intention en deux à trois semaines ; il faut éviter la formation d'un granulome cicatriciel.



BIBLIOGRAPHIE

- ALEMAN M., NIETO J.E., BENAK J., JOHNSON L.R. TRACHEAL collapse in American miniature horses: 13 cases (1985-2007). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2008, 233, 1302-1306.
- BANKS W.J. Respiratory system. In : Banks W.J. (Ed.), *Applied veterinary histology*. 3^e ed. Mosby : Saint Louis, 1993, 390-407.
- BUTT T.D., McDONALD D.G., CRAWFORD W.H., DECHANT J.E. Persistent right aortic arch in a yearling horse. *Can. Vet. J.*, 1998, 39, 714-715.
- COLLINS N.M., BARAKZAI S.Z., DIXON P.M. Tracheal obstruction by an eosinophilic polyp in a horse. *Equine Vet. Educ.*, 2005, 17, 128-131.
- COUMBE K. Kopfverletzungen. In : Dyson S. (Ed.), *Leitfaden für Notfallmedizin im Pferdesport*. FNverlag der Deutschen Reiterlichen Vereinigung GmbH : Warendorf, 1989, 89-102.
- DYCE K.M., SACK W.O., WENSING C.J.G. The head and ventral neck of the horse. In : Dyce K.M., Sack W.O., Wensing C.J.G. (Eds), *Textbook of veterinary anatomy*. 4^e ed. Saunders : Philadelphia, 2010b, 501-531.
- GEHLEN H., STADLER P., OHNESORGE B. Tracheal obstruction in a horse with oesophageal stenosis and diverticulum. *Equine Vet. Educ.*, 2005, 17, 132-134.
- GRNVOLD A.M.R., IHLER C.F., HANCHE-OLSEN S. Conservative treatment of tracheal perforation in a 13-year-old hunter stallion. *Equine Vet. Educ.*, 2005, 17, 142-145.
- MAIR T.S., LANE J.G. Diseases of the equine trachea. *Equine Vet. Educ.*, 2005, 17, 146-149.
- MATTHEWS N.S., TAYLOR T.S., HARTSFIELD S.H. Anaesthesia of donkeys and mules. *Equine Vet. Educ.*, 1997, 9, 198-200.
- ORSINI J.A., KREUDER C. Tracheotomy. In : Orsini J.A., Divers T.J. (Eds), *Manual of equine emergencies: treatment and procedures*. 2^e ed. W.B. Saunders : Philadelphia, 2002, 67-69.
- PALMERS K., VAN LOON G., JORISSEN M., VERDONCK F., CHIERS K., PICALET M.T., DEPREEZ P. Situs inversus totalis and primary ciliary dyskinesia (Kartagener's syndrome) in a horse. *J. Vet. Intern. Med.*, 2008, 22, 491-494.
- POWELL R.J., DU TOIT N., BURDEN F.A., DIXON P.M. Morphological study of tracheal shape in donkeys with and without tracheal obstruction. *Equine Vet. J.*, 2010, 42, 136-141.
- SAULEZ M.N., DZIKITI B., VOIGT A. Traumatic perforation of the trachea in two horses caused by orotracheal intubation. *Vet. Rec.*, 2009, 164, 719-722.
- SOSATH J. Die geschichtliche Entwicklung der perkutanen dilatativen Tracheotomieverfahren im historischen Kontext (PhD Thesis). Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald : Greifswald, 2007, 141 p.
- SPANTON J.A., HENDERSON I.S.F., KRUEDEWIG C., MAIR T.S. Tracheal rupture in a native pony mare associated with a condition resembling tracheobronchopatia osteochondroplastica. *Equine Vet. Educ.*, 2008, 20, 582-586.
- TURNER A.S., McILWRAITH C.W. Tracheotomy. In : Turner A.S., McIlwraith C.W. (Eds), *Techniques in large animal surgery*. 2^e ed. Lea & Febiger : Philadelphia, 1989, 219 p.
- WAIBL H. Luftröhre; Trachea. In : Nickel R., Schummer A., Seiferle E. (Eds), *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere*. Band II Eingeweide. 9^eed. Parey Verlag : Stuttgart, 2004, 257-258.

L'insuffisance mitrale chez le cheval : revue de la littérature et comparaison avec la pathologie chez l'homme et chez le chien

AL-HAIDAR A., LEROUX A., AMORY H.

Service de Médecine interne des Équidés, Département clinique des Animaux de Compagnie et des Équidés, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster, 20, bâtiment B41, 4000 Liège, Belgique

Correspondance : Prof. Hélène Amory E-mail : helene.amory@ulg.ac.be

RÉSUMÉ :

L'insuffisance mitrale (IM) est l'une des pathologies cardiaques les plus fréquemment rencontrées dans l'espèce équine. C'est, en outre, la pathologie valvulaire qui présente le plus de risque d'entraver les performances sportives, et d'évoluer en insuffisance cardiaque congestive (ICC), ce qui peut mettre en jeu la vie de l'animal affecté.

Le diagnostic clinique de l'IM dépend beaucoup l'expertise du vétérinaire en cardiologie et repose en grande partie sur l'auscultation cardiaque. Dans tous les cas, la confirmation du diagnostic et la gradation de la sévérité de la pathologie nécessite la réalisation d'une échocardiographie Doppler. La mise en évidence de signes de surcharge volumique du ventricule et/ou de l'oreillette gauche, d'un flux régurgitant important, d'une hypertension artérielle pulmonaire ou de dysrythmies significatives à l'échocardiographie est essentielle. Ces éléments constituent en effet des facteurs de pronostic défavorable. Ce dernier est aggravé si l'animal affecté présente de plus des signes cliniques d'ICC.

D'autres paramètres échocardiographiques sont utilisés chez l'homme ou le chien pour déterminer la sévérité de l'IM mais n'ont pas été validés chez le cheval.

Le traitement de l'IM dans l'espèce équine est symptomatique et dirigé contre le développement de l'ICC. De nombreux médicaments utilisés chez l'homme ou le chien ont une utilisation limitée chez le cheval en raison de leur coût prohibitif et/ou d'un manque de données quant à leur pharmacocinétique ou leur d'efficacité.

1. INTRODUCTION

Le cœur est un muscle creux formé de deux pompes fonctionnant en harmonie et permettant l'éjection du sang dans les artères pour perfuser les tissus périphériques (Colin, 1993). La fonction de cet organe est de répondre aux besoins vitaux métaboliques et en oxygène de l'organisme. Chez l'homme, l'incidence des pathologies cardiaques est non seulement élevée, mais continue d'augmenter constamment. Dès lors, les avancées considérables que connaît la cardiologie en matière de moyens de diagnostic et de traitement sont essentielles (Ghali *et al.*, 1990 ; Brand *et al.*, 1992 ; Singh *et al.*, 1999). Parmi les pathologies cardiaques qui

ont fait l'objet de nombreuses études récentes, l'insuffisance mitrale (IM) occupe une place importante (Conway *et al.*, 1998 ; Ahmad *et al.*, 2004 ; Miller *et al.*, 2011).

En comparaison aux autres espèces, les affections cardiaques sont relativement rares dans l'espèce équine (Geor et McCutcheon, 1996 ; Bonagura *et al.*, 2010). Cependant, chez les chevaux de sport de haut niveau, de légers dysfonctionnements cardiaques peuvent résulter en une diminution significative des capacités sportives de l'animal (Geor et McCutcheon, 1996 ; Bonagura *et al.*, 2010). Les pathologies cardiovasculaires constituent ainsi la troisième cause d'intolérance à l'effort chez le

cheval, après les pathologies du système locomoteur et du système respiratoire (Reef *et al.*, 1989 ; Morris et Seeherman, 1991). La cardiologie occupe donc une place importante en médecine équine (Geor et McCutcheon, 1996 ; Reef *et al.*, 1998 ; Blissitt, 1999 ; Durando, 2003 ; Young *et al.*, 2008 ; Imhasly *et al.*, 2010).

Les chevaux présentent fréquemment des anomalies cardiaques au repos tels que des souffles et des dysrythmies, mais ceux-ci peuvent être physiologiques et dès lors ne pas avoir d'impact sur les capacités athlétiques du cheval (Patteson et Cripps, 1993 ; Kriz *et al.*, 2000a). À l'inverse, certains dysfonctionnements cardiaques,

limitant la performance maximale du cheval, peuvent n'être que discrets voire non détectables au repos (Durando, 2003), étant donné l'importante réserve fonctionnelle cardiaque de cette espèce. Les signes cliniques d'une pathologie cardiaque ne se manifestent dès lors généralement qu'à un stade avancé de la pathologie (Geor et McCutcheon, 1996 ; Bonagura *et al.*, 2010), soit au repos (par exemple sous forme d'œdème périphérique), soit seulement à l'effort (par exemple sous forme d'intolérance à l'effort ou de détresse respiratoire induite par l'exercice). Pour toutes ces raisons, une évaluation scrupuleuse de la fonction cardiaque occupe donc une place importante de l'examen clinique d'un cheval présenté pour réduction des performances sportives ou intolérance à l'effort (Geor et McCutcheon, 1996 ; Blissitt, 1999).

Parmi les pathologies cardiaques affectant l'espèce équine, l'IM occupe une place importante (Bonagura et Herring, 1985 ; Patteson et Cripps, 1993 ; Patteson, 1996d ; Kriz *et al.*, 2000a ; Imhasly *et al.*, 2010). Elle constitue l'insuffisance valvulaire la plus fréquemment associée à de l'intolérance à l'effort (Geor et McCutcheon, 1996 ; Kriz *et al.*, 2000b) et qui est la plus à risque d'évoluer en insuffisance cardiaque congestive (ICC) (Reef, 1988 ; Marr *et al.*, 1990 ; Reef, 1991a ; Patteson, 1996d ; Kriz *et al.*, 2000b ; Marr, 2010a).

Le but de cet article de synthèse est de réaliser une revue de littérature sur l'étiologie, l'épidémiologie, la physiopathologie, les signes cliniques, le diagnostic et le traitement de l'IM dans l'espèce équine. Une comparaison des données les plus importantes sera en outre faite sur cette pathologie en médecine équine et canine.

2. ANATOMIE DE L'APPAREIL MITRAL

L'appareil mitral se compose de plusieurs parties : (i) l'anneau mitral, (ii) les feuillets mitraux, dont le feuillet antérieur (septal en médecine vétérinaire) et le feuillet postérieur (pariétal en médecine vétérinaire), (iii) les muscles papillaires, dont le muscle papillaire postérieur (subatrial en médecine vétérinaire) et le muscle papillaire antérieur (subauriculaire en médecine vétérinaire), (iv) les cor-

dages tendineux, et (v) la portion de la paroi du ventricule qui supporte cet appareil.

L'anneau mitral est une structure complexe tridimensionnelle qui fait partie du squelette fibreux cardiaque. Les feuillets mitraux sont au nombre de deux et sont appelés respectivement feuillet (ou cuspidé) septal (dit antérieur ou *cuspidanterior* chez l'homme) et pariétal (dit postérieur ou *cuspidposterior* chez l'homme). Ces deux feuillets ressemblent à une couronne à six pétales (trois chacun). Le ventricule gauche comporte deux muscles papillaires : le muscle papillaire subatrial (dit postérieur chez l'homme) et le muscle papillaire subauriculaire (dit antérieur chez l'homme). Chaque muscle se termine par plusieurs têtes d'où partent les cordages qui s'attachent aux feuillets mitraux et les supportent. Ces cordages sont de taille variable, les cordages majeurs (les plus gros) supportant les extrémités des feuillets, tandis que les cordages mineurs (moins gros) supportent plutôt les parties basales des feuillets (Patteson, 1996c). En cas d'anomalie au niveau de n'importe quelle partie de la mitrale, c'est l'ensemble de l'appareil mitral qui est sollicité (Armstrong et Ryan, 2010a).

3. ETIOLOGIE DE L'INSUFFISANCE MITRALE

L'IM peut être due à une maladie primaire de la valve mitrale (on parle alors d'IM organique) ou se produire secondairement à une anomalie de fonctionnement de l'anneau mitral en l'absence de dommage au niveau de la valve (on parle alors d'IM fonctionnelle). Ce dernier est le plus souvent causé par une dilatation du ventricule et/ou de l'oreillette gauche, qui induisent une distorsion de l'anneau mitral, ou par une cardiomyopathie ischémique de la paroi postérieure du ventricule gauche et/ou du muscle papillaire, ce qui se rencontre principalement chez l'homme (Ahmed *et al.*, 2009).

Chez l'homme, de nombreuses causes d'IM organique ont été identifiées et incluent des causes inflammatoires (endocardite rhumatismale, lupus), dégénératives (dégénérescence myxomateuse,

maladie du collagène vasculaire, syndrome de Marfan ou de Ehlers-Danlos), infectieuses (endocardite bactérienne), structurelles (rupture de cordages) ou encore congénitales (Paulus et Aurigemma, 2004 ; Ahmed *et al.*, 2009). Les IM fonctionnelles causées par des cardiomyopathies ischémiques sont associées à un ou plusieurs infarctus myocardiques incluant le myocarde basal postéro-latéral, suivis par un remodelage progressif du ventricule gauche, ce qui induit un déséquilibre progressif entre les forces de traction appliquées sur les feuillets de la valve mitrale (dilatation de l'anneau mitral, dilatation du ventricule gauche, déplacement latéral et apical d'un ou des deux muscles papillaires) et les forces de fermeture de la valve mitrale (contraction du ventricule gauche et de l'anneau mitral, asynchronisme intra-ventriculaire et des muscles papillaires) (Llaneras *et al.*, 1993 ; Ahmed *et al.*, 2009).

