



HAL
open science

Développement d'une technique de dosage cutané non invasive des lactones macrocycliques dans le modèle porcin de la gale

Arnaud Jannic

► **To cite this version:**

Arnaud Jannic. Développement d'une technique de dosage cutané non invasive des lactones macrocycliques dans le modèle porcin de la gale. Médecine humaine et pathologie. 2018. dumas-01904904

HAL Id: dumas-01904904

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01904904>

Submitted on 25 Oct 2018

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2-L 335.10

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES
Faculté de Médecine PARIS DESCARTES

Année 2018

N° 7

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE
DOCTEUR EN MÉDECINE

Développement d'une technique de dosage cutané
non invasive des lactones macrocycliques
dans le modèle porcin de la gale

Présentée et soutenue publiquement
le 5 février 2018

Par

Arnaud JANNIC

Né le 17 décembre 1988 à Clamart (92)

Dirigée par Mme Le Docteur Charlotte Bernigaud, PH

Jury :

M. Le Professeur Olivier Chosidow, PU-PHPrésident

M. Le Professeur Eric Caumes, PU-PH

Mme Le Professeur Françoise Botterel, PU-PH

M. Le Professeur Jacques Guillot, ENVA



Except where otherwise noted, this work is licensed under
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

Remerciements

Au Professeur Olivier Chosidow, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ma thèse. Pour son exigence permettant de donner le meilleur de soi-même, pour ses idées et ses intuitions inspirantes, pour sa bienveillance et ses encouragements. Ce sera toujours un honneur de travailler avec lui.

Au Docteur Charlotte Bernigaud, pour m'avoir accompagné depuis le tout début de ce projet et avoir accepté de diriger ma thèse. Pour sa capacité sans faille à me remotiver, pour ses conseils prodigués à toute heure, pour son enthousiasme contagieux et sa (déjà) immense expérience. Le tout en partie à l'autre bout du monde. Merci Charlotte, ce travail n'aurait pas eu lieu sans toi.

Au Professeur Eric Caumes, pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail de thèse et pour savoir transmettre à ses étudiants son esprit critique affuté mais bienveillant. Merci pour le temps précieux qu'il a consacré à la lecture de ce travail.

Au Professeur Jacques Guillot, pour m'avoir fait l'honneur d'encadrer ce travail et pour m'avoir accueilli dans son équipe. Pour ses précieux conseils et sa sérénité communicative à chaque étape de ce travail. Tous mes remerciements et toute ma reconnaissance.

Au Professeur Françoise Botterel, pour sa présence, sa bonne humeur et sa grande gentillesse. A l'attention constante qu'elle porte pour ses étudiants et leur travail.

Au Docteur Anne Lespine, pour son expertise indispensable et sa disponibilité sans faille. Pour m'avoir accueilli avec tant de chaleur dans son équipe.

A l'équipe du CRBM, à tous les membres du BioPôle Alfort de l'EnvA, à l'équipe TOXALIM, toute l'équipe DYNAMIC, pour leur aide et leur gentillesse.

Aux membres de la Société Française de Dermatologie pour m'avoir alloué une subvention de recherche et pour avoir rendu ce travail possible.

A tous mes co-internes, chefs, externes, infirmières qui au cours de ces 4 ans d'internat m'ont tant donné, m'ont tout appris et ont forgé les bases du médecin que j'espère être et devenir : bienveillant, humble, exigeant et reconnaissant.

Aux Docteurs Jean-Herlé Raphalen et Isabelle Pierre, qui les premiers m'ont appris à prescrire du lasilix et à reconnaître une inversion de ions urinaire. Ils ont posé les premières pierres de mon internat et ne m'ont jamais abandonné depuis.

A Agathe, première des co-internes, spécialité Habibi-Yala et jeu des capitales.

Aux Docteurs Barthélémy Lafon-Desmurs, Claire Hussenet, Charlotte Bouzbib et Claire Tantet, pour le semestre le plus JSTB qu'il ait été possible de vivre.

A toute ma famille, mes parents qui ont toujours soutenu tous mes choix et m'ont permis de réaliser mes études dans la plus parfaite des sérénités, vous avez rendu ça facile, je vous le dois pour toujours. A ma sœur Clémence, à mon frère Bertrand, à ma belle-sœur Maÿlis, c'est bon je suis officiellement docteur, envoyez toutes les photos de boutons de vos potes. Prrrr. Je vous aime. A ma grand-mère, toujours fière de moi, à papi qui aurait été fier et me manque.

A mes amis, tous, vous savez combien vous êtes importants dans ma vie,

A la préfecture de la coloc, centre de ma vie d'interne, terreau de mon épanouissement, au préfet, aux sous-préfets de la région Est et de la région Nord. A Adrien et Alexandre, mes frères.

Aux plus beaux, à Florian et Inès, toujours là même les hivers sans soleil, même pendant leur lune de miel, à Titi, beauté des beautés, à Barkatz, à Louis, à Charlène, à Victoire, à Marine, à Soun Soun.

Aux Beer Bro, à Manu, je t'aime pisto, à Ladi, présent depuis le début et la bière en sortant d'Arcueil, à Ghislain, à Bruno. A quand le festi les mecs ?

A la flambe, à Thomas, mon collègue préféré, à Caro, je suis ton mister Slave, tu as gagné, à Lucille, tu vois que tu y es, à Anne-Sophie, pas de P1 sans toi, à Maxime, à Adeline, à Lou, à Juliette, à Albéric, à Maïlys, à Laetitia

Aux licornes, Barouyr, Louise, Marc, soleils dans la nuit

Au CERCD, AB, AH, FL, LD, PW, EM, CDLM, SGR et bien sur Marwan

A John, Paul, Georges, Ringo, Serge, King Ju, Nicolas, Jean-Benoît, Chill, Benjamin, Jacques, Roger, Rick, Mark, Dwayne, Kanye, Shawn, Josh, Neil, Sébastien, Stevie, Michel, Alain, Everett, Kendrick, Win, Thomas, Guy-Manuel, Joseph, Baxter, Sufjan, Aurélien, Raphaël, Peter, Phil, David, Roger, Nick, Richard, Thom, Didier, Ibrahim, Brian, Ozzie, Youssouf, Christophe, David, Eric, Flavien, Gerry, Damon, Axl, Hans, Michael, Jean-Louis, Johnny, Xavier, Gaspard, Robert, Jimmy, John, John-Paul, Lou, Mano, Kurt, Freddy, Jack, Serj, Daron, Paul, Art, William, Jean et tous les autres.

Liste des abréviations utilisées

AMM : Autorisation de mise sur le marché

AUC : Aire sous la courbe

C_{Max} : Concentration maximale

C-cho : Concentration en fonction du dosage en cholestérol

C-EV : Concentration en fonction de l'échelle visuelle

C-poids : Concentration en fonction du poids

CRAT : Centre de Référence sur les Agents Tératogènes

CRBM : Centre de Recherche Biomédicale

EnvA : Ecole nationale vétérinaire d'Alfort

GABA : gamma-amino butyric acid

GluCls : canaux glutamate-dépendants

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance

INRA : Institut National de Recherche Agronomique

IVM : ivermectine

MOX : moxidectine

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Q_{Max} : Quantité maximale

T_{Max} : Temps du pic de concentration maximale

Table des matières

Table des matières.....	5
Introduction.....	6
I. La gale humaine.....	6
A. Cycle du parasite <i>Sarcoptes scabiei</i>	6
B. Clinique.....	7
C. Un problème de santé publique.....	7
1) Epidémiologie.....	7
2) Thérapeutique.....	8
II. La gale animale.....	10
A. Gale sarcoptique animale.....	10
B. Les modèles expérimentaux animaux dans la gale.....	11
III. Molécules : ivermectine et moxidectine.....	13
A. Famille des lactones macrocycliques : mode d'action et propriétés pharmacologiques	13
B. Différences entre ivermectine et moxidectine.....	16
C. Utilisation dans la gale.....	19
Objectifs.....	21
Matériels et méthodes.....	22
I. Développement et validation d'une technique non invasive de dosage de la moxidectine et de l'ivermectine dans la peau.....	22
II. Analyses statistiques.....	28
Résultats.....	29
Discussion et perspectives.....	42
Conclusion.....	51
Références.....	52
Annexes.....	59

Introduction

I. La gale humaine

A. Cycle du parasite *Sarcoptes scabiei*

La gale humaine est due à la variété *hominis* de l'acarien parasite obligatoire *Sarcoptes scabiei*. La fécondation se fait à la surface de la peau, puis la femelle ovigère creuse une galerie appelée sillon dans la couche la plus superficielle de l'épiderme, le *stratum corneum*, où elle pond environ 2 à 3 œufs par jour. Un œuf éclot en 2 ou 3 jours pour donner naissance à une larve qui mue en nymphe (2 stades successifs) puis en adulte mâle ou femelle (figure 1). L'acarien adulte émerge du sillon pour s'accoupler et poursuivre le cycle. Il peut alors réinfester le même hôte ou un autre. Le cycle parasitaire dure une quinzaine de jours et se déroule entièrement dans le *stratum corneum*¹.

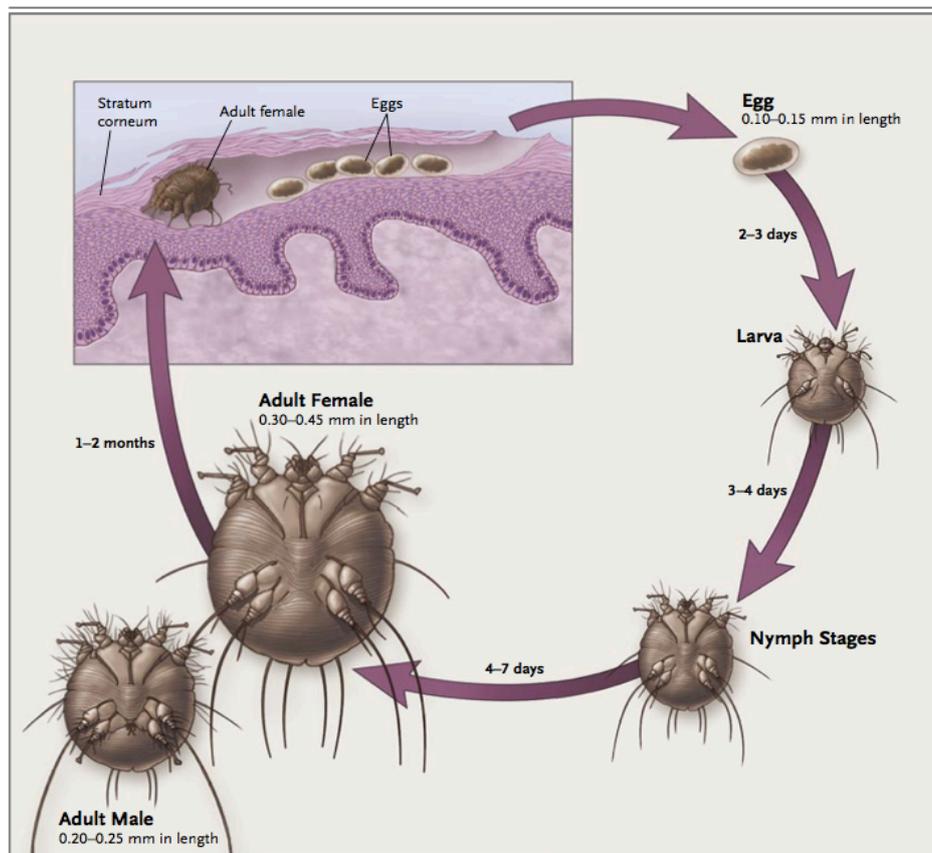


Figure 1. Cycle et aspect morphologique de *Sarcoptes scabiei* var. *hominis*¹

B. Clinique

La gale se manifeste par une éruption cutanée et un prurit parfois majeur, classiquement avec renforcement vespéral et caractère familial, en partie dû à une hypersensibilité à la salive, aux œufs et aux matières fécales des sarcoptes. Les lésions cutanées typiques sont des sillons, des vésicules érythémateuses, des nodules ou des papules touchant des sites préférentiels : espaces interdigitaux, face antérieure des poignets, creux axillaires, région péri-aréolaire, fesses ou organes génitaux. Les lésions peuvent être moins spécifiques, comme des papules excoriées ou des lésions de grattage^{2,3}. Ces lésions peuvent volontiers se compliquer de surinfection bactérienne (à streptocoques ou staphylocoques) pouvant entraîner des complications générales sévères^{2,4,5}. Le nombre de sarcoptes par patient infesté est en règle générale faible (5 à 15 environ) mais peut être plus élevé notamment au cours des formes sévères : gale profuse ou gale hyperkératosique.

C. Un problème de santé publique

1) Epidémiologie

Selon la dernière évaluation par le « Global Burden of Disease Study », 100 à 130 millions de personnes seraient contaminées chaque année dans le monde^{4,6-8}. La prévalence de la gale varie de 0,2% à 71,4% selon les populations⁹. Les régions les plus touchées sont les pays à climat tropical, souvent à ressources faibles comme le Pacifique (îles Fidji, populations autochtones australiennes), l'Asie orientale et du Sud-Est, l'Amérique latine (Brésil, Mexique, Panama) ou l'Afrique sub-saharienne. Les populations les plus vulnérables sont les enfants (souvent avant l'âge de 2 ans) et les populations de faible niveau socio-économique⁹⁻¹². En France l'incidence annuelle est estimée par l'Institut de Veille Sanitaire à 328 cas pour 100 000 personnes¹³. Les épidémies au sein d'établissements de vie en communauté sont fréquentes et leur impact psycho-social et économique n'est pas négligeable (déscolarisation, décompensation psychiatrique suite au parasitisme, coût des soins...).

2) Thérapeutique

Le traitement de la gale repose sur l'utilisation d'acaricides neurotoxiques pour le sarcopte. Les molécules disponibles en France sont résumées dans le tableau 1. L'arsenal thérapeutique reste limité et ne permet pas de contrôler cette pathologie. La plupart des molécules disponibles sont des traitements à usage topique, ne sont peu ou pas actives sur les œufs de sarcoptes et leurs demi-vies, plus courtes que le cycle du parasite impliquent de prescrire systématiquement une deuxième application/prise à une semaine d'intervalle.

La perméthrine (pyréthrianoïde de synthèse) est utilisée en crème à 5%. Elle a été récemment commercialisée en France, en 2015. Elle est utilisée depuis de nombreuses années en première intention dans plusieurs pays, notamment dans les pays anglo-saxons. L'esdépalléthrine (pyréthrianoïde de synthèse) est associée au butoxyde de pipéronyle, inhibant la dégradation des pyréthrianoïdes par le sarcopte et agissant comme agent synergistique. Son conditionnement en aérosol contre-indique son utilisation par et pour les sujets asthmatiques en raison du risque de bronchospasme mortel. Le produit associant du benzoate de benzyle 10% et du sulfiram 2% était le traitement de référence en France mais s'est retrouvé indisponible entre novembre 2012 et octobre 2015. Le benzoate de benzyle 10% seul « nouvelle formule » est revenu sur le marché en 2015. Dans l'intervalle, l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé avait mis à disposition, à partir de 2013, dans les pharmacies hospitalières, une émulsion de benzoate de benzyle importée d'Allemagne. Pour l'ensemble de ces traitements, les effets indésirables sont en général locaux et bénins : prurit, érythème, sensation de brûlure, eczématisation ou irritation locale. Ils peuvent cependant être responsables d'une moindre adhérence. Ces molécules à usage externe posent ainsi des problèmes de tolérance, de disponibilité et/ou d'adhérence/observance, notamment chez les populations les plus à risque (âges extrêmes, situations de précarité).