Dans l'espèce équine, peu d'étiologies de l'IM ont été identifiées avec certitude. Dans la plupart des cas, une dégénérescence myxomateuse est identifiée, bien que l'étiologie exacte des modifications observées n'est en général pas établie (Bonagura et Herring, 1985 ; Patteson, 1996d). Dans certains rares cas, l'IM peut être causée par une endocardite bactérienne, par une rupture de cordages associée aux lésions dégénératives de la valve mitrale, ou à une dysplasie valvulaire congénitale (Brown *et al.*, 1983 ; Bonagura et Herring, 1985 ; Reef, 1987 ; Marr *et al.*, 1990).

4. EPIDÉMIOLOGIE DE L'INSUFFISANCE MITRALE

Plusieurs études ont rapporté la prévalence de l'IM chez les chevaux. Ainsi, il a été rapporté que 1,2 à 9 % des pur-sang utilisés en course présentent à l'auscultation cardiaque un souffle suggestif d'une IM (Patteson et Cripps, 1993 ; Kriz *et al.*, 2000a ; Young et Wood, 2000 ; Young *et al.*, 2008 ; Stevens *et al.*, 2009). D'autre part, il a été démontré dans une étude que chez 35 % des chevaux référés pour évaluation d'une insuffisance valvulaire, c'est la valve mitrale qui était affectée (Marr, 2010a). En outre,

des études écho-cardiographiques ont montré que 26 à 68 % des chevaux sont porteurs d'IM cliniquement non significative (Blissitt et Bonagura, 1995 ; Marr et Reef, 1995).

L'incidence de l'IM semble augmenter avec l'âge, car les IM sont surtout rapportées chez les chevaux d'un âge moyen à avancé (Patteson et Cripps, 1993 ; Young et Wood, 2000 ; Maurin *et al.*, 2003 ; Young *et al.*, 2008 ; Stevens *et al.*, 2009). À notre connaissance, un effet du sexe ou de la race n'a jamais été démontré statistiquement chez le cheval.

5. PATHOPHYSIOLOGIE DE L'INSUFFISANCE MITRALE

En cas d'IM, une portion du volume d'éjection est, lors de chaque systole ventriculaire, régurgitée vers l'oreillette gauche, dont la pression est inférieure à la pression régnant dans le ventricule gauche. Les conséquences de cette régurgitation sont (i) une élévation de la pression et du volume de l'oreillette gauche, (ii) une diminution du volume d'éjection vers le réseau artériel et, de là, du débit cardiaque, et (iii) une surcharge volumique du ventricule gauche, due au retour en diastole du volume régurgité vers l'oreillette gauche en systole (Miller *et al.*, 2011).

La surcharge volumique du ventricule gauche induit un étirement des sarcomères, ce qui, en vertu de la loi de Starling, résulte en une augmentation de leur force de contraction pour éjecter le volume sanguin additionnel. Ce mécanisme permet au cœur d'augmenter le volume d'éjection systolique. Cependant, il est limité en durée et en efficacité : il ne peut ainsi résulter qu'en une augmentation maximale de 30 à 40 % du volume d'éjection systolique (Kittleson et Kienle, 1998a). Une série de mécanismes adaptatifs additionnels sont activés par la chute du débit cardiaque. L'organisme, et spécialement les reins, réagissent à la diminution du flux sanguin par une activation de nombreux mécanismes neuro-hormonaux complexes. On peut les diviser en deux grands groupes :

ceux, défavorables (les « *bad guys* »), qui induisent une vasoconstriction,

une rétention d'eau et de sodium, et un remodelage myocardique (hypertrophie, fibrose). Ils incluent principalement les catécholamines (adrénaline et noradrénaline), le système rénine-angiotensine-aldostérone, la vasopressine, et l'endothéline-1 ;

ceux, favorables (les « *good guys* »), qui résultent en une vasodilatation, une diminution de la rétention d'eau et de sodium, et inhibent la croissance myocardique. Ils incluent principalement l'*atrial natriuretic peptide* (ANP), le *brain natriuretic peptide* (BNP), l'oxyde d'azote (NO), et les prostaglandines.

L'un des effets globaux majeurs de l'activation de ces mécanismes est, via la rétention d'eau et de sodium, une augmentation du volume sanguin et du retour veineux au cœur. L'étirement des sarcomères, conséquence de l'association du volume de régurgitation et de l'augmentation du volume sanguin, induit directement et indirectement une hypertrophie excentrique (Kittleson et Kienle, 1998a). Dans ce processus, l'hypertrophie des myocytes est causée par la réplication des sarcomères en série (de bout à bout), ce qui résulte en des myocytes plus longs et en une chambre cardiaque dilatée. L'hypertrophie excentrique est donc caractérisée par une augmentation du volume du ventricule avec une épaisseur de parois relativement normale. Cette augmentation du volume ventriculaire peut, dans les cas d'hypertrophie excentrique chronique, atteindre jusqu'à 200 %, ce qui est donc beaucoup plus élevé que la distension du volume ventriculaire atteinte par le mécanisme de Starling. Cependant, comme pour ce dernier, ce mécanisme a aussi des limites : quand la pathologie devient plus sévère, le cœur atteint un niveau de dilatation tel qu'il ne peut plus augmenter son volume au-delà. La tension de paroi ventriculaire augmente alors en parallèle à l'augmentation du volume ventriculaire, comme décrit par la loi de Laplace, avec pour corolaire une augmentation de la consommation en oxygène par le myocarde (Kittleson et Kienle, 1998a). L'effet bénéfique initial de l'hypertrophie myocardique aboutit finalement à des effets délétères sur la fonction cardiaque systolique et diastolique (Patteson, 1996a ; Kittleson et Kienle, 1998a). De plus, dans les cas avancés d'hypertrophie excentrique,

de la fibrose myocardique commence à s'installer. Une défaillance myocardique peut apparaître et accélérer le processus d'insuffisance cardiaque. Dès lors, quand la pression en fin de diastole dépasse le seuil de 20 mmHg, les sarcomères sont étirés à leur maximum, et le ventricule ne dispose plus de réserve en pré-charge. Tous ces facteurs contribuent à entraîner une chute du débit cardiaque, mais étant donné que les mécanismes de rétention d'eau et de sels sont toujours stimulés, le volume sanguin continue à augmenter. Attendu que les capacités de dilatation du cœur ont atteint leur maximum à ce stade, l'augmentation du volume sanguin en diastole se traduit par une augmentation de la pression ventriculaire diastolique. Par conséquent, une augmentation de la pression hydrostatique s'installe en amont du cœur gauche, à savoir dans les capillaires pulmonaires ce qui cause une augmentation de la transsudation des fluides vers le tissu pulmonaire puis dans les alvéoles pulmonaires (Bonagura et Herring, 1985 ; Reef, 1995 ; Patteson, 1996a). L'augmentation de pression capillaire pulmonaire peut secondairement entraîner une augmentation de pression artérielle pulmonaire appelée hypertension artérielle pulmonaire post-capillaire, responsable d'une augmentation de la post-charge cardiaque droite puis éventuellement d'une défaillance cardiaque droite et d'une augmentation de pression dans le réseau veineux systémique. Cliniquement, les signes de décompensation cardiaque droite surviennent avant les signes d'œdème pulmonaire chez les chevaux, ce qui représente une spécificité propre à cette espèce (Patteson, 1996a).

La sévérité de l'IM peut être estimée sur base de plusieurs facteurs : (i) le volume de l'orifice mitral pendant la régurgitation, (ii) le gradient de pression systolique régnant entre le ventricule et l'oreillette gauche, (iii) la résistance systémique opposée au flux sanguin éjecté par le ventricule gauche, (iv) la compliance de l'oreillette gauche, et (v) la durée de la régurgitation à chaque contraction (Miller *et al.*, 2011).

En cas d'IM aigüe, comme par exemple la rupture de cordages majeurs, une élévation brutale de pression se produit dans l'oreillette gauche qui, attendu le caractère aigu du phénomène, ne peut adapter sa compliance à la

surcharge volumique étreagit dès lors comme une cavité relativement rigide. De plus, attendu que dans le cœur gauche règnent des pressions élevées, c'est vers le réseau pulmonaire que se transmet l'hypertension provoquée par la régurgitation aigüe. Par conséquent, une congestion et un œdème pulmonaire aigus s'installent et peuvent entraîner la mort subite de l'animal atteint (Bonagura, 1990 ; Marr *et al.*, 1990 ; Marr et Reef, 1995 ; Patteson, 1996a ; Miller *et al.*, 2011).

Par contre, dans le cas du développement progressif et chronique d'une IM (le cas le plus souvent rencontré dans l'espèce équine), contrairement à l'IM aigüe, la compliance de l'oreillette gauche s'adapte à l'augmentation progressive de la surcharge volumique de l'oreillette gauche, et celle-ci se dilate lentement (souvent sur plusieurs années) avec l'évolution de la pathologie, ce qui la prédispose, dans les stades avancés, à la fibrillation auriculaire (Patteson 1996d ; Reef *et al.*, 2008 ; Young *et al.*, 2008 ; Bonagura *et al.*, 2010)

6. SIGNES CLINIQUES DE L'INSUFFISANCE MITRALE

Plusieurs éléments de l'anamnèse peuvent être utiles pour établir le diagnostic ou le pronostic d'une IM. Ainsi par exemple, il est utile de prendre en considération l'âge et la race du cheval, son statut d'entraînement, le niveau des performances réalisées ou attendues, et le degré de tolérance à cet effort, ainsi que l'historique de la pathologie cardiaque et de la réponse aux traitements éventuellement déjà administrés (Patteson, 1996b ; Young et Wood, 2000 ; Young *et al.*, 2008 ; Stevens *et al.*, 2009).

L'IM est associée à un souffle holo-à pan-systolique, en plateau, dont le point d'intensité maximale est situé en apex cardiaque à gauche, irradiant dorsalement et cranialement vers la base du cœur, de caractère doux à rugueux, et d'un grade le plus souvent situé entre III et VI/VI (Bonagura, 1990 ; Geor et McCutcheon, 1996 ; Patteson, 1996b ; Kriz *et al.*, 2000b ; Maurin *et al.*, 2003). Néanmoins, en cas de prolapsus de la valve mitral, le souffle est plutôt méso à télé-systolique et de type crescendo (Marr *et al.*,

Tableau I : diagnostic différentiel des œdèmes déclives chez le cheval (d'après Fregin, 1992 ; Geor et McCutcheon, 1996 ; Mitten, 1996 ; Hiriga et Kubo, 1999 ; Kriz *et al.*, 2000b).

Pathologie cardiaque avec insuffisance cardiaque congestive

Insuffisance mitrale
Insuffisance aortique
Insuffisance tricuspide
Pathologie du myocarde : myocardite, cardiomyopathie
Effusion péricardique, péricardite
Endocardite
Pathologie cardiaque congénitale
Fibrillation auriculaire chronique

Hypoprotéïnémie

Malnutrition, problèmes dentaires, dysphagie
Pathologies digestives associées à des pertes de protéines
Fièvre, néoplasme, stimulation antigénique chronique
Hémodilution (secondaire à une hémorragie ou iatrogène)
Insuffisance hépatique chronique
Insuffisance rénale chronique
Effusion thoracique ou abdominale

Inflammation ou trauma

Abcès
Traumatisme
Fracture
Lymphangite, cellulite, stéatite
Vasculite (artérite virale, anémie infectieuse, ehrlichiose, purpura hémorragique...)

Obstruction veineuse ou lymphatique locale

Tumeur
Abcès
Trauma
Cellulite
Œdème de fin de gestation (jument)
Immobilité (œdème de box)
Pleurésie ± péricardite
Masse intra-thoracique
Thrombophlébite, Coagulation intravasculaire disséminée

1990 ; Kriz *et al.*, 2000b). Le grade du souffle associé à une IM donne souvent une idée approximative de l'importance de la régurgitation, bien que ce ne soit pas toujours vrai: ainsi, par exemple, lorsque l'insuffisance évolue en ICC, l'intensité avec laquelle le souffle est entendu peut diminuer (Geor et McCutcheon, 1996 ; Kriz *et al.*, 2000b). Sur ces cas, il faut être attentif aux autres critères de détermination du grade du souffle, comme par exemple sa zone d'irradiation.

L'IM peut être totalement asymptomatique si ce n'est la présence d'un souffle à l'auscultation cardiaque (Maurin *et al.*, 2003). Cependant, la mise en évidence d'un souffle suggestif d'une IM doit toujours être

considérée comme significative sur un cheval asymptomatique, car cette pathologie peut évoluer progressivement et conduire, dans un délai souvent difficilement prédictible, à une diminution des performances athlétiques, voire même à une ICC (Patteson, 1996d). Dans un tel cas, l'objectif de l'examen sera d'établir un état des lieux des répercussions de l'IM sur la morphologie et la fonction cardiaque, et de conseiller un suivi cardiaque régulier pour surveiller l'évolution de la pathologie.