Molécule(s)	Nom commercial en France	Galénique	Posologie et contre-indications	Disponibilité en France
Benzoate de benzyle (10%)	Ascabiol® Nouvelle formule	Emulsion Flacon de 125 ml	2 applications cutanées, en application unique ou en deux badigeons à 10min d'intervalle A renouveler à 1 semaine d'intervalle Durée d'application : 24h (6 à 12h pour l'enfant de 1 mois à 2 ans) A partir de l'âge de 1 mois	Nouvellement disponible depuis octobre 2015
Benzoate de benzyle (10%) + sulfiram (2%)	Ascabiol® Ancienne formule	Lotion		Rupture de stock depuis novembre 2012
Benzoate de benzyle (10%)	Antiscabiosum®	Emulsion		Produit importé d'Allemagne, disponible dans les pharmacies hospitalières depuis février 2013
Perméthrine (5%)	Topiscab®	Crème Tube de 30g	2 applications cutanées A renouveler à 1 semaine d'intervalle (à partir de 7 jours et non supérieur à 14 jours) Durée d'application : 8-12h A partir de l'âge de 2 mois	Disponible depuis juillet 2015
Esdépalléthrine + butoxyde de pipéronyle	Sprégal®	Lotion en flacon pressurisé Aérosol	Durée d'application : 12h Contre-indications : sujets asthmatiques ou nourrissons ou jeunes enfants ayant des antécédents de bronchite dyspnéisante avec sibilants	Disponible
Crotamiton (10%)	Eurax®	Crème		Disponible
Lindane (0.8 à 1%)	Élento® Scabécid®	Crème		Non disponible en France ^a
Ivermectine	Stromectol®	Comprimé 3mg	2 prises par voie orale à 1 semaine d'intervalle (2 ^{ème} dose hors AMM ^b) Dose : 200 µg/kg Contre-indication : poids < 15 kg	Disponible

^a Le lindane n'est plus disponible en France depuis l'arrêt européen interdisant l'utilisation du lindane dans un médicament après le 31 décembre 2007.

^b AMM : autorisation de mise sur le marché

Tableau 1. Différentes molécules utilisées pour le traitement de la gale, contre-indications et modalités d'utilisation¹⁴

Il n'existe à l'heure actuelle qu'une seule molécule en prise orale : l'ivermectine (IVM). L'IVM a un spectre antiparasitaire large (filarioses, helminthiases). Elle est contre-indiquée chez l'enfant de moins de 15 kilogrammes mais de récentes études rapportent son utilisation hors AMM chez des enfants de moins de 15 kg, dans des situations particulières^{15,16}. En France, son usage est autorisé chez les femmes enceintes ou allaitantes par le Centre de Référence sur les Agents Tératogènes (CRAT)¹⁷, mais ce n'est pas le cas dans de nombreux autres pays. L'IVM est probablement utilisée de façon non optimale dans le traitement de la

gale, n'ayant jamais été réellement évaluée spécifiquement pour cette indication par des essais thérapeutiques notamment de recherche de la meilleure dose efficace. De plus, la seconde prise orale d'IVM nécessaire pour couvrir l'ensemble du cycle parasitaire est hors des limites de l'autorisation de mise sur le marché.

Depuis une dizaine d'années, des cas de résistance aux pyréthrinoïdes ont été rapportés chez plusieurs arthropodes dans divers pays. Une mutation du gène du canal sodique voltage dépendant a été identifiée et a pu rendre compte de la tolérance à la perméthrine avec une bonne corrélation phénotype/génotype chez des sarcoptes provenant d'un modèle animal expérimental (*Sarcoptes scabiei* var. *canis*)¹⁸. Actuellement, l'importance du phénomène de résistance n'est pas bien connue. Une étude réalisée en 2013 et ayant étudié plusieurs dizaines de sarcoptes provenant de patients infectés en Ile-de-France n'avait pas retrouvé cette mutation ou d'autres sur deux domaines du gène¹⁹. Cette étude était réalisée avant la mise sur le marché de la perméthrine 5% en France et une surveillance moléculaire de la résistance aux pyréthrinoïdes au long cours semble donc nécessaire. La question de la résistance de *Sarcoptes scabiei* à l'IVM sera développée dans un autre chapitre

II. La gale animale

A. Gale sarcoptique animale

Plus de 15 variétés de *Sarcoptes scabiei* sont responsables de gale sarcoptique chez différentes espèces animales²⁰. Ces variétés sont morphologiquement similaires²¹ mais leurs génotypes différents leur confèrent une certaine spécificité d'hôte. La transmission inter-espèce est possible lors de contacts étroits mais demeure rare²²⁻²⁴. En France, la gale sarcoptique est régulièrement rapportée chez le chien et dans les élevages de porcs, avec un impact économique majeur^{25,26}. L'arsenal thérapeutique vétérinaire est beaucoup plus riche que chez l'homme et de nombreuses molécules et formulations sont actuellement

commercialisées, issues de diverses familles. Les molécules disponibles en France pour le traitement de la gale sarcoptique animale sont résumées dans le tableau 2.

Famille	Molécule	Nom commercial	Galénique / dosage	Espèces animales
Organophosphaté	phoxime	Sebacil®	Solution	Porcs
Formamidine	amitrazé	Taktic®	Solution	Bovins, ovins, caprins, porcs
Pyréthroïdes	fenvaleérate	Acadrex® 60	Solution	Bovins
	deltaméthrine	Butox®	Solution 5%	Bovins, ovins
Lactones macrocycliques	ivermectine	Ivomec®	Injection sous-cutanée, application locale	Bovins, ovins, porcs
	selamectine	Stronghold®	Application locale, 6–10 mg/kg	Chiens
	doramectine	Dectomax®	Injection sous-cutanée	Bovins, ovins, porcs
		Doramec®	Injection sous-cutanée	Bovins, ovins, porcs
	eprinomectine	Eprinex®	Application locale, 0.1 mL/kg	Bovins
	moxidectine	Cydectin®	Application locale, 0.5 mg/kg; Injection sous-cutanée, 0.2 mg/kg	Bovins, ovins
	Moxidectine + imidaclopride	Advocate®	Application locale, 0.1 mL/kg	Chiens
	milbémécine oxime	Interceptor®	Comprimés, 1.0–1.5 mg/kg	Chiens
Isoxazolines	sarolaner	Simparica®	Comprimés, 2– 4 mg/kg	Chiens

Tableau 2. Médicaments enregistrés pour le traitement de la gale sarcoptique en France (Avril 2016)

Contrairement à la médecine humaine où la recherche et le développement de nouveaux antiparasitaires sont stagnants, la recherche a progressé dans le domaine vétérinaire. Les maladies parasitaires en général et les ectoparasitoses en particulier sont un enjeu majeur dans l'élevage animal stimulant l'industrie à développer régulièrement de nouvelles molécules et de nouvelles formulations²⁷.

B. Les modèles expérimentaux animaux dans la gale

L'étude de *S. scabiei* et de la gale est rendue difficile par l'impossibilité de maintenir en vie le parasite en dehors de son hôte plus de 48 à 72 heures et de l'absence de culture *in vitro* pour maintenir vivants et faire se reproduire les parasites. L'accès aux sujets infestés naturellement peut être difficile pour des questions d'éthique ou d'organisation. Par ailleurs, la plupart des patients sont infestés avec peu de parasites (une dizaine pour une gale

commune). Les modèles animaux sont rares mais importants pour pallier à ces limites et ces difficultés. Des modèles de lapins (*Oryctolagus cuniculi*) infestés expérimentalement à partir de parasites de chiens naturellement infestés ont été développés aux USA dans les années 1980 (*S. scabiei* var. *canis*)²³ et en Espagne plus récemment, avec des parasites provenant de lapins naturellement infestés (*S. scabiei* var. *cuniculus*)²⁸.

Un modèle porcin (*Sus scrofa domesticus*) a été développé en Australie par Mounsey *et al.*²⁹ et récemment importé et développé par l'équipe Dynamyc au sein de l'École nationale vétérinaire d'Alfort (EnvA) (figures 2 et 3). Le porc est l'hôte naturel de *S. scabiei* var. *suis* et il développe des réponses cliniques et immunologiques proches de celle de l'homme³⁰. Le porc présente d'importantes similitudes avec l'homme, notamment en terme de structure et de physiologie du revêtement cutané, de système immunitaire inné ou de paramètres biologiques, faisant du porc un modèle reconnu pour étudier les pathologies infectieuses et dermatologiques humaines³¹⁻³⁵. Les atouts de ce modèle en font un outil très prometteur pour l'étude des relations hôte/parasite ou pour aider au développement et à l'évaluation de nouvelles thérapeutiques.