Quand l'IM se manifeste cliniquement, le début est le plus souvent insidieux, avec une augmentation de l'effort respiratoire après exercice et un prolongement de la période de récu-

pération (Patteson, 1996d ; Maurin *et al.*, 2003). Ce stade peut aisément être confondu avec un manque de condition physique. Cependant, le manque de condition physique peut être différencié de la présence d'une pathologie cardiaque significative par la durée de l'effort respiratoire après arrêt de l'exercice : dans le cas d'un manque de condition physique, elle ne durera que quelques minutes, alors qu'en cas de pathologie cardiaque significative, elle peut se prolonger jusqu'à 10 à 30 minutes (Patteson, 1996d). Bien entendu, il faut également considérer la potentialité de la présence d'une pathologie respiratoire dans le diagnostic différentiel d'un tel cas.

Lorsqu'elle est d'apparition soudaine, comme par exemple en cas de rupture d'un ou de plusieurs cordages majeurs, l'IM induit un œdème pulmonaire aigu, se manifestant par un jetage avec mousse, une détresse respiratoire, de la toux et un pouls d'amplitude faible. Dans le cas particulier d'une rupture de cordage(s), l'intensité des symptômes dépendra cependant de l'importance du ou des cordage(s) rupturé(s).

L'IM peut évoluer ensuite à une vitesse variable en ICC gauche, avec développement de dyspnée et d'œdème interstitiel puis pulmonaire (mais ce stade est souvent non remarqué par le propriétaire ou cavalier), puis en ICC droite, avec développement d'œdèmes déclives, d'un pouls jugulaire, et d'une altération de la circulation périphérique (Fregin, 1992 ; Geor et McCutcheon, 1996 ; Mitten, 1996 ; Hiriga et Kubo, 1999 ; Kriz *et al.*, 2000b). Les signes d'ICC droite sont cependant en général mieux détectés que les signes d'hypertension du réseau pulmonaire. Lorsque se sont surtout les œdèmes déclives qui se manifestent, il est important de prendre en considération les autres causes potentielles d'œdème dont le diagnostic différentiel est synthétisé dans le tableau I.

De façon parfois déroutante, l'IM peut être accompagnée d'hyperthermie, qui pourrait être due à la pathologie cardiaque elle-même ou à une infection respiratoire secondaire (Reef *et al.*, 1998 ; Maurin *et al.*, 2003). Des dysrythmies (le plus souvent de la fibrillation auriculaire) ou, plus rarement, de l'hémorragie pulmonaire induite par l'exercice peuvent également accompagner la pathologie aux

stades avancés (Geor et McCutcheon, 1996 ; Kriz *et al.*, 2000b ; Maurin *et al.*, 2003). Si l'IM s'installe de façon aiguë, comme, par exemple en cas de rupture de cordage tendineux, la détresse respiratoire prédomine dans le tableau clinique avec présence de polypnée, de dyspnée, d'un œdème pulmonaire, de faiblesse et éventuellement de syncopes (Patteson, 1996d ; Kriz *et al.*, 2000b).

7. EXAMENS COMPLÉMENTAIRES DE L'INSUFFISANCE MITRALE

Dans tous les cas où l'auscultation a mis en évidence un souffle suggestif d'une IM, il est impératif d'en vérifier la présence et d'en évaluer la sévérité sur base d'examen complémentaires. Parmi ceux-ci, l'échocardiographie-Doppler occupe sans nul doute une place prépondérante.

7.1. Echocardiographie

Pour confirmer la présence et déterminer la sévérité de l'IM, il est indispensable de combiner les différents modes de l'examen échocardiographique, à savoir le mode bidimensionnel (2D), temps-mouvement (TM), et Doppler pulsé, continu et couleur.

7.1.1. Evaluation en mode 2D et TM

7.1.1.1. Evaluation de l'apparence et du mouvement de la valve mitrale

Lésions dégénératives de la valve mitrale

Le plus souvent, l'IM se développe secondairement à une pathologie dégénérative de type myxomateux qui cause des changements structuraux au niveau des feuillets de la valve mitrale. Ces modifications peuvent être détectées en échocardiographie 2D et TM (Patteson, 1996d ; Maurin *et al.*, 2003). Dans les stades précoces, les lésions dégénératives sont lisses, mais avec le temps, elles s'élargissent et deviennent de plus en plus irrégulières et peuvent même adopter une forme nodulaire (Bonagura et Herring, 1985).

Pour détecter et correctement évaluer les lésions dégénératives en échocardiographie 2D, il est important de

bien adapter le gain, la profondeur, la position et l'orientation de la sonde. Il est aussi conseillé d'examiner la valve mitrale dans plusieurs vues (selon le long et le petit axe, et depuis l'hémi-thorax gauche et droit) et à la fois en mode 2D et TM (Patteson, 1996d). De plus, il est conseillé de comparer les feuillets de la valve mitrale avec des structures situées à la même profondeur, comme par exemple l'endocard. Normalement, les épaisseurs de ces deux structures doivent être comparables (Shah, 1994). À ce stade, l'échocardiographiste doit être attentif à ne pas confondre les attachements des cordages aux feuillets avec des lésions.

En mode TM, les feuillets de la valve mitrale qui ont subi des remaniements nodulaires se manifestent comme des lignes épaisses et irrégulières. En outre, une vibration systolique des feuillets peut parfois être détectée (Bonagura et Herring, 1985). Néanmoins, si les lésions sont épaisses, elles peuvent masquer ces vibrations (Boon, 2011).

Rupture des cordages

La plupart des cas de rupture des cordages sont associés à une pathologie dégénérative de la valve qui peut être visualisée à l'échocardiographie 2D ou TM comme décrit ci-dessus (Reef, 1987 ; Marr *et al.*, 1990). Parfois, ils sont associés à des lésions végétatives comme, par exemple, en cas d'endocardite bactérienne (Reef, 1987 ; Reef *et al.*, 1998). Dans de rares cas, la rupture des cordages peut cependant être spontanée et idiopathique, sans lésion détectable sur la valve ou les cordages (Brown *et al.*, 1983 ; Holmes et Miller, 1984). La rupture peut atteindre un ou plusieurs cordages de l'un ou des deux feuillets de la valve mitrale (Reef, 1987).

La rupture d'un ou de plusieurs cordages peut se manifester par un prolapsus du feuillet de la valve mitrale affecté, mais celui-ci n'est pas toujours aisé à détecter (Marr *et al.*, 1990). Un mouvement chaotique de ce dernier peut être observé en systole et en diastole (Bonagura et Herring, 1985 ; Reef, 1987). D'autre part, le feuillet et le cordage affectés peuvent être épaissis ou présenter des lésions végétatives. De plus, les cordages rompus sont parfois visualisés dans l'oreillette gauche pendant la systole (Reef, 1987).

Mouvements de la valve mitrale

En cas de prolapsus de la valvule mitrale, qui est fréquent chez les chevaux, un ou les deux feuillets de la valve mitrale présentent un mouvement anormal de leur bord libre en direction de l'oreillette gauche pendant la systole (Reef, 1995). Cette anomalie se détecte le mieux dans la vue parasternale droite long axe 2D du tractus d'éjection du ventricule gauche (vue 5 cavités), ou dans une vue parasternale gauche long axe 2D quatre cavités, inclinées de telle sorte que l'oreillette gauche est positionnée le plus verticalement possible et dans lesquelles on voit que le point de coaptation (d'affrontement) des valves se fait sous le plan de l'anneau (qui est déterminé par la ligne reliant les deux points d'attache des feuillets de la valve mitrale sur les parois) (Patteson 1996 ; Boon, 2011).

Dans les cas d'IM chroniques sévères, un mouvement anormal « en fléau » (*flail valve*) des feuillets de la valve mitrale est détecté (Patteson, 1996d).

7.1.1.2. Détection de signes de surcharge volumique

L'évaluation du degré de surcharge volumique est un indicateur d'ICC utile pour évaluer la sévérité de l'IM et peut facilement être évalué par échocardiographie.

Dans les cas où aucun signe de surcharge volumique n'est présent, la signification clinique à donner à l'IM au moment de l'examen est peu importante. Cependant, il faut rester prudent dans cette interprétation car cela ne permet pas de prédire comment l'IM va évoluer (Patteson, 1996c).

Dans les cas où une surcharge volumique s'installe mais est encore à un stade compensé, elle sera détectée par une augmentation du diamètre et du volume du ventricule gauche en diastole et du diamètre de l'oreillette gauche (Reef, 1987 ; Maurin *et al.*, 2003 ; Young, 2004). Le diamètre interne du ventricule gauche en fin diastole, qui mesure entre 8 et 13 cm chez les chevaux adultes sains (Lescure et Tamzali, 1984 ; Bonagura et Herring, 1985 ; Reef, 1990a), peut, dans les cas d'IM sévère avec surcharge volumique, atteindre des valeurs de

16 à 20 cm (Reef, 1995). Le diamètre interne de l'oreillette gauche, qui chez les chevaux adultes sains ne doit normalement pas accéder 13,5 cm en fin de diastole (Reef, 1990a), peut quant à lui s'élever jusqu'à 16 à 23 cm chez les chevaux en IM sévère, avec une apparence globuleuse (Reef, 1995). En outre, il a récemment été démontré que 28 % (soit 37 parmi 132 chevaux) présentant une IM avaient l'oreillette gauche dilatée (diamètre interne de l'oreillette gauche > 13,5 cm) (Gehlen, 2007).

Selon Patteson (1996c), un pur-sang anglais adulte avec IM et dont le diamètre interne du ventricule et de l'oreillette gauches dépassent respectivement 14,5 et 15 cm a peu de chances de réaliser des performances normales en compétition, et si ces diamètres s'élèvent à respectivement plus de 15,5 et 16 cm, il est déconseillé de l'utiliser sous la selle. Ces seuils de dimensions sont cependant à interpréter en tenant compte d'autres critères et ne sont probablement pas transposables à d'autres races.

Au fur et à mesure de sa dilatation, le ventricule gauche adopte une forme globuleuse avec un apex arrondi, tout en conservant des épaisseurs de paroi normales. De plus, une augmentation de la fraction de raccourcissement et de la fraction d'éjection du ventricule gauche est observée et résulte en une impression d'hyperkinésie des parois ventriculaires (Bonagura et Herring, 1985 ; Patteson, 1996d ; Kittleson et Kienle, 1998b ; Armstrong et Ryan, 2010a ; Boon, 2011).

Le diamètre du ventricule gauche et l'épaisseur des parois sont le mieux évalués dans une vue parasternale droite petit axe TM du ventricule gauche à hauteur des cordages tendineux (Reef *et al.*, 1998 ; Kriz *et al.*, 2000a ; Al Haidar *et al.*, 2010). Par contre, la forme globuleuse du ventricule gauche s'observe le mieux dans la vue parasternale droite long axe 2D quatre cavités, et le diamètre de l'oreillette gauche sera préférentiellement mesuré dans la vue parasternale gauche long axe 2D quatre cavités inclinée de telle sorte à maximiser le diamètre auriculaire (Patteson, 1996d ; Al Haidar *et al.*, 2010). Il a cependant été récemment démontré qu'il est mesuré avec plus de fiabilité dans une vue parasternale droite long

axe quatre cavités (Schwarzwald *et al.*, 2007). Attendu que la taille de l'oreillette est, comme les autres paramètres morphologiques cardiaques, étroitement corrélée à la taille corporelle, l'utilisation du ratio entre le diamètre interne de l'oreillette gauche et celui de l'aorte, un paramètre indépendant de la taille corporelle (Al Haidar *et al.*, 2012) a été suggéré par certains auteurs pour détecter avec plus de précision une dilatation de l'oreillette gauche. Cependant, le rapport entre le diamètre de l'aorte au niveau de la racine aortique et l'appendice obtenus en échocardiographie TM n'était pas sensible pour détecter la dilatation de l'oreillette gauche en cas de l'IM légère et modérée. Par contre, le rapport obtenu à partir des mesures obtenues en échocardiographie 2D semble plus utile (Reef *et al.*, 1998).

Il faut prendre garde à ne pas sous-estimer l'importance d'une IM lorsque le jet de régurgitation est sévère au Doppler mais non accompagné d'une dilatation de l'oreillette ou du ventricule gauche. Ce genre de situation peut, en effet, être rencontré dans les cas aigus qui évoluent souvent rapidement négativement (Reef *et al.*, 1998 ; Marr, 2010a).

Dans les stades décompensés, quand une défaillance myocardique s'installe, le diamètre et le volume du ventricule gauche en fin de systole, la fraction de raccourcissement et d'éjection du ventricule gauche, et l'épaisseur des parois diminuent. À ce stade, une hypokinésie des parois ventriculaires est alors observée (Bonagura et Herring, 1985 ; Reef, 1987 ; Bonagura, 1990 ; Patteson, 1996d ; Kittleson et Kienle, 1998b ; Maurin *et al.*, 2003).

Dans les cas d'IM, il est utile de mesurer le diamètre de l'artère pulmonaire mesurable en échocardiographie 2D dans la vue parasternale droite au niveau de la base du cœur car, lorsque ce dernier est augmenté, une hypertension artérielle pulmonaire déjà bien installée est fortement suspectée (Patteson, 1996d ; Maurin *et al.*, 2003 ; Marr, 2010a). Attendu que des cas de mort subite dus à des ruptures de l'artère pulmonaire ont été rapportés, certains auteurs déconseillent l'utilisation de ces chevaux sous la selle (Patteson, 1996d).

En outre, un mouvement anormal de la valve aortique peut être détecté en échocardiographie TM. En effet, la boîte aortique présente une forme triangulaire au lieu de la forme rectangulaire normale pendant la systole à cause l'hypertension systémique (Lewis *et al.*, 1979).

7.1.2. Evaluation en mode Doppler couleur

7.1.2.1. Evaluation de la taille du jet de la régurgitation mitrale

La taille de la régurgitation mitrale dans l'oreillette gauche est le plus facilement mesurable en mode Doppler couleur (Armstrong et Ryan, 2010a). Cette mesure permet une évaluation de la sévérité de l'IM (Reef, 1988; Gatewood *et al.*, 1989 ; Marr *et al.*, 1990 ; Armstrong et Ryan, 2010a). En général, en médecine vétérinaire, une méthode semi-quantitative est utilisée et consiste en trois grades dont les critères varient un peu selon les auteurs. L'un des systèmes utilisés se base sur les critères suivants : l'IM dont la surface occupe moins de 20 % de la surface de l'oreillette gauche est considérée comme légère, celle dont la surface occupe entre 20 % et 50 % de la surface de l'oreillette gauche est considérée comme modérée, et celle occupant plus de 50 % la surface de l'oreillette gauche est considérée comme sévère (Boon, 2011). Pour d'autres auteurs, l'IM est classée en légère, modérée ou sévère selon qu'elle occupe respectivement moins d'un tiers, entre un et deux tiers, ou plus de

deux tiers de l'oreillette gauche (Reef, 1988 ; 1990a ; Patteson, 1996d ; Marr, 2010a). D'autre part, l'insuffisance valvulaire en général a été classifiée subjectivement en neuf scores prenant en considération plusieurs variables telles que: la durée de la régurgitation, la *vena contracta*, la surface de la zone d'isovélocité proximale convergente, la zone de la vélocité maximale et le nombre des images dans lesquelles la zone de la vélocité maximale est détectée (Young *et al.*, 2008).

Chez les chevaux adultes, l'IM est souvent le mieux détectable de l'hémithorax gauche (Reef, 1988 ; 1990a ; 1991b). Cependant, attendu que l'angle d'acquisition du flux mitral chez les chevaux est assez important (souvent plus de 60°), la quantification de l'IM en Doppler chez le cheval est difficile, et il faut toujours considérer qu'il existe un risque de sous-estimation de la sévérité de l'IM dans cette espèce (Reef, 1990b ; 1991b). Ce phénomène est encore aggravé quand l'IM s'étend le long de la paroi libre de l'oreillette gauche (Gatewood *et al.*, 1989).

7.1.2.2. Evaluation de la surface de la zone d'isovélocité proximale convergente (méthode PISA)

La méthode PISA est une autre technique qui permet de quantifier le volume régurgitant mitral. Elle a été développée chez l'homme et validée chez le chien (Rivera *et al.*, 1992 ; Chen *et al.*, 1993), mais pas chez le cheval.

Cette méthode se base sur le principe de la physique des fluides soutenant qu'à l'approche d'un orifice régurgitant, la vélocité du flux sanguin augmente en formant une série d'ondes d'isovélocité concentriques hémisphériques, dont la surface diminue et la vélocité augmente à l'approche de l'orifice. Le Doppler couleur permet d'identifier et d'imager ces hémisphères d'isovélocité au niveau du ventricule gauche grâce à l'interface d'un repli spectral de coloration souvent bleue sur jaune se formant à la circonférence de l'hémisphère. La vélocité du flux à la surface de cet hémisphère correspond à la vélocité du repli spectral (limite de Nyquist).

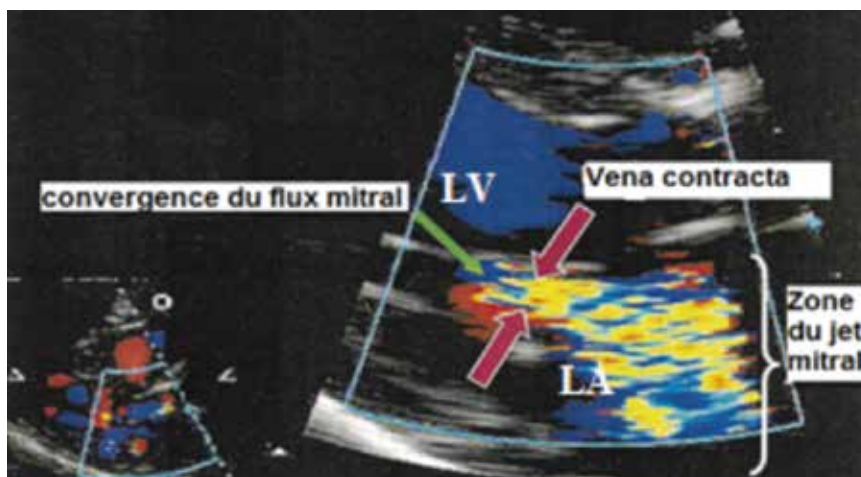
Pour appliquer la méthode PISA, l'hémisphère doit être elliptique et bien visible (Schwammenthal *et al.*, 1996 ; Mele *et al.*, 2001 ; Zoghbi *et al.*, 2003), le flux de régurgitation et la *vena contracta* (cfr ci-dessous) doivent être également bien visibles, et le faisceau d'ultrasons doit être aligné et centré le mieux possible sur le jet de régurgitation de l'IM (Zoghbi *et al.*, 2003). L'obtention d'une telle image nécessite de disposer d'une vue apicale 4 cavités. Cette vue est réalisable chez l'homme et le chien, mais difficile voire impossible à obtenir chez le cheval, ce qui limite les potentialités de cette méthode dans cette espèce (Young *et al.*, 2008).

7.1.2.3. Dimension du jet proximal (*vena contracta*)

La *vena contracta* est définie comme le diamètre du jet régurgitant (en Doppler couleur) immédiatement à son origine (figure 1).

Ce paramètre a été largement documenté en médecine humaine en vue de déterminer la sévérité des IM (Hall *et al.*, 1997 ; Roberts et Grayburn, 2003). Chez l'homme, cette méthode présente une bonne corrélation avec les estimations angiographiques et échocardiographiques du volume régurgitant; plus elle est large, plus l'IM est sévère (Zoghbi *et al.*, 2003 ; Gorgulu *et al.*, 2004 ; Lesniak-Sobelga *et al.*, 2004 ; Lightfoot *et al.*, 2006 ; Young *et al.*, 2008). Il n'existe cependant à notre connaissance pas d'informations sur la faisabilité et la fiabilité de la technique dans l'espèce équine.

Figure 1 : exemple de mesure du jet proximal (*vena contracta*) sur un cas d'insuffisance mitrale évalué en Doppler couleur (d'après Zoghbi *et al.*, 2003).



Légende : LV: ventricule gauche, LA: oreillette gauche

7.1.3. Evaluation en mode spectral

7.1.3.1. Evaluation de la surface occupée par le jet de l'insuffisance mitrale

De la même façon que le Doppler couleur permet d'évaluer la taille de l'IM, le Doppler pulsé noir et blanc peut également être utilisé pour faire la cartographie du ou des jets de régurgitation de l'IM en parcourant la profondeur de l'oreillette gauche avec le volume de prélèvement et en vérifiant jusqu'où la régurgitation peut être détectée, et, dès lors, d'en déterminer la taille (Boon, 2011). Cette technique peut être utilisée aussi bien chez les petits que chez grands animaux.

7.1.3.2. Evaluation de la fraction et du volume de l'insuffisance mitrale

Une autre technique permettant de quantifier le volume mitral régurgitant consiste à soustraire le volume du flux d'éjection aortique (SV_{Ao}) (ml) du volume de l'influx mitral (SV_M) (ml), la différence correspondant au volume de régurgitation (V_{IM}) (ml) :

$V_{IM} = SV_M - SV_{Ao}$ (Ascah *et al.*, 1989 ; Tribouilloy *et al.*, 1991).

La fraction de régurgitation (FR_{IM}) représente le pourcentage du volume d'éjection systolique qui est régurgité vers l'oreillette gauche à chaque systole et elle est calculée selon la formule suivante :

$$FR_{IM} = ((SV_M - SV_{Ao}) / SV_M) \times 100$$

Chez le chien, une corrélation positive a été trouvée entre la FR_{IM} et la taille de l'oreillette gauche (Muzzi *et al.*, 2003). Pour calculer ces paramètres, il est donc nécessaire de mesurer les flux mitraux et aortiques, ce qui se fait via l'intégrale de la vitesse en fonction du temps (aire sous la courbe) du flux à travers les valves correspondantes en Doppler pulsé (en diastole pour la valve mitrale et systole pour la valve aortique), multiplié par la surface de l'ouverture de chacune de ces valves selon les formules suivantes (Ascah *et al.*, 1989 ; Tribouilloy *et al.*, 1991) :

$$SV_{Ao} = VTI_{Ao} \times \pi (D_{Ao}/2)^2$$

$$SV_M = VTI_M \times \pi (D_M/2)^2$$

où VTI_{Ao} et VTI_M = intégrale de la

vitesse en fonction du temps du flux aortique et du flux mitral (cm), respectivement, en Doppler pulsé ; D_{Ao} = diamètre de la racine aortique (cm) ; D_M = diamètre de l'anneau mitral (cm).

Enfin, la surface de l'orifice régurgitant effectif ($EROA_M$) (cm^2) est calculée selon la formule suivante :

$$EROA_M = FR_{IM} \times VTI_{IM}$$

Où FR_{IM} = fraction de régurgitation ; VTI_{IM} = intégrale de la vitesse en fonction du temps de la régurgitation mitrale (cm) (Muzzi *et al.*, 2003 ; Zoghbi *et al.*, 2003).

Le désavantage principal de l'évaluation de la sévérité de l'IM basée sur les flux transmitraux est le potentiel d'erreur important introduit lors de la mesure du rayon des ouvertures des valves, rayon qui se retrouve élevé au carré lors du calcul de la surface (Kittleson et Brown, 2003). Une petite variabilité dans la mesure du rayon peut dès lors avoir un impact important sur le volume du flux calculé.

Enfin, selon des résultats obtenus chez l'homme, la sévérité de l'IM peut dans certains cas être sous-estimée, par exemple, lors d'une IM sévère associée avec une dilatation légère du ventricule gauche. Pourtant, cette méthode s'est avérée fiable dans de nombreux autres cas, notamment en cas d'IM excentrique (Zoghbi *et al.*, 2003).

Ces paramètres d'évaluation de la sévérité de l'IM n'ont pas été validés dans l'espèce équine.

7.1.3.3. Evaluation du flux de remplissage transmitral

Chez l'homme et les animaux de compagnie, il a été démontré qu'au plus l'IM devient sévère, au plus les vitesses de l'influx de remplissage du ventricule gauche deviennent élevées (Thomas *et al.*, 1998 ; Zoghbi *et al.*, 2003 ; Borgarelli *et al.*, 2008). Cela est, en bonne partie, dû au fait que le volume du flux traversant la valve mitrale incompetente est la combinaison du volume de remplissage normal du ventricule et du volume régurgité (Anderson, 2007). La vitesse du pic A et pic E sont des indicateurs de

la fonction diastolique de ventricule gauche mais dépendent des différences de pression entre le ventricule et l'oreillette gauche (Boon, 2011). Dans les cas d'IM légère, c'est surtout la vitesse maximale du pic A qui montre une augmentation, mais plus la pathologie s'aggrave, plus la vitesse maximale du flux de remplissage ventriculaire rapide (pic E) s'élève (Boon, 2011). Ainsi, la vitesse maximale du pic E est considérée comme indicative d'une IM significative quand elle est supérieure à 1,2 m/sec (Thomas *et al.*, 1998 ; Patel *et al.*, 2000 ; Zoghbi *et al.*, 2003). D'autres paramètres ont été suggérés pour évaluer la fonction diastolique associée à différents grades d'IM chez l'homme ou dans des modèles expérimentaux chez le chien. Cependant, la validation de ces paramètres en tant que facteurs d'évaluation de la sévérité de l'IM dans des cas cliniques chroniques reste à établir (Boon, 2011). Chez le cheval, aucune donnée n'est disponible à ce sujet dans la littérature.

7.1.3.4. Evaluation de la taille du jet de régurgitation

Le profil et l'intensité du flux régurgitant au Doppler spectral donnent des informations quant à la sévérité de l'IM (Zoghbi *et al.*, 2003 ; Anderson, 2007). Par contre, la vitesse maximale du reflux n'est pas proportionnelle à la sévérité de l'IM (Boon, 2011).

Plus le signal du spectre de vélocité du flux régurgitant obtenu en Doppler continu est dense et peu intense avec une enveloppe complète, et plus il est probable que le volume de la régurgitation est important. À l'inverse, un signal du flux de régurgitation peu dense et avec une enveloppe peu marquée est suggestif d'une IM peu significative (Boon, 2011). Il ne s'agit cependant que d'une méthode semi-quantitative, et ce paramètre doit être analysé avec prudence, car une série de facteurs techniques, anatomiques, et physiologiques peuvent affecter le signal obtenu (Anderson, 2007).

La forme du flux régurgitant peut donner des indications sur le gradient de pression régnant entre l'oreillette et le ventricule gauche pendant la systole. Ainsi, chez des patients avec une IM aigüe, une onde en V a été observée dans la phase de décélération du flux régurgitant, en milieu ou fin de systole ;

cette onde a été attribuée à une augmentation aiguë de la pression auriculaire gauche avec le reflux (Patel *et al.*, 2000 ; Zoghbi *et al.*, 2003). D'autre part, en cas d'IM légère, la pression auriculaire est peu modifiée, et dès lors le gradient de pression régnant entre l'oreillette et le ventricule gauche est assez élevé. Dans ce cas, le contour du flux de régurgitation est symétrique et plutôt arrondi. Par contre, si l'IM est plus sévère et associée à une élévation de la pression auriculaire gauche, le gradient de pression entre l'oreillette et le ventricule gauche en milieu et fin de systole est réduit. Cette réduction de la différence de pression entre les deux chambres se reflète sur le tracé du signal spectral Doppler du reflux par une forme en V (Patel *et al.*, 2000 ; Zoghbi *et al.*, 2003 ; Anderson, 2007).