Figures 2 et 3. Lésions cliniques de gale dans le modèle porcin : papules, érythème et croûtes

III. Molécules : ivermectine et moxidectine

A. Famille des lactones macrocycliques : mode d'action et propriétés pharmacologiques

L'IVM et la moxidectine (MOX) sont deux molécules appartenant à la famille des lactones macrocycliques, encore appelées macrolides antiparasitaires, endectocides de par leur large spectre d'action. Les lactones macrocycliques comportent deux familles chimiques différentes : les **avermectines** et les **milbémycines** (figure 4).

Ces molécules sont toutes caractérisées par la présence d'un anneau macrocyclique mais sont synthétisées par des microorganismes différents.

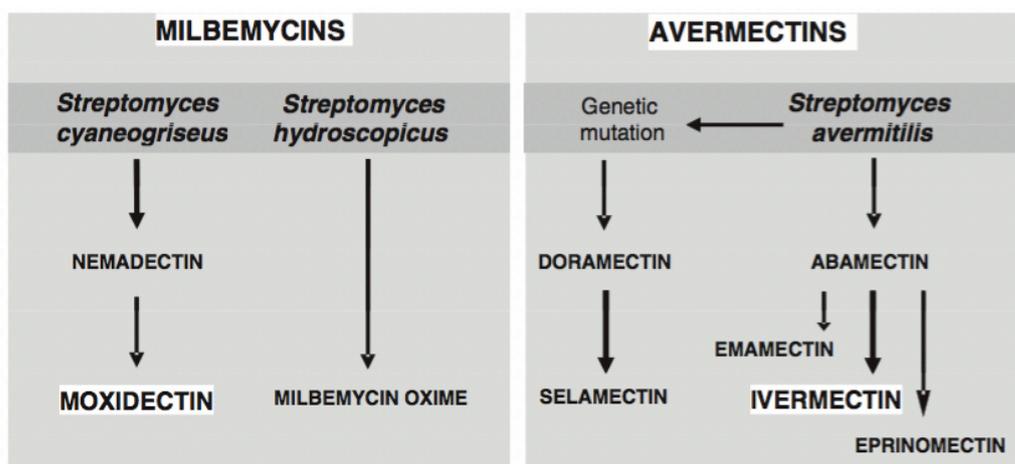


Figure 4. Famille des lactones macrocycliques³⁶

L'abamectine a été isolée pour la première fois en 1974, à partir d'une bactérie tellurique, *Streptomyces avermitilis* découverte près d'un parcours de golf japonais et breveté en 1981 par l'industriel Merck & Co[®] initialement à usage vétérinaire, et six ans plus tard pour l'homme. La découverte des avermectines a permis à William C. Campbell et Satoshi Ōmura d'obtenir le prix Nobel de physiologie ou médecine en 2015.

L'autre sous-famille des lactones macrocycliques appelée milbémycines a été isolée, avant les avermectines, en 1967 à partir de la fermentation d'une autre bactérie tellurique, *Streptomyces hydroscopicus* puis plus tard à partir de *Streptomyces cyaneogriseus* en 1983. La principale

différence structurelle entre les deux sous-familles est que les avermectines possèdent des groupes glucidiques sur le C13 de l'anneau macrocyclique alors que les milbémécines sont protonées en C13.

Le mode d'action des lactones macrocycliques n'a pas été totalement déterminé et a surtout été étudié pour l'IVM dans le cadre des nématodes³⁷. L'anneau macrocyclique commun aux deux sous-familles bloquerait la transmission neuromusculaire en se fixant sur les canaux chlorure dépendants du glutamate du motoneurone^{38,39} (figure 5). Cela entraînerait une augmentation des flux d'ions chlorure dans la cellule, son hyperpolarisation et la suppression du signal inter-neuronal ou neuromusculaire. Ces canaux glutamate-dépendants (GluCl) sont spécifiques des invertébrés et leur blocage entraîne la mort de l'arthropodes ou du nématode par paralysie des muscles pharyngés et respiratoires⁴⁰. L'ivermectine agirait également sur la transmission nerveuse dépendante du GABA (gamma-amino butyric acid) en augmentant la libération du GABA par le neurone pré-synaptique et en augmentant sa liaison aux canaux chlorures GABA-dépendants du motoneurone, bloquant la neurotransmission une nouvelle fois par augmentation des flux intracellulaires des ions chlorure⁴¹.

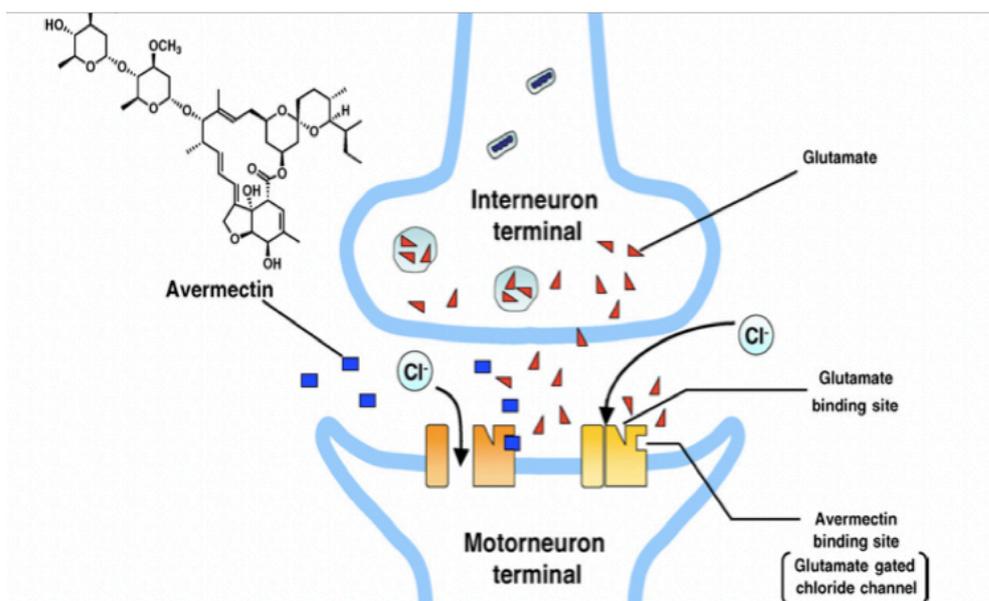


Figure 5. Action de l'ivermectine sur les canaux chlorure dépendants du glutamate au niveau de la synapse inter-neuronale d'un parasite⁴²

Les effets indésirables possibles des lactones macrocycliques sont dus aux interactions potentielles de ces molécules avec les récepteurs GABA des mammifères (présents dans le système nerveux central). Cependant les lactones macrocycliques sont généralement éliminées du système nerveux central par des pompes d'efflux transmembranaires de la famille des transporteurs ABC (P-glycoprotéine) lorsque la barrière hémato-encéphalique est fonctionnelle^{36,43-45} (figure 6). L'absence ou le déficit fonctionnel des P-glycoprotéines entraîne une augmentation de la concentration des molécules dans le système nerveux central et un risque de neurotoxicité accru⁴⁶.