Ce phénomène a été très peu décrit en médecine vétérinaire, et est surtout marqué dans les cas d'IM aigüe (Boon, 2011).

7.1.3.5. Flux dans les veines pulmonaires

Chez l'homme et les animaux de compagnie, il a été établi que l'analyse du flux dans les veines pulmonaires peut fournir des informations quant à la sévérité de l'IM. En effet, la présence d'un flux systolique pulmonaire inversé dans les veines pulmonaires est suggestif d'une pression auriculaire gauche élevée, et indicative d'une IM modérée à sévère (Gatewood *et al.*, 1989 ; Patel *et al.*, 2000 ; Armstrong et Ryan, 2010a). Cependant, son absence ne doit pas être considérée comme permettant d'exclure une IM significative; en effet, dans certains cas, comme par exemple quand le jet de régurgitation est très excentré par rapport aux veines pulmonaires, une IM importante peut ne pas être accompagnée de ce phénomène (Armstrong et Ryan, 2010a).

7.1.3.6. Evaluation de l'hypertension artérielle pulmonaire

L'hypertension artérielle pulmonaire est une conséquence fréquente de l'insuffisance cardiaque gauche (Kittleson et Kienle, 1998b ; Johnson *et al.*, 1999), et la présence d'une hypertension artérielle pulmonaire a été démontrée comme étant un facteur prédictif négatif de survie chez l'homme (Acar, 1995). Dès lors, il est utile d'évaluer

la pression artérielle pulmonaire chez les sujets atteints d'IM.

La pression artérielle pulmonaire systolique, qui, en l'absence de sténose pulmonaire, est égale à la pression ventriculaire droite systolique, peut être estimée de façon non invasive par mesure de la vitesse maximale du flux de régurgitation tricuspide en Doppler continu, et l'application de l'équation de Bernouilli modifiée :

$$RVP_s = 4 V_{\max ITr}^2 + P_{OD}$$

Où RVP_s = pression ventriculaire droite en systole (mm Hg) ; $V_{\max ITr}$ = vitesse maximale du flux de régurgitation tricuspide (m/s) ; P_{OD} = pression auriculaire droite estimée (mm Hg) (Johnson *et al.*, 1999 ; Armstrong et Ryan, 2010b). Chez l'homme et le chien, la pression auriculaire est estimée à une valeur de 5, 10 ou 15 mmHg sur base du diamètre de l'oreillette droite, de la disparition ou non de la *vena contracta* avec la respiration, et de la présence ou non de signes de surcharge volumique droite (Boon, 2011). Cette méthode a été démontrée fiable pour estimer la pression artérielle pulmonaire dans ces espèces (Kittleson et Kienle, 1998b ; Serres *et al.*, 2007), cette technique n'est pas encore valide chez le cheval.

S'il est présent, le jet de régurgitation pulmonaire peut également être utilisé pour évaluer la présence d'une hypertension artérielle pulmonaire; le gradient de pression au pic précoce est indicatif de la pression artérielle pulmonaire moyenne et de la pression artérielle pulmonaire bloquée (« wedge »), alors que le gradient de pression en fin de diastole permet d'estimer la pression artérielle pulmonaire en fin de diastole (Kittleson et Kienle, 1998b ; Serres *et al.*, 2007). Enfin, il est intéressant de noter que le rapport entre le diamètre de l'artère pulmonaire et le diamètre de l'aorte a été démontré comme étant significativement et positivement corrélé à l'hypertension artérielle pulmonaire chez des chiens en IM (Serres *et al.*, 2006).

7.1.4. Cas particulier de l'insuffisance mitrale aigüe

L'IM aigüe cause une augmentation brutale de la pression régnant à la fois dans l'oreillette et le ventricule

gauches (Bonagura et Herring, 1985 ; Reef, 1987). À cause du caractère aigu de l'hypertension, ces cavités n'ont pas le temps de se dilater. D'autre part, le gradient de pression s'équilibre rapidement entre les deux chambres, entraînant une détection plus difficile du flux régurgitant au Doppler couleur sur ces cas (Thomas *et al.*, 1990 ; Cape *et al.*, 1993).

Chez l'homme, il est conseillé d'évaluer la surface de la zone d'isovélocité proximale convergente (PISA), la dimension du jet proximal (*vena contracta*), le flux systolique des veines pulmonaires et la forme du flux de régurgitation dans ces situations (Cape *et al.*, 1993 ; Zoghbi *et al.*, 2003).

7.2. Electrocardiographie

En cas de dysrythmie associée à l'IM, il est indispensable de réaliser un examen électrocardiographique (ECG) pour en déterminer la nature (Patteson, 1996d). En raison de la dilatation auriculaire gauche induite par l'IM, la dysrythmie la plus fréquemment rencontrée sur ces cas est la fibrillation auriculaire (Reef *et al.*, 1998 ; Maurin *et al.*, 2003 ; Vohra *et al.*, 2012). Cette dysrythmie peut avoir des conséquences cliniques importantes.

De plus, en cas d'IM chez un cheval destiné à réaliser des performances sportives, il est conseillé de faire un test à l'effort avec ECG pour vérifier qu'il n'y a pas de dysrythmies induites par l'exercice qui peuvent être dangereuses pour le cheval et pour le cavalier (Patteson, 1996d).

7.3. Analyse de sang

En cas de suspicion d'endocardite, une analyse de sang peut être réalisée pour mettre en évidence un foyer inflammatoire (Jesty et Reef, 2006 ; Potter *et al.*, 2008).

En médecine humaine, le dosage des peptides natriurétiques a été démontré intéressant pour évaluer la sévérité de l'ICC qui peut être associée à une IM et aider au suivi du traitement. Parmi ces peptides, en médecine équine, seule la mesure de la concentration plasmatique de l'ANP a été techniquement validée, et dans une étude, une tendance à des valeurs d'ANP plus élevées (bien que cette différence n'était pas significative) a été rapportée chez

des chevaux avec IM asymptomatique en comparaison à des chevaux sains (Gehlen *et al.*, 2007).

8. TRAITEMENT DE L'INSUFFISANCE MITRALE

Il n'existe pas de traitement étiologique de l'IM en médecine équine. Le seul rare cas où un traitement spécifique est envisageable, c'est lorsque l'IM est associée à une endocardite. Ce traitement ne sera pas envisagé dans le cadre de cet article.

Seul un traitement symptomatique de l'ICC peut être envisagé quand celle-ci s'installe, mais ce traitement doit être considéré comme purement palliatif et, s'il est souvent efficace à court terme, il ne l'est que rarement à long terme (Patteson, 1996d ; Marr, 2010b). Par exemple, il a été démontré dans une étude que 9 des 14 chevaux traités pour ICC sont morts ou ont été euthanasiés dans les 12 mois de la mise en place du traitement (Davis *et al.*, 2002). Le traitement ne servira donc qu'à améliorer temporairement les capacités d'effort et le confort de vie de l'animal quand celui-ci a une valeur affective ou des potentialités d'utilisation en reproduction (Bonagura et Herring, 1985 ; Patteson, 1996d). Tout traitement sera cependant incompatible avec l'utilisation du cheval en compétition puisque l'administration de médicaments est prohibée dans ce cas.

Chez l'homme et chez le chien, le traitement préconisé en cas d'IM est basé sur de la médecine factuelle et a fait l'objet de consensus en fonction du grade de l'IM (Atkins *et al.*, 2009 ; Borgarelli et Haggstrom, 2010 ; Adams *et al.*, 2010). Par contre, il n'existe que très peu de données scientifiques sur le traitement de l'ICC chez le cheval. Dès lors, l'efficacité et les posologies de ces médicaments sont souvent dérivées des données disponibles chez l'homme ou chez les animaux de compagnie. De plus, de nombreux médicaments récemment développés et utilisés, chez l'homme ou chez les animaux de compagnie, ne peuvent l'être chez le cheval à cause de leur prix prohibitif.

De façon générale, le traitement de l'ICC est de modifier l'activation des

mécanismes neuro-hormonaux mis en jeu en réponse à la pathologie. Il existe des interactions très complexes entre toutes les substances libérées par ces mécanismes. Le groupe des « *bad guys* » stimule la libération des autres substances de ce groupe, alors que les substances du groupe des « *good guys* » inhibent la libération ou a des effets opposés aux substances du groupe des « *bad guys* ». Un déséquilibre de l'activation des deux groupes en faveur des « *bad guys* » joue un rôle central dans le développement de l'ICC. L'objectif de la plupart des traitements de l'ICC est donc de contre-carrer ce déséquilibre, soit en favorisant le groupe des « *good guys* », soit, au contraire, en inhibant le groupe des « *bad guys* ».

Diurétiques

Les diurétiques sont considérés comme essentiels pour le traitement symptomatique de l'ICC quand il y a une surcharge volumique qui se manifeste cliniquement par de la congestion pulmonaire et/ou de la congestion des jugulaires et des œdèmes périphériques (Patteson, 1996d). Attendu que les signes cliniques d'ICC chez le cheval sont souvent liés à la formation d'œdèmes et d'effusion, les médicaments qui permettent de réduire leur formation sont les plus efficaces pour améliorer la qualité de vie du patient.

Les diurétiques de l'anse et les diurétiques hyperkaliémisants sont utilisés en médecine humaine et chez les animaux de compagnie, mais parmi ces médicaments, seul le furosémide a été démontré avoir une bonne innocuité chez le cheval (Patteson, 1996d ; Marr, 2010b). Ce diurétique de l'anse induit une diminution du volume sanguin, du volume des fluides extracellulaires, de la pression ventriculaire gauche en fin de diastole, de la pression artérielle pulmonaire bloquée qui est une estimation de la pression capillaire pulmonaire, et du volume des fluides pulmonaires. De plus, le furosémide induit une vénéodilatation et une diminution de la résistance vasculaire au niveau rénal (Muir *et al.*, 1976 ; Patteson, 1996d).

Chez le cheval, le furosémide est donné au départ à la dose de 0,5 à 2 mg/kg SC, IV, ou IM toutes les 6 à 8 heures (Marr, 2010b). La fréquence d'administration peut être augmen-

tée si nécessaire. En maintenance, la dose sera de 0,5 à 1 mg/kg SC, IV, IM SID à BID. Certains chevaux répondent bien à une poursuite de son administration par voie orale, mais souvent avec une nette diminution de son efficacité (Marr, 2010b). Cela est probablement dû à sa faible biodisponibilité orale qui avoisine 10 % (Lee et Chiou, 1983 ; Johansson *et al.*, 2004). L'administration du furosémide à long terme peut induire de l'hyponatrémie, de l'hypokaliémie, de l'hypomagnésémie et de l'alcalose métabolique (Freestone *et al.*, 1988). Il est dès lors conseillé de surveiller régulièrement (1 x/semaine idéalement) l'équilibre électrolytique en cours de traitement (Marr, 2010b). La mise à disposition d'un foin de bonne qualité, idéalement de la luzerne, et un ajout éventuel de KCl à la ration (1 à 2,5 gr 2 x/jour) pour compenser les pertes en électrolytes sont également conseillés.

Inotropes positifs

Un certain nombre d'agents inotropes positifs sont disponibles pour traiter l'ICC (Miller *et al.*, 2011). Cependant, pour le traitement de l'ICC chronique humaine, la plupart d'entre eux ont été abandonnés car ils ne semblaient pas influencer favorablement la longévité ou les signes cliniques (Stevenson, 2003). De plus, certains essais cliniques ont même montré une augmentation du taux de mortalité associée à leur usage (Patteson, 1996d).

Par exemple, il persiste certaines controverses concernant l'efficacité de la digoxine pour traiter des patients humains en ICC même si cette molécule est toujours recommandée chez les chiens et chez les chevaux. En effet, en cas d'insuffisance myocardique (qui peut se développer dans les cas d'ICC sévères), elle augmente la contractilité du myocarde et a aussi d'autres effets importants. Elle a des effets diurétiques (par suppression de l'activité de la rénine et de l'aldostérone et par la stimulation de la diurèse), elle stimule la fonction des barorécepteurs (diminution de la stimulation adrénergique), et a des effets chronotropes négatifs et antiarythmiques. Ces derniers effets ont été attribués à (i) une augmentation de l'activité parasympathique et à une diminution de l'activité sympathique au niveau du nœud sinusal, des oreillettes, et du nœud atrio-ventriculaire, et (ii) un

allongement de la période réfractaire du nœud atrio-ventriculaire (Muir et McGuirk, 1985 ; Lewis, 1990). Dès lors, la digoxine diminue le rythme sinusal (la fréquence cardiaque diminue) et est capable d'inhiber les dépolarisations atriales prématurées et la tachycardie supra-ventriculaire (Marr, 2010b).

Concernant l'espèce équine, des études de pharmacocinétique de la digoxine ont été menées sur des chevaux sains (Button *et al.*, 1980 ; Sweeney *et al.*, 1993). Elles ont permis de déterminer que sa biodisponibilité orale est de l'ordre de 20 %, qu'elle présente de très grandes variabilités individuelles, et qu'un premier pic plasmatique est observé 2 heures après son administration et est suivi par un pic retardé après 4 à 8 heures. Sur base de ces études, la digoxine est préconisée à la dose d'attaque de 0,0022 à 0,00375 mg/kg IV BID. Le nombre total d'administrations à cette posologie ne doit cependant pas excéder deux. En pratique, cette posologie est rarement utilisée; on lui préfère en général directement la dose de maintenance de 0,011 mg/kg BID PO ou 0,0022 mg/kg IV BID (Pedroli *et al.*, 1978 ; Sweeney *et al.*, 1993). En raison de la très large variabilité individuelle de l'absorption de la digoxine dans cette espèce (Pedroli *et al.*, 1978 ; Patteson, 1996d), il est conseillé de doser le taux plasmatique de digoxine au second pic (6 à 8 heures après administration) et au creux de l'administration (12 heures après administration) après quelques jours puis quelques semaines de mise en place du traitement. Ce dosage permettra alors de déterminer si la posologie est efficace mais reste sous le seuil toxique (Patteson, 1996d ; Marr, 2010b). Les concentrations obtenues au pic et au seuil doivent idéalement se situer entre 0,5 et 2,0 ng/ml (idéalement entre 1 et 1,5 ng/ml) et rester inférieures au taux toxique de 2,5 ng/ml. Certains chevaux montrent cependant des signes d'intoxication à des taux sériques inférieurs à cette valeur. Lors de tout traitement à la digoxine, il faut dès lors être particulièrement attentif à des signes éventuels d'intoxication tels que de la diarrhée, de la distension abdominale, de la dépression, une perte de poids, de l'anorexie ou des dysrythmies ventriculaires (Roby *et al.*, 1986 ; Patteson, 1996d). En outre, l'équilibre hydro-électrolytique et acido-basique doit être contrôlé et doit rester normal avant et pendant le trai-

tement (Parraga *et al.*, 1995). De plus, des interactions entre la digoxine et certains autres médicaments tels que la quinidine, les anti-histaminiques de type 2, l'oxytétracycline, ou la phénylbutazone existent. Par exemple, si la digoxine est administrée simultanément à de la quinidine, il est préconisé de réduire sa posologie de moitié (Patteson, 1996d). Étant donné son élimination rénale, il faut aussi réduire la posologie de la digoxine chez des chevaux présentant une insuffisance rénale (Patteson, 1996d).

Chez les animaux de compagnie, le *pimobendane* est un autre agent inotrope utilisé pour traiter l'ICC. Cependant, le manque de données sur la pharmacocinétique et l'efficacité de cette molécule chez le cheval et son prix prohibitif en limitent l'utilisation dans cette espèce.

Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

Plusieurs inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA) ont été documentés comme étant efficaces pour traiter des patients humains ou canins avec une ICC chronique légère, modérée ou sévère (Marr, 2010b). Cependant, leurs propriétés hémodynamiques et diurétiques sont modestes en comparaison respectivement aux vasodilatateurs directs et aux diurétiques, et ils ne sont donc pas indiqués dans le traitement de l'ICC aiguë (Atkins *et al.*, 2009). Chez les patients cardiaques, les IECA diminuent la concentration plasmatique en angiotensine II, et induisent une vasodilatation artérielle et veineuse. Ils sont, pour cette raison, classifiés comme vasodilatateurs mixtes. Cependant, ils induisent aussi une diminution de la concentration plasmatique en aldostérone, et donc une augmentation de l'excrétion de l'eau et du sodium, ce qui réduit la formation des œdèmes. Les IECA ont aussi des effets bénéfiques chez les patients en ICC par leurs propriétés d'inhibition du remodelage cardiaque.

Chez le cheval, les données de pharmacocinétique ou d'efficacité des IECA dans le cadre du traitement de l'ICC, sont très limitées (Patteson, 1996d). L'énalapril et le quinapril sont deux IECA qui ont un prix de revient relativement abordable et qui ont été étudiés chez le cheval. En ce qui

concerne l'énalapril, plusieurs études conduites sur des chevaux sains à la posologie de 0,5 mg/kg PO SID ont montré que sa biodisponibilité orale est faible, qu'il n'a pas d'effet clinique ou échocardiographique mesurable, et que son efficacité à réduire l'activité de l'enzyme de conversion de l'angiotensine est faible voire absente (Muir *et al.*, 2001 ; Gardner *et al.*, 2004 ; Sleeper *et al.*, 2008). L'énalapril est cependant préconisé par certains auteurs sur des chevaux atteints d'IM significative à la posologie de 0,25 à 0,50 mg/kg SID à BID PO (Patteson, 1996d).

Dans une étude concernant le quinapril, son administration à la posologie de 120 mg/cheval/jour n'a pas eu d'effet clinique ou échocardiographique sur cinq chevaux sains (Gehlen *et al.*, 2003). Cependant, chez vingt chevaux présentant une IM asymptomatique, elle a été associée à une augmentation du volume d'éjection systolique et du débit cardiaque mais sans modification du diamètre interne du ventricule gauche ou de la fraction de raccourcissement, et selon l'appréciation des propriétaires, à une amélioration clinique mineure. Dans cette étude, 5 des 20 chevaux examinés ont, en outre, présenté une réduction de la sévérité de l'IM après traitement. Cette molécule à la posologie qui peut être traduite par 0,2 mg/kg SID PO attendu le poids des chevaux testés, pourrait donc s'avérer intéressante sur des chevaux atteints d'IM. Cependant une nouvelle étude testant son efficacité sur des chevaux atteints d'IM symptomatique et présentant des signes d'ICC serait intéressante.

Les signes d'intoxication observés lors d'un traitement avec des IECA sont une baisse d'appétit, des coliques, ou de l'abattement (Patteson, 1996d).

Le prix de revient d'un traitement aux IECA est très variable d'un pays à l'autre, et il est donc important de se référer aux tarifs appliqués localement avant d'opter pour l'un ou l'autre traitement si le prix est un facteur limitant.

Plusieurs inhibiteurs des récepteurs de l'angiotensine II sont recommandés pour le traitement de l'ICC chronique chez l'homme en tant que traitement alternatif ou combiné des IECA. Aucune donnée les concernant n'est disponible chez le cheval.

Agents vasodilatateurs

Les vasodilatateurs peuvent être classifiés en trois groupes : les vasodilatateurs artériels (ex : hydralazine), les vénodilatateurs (ex : nitroglycérine), et les vasodilatateurs mixtes (ex : prazosine, nitroprusside).

Les *vasodilatateurs artériels* relaxent les muscles lisses des artéioles systémiques, ce qui diminue la résistance et l'impédance vasculaire périphérique, et donc la post-charge ventriculaire gauche. Cet effet est spécialement intéressant chez les patients avec une IM ou aortique, ou avec, soit un défaut de septum interventriculaire, soit une persistance du canal artériel. Dans cette catégorie de molécules, il a été démontré que l'hydralazine (0,5 à 1,5 mg/kg BID PO) diminue la résistance périphérique totale et augmente le débit cardiaque chez les chevaux sains (Bertone, 1988), mais aucune donnée n'est disponible pour son utilisation chez des chevaux en ICC (Patterson, 1996d). De plus, cette molécule n'est pas commercialisée en Europe et présente des risques d'induction d'une hypotension systémique sévère (Bonagura et Hamlin, 1986 ; Smith *et al.*, 1988).

Les *vénodilatateurs* relaxent les muscles lisses des veines systémiques, ce qui a pour effet de redistribuer une partie du volume sanguin vers le réservoir veineux systémique, et de diminuer le volume sanguin comme le font les diurétiques. Cependant, il n'existe pas de vénodilatateur spécifique documenté chez le cheval.

L'acépromazine a été suggérée à la dose de 0,04-0,1 mg/kg en tant que *vasodilatateur mixte* peu coûteux chez les chevaux atteints d'ICC, mais il n'existe pas de données disponibles pour supporter cette hypothèse (Marr, 2010b).

9. PRONOSTIC DE L'INSUFFISANCE MITRALE

Dans l'espèce équine, le pronostic de l'IM est, dans la plupart des cas, difficile à établir et nécessite toujours une échocardiographie (Bonagura et Herring, 1985). Dans les cas asymptomatiques d'IM très légère sans aucun signe de surcharge volu-

Tableau II : critères de détermination du pronostic en cas d'insuffisance mitrale chez le cheval (Reef, 1992 ; Geor et McCutcheon, 1996 ; Patteson, 1996b ; Blissitt, 1999 ; Kriz *et al.*, 2000b).

Indicateurs de pronostic favorable
Fréquence cardiaque de repos normale
Absence de signes d'insuffisance cardiaque congestive
Souffle grade I ou II/VI localisé et/ou de courte durée
Valvule mitrale : prolapsus sans modification structurale et non associé ou faiblement à de la régurgitation - pas de modification structurale de la valvule
Doppler du reflux (<i>mapping</i> difficile) : reflux limité en surface et/ou de durée limitée (< 50 % de la systole)
Pas de signes de surcharge volumique du ventricule gauche : LVIDd normal ; pas d'aspect globuleux de l'apex du ventricule gauche ; FS normal
Pas de dilatation de l'oreillette gauche
Pas de dilatation de l'artère pulmonaire
Pas d'aggravation ou amélioration aux échocardiographies de contrôle
Indicateurs de pronostic défavorable
Fréquence cardiaque de repos élevée (> 45/min) ou tachycardie d'effort exagérée
Dyspnée, fièvre, souffle de grade III à VI/VI et prolongé
Signes cliniques d'insuffisance cardiaque congestive
Valvule mitrale : épaississement diffus ou localisé, modéré à sévère, de la valvule ; lésion végétative (endocardite) ; feuillet(s) battant comme un fléau (<i>flail valve</i>) ; rupture d'un cordage tendineux majeur
Doppler du reflux (<i>mapping</i> difficile) : reflux étendu en surface
Signes de surcharge volumique du VG : LVIDd > 14,5 cm ; aspect globuleux de l'apex du VG ; hyperkinésie du septum et FS ↑↑ ou ↓ ; IVS et LVFW ↓
Dilatation de l'oreillette gauche (> 15,5 cm) et rapport LA/Ao↑ (signe absent dans les cas aigus)
Dilatation de l'artère pulmonaire (signe absent dans les cas aigus), insuffisance pulmonaire ± tricuspide
Dysrythmies associées (ex: fibrillation auriculaire; extrasystoles)
Régurgitation sévère sans signes de surcharge volumique (cas aigus)
Aggravation rapide aux échocardiographies de contrôle

légende : LVIDd = diamètre interne du ventricule gauche en diastole ; FS = fraction de raccourcissement du ventricule gauche ; IVS et LVFW = épaisseur du septum interventriculaire et de la paroi libre du ventricule gauche, respectivement.

mique à l'échocardiographie ou, à l'autre extrême, dans les cas d'IM présentant des signes cliniques et échocardiographiques évidents d'ICC, le pronostic est relativement facile à établir. Par contre, dans les cas intermédiaires, qui sont fréquemment rencontrés sur le terrain, il faut se montrer extrêmement prudent quant à l'interprétation de l'IM (Littlewort, 1977 ; Patteson, 1996d). L'établissement d'un pronostic est particulièrement délicat dans certaines situations, comme, par exemple, dans le cas d'une visite d'achat. En effet, beaucoup de chevaux porteurs d'une IM légère ou

modérée d'évolution lente sont capables de réaliser des performances normales pendant plusieurs années (Patteson, 1996d), mais à l'inverse, certains d'entre eux peuvent évoluer rapidement vers une IM sévère entraînant une limitation des performances voire de l'intolérance à l'effort et le développement d'une ICC (Maurin *et al.*, 2003 ; Imhasly *et al.*, 2010). Les critères de base pour poser un pronostic sont donc l'importance de la régurgitation à l'échocardiographie Doppler, ses répercussions sur la fonction et la morphologie cardiaque, les signes cliniques associés, l'étiologie

et la vitesse d'évolution (Reef, 1992 ; Geor et McCutcheon, 1996 ; Patteson, 1996d ; Blissitt, 1999 ; Kriz *et al.*, 2000b ; Maurin *et al.*, 2003 ; Imhasly *et al.*, 2010). Le tableau 2 résume les critères de pronostic favorables et défavorables qui ont été mentionnés dans la littérature pour le cheval en IM (Reef, 1992 ; Geor et McCutcheon, 1996 ; Patteson, 1996d ; Blissitt, 1999 ; Kriz *et al.*, 2000b). Dans une étude portant sur 41 cas dont 26 ont été suivis sur une période s'étalant entre 6 mois et 6 ans après le diagnostic initial d'IM (39 % légère, 17 % modérée, 44 % sévère), une issue fatale était significativement associée à la présence d'une fibrillation auriculaire, à l'importance de la régurgitation mitrale, à la présence d'une dilatation de l'oreillette gauche ou de l'artère pulmonaire, à un grade élevé de souffle, et à la présence de signes cliniques d'ICC (Maurin *et al.*, 2003).

En cas d'IM modérée, certains auteurs conseillent un premier contrôle

échocardiographique trois mois après le diagnostic, suivi d'un contrôle tous les six mois pour évaluer l'évolution de la pathologie et affiner le pronostic (Patteson, 1996d). Une telle assiduité dans le suivi est cependant rarement obtenue sur le terrain, surtout si la pathologie évolue peu ou n'évolue pas aux premiers contrôles réalisés. D'autres auteurs préconisent plutôt un suivi annuel ou bisannuel (Littlewort, 1977).