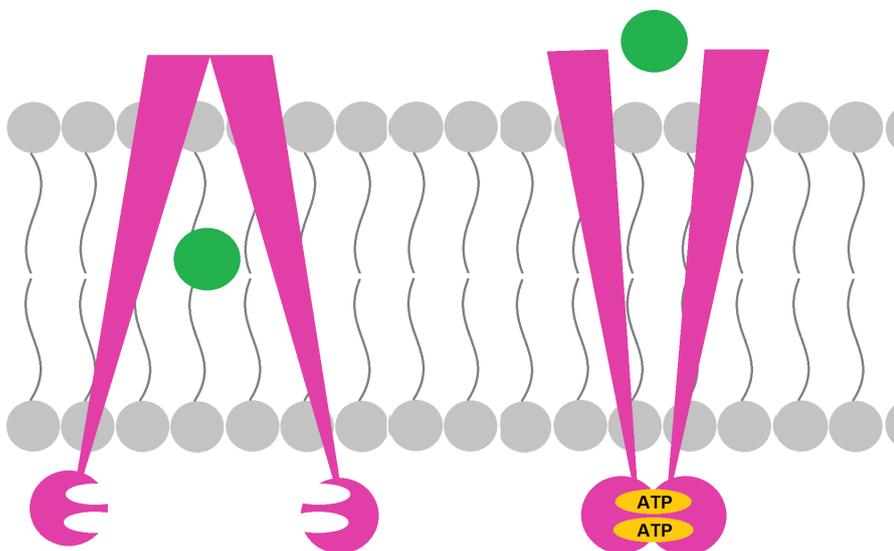


Figure 6. Mécanisme d'action des transporteurs ABC. A la fixation de l'ATP, le transporteur change de conformation afin de permettre l'export de la molécule vers le compartiment extracellulaire⁴³

Si, comme décrit précédemment, l'IVM et la MOX ont des propriétés fonctionnelles proches, elles ne sont pas pour autant identiques. L'IVM appartient au groupe des avermectines et la MOX au groupe des milbémycines. Elles ont des structures moléculaires (figure 7) et des propriétés physicochimiques différentes³⁶.

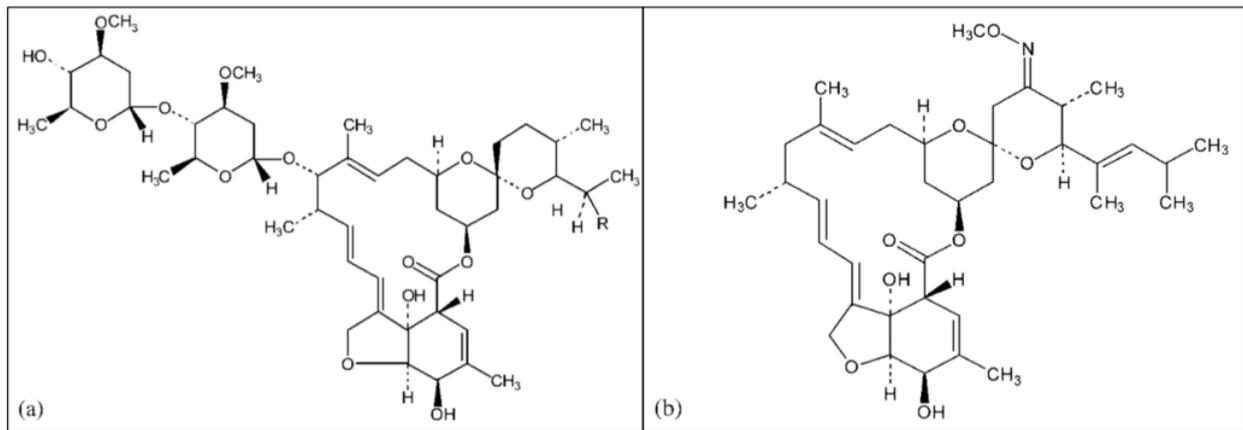


Figure 7. Structure moléculaire de l'IVM (a) et de la MOX (b)

B. Différences entre IVM et MOX

L'IVM a été mise sur le marché en 1981 et a d'abord été utilisée en clinique vétérinaire et très vite, elle a été développée chez l'homme, en 1988. Elle est principalement utilisée chez l'homme pour son activité contre *Onchocerca volvulus* (onchocercose), *Wuchereria bancrofti* (filariose lymphatique), *Ascaris lumbricoides* (ascaridiose), *Strongyloides stercoralis* (anguillulose) et *Sarcoptes scabiei* (gale)⁴⁷. Elle est utilisée dans le cadre de traitements de masse en Afrique et en Océanie pour traiter l'onchocercose et la gale⁴⁸⁻⁵⁰. En France elle est commercialisée sous le nom de Stromectol®.

La MOX a été découverte en 1982 et commercialisée pour la première fois en médecine vétérinaire en 1989. Elle est fréquemment utilisée en médecine vétérinaire pour le traitement des nématodoses gastro-intestinales et cardio-pulmonaires ainsi que pour les ectoparasitoses des ruminants, des chevaux, du porc et des carnivores domestiques. Bonne candidate à une utilisation chez l'homme, la MOX a été évaluée dans des études de phase II et III pour le traitement de l'onchocercose⁵¹ et est actuellement en cours d'inscription à la US Food and Drug Administration (FDA) dans cette indication⁵².

Probablement grâce à son caractère particulièrement lipophile, la MOX a une forte capacité à

s'accumuler dans les tissus conduisant à une plus grande rémanence dans l'organisme. Cette particularité est mise en évidence par les paramètres pharmacocinétiques de la MOX. En effet, comparée à l'IVM, la MOX est caractérisée par un plus grand volume de distribution et un très long temps de persistance moyen dans l'organisme. Cela a été mis en évidence chez plusieurs espèces y compris l'homme chez qui des études ont été réalisées chez des patients sains pour évaluer la sécurité, la toxicité et les principaux paramètres pharmacocinétiques plasmatiques de l'IVM et de la MOX administrées en dose unique^{53,54}. En plus de concentrations maximales (C_{\max}) et d'une aire sous la courbe de la concentration plasmatique en fonction du temps (AUC) plus importantes, la MOX présente une plus longue demi-vie et un plus grand volume de distribution que l'IVM lorsqu'elle est donnée par voie orale aux mêmes doses (tableau 3). Des résultats similaires étaient retrouvés chez le porc⁵⁵.

Molécule	AUC (ng.jour/ml)	$T_{1/2}$ (jours)	C_{\max} (ng/ml)
Ivermectine⁵¹ 0,5mg/kg orale	190 ± 79	0,8	261 ± 172
Moxidectine⁵² 0,5mg/kg orale	451 ± 48	20,2	289 ± 23

AUC : aire sous la courbe. $T_{1/2}$: temps de demi-vie. C_{\max} : concentration maximale

Tableau 3. Principales différences pharmacocinétiques entre ivermectine et moxidectine chez l'homme

L'IVM est très bien tolérée chez l'homme, les principaux effets indésirables rapportés sont des nausées ou des vomissements, une mydriase ou une ataxie⁵³. Les réactions les plus sévères sont observées au cours du traitement de filarioses (onchocercose, filariose lymphatique, loase) et sont probablement dues à la lyse parasitaire et à une réaction hyperéosinophilique chez des patients ayant des taux élevés de microfilaires circulantes. Ces réactions rendent difficiles le traitement de masse de l'onchocercose dans les zones de forte endémie de *Loa loa*⁵⁶. L'IVM est également très bien tolérée par les animaux. Il est cependant intéressant de noter que certains chiens de la race des Colley présentent une hypersensibilité

aux avermectines due à une délétion du gène *MDR1* (ou *ABCBI*). Cette délétion provoque un déficit en glycoprotéine P. La MOX serait un substrat plus faiblement lié à la glycoprotéine P que l'IVM, et elle serait donc bien tolérée chez les chiens porteurs de la mutation du gène *MDR1* et semble moins toxique chez les mammifères que l'IVM⁵⁷. Chez l'homme, plus de 1299 patients ont reçu de la MOX à doses uniques dans sept études thérapeutiques différentes (1105 patients dans les essais de phases II et III dans l'onchocercose et 244 sujets dans 6 essais d'études pharmacologiques). Dans l'étude de phase I de Cotreau *et al.* chez l'homme (n= 37) étudiant la MOX à doses uniques croissantes (de 3 à 36mg), le profil de tolérance était bon avec une discrète augmentation d'effets indésirables modérés sur le système nerveux central aux plus fortes concentrations (nausées, vomissements et somnolence)⁵⁴. Ces effets indésirables n'ont pas été retrouvés dans la dernière étude pharmacologique d'innocuité sur le QT (n= 60) étudiant des doses uniques croissantes de 4 à 36mg (résultats non publiés MDGH-MOX-1008).

Après plus de 20 ans d'utilisation, plusieurs cas de nématodes résistants à l'IVM ont été rapportés chez différents animaux⁴³. La résistance/tolérance à l'IVM du sarcopte de la gale est apparue dans les communautés aborigènes d'Australie, dans les années 2000. Une étude australienne a rapporté deux cas d'échecs cliniques chez l'homme mais aussi des souches tolérantes *ex vivo/in vitro*⁵⁸. Plusieurs mécanismes sont évoqués pour expliquer la résistance à l'IVM : altération des P-glycoprotéines, altération du récepteur des canaux chlorure glutamate-dépendants ou des canaux chlorure GABA-dépendants⁴³.