En médecine humaine, une question fortement controversée dans la littérature est de déterminer à quel moment il est le plus approprié d'envisager une intervention chirurgicale chez les patients atteints d'IM (Adams *et al.*, 2010). C'est une des raisons pour laquelle différentes méthodes, combinant l'utilisation de plusieurs paramètres échocardiographiques, ont été développées pour déterminer avec le plus de précision possible la sévérité de l'IM (Thomas *et al.*, 1998 ; 1999).

De façon générale, il faut retenir qu'il est fortement conseillé de combiner l'utilisation de plusieurs paramètres dont la spécificité a été démontrée pour évaluer la sévérité de l'IM (Boon, 2011). Bon nombre de ces paramètres n'ont cependant pas été validés chez le cheval.

10. CONCLUSIONS

L'IM représente une pathologie cardiaque importante dans l'espèce équine sur le plan de son incidence et des répercussions qu'elle peut potentiellement avoir sur les capacités sportives voire sur la vie de l'animal atteint. Comparés à la médecine humaine et à ceux des animaux de compagnie, les critères échocardiographiques de détermination de la sévérité de l'IM et les traitements de cette pathologie sont encore à développer en médecine équine.

BIBLIOGRAPHIE

- ACAR J. Insuffisance mitrale aiguë. *Annal. Cardiol. Angéiol.*, 1995, 44, 561-566.
- ADAMS D.H., ROSENHEK R., FALK V. Degenerative mitral valve regurgitation: best practice revolution. *Eur. Heart J.*, 2010, 31, 1958-1987.
- AHMAD R.M., GILLINOV M., MCCARTHY P.M., BLACKSTONE E.H., APPERSON-HANSEN C., QIN J.X., AGLER D., SHIOTA T., COSGROVE D.M. Annular geometry and motion in human ischemic mitral regurgitation: novel assessment with three-dimensional echocardiography and computer reconstruction. *Ann. Thorac. Surg.*, 2004, 78, 2063-2068.
- AHMED M.I., MCGIFFIN D.C., O'ROURKE R.A., DELL'ITALIA L.J. Mitral regurgitation. *Curr. Probl. Cardiol.*, 2009, 34, 93-136.
- AL HAIDAR A., FARNIR F., DELEUZE S., SANDERSEN C., AMORY H. Comparison of the repeatability of echocardiographic measurements from different modes and views in horses of various breeds and sizes. *J. Equine Vet. Sci.*, 2010, 30, 287-297.
- AL HAIDAR A., LEROUX A., BORDE L., DELEUZE S., CERRI S., FARNIR F., SANDERSEN C., AMORY H. Relationship between echocardiographic measurements and body size in horses. *J. Equine Vet. Sci.*, 2013, 33, 107-114.
- ANDERSON B. Doppler quantification of regurgitation lesions. In : Anderson B. (Ed.), *Echocardiography: the normal examination and echocardiographic measurements*. MGA Graphics : Manly, 2007, 229-255.
- ARMSTRONG W.F., RYAN T. Mitral valve disease. In : Armstrong W.F., Ryan T. (Eds), *Feigenbaum's echocardiography*. Lippincott Williams & Wilkins : Philadelphia, 2010a, 295-335.
- ARMSTRONG W.F., RYAN T. Tricuspid and pulmonary valves. In : Armstrong W.F., Ryan T. (Eds), *Feigenbaum's echocardiography*. Lippincott Williams & Wilkins : Philadelphia, 2010b, 337-359.
- ASCAH K.J., STEWART W.J., GILLAM L.D., TRIULZI M.O., NEWELL J.B., WEYMAN A.E. Calculation of transmitral flow by Doppler echocardiography: a comparison of methods in a canine model. *Am. Heart J.*, 1989, 117, 402-411.
- ATKINS C., BONAGURA J., ETTINGER S., FOX P., GORDON S., HAGGSTROM J., HAMLIN R., KEENE B., LUIS-FUENTES V., STEPIEN R. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. ACVIM consensus statement. *J. Vet. Intern. Med.*, 2009, 23, 1142-1150.
- BERTONE J.J. Cardiovascular effects of hydralazine HCl administration in horses. *Am. J. Vet. Res.*, 1988, 49, 618-621.
- BLISSITT K.J. Diagnosis and treatment of atrial fibrillation. *Equine Vet. Educ.*, 1999, 11, 11-19.

- BLISSITT K.J., BONAGURA J.D. Pulsed wave Doppler echocardiography in normal horses. *Equine Vet. J. Suppl.*, 1995, 19, 38-46.
- BONAGURA J.D. Clinical evaluation and management of heart disease. *Equine Vet. Educ.*, 1990, 2, 31-37.
- BONAGURA J.D., HAMLIN R.L.L. Treatment of heart disease: an overview. In : Kirk R.W. (Ed.), *Current veterinary therapy IX. Small animal practice*. WB Saunders : Philadelphia, 1986, 319-324.
- BONAGURA J.D., HERRING D.S. Echocardiography: acquired heart disease. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 1985, 15, 1209-1224.
- BONAGURA J.D., REEF V.B., SCHWARZWALD C.C. Cardiovascular disease. In : Reed S.M., Bayly W.M., Sellon D.C. (Eds), *Equine internal medicine*. Saunders Elsevier : St. Louis, 2010, 372-487.
- BOON J.A. Acquired valvular disease. In : Boon J.A. (Ed.), *Veterinary echocardiography*. Wiley-Blackwell : Ames, 2011, 267-327.
- BORGARELLI M., HAGGSTROM J. Canine degenerative myxomatous mitral valve disease: natural history and therapy. *Vet. Clin. North. Am.*, 2010, 40, 651-663.
- BORGARELLI M., SAVARINO P., CROSARA S., SANTILLI R.A., CHAVEGATO D., POGGI M., BELLINO C., LA ROSA G., ZANATTA R., HAGGSTROM J., TARDUCCI A. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. *J. Vet. Intern. Med.*, 2008, 22, 120-128.
- BRAND A., DOLLBERG S., KEREN A. The prevalence of valvular regurgitation in children with structurally normal hearts: a color Doppler echocardiographic study. *Am. Heart J.*, 1992, 123, 177-180.
- BROWN C.M., BELL T.G., PARADIS M.-R., BREEZE R.G. Rupture of mitral chordae tendineae in two horses. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1983, 182, 281-283.
- BUTTON C., GROSS D.R., JOHNSON J.T., YAKATAN G.J. Digoxin pharmacokinetics, bioavailability, efficacy, and dosage regimens in the horse. *Am. J. Vet. Res.*, 1980, 41, 1388-1395.
- CAPE E.G., YOGANATHAN A.P., LEVINE R.A. Increased heart rate can cause underestimation of regurgitation jet size by Doppler color flow mapping. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1993, 21, 1029-1037.
- CHEN C., KOSCHYK D., BROCKHOFF C., HEIK S., HAMM C., BLEIFED W., KUPPER W. Noninvasive estimation of regurgitant flow rate and volume in patients with mitral regurgitation by doppler color mapping of accelerating flow field. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1993, 21, 374-383.
- COLIN B. Angiologie In : Colin B. (Ed.), *Anatomic du cheval*. Editions Derouaux Ordina : Liège, 1993, 388-497.
- CONWAY M.A., BOTTOMLEY P.A., OUWERKERK R., RADDA G.K., RAJAGOPALAN B. Mitral regurgitation: impaired systolic function, eccentric hypertrophy, and increased severity are linked to lower phosphocreatine/ATP ratios in humans. *Circulation*, 1998, 97, 1716-1723.
- DAVIS J.L., GARDNER S.Y., SCHWABENTON B., BREUHAUS B.A. Congestive heart failure in horses: 14 cases (1984-2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2002, 220, 1512-1515.
- DURANDO M.M. Clinical techniques for diagnosing cardiovascular abnormalities in performance horses. *Clin. Tech. Equine Pract.*, 2003, 2, 266-277.
- FREESTONE J.F., CARLSON G.P., HARROLD D.R., CHURCH G. Influence of furosemide treatment on fluid and electrolyte balance in horses. *Am. J. Vet. Res.*, 1988, 49, 1899-1902.
- FREGIN F.G. Medical evaluation of the cardioloascular system. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.*, 1992, 8, 329-346.
- GARDNER S.Y., ATKINS C.E., SAMS R.A., SCHWABENTON A.B., PAPICH M.G. Characterization of the pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of the angiotensin-converting enzyme inhibitor, enalapril, in horses. *J. Vet. Intern. Med.*, 2004, 18, 231-237.
- GATEWOOD R.P., HELMCKE F.R., NANDA N.C. Textbook of color Doppler echocardiography. Lea & Febiger : Philadelphia, 1989, 359 p.
- GEHLEN H. A survey of the frequency and development of heart disease in riding-horses-part1: retrospective evaluation (1992-2003) and questionnaires. *Pferdeheilkunde*, 2007, 23, 369-377.
- GEHLEN H., SUNDERMANN T., ROHN K., STADLER P. Plasma atrial natriuretic peptide concentration in warmblood horses with heart valve regurgitations. *J. Vet. Cardiol.*, 2007, 9, 99-101.
- GEHLEN H., VIEHT J.C., STADLER P. Effect of the ACE inhibitor quinapril on echocardiographic variables in horses with mitral valve insufficiency. *J. Vet. Med. Ser.*, 2003, 50, 460-465.
- GEOR R., MCCUTCHEON L.J. Cardiovascular and respiratory function in the performance horse. In : Kobluk C.N., Ames T.R., Geor R.J. (Eds), *The horse: diseases and clinical management* WB Saunders Company : Philadelphia, 1996, 1285-1294.
- GHALI J.K., COOPER R., FORD E. Trends in hospitalization rates for heart failure in the United States, 1973 -1986: evidence for increasing population prevalence. *Arch. Intern. Med.*, 1990, 150, 769-773.
- GORGULU S., EREN M., NORGAZ T., TEZEL T. Comparison of echocardiographic methods

- in assessing severity of mitral regurgitation in patients with mitral valve prolapse. *J. Heart Valve Dis.*, 2004, 13, 38-45.
- HALL S.A., BRICKNER M.E., WILLETT D.L., IRAN W.N., AFRIDI I., GRABURN P.A. Assesment of mitral regurgitation severity by Doppler color flow mapping of the vena contracta *Circulation*, 1997, 95, 636-642.
- HIRIGA A., KUBO K. Two cases of paroxysmal atrial fibrillation during exercise in horses. *Equine Vet. Educ.*, 1999, 11, 6-10.
- HOLMES J.R., MILLER P.J. Three cases of ruptured mitral valve chordae in the horse. *Equine Vet. J.*, 1984, 16, 125-135.
- IMHASLY A., TSCHUDI P.R., LOMBARD C.W., GERBER V. Clinical and echocardiographic features of mild mitral valve regurgitation in 108 horses. *Vet. J.*, 2010, 183, 166-171.
- JESTY S.A., REEF V.B. Septicemia and cardiovascular infections in horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 2006, 22, 481-486.
- JOHANSSON A.M., GARDNER S.Y., LEVINE J.F., PAPICH M.G., LAFEVERS D.H., GOLDMAN R.B., SHEETS M.K., ATKINS C.E. Pharmacokinetics and phamacodynamics of furosemide after oral administration to horses. *J. Vet. Intern. Med.*, 2004, 18, 739-743.
- JOHNSON L., BOON J., ORTON E.C. Clinical characteristics of 53 dogs with Doppler-derived evidence of pulmonary hypertension: 1992-1996. *J. Vet. Intern. Med.*, 1999, 13, 440-447.
- KITTLESAN M.D., BROWN W.A. Regurgitation fraction measured by using the proximal isovelocity surface area method in dogs with chronic myxomatous mitral valve disease. *J. Vet. Intern. Med.*, 2003, 17, 84-88.
- KITTLESAN M.D., KIENLE R.D. Normal clinical cardiovascular physiology. In : Kittleson M.D., KIENLE R.D. (Ed.), *Small animal cardiovascular medicine*. Mosby : St Louis, 1998a, 11-35.
- KITTLESAN M.D., KIENLE R.D. Pulmonary arterial and systemic arterial hypertension. In : Kittleson M.D., KIENLE R.D. (Ed.), *Small animal cardiovascular medicine*. Mosby : St Louis 1998b, 433-449.
- KRIZ N.G., HODGSON D.R., ROSE R.J. Prevalence and clinical importance of heart murmurs in racehorses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2000a, 216, 1441-1445.
- KRIZ N.G., ROSE R.J., HODGSON D.R. Cardiovascular system. In : Rose R.J., Hodgson D.R. (Ed.), *Manual of equine practice*. WB Saunders : Philadelphia, 2000b, 237-257.
- LEE M.G., CHIOU W.L. Evaluation of potential causes for the incomplete bioavailability of furosemide: gastric first-pass metabolism. *J. Pharmacokinet Biopharm.*, 1983, 11, 623-640.
- LESCURE F., TAMZALI Y. Valeurs de référence en échocardiographie TM chez le cheval de sport. *Rev. Méd. Vét.*, 1984, 135, 4054-4018.
- LESNIAK-SOBELGA A., OLSZOWSKA M., PIENAZEK P., PODOLEC P., TRACZ W. Vena contracta width as a simple method of assessing mitral valve regurgitation. comparison with Doppler quantitative methods. *J. Heart Valve Dis.*, 2004, 13, 608-614.
- LEWIS B.S., HASIN Y., PASTERNAK R., GOTSMAN M.S. Echocardiographic aortic root motion in ventricular volume overload and the effect of mitral incompetence. *Eur. J. Cardiol.*, 1979, 10, 375-384.
- LEWIS R.D. Digitalis: a drug that refuses to die. *Am. J. Vet. Res.*, 1990, 18, 55-62.
- LIGHTFOOT G., JOSE-CUNILLERAS E., ROGERS K., NEWTON J.R., YOUNG L.E. An echocardiographic and auscultation study of right heart responses to training in young national hunt thoroughbred horses. *Equine Vet. J. Suppl.*, 2006, 36, 153-158.
- LITTLEWORT M.C.G. Cardiological problems in equine medicine. *Equine Vet. J.*, 1977, 9, 173-175.
- LLANERAS M.R., NANCE M.L., STREICHER J.T., LINDEN P.L., DOWING S.W., LIMA J.A., DEAC R., LH EDMUNDS J.R. Pathogenesis of ischemic mitral insufficiency. *J. Thorac. Cardiovasc.*, 1993, 105, 439-443.
- MARR C.M. Cardiac murmurs: valvular regurgitation and insufficiency. In : Marr C.M., Bowen M. (Eds), *Cardiology of the horse*. Saunders Elsevier : London, 2010a, 207-216.
- MARR C.M. Heart failure. In : Marr C.M., Bowen M. (Eds), *Cardiology of the horse*. Saunders Elsevier : London, 2010b, 239-252.
- MARR C.M., PIRIE H.M., NORTHBRIDGE D.B. Confirmation by Doppler echocardiography of valvular regurgitation in a horse with a rupture chorda tendina of mitral valve. *Vet. Rec.*, 1990, 127, 376-379.
- MARR C.M., REEF V.B. Physiological valvular regurgitation in clinically normal young racehorses: Prevalence and two dimensional colour flow Doppler echocardiographic characteristics. *Equine Vet. J. Suppl.*, 1995, 19, 56-62.
- MAURIN E., AMORY H., SANDERSEN C. Étude rétrospective de quarante et un d'insuffisance mitrale chez le cheval (1995-2001). *Prat. Vét. Equine*, 2003, 35, 13-19.
- MELE D., SCHWAMMENTHAL E., TORP H., NESTA F., PEDINI I., VANDERVOOT P., ALBONI P., LEVINE R.A. A semiautomated objective technique for applying the proximal isovelocity surface area method to quantitate mitral regurgitation: clinical studies with the digital flow map. *Am. Heart J.*, 2001, 141, 653-660.

- MILLER C.A., O'GARA P.T., LILLY L.S. Valvular heart disease. In : Lilly L.S. (Ed.), Pathophysiology of heart disease. Lippincott, Williams & Wilkins : Baltimore, 2011, 190-215.
- MITTEN L.A. Cardiovascular causes of exercise intolerance. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.*, 1996, 12, 473-494.
- MORRIS E.A., SEEHERMAN H.J. Clinical evaluation of poor performance in the racehorse: the results of 275 evaluation. *Equine Vet. J.*, 1991, 23, 169-174.
- MUIR W.W., MCGUIRK S.M. Pharmacology and pharmacokinetics of drugs used to treat cardiac diseases in horses. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.*, 1985, 1, 335-352.
- MUIR W.W., MILNE D.W., SKARDA R.T. Acute haemodynamic effects of furosemide administered intravenously in the horse. *Am. J. Vet. Res.*, 1976, 37, 1177-1180.
- MUIR W.W., SAMS R.A., HUBBELL J.A., HINCHCLIFF K.W., GADAWSKI J. Effects of enalaprilat on cardiorespiratory, hemodynamic, and hematologic variables in exercising horses. *Am. J. Vet. Res.*, 2001, 62, 1008-1013.
- MUZZI R.A.L., DE ARAUJO R.B., MUZZI L.A.L., PENA J.L.B., SILVA E.F. Regurgitant jet area by Doppler color flow mapping: quantitative assessment of mitral regurgitation severity in dogs. *J. Vet. Cardiol.*, 2003, 5, 33-38.
- PARRAGA M.E., KITTLESON M.D., DRAKE C.M. Quinidine administration increases steady state serum digoxin concentrations in horses. *Equine Vet. J. Suppl.*, 1995, 19, 114-119.
- PATEL A.R., MOCHIZUKI Y., YAO J., PANDIAN N.G. Mitral Regurgitation: comprehensive assessment by echocardiography. *Echocardiography*, 2000, 17, 275-283.
- PATTESON M.W. Cardiovascular pathology and pathophysiology. In : Patteson M.W. (Ed.), *Equine cardiology*. Blackwell Science Ltd : Oxford, 1996a, 27-37.
- PATTESON M.W. Clinical examination. In : Patteson M.W. (Ed.), *Equine cardiology*. Blackwell Science : Oxford, 1996b, 41-67.
- PATTESON M.W. Cardiac anatomy and physiology. In : Patteson M.W. (Ed.), *Equine cardiology*. Blackwell Science : Oxford, 1996c, 1-25.
- PATTESON M.W. Acquired cardiovascular disease. In : Patteson M.W. (Ed.), *Equine cardiology*. Blackwell Science : Oxford, 1996d, 132-167.
- PATTESON M.W., CRIPPS P.J. A survey of cardiac auscultatory findings in horses. *Equine Vet. J.*, 1993, 25, 409-415.
- PAULUS W.J., AURIGEMMA G. Valvular heart disease. In : Crawford M.H., Dimarco J.P., Paulus W.J. (Eds), *Cardiology*. Elsevier : Philadelphia, 2004, 1039-1208.
- PEDROLI W.M., BELMONTE A.A., PUROHIT R.C., NACHREINER R.F. Pharmacokinetics of digoxin in the horse. *J. Equine Med. Surg.*, 1978, 2, 384-388.
- POTER S.R., SAEGERMAN C., VAN GALEN G., SANDERSEN C., DELGUSTE C., GUYOT H., AMORY H. Vegetative endocarditis in equids (1994-2006). *J. Vet. Intern. Med.*, 2008, 22, 1411-1416.
- REEF V.B. Mitral valvular insufficiency associated with rupture chordae tendineae in three foals. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 1987, 191, 329-331.
- REEF V.B. Pulsed and continuous wave Doppler echocardiographic evaluation of mitral and tricuspid insufficiency in horses. In : *Proceedings of the 6th Annual Veterinary Medical Forum*. American College of Veterinary Internal Medicine : Washington, 1988, 385-387.
- REEF V.B. Color flow Doppler mapping of horses with valvular insufficiency. In : May D.C., *Proceedings of the 8th American College of Veterinary Internal Medicine Forum*. American College of Veterinary Internal Medicine : Washington, 1990a, 483-485.
- REEF V.B. Echocardiographic examination in the horse: the basics. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, 1990b, 12, 1312-1320.
- REEF V.B. The use of diagnostic ultrasound in the horse. *Ultrasound Q.*, 1991a, 9, 1-34.
- REEF V.B. Advances in echocardiography. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 1991b, 7, 435-450.
- REEF V.B. Cardiovascular problems associated with poor performance. In : Robinson N.E. (Ed.), *Current therapy in equine medicine*. WB Saunders : Philadelphia, 1992, 381-383.
- REEF V.B. Heart murmurs in horses: determining their significance with echocardiography. *Equine Vet. J. Suppl.*, 1995, 19, 71-80.
- REEF V.B., BAIN F.T., SPENCER P.A. Severe mitral regurgitation in horses: clinical, echocardiographic and pathological findings. *Equine Vet. J.*, 1998, 30, 18-27.
- REEF V.B., LALEZARI K., DE BOO J., VAN DER BELT A.J., SPENCER P.A., DIK K.J. Pulsed-wave Doppler evaluation of intracardiac blood flow in 30 clinically normal Standardbred horses. *Am. J. Vet. Res.*, 1989, 50, 75-83.
- RIVERA J.M., VANDERVOORT P.M., THOREAU D.H., LEVINE R.A., WEYMAN A.E., THOMAS J.D. Quantification of mitral regurgitation with the proximal flow convergence method: a clinical study. *Am. Heart J.*, 1992, 124, 1289-1296.
- ROBERTS B.J., GRAYBURN P.A. Color flow imaging of the vena contracta in mitral regurgitation: technical considerations. *J. Am. Soc. Echocardiogr.*, 2003, 16, 1002-1006.

- ROBY K.A.W., REEF V.B., SHAW D.P., SWEENEY R.W. Rupture of an aortic sinus aneurysm in a 15 year-old brood mare. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1986, 189, 305-308.
- SCHWAMMENTHAL E., CHEN C., GIESLER M., SAGIE A., GUERRERO J.L., VAZQUEZ DE PRADA J.A., HOMBACH V., WEYMAN A.E., LEVINE R.A. New method for accurate calculation of regurgitant flow rate based on analysis of Doppler color flow maps of the proximal flow field: validation in a canine model of mitral regurgitation with initial application in patients. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1996, 27, 161-172.
- SERRES F., CHETBOUL V., TISSIER R., SAMPEDRANO C.C., GOUNI V., NICOLLE A.P., POUCHOLON J.L. Chordae tendineae rupture in dogs with degenerative mitral valve disease: prevalence, survival, and prognostic factors (114 cases, 2001-2006). *J. Intern. Vet. Med.*, 2007, 21, 285-264.
- SERRES F.J., CHETBOUL V., TISSIER R., CARLOS SAMPEDRANO C., GOUNI V., NICOLLE A.P., POUCHOLON J.L. Doppler echocardiography-derived evidence of pulmonary arterial hypertension in dogs with degenerative mitral valve disease: 86 cases (2001-2005). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2006, 229, 1772-1778.
- SHAH P.M. Echocardiographic diagnosis of mitral valve prolapse. *J. Am. Soc. Echocardiogr.*, 1994, 7, 286-293.
- SINGH J.P., EVANS J.C., LEVY D., LARSON M.G., FREED L.A., FULLER D.L., LEHMAN B., BENJAMIN E.J. Prevalence and clinical determinants of mitral, tricuspid, and aortic regurgitation (the Framingham Heart Study). *Am. J. Cardiol.*, 1999, 83, 897-902.
- SLEEPER M.M., McDONNELL S.M., ELY J.J., REEF V.B. Chronic oral therapy with enalapril in normal ponies. *J. Vet. Cardiol.*, 2008, 10, 111-115.
- SMITH T.W., BRAUNWALD E., KELLY R.A. The management of heart failure. In : Braunwald E. (Ed.), *Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine*. WB Saunders : Philadelphia, 1988, 485-543.
- STEVENS K.B., MARR C.M., HORN J.N.R., PFEIFFER D.U., PERKINS J.D., BOWEN I.M., ALLAN E.J., CAMPBELL J., ELLIOTT J. Effect of left-sided valvular regurgitation on mortality and causes of death among a population of middle-aged and older horses. *Vet. Rec.*, 2009, 164, 6-10.
- STEVENSON L.W. Clinical use of inotropic therapy for heart failure: looking backward or forward? part II: chronic inotropic therapy. *Circulation*, 2003, 108, 492-497.
- SWEENEY R.W., REEF V.B., REIMER J.M. Pharmacokinetics of digoxin administered to horses with congestive heart failure. *Am. J. Vet. Res.*, 1993, 54, 1108-1112.
- THOMAS J.D., LIU C.M., FLACHSKAMPF F.A., O'SHEA J.P., DAVIDOFF R., WEYMAN A.E. Quantification of jet flow by momentum analysis: an in vitro color Doppler flow study. *Circulation*, 1990, 81, 247-259.
- THOMAS L., FOSTER E., HOFFMAN J., SCHILLER N.B. The mitral regurgitation index: an echocardiographic guide to severity. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1999, 33, 2016-2022.
- THOMAS L., FOSTER E., SCHILLER N.B. Peak mitral inflow velocity predicts mitral regurgitation severity. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1998, 31, 174-179.
- TRIBOUILLOY C., SHEN W.F., SLAMA M.A., DUFOSSE H., CHOQUET D., MAREK A., LESBRE J.P. Non-invasive measurement of regurgitation fraction by pulsed Doppler echocardiography in isolated pure mitral regurgitation. *Br. Heart J.*, 1991, 66, 290-294.
- VOHRA H.A., WHISTACE R.N., MAGAN A., SADEQUE S.A., LIVESEY S.A. Mitral valve repair for severe mitral regurgitation secondary to lone atrial fibrillation. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.*, 2012, 42, 634-637.
- YOUNG L. Cardiovascular system: diseases of the heart and vessels. In : Hinchcliff K.W., Geor R.J., Kaneps A.J. (Eds), *Equine sports medicine and surgery: basic and clinical sciences of the equine athlete*. Saunders : London, 2004, 728-768.
- YOUNG L.E., ROGERS K., WOOD J.L.N. Heart murmurs and valvular regurgitation in Thoroughbred race horses: epidemiology and associations with athletic performance. *J. Vet. Intern. Med.*, 2008, 22, 418-426.
- YOUNG L.E., WOOD J.L.N. Effect of age and training on murmurs of atrioventricular valvular regurgitation in young Thoroughbreds. *Equine Vet. J.*, 2000, 32, 195-199.
- ZOGHBI W.A., ENQUER-SARANO M., FOSTER E., GRAYBURN P.A., KRAFT C.D., LEVINE R.A., NIHOYANNOPOULOS P., OTTO C.M., QUINONES M.A., RAKOWSKI H., STEWART W.J., WAGGONER A., WEISSMAN N.J. Recommendations for evaluation of the severity of native valvular regurgitation with two-dimensional and Doppler echocardiography. *J. Am. Soc. Echocardiogr.*, 2003, 16, 777-802.