L'existence d'une résistance croisée entre l'IVM et la MOX est logiquement évoquée au regard des grandes similitudes entre les deux molécules et de leurs mécanismes d'action. Cela reste en réalité discuté, les cas de résistance à la MOX étant beaucoup moins fréquemment rapportés que pour l'IVM malgré un usage intensif comparable des deux molécules. De plus, la majorité des cas de nématodes résistants à l'IVM restent malgré tout sensibles à la MOX. Cependant de rares cas de résistance mutuelle ont été rapportés^{59,60}. Au total, il semblerait que

ces deux molécules induisent une résistance par des mécanismes proches mais distincts⁶¹.

C. Utilisation dans la gale

Dès sa commercialisation dans les années 80 dans le monde animale, l'IVM a été utilisée pour le traitement de la gale sarcoptique. Chez l'homme il a fallu plus longtemps pour permettre son utilisation dans la gale humaine et l'autorisation de mise sur le marché a été acceptée en France en 2001^{1,62-65}.

Depuis, l'IVM a montré des limites à son utilisation dans la gale. Outre la nécessité de prescrire une deuxième dose hors de l'AMM afin de couvrir l'ensemble du cycle parasitaire de *Sarcoptes scabiei*, l'IVM est utilisée chez l'homme à la dose de 0,2 mg/kg/prise par analogie avec les concentrations létales pour les nématodes. Or il a été montré dans plusieurs études une efficacité réduite de l'IVM sur le sarcopte à des doses légèrement inférieures, ce qui pourrait indiquer que cette dose de 0,2 mg/kg serait la dose minimale efficace sur *Sarcoptes scabiei*⁶⁶⁻⁶⁸. L'IVM n'a pas l'AMM pour les enfants de moins de 15 kg (soit environ 3 ans et demi selon les abaques de l'OMS) mais a été utilisée chez des enfants de 2 ans dans un essai évaluant l'IVM à la dose de 0,4 mg/kg dans la pédiculose du cuir chevelu⁴⁷. Enfin, une tolérance clinique et *in vitro* de *Sarcoptes scabiei* à l'IVM a été rapportée notamment chez deux patients aborigènes ayant reçu de nombreuses doses itératives pour des infestations récurrentes (30 et 58 doses respectivement)⁵⁸. Bien qu'exceptionnelles, et alors qu'aucune étude n'a été réalisée en France, ces observations sont préoccupantes alors que l'IVM pourrait voir ses indications élargies au cours des prochaines années par voie orale ou locale (utilisation dans la pédiculose ou dans la rosacée)^{47,69,70}.

La MOX est actuellement un bon candidat comme alternative à l'IVM dans l'indication de la gale chez l'homme⁷¹ et a été reconnue récemment par l'OMS comme pouvant jouer un rôle important dans le contrôle de celle-ci dans les années à venir⁷². En

utilisant le modèle porcin hébergé à l'EnvA, Bernigaud *et al.* ont montré que la MOX présente une activité acaricide supérieure et plus rapide que l'IVM (figure 8), ainsi qu'une absorption rapide après prise orale avec une demi-vie cutanée et plasmatique plus longue permettant d'envisager un traitement en une seule prise⁷³. Cette étude préclinique a servi de preuve de concept pour le futur développement clinique de cette molécule chez l'homme. Une étude de phase II a pu être financée par le Global Health Found (Bill and Melinda Gates Foundation & JP Morgan Chase & Co)⁷⁴. Dans l'intervalle, des travaux complémentaires sont nécessaires pour une utilisation optimale de cette molécule prometteuse dans cette indication.

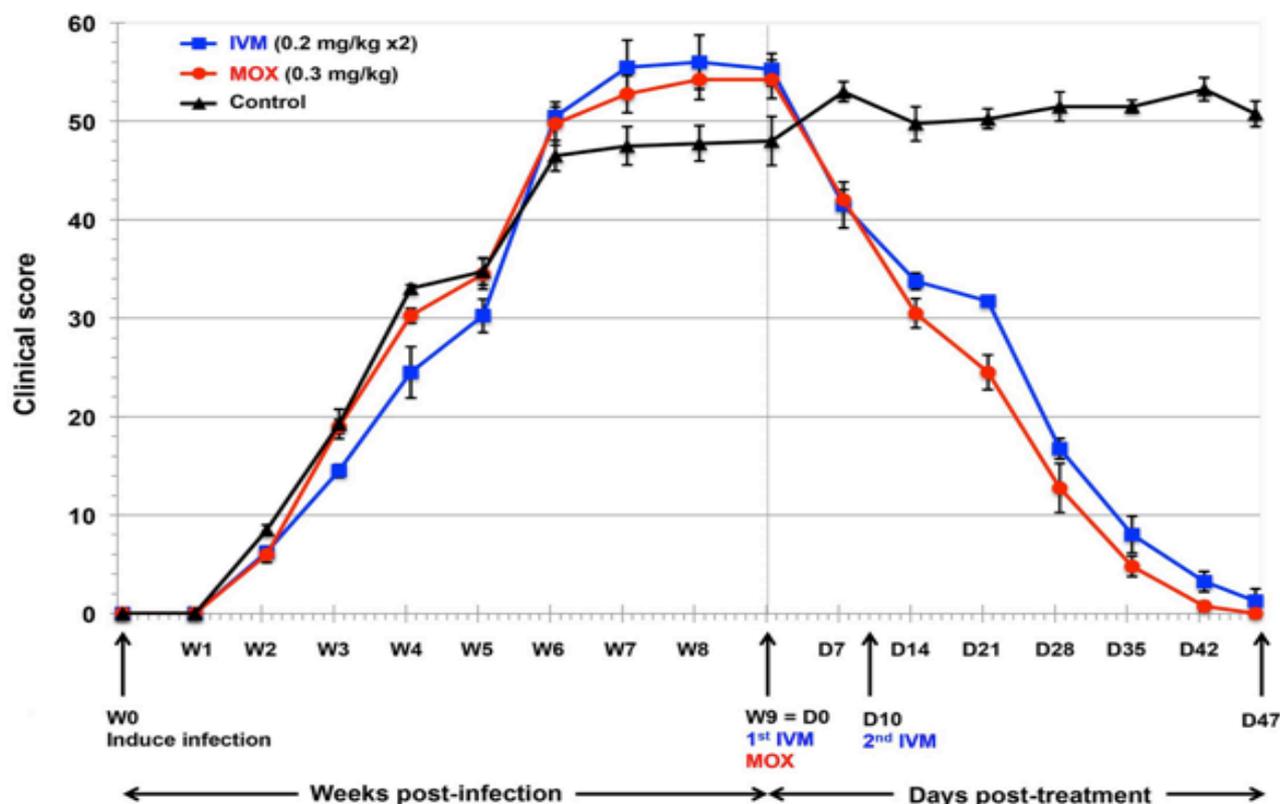


Figure 8. Evolution du score clinique d'infestation avant et après traitement par IVM, MOX et placebo de porcs expérimentalement infestés par *Sarcoptes scabiei*⁷³

La détermination d'une courbe effet/dose *in vivo* est indispensable à la détermination de la posologie optimale de la MOX dans l'indication de la gale. De plus, les seules données de concentrations létales pour le sarcopte n'ont été obtenues *in vitro* que très récemment⁷⁵. La

détermination de ce schéma posologique idéal, en plus des propriétés de distribution de la molécule dans les tissus, doit prendre en compte les spécificités biologiques du parasite : la présence des sarcoptes dans un compartiment particulier de l'épiderme, le *stratum corneum* et la durée du cycle parasitaire notamment. Les cas particuliers comme les cas d'hyperkératose induite par la gale, modifiant probablement la répartition cutanée des molécules ou les variations métaboliques aux âges extrêmes de la vie sont également à considérer. Cela passe par une connaissance accrue des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de la MOX, spécifiquement dans la peau en général, et dans le *stratum corneum* en particulier.

Objectifs

L'utilisation du modèle porcin de la gale devrait permettre d'améliorer nos connaissances nécessaires au développement optimal (dose, posologie, administration) de la MOX dans l'indication de la gale chez l'homme.

Les objectifs de cette étude étaient :

- d'évaluer et valider une technique non-invasive de dosage de la MOX et de l'IVM dans la peau
- d'approfondir les données de pharmacocinétique cutanée des lactones macrocycliques dans le modèle porcin de la gale

Matériels et méthodes

Pour cette étude, les porcs ont été hébergés au Centre de Recherche Biomédicale (CRBM) de l'EnvA. Ils ont été pris en charge en conformité avec les recommandations françaises et européennes de bonne pratique concernant la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques (Articles R. 214-97 à 214-137 du Code Rural et de la Pêche Maritime, Décret 2013-118 et Directive Européenne 2010/63/EU). Cette étude a été approuvée par le Comité d'éthique en expérimentation animale Anses/EnvA/UPEC (agrément 02515.03). Le protocole de recherche a suivi les recommandations « ARRIVE » (Animals in Research : Reporting *In Vivo* Experiments)⁷⁶.

I. Développement et validation d'une technique non invasive de dosage de la moxidectine et de l'ivermectine dans la peau

Animaux

Quatre porcs (*Sus scrofa domesticus*), femelles, âgés de 7 semaines, pesant 14,55 kg de moyenne (SD \pm 0,37) provenant de l'exploitation de M. Limosin (Ile de France, France) ont été hébergés au CRBM (figure 9). Les porcs étaient indemnes de gale à l'arrivée. Aucun n'avait reçu de traitement antiparasitaire (notamment des lactones macrocycliques) au préalable. Les porcs étaient placés dans un même enclos, dans des conditions climatiques ($21 \pm 2^\circ\text{C}$; taux d'humidité de $50 \pm 10\%$) et environnementales (copeaux de bois sur sol en ciment nettoyé quotidiennement) contrôlées. La nourriture était donnée une fois par jour et l'eau à volonté. Un cycle d'éclairage séquentiel était maintenu toutes les 12 h (de 7h à 19h).



Figure 9. Porcs utilisés dans l'étude

Prélèvements cutanés et plasmatiques

Prélèvements du *stratum corneum*

Le *stratum corneum* était prélevé en utilisant des disques autocollants transparents D-Squame[®] (CuDerm, Dallas, TX, USA) de diamètre 20 mm (figure 10). Ces disques sont utilisés en dermatologie cosmétique pour l'appréciation de l'hydratation cutanée, en estimant la quantité de cornéocytes prélevés. La zone encrée blanche de chaque disque était préalablement effacée grâce à l'application d'éthanol à 70%. Chaque prélèvement consistait en un lot de 10 disques adhésifs appliqués consécutivement sur la même surface de peau rasée, à pression constante pendant 10 s (annexe 1). Après le prélèvement, chaque lot de 10 disques était conservé à -20°C.

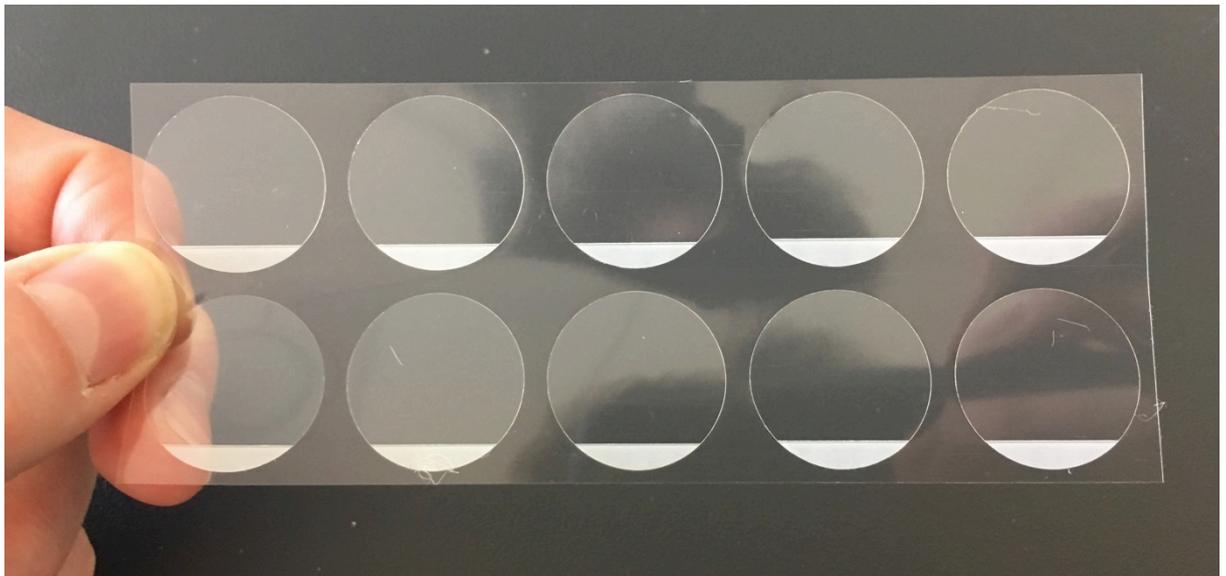


Figure 10. Disques D-Squame® utilisés pour effectuer les prélèvements de *stratum corneum*

Biopsies cutanées

Les biopsies cutanées étaient réalisées à l'aide de trépan pour biopsie standards de 6 mm de diamètre (KAI Europe®, GmbH, Allemagne). L'épiderme et le derme étaient séparés de l'hypoderme à la lame de bistouri par contrôle visuel. Les biopsies étaient conservées à -20°C (annexe 2).

Prélèvements plasmatiques

Les prélèvements sanguins étaient obtenus par ponction directe de la veine jugulaire dans des tubes avec héparinate de Lithium (BD Vacutainer®, BD-Plymouth, UK). Le plasma était prélevé après centrifugation des prélèvements sanguins à 2000 g pendant 10 min. Les prélèvements étaient conservés à -20°C (annexe 3).

Analyse pharmacocinétique de la moxidectine et de l'ivermectine

Quantification du prélèvement de *stratum corneum*

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour quantifier le prélèvement de *stratum corneum*.

1) **Pesée.** Chaque lot de 10 disques était pesé après prélèvement. Le poids de 10 disques natifs était standardisé et mesuré constant (0,5300 g), le poids du *stratum corneum* prélevé était obtenu par soustraction.

2) **Numération par échelle visuelle.** Une échelle de quantification visuelle de la quantité de squames (cornéocytes) prélevée sur chaque disque a été fournie par le fabricant (figure 11). Un score de 0 (aucune squame) à 5 (disque saturé en squames) était attribué pour chaque disque permettant d'évaluer la quantité de *stratum corneum* prélevée par chaque prélèvement de 10 disques par un score de 0 à 50. Trois observateurs ont évalué le score de façon indépendante et la moyenne de ces trois scores était calculée.

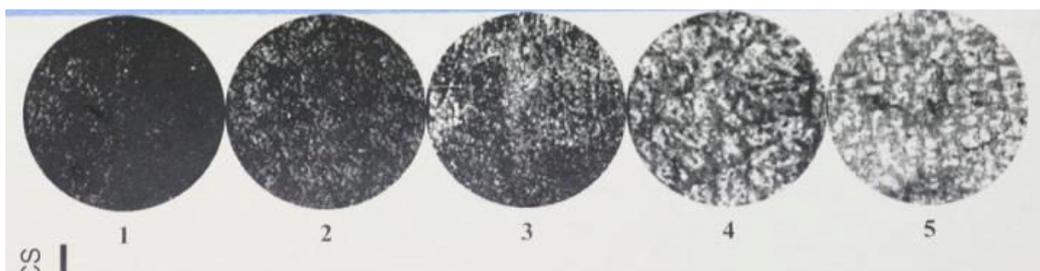


Figure 11. Echelle de cotation visuelle permettant d'évaluer la quantité de *stratum corneum* prélevée par les disques D-Squames®

3) **Dosage du cholestérol.** Après extraction de chaque lot de 10 disques, le cholestérol était quantifié dans la moitié de l'éluant à l'aide d'un kit standardisé (Amplex® Red Cholesterol Assay Kit, ThermoFischer Scientific, Waltham, MA, USA). L'éluant était évaporé (14 min à 60°C) puis le résidu sec était solubilisé dans 100 µL du tampon de réaction fourni. Chaque échantillon était dilué au dixième dans le même tampon et 50 µL de solution diluée étaient déposés dans les puits d'une microplaque (Greiner® 96 flat bottom black polystyrol, Greiner Bio-One, Autriche). Une gamme de standards de concentrations de cholestérol était préparée à partir d'une solution de référence de cholestérol à 2 mg/mL et du tampon de réaction (fournis dans le kit) : 50 µL de solutions de cholestérol de concentrations croissantes (0,125

$\mu\text{g/L}$ à $8 \mu\text{g/L}$) étaient placés dans des puits de la microplaque. Des témoins positifs ($50 \mu\text{L}$ de solution de H_2O_2 à $10 \mu\text{M}$) et négatifs ($50 \mu\text{L}$ de tampon seul) étaient également utilisés. Les réactions ont débuté par l'ajout dans chaque puits de $50 \mu\text{L}$ de la solution réactive fournie ($300 \mu\text{M}$ de réactif Amplex[®] Red, 2 U/mL de Horse Radish Peroxydase, 2 U/mL de cholestérol oxydase et $0,2 \text{ U/mL}$ de cholestérol estérase). La fluorescence de chaque réaction était lue après 30 min d'incubation à 37°C à l'abri de la lumière sur un lecteur de microplaque à fluorescence (Tecan Infinite 200, Tecan[®], Suisse, longueur d'onde d'excitation 545 nm et longueur d'onde de lecture 590 nm). Pour chaque point, les valeurs de fluorescence des contrôles négatifs étaient soustraites pour corriger la fluorescence basale. Les limites de détection du kit allaient de 200 nM à $20 \mu\text{M}$.

Extraction et dosage de la moxidectine et l'ivermectine

1) **Dans le plasma et la peau.** Les concentrations en MOX et IVM étaient déterminées par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) avec détection de fluorescence par une procédure précédemment validée par l'équipe INRA (Institut National de Recherche Agronomique) dans laquelle étaient effectués les dosages^{77,78}. Les prélèvements plasmatiques et les biopsies cutanées étaient extraits dans l'acétonitrile. Pour les biopsies cutanées, le surnageant était soumis à une extraction de phase automatisée (BenchMate II, Zyark[®], MA, USA). La dérivation fluorescente des échantillons était obtenue par dissolution du résidu sec dans des solutions de *N*-méthylimidazole, d'anhydride trifluoroacétique (Aldrich[®], WI, USA) et d'acétonitrile. Les paramètres chromatographiques consistaient en une phase mobile composée d'acide acétique à $0,2\%$, de méthanol et d'acétonitrile, pompée au débit régulier de $1,6 \text{ mL/min}$ à travers une colonne Supelcosil C18 de $3 \mu\text{m}$ (Supelco[®], PA, USA). La détection de fluorescence (Detector RF 551, Shimadu[®], Japon) se faisait aux longueurs d'onde de 265 nm en excitation et 475 nm en émission. Pour chaque molécule, la linéarité était similaire dans le plasma et les biopsies cutanées ($r = 0,99$ pour des concentrations de $0,1$ à

100 ng/mL) et les limites de quantification étaient de 0,05 ng/mL dans le plasma et de 0,1 ng/g dans la peau.

2) Dans les disques. Chaque lot de 10 disques était immergé dans 6 mL d'acétonitrile glacial, agité pendant 20 min et soumis à sonication (bain à ultrasons) pendant 15 min. Cette solution était ensuite récupérée et centrifugée à 13000 g pendant 10 min. Le surnageant était récupéré (la moitié de cet éluant était conservée pour le dosage du cholestérol) puis évaporé (12 min à 60°C). La quantité de MOX et d'IVM dans ce résidu sec était mesurée par HPLC comme décrit plus haut. La technique a été validée par l'enrichissement de disques natifs avec des doses croissantes de MOX.

Protocole expérimental

Les quatre porcs (I, II, III et IV), âgés de 7 semaines à leur arrivée au CRBM, EnvA, étaient traités par dexaméthasone (0,2 mg/kg/j) après 48 h d'acclimatation et pendant l'intégralité de l'étude. Chaque animal a été pesé et a reçu une dose unique de MOX (0,3 mg/kg) par voie orale 3 jours après le début de la corticothérapie générale (J0) ainsi que deux doses d'IVM (0,2 mg/kg) par voie orale (à J0 et J8). La formulation de MOX était de la pâte orale pour chevaux (Equest[®], Zoetis, Malakoff, France) reconditionnée dans des gélules de gélatine (par Vanessa Doré, Pharmacotechnie, EnvA). L'IVM administrée était la formulation humaine à usage oral (Stromectol[®] 3mg, MSD, Courbevoie, France).

Plusieurs prélèvements pour dosage de la MOX et de l'IVM étaient réalisés. Les prélèvements sanguins, les prélèvements de *stratum corneum* par les disques adhésifs et les biopsies cutanées étaient réalisés à 6 h, 1, 2, 4, 8, 9 et 11 jours après J0. Les prélèvements à J8 étaient réalisés moins de 30 min après la deuxième prise d'IVM. Pour les prélèvements cutanés, deux prélèvements distincts de *stratum corneum* et une biopsie cutanée étaient réalisés sur la région cervicale/rétro-auriculaire. Les deux prélèvements (A et B) de *stratum*

corneum étaient adjacents au site de la biopsie cutanée et étaient réalisés simultanément pour chaque temps de prélèvements. Chaque prélèvement a été désigné par le numéro identifiant le porc : I, II, III ou IV, la lettre A ou B et le temps de recueil : de I-A H6 à IV-B J11.

Pour chaque prélèvement de *stratum corneum* par disques, on a calculé 3 concentrations de MOX et d'IVM selon la technique de quantification du prélèvement : poids, score visuel ou quantité de cholestérol.

II. Analyses statistiques

Les analyses statistiques des différentes données pharmacocinétiques (comparaison de moyenne par test de Student, analyse de variance et corrélation linéaire de Pearson) ont été réalisées à l'aide du logiciel StatPlus®.

Résultats

Quantification des prélèvements de stratum corneum

Poids

Le poids moyen de 10 disques après prélèvement était de 8,83 mg (\pm 4,01). Il n'était pas observé de différence significative entre les moyennes des poids des prélèvements de chacun des 4 porcs ($p = 0,92$). Le prélèvement le plus lourd pesait 16,7 mg (échantillon IV-B H6) et le plus léger 0,8 mg (échantillon IV-B J4).

Echelle visuelle

Le score visuel moyen de 10 disques après prélèvement était de 27,56 sur 50 (\pm 3,29). Il n'y avait pas de différence significative entre les moyennes des scores visuels de chacun des 4 porcs ($p = 0,14$). Le plus haut score retrouvé était de 34,3 sur 50 (échantillon II-B J8) et le plus bas est de 18,3 sur 50 (échantillon III-B J4). La figure 12 montre l'aspect des disques pour un prélèvement.



Figure 12. Disques D-Squame® de l'échantillon I-A J4 : cotation de 31, 32 et 33 sur 50 d'échelle visuelle selon les trois investigateurs

Dosage du cholestérol

La quantité moyenne de cholestérol dosée dans chaque échantillon de 10 disques était de 0,707 μ g (\pm 0,215). La quantité de cholestérol moyenne par échantillon était statistiquement

différente entre les 4 porcs ($p = 0,00002$). Elle était plus importante chez le porc I (0,914 μg) et chez le porc II (0,727 μg) que chez les porcs III (0,591 μg) et IV (0,596 μg). La plus grande quantité de cholestérol dosée dans un échantillon était de 1,746 μg (échantillon I-A H6) et la plus faible était de 0,392 μg (IV-B J11).

Tests de corrélation

Sur l'ensemble des échantillons ($n = 56$), il n'a pas été retrouvé de corrélation entre le poids des disques et le score visuel ($r = -0,033$; $p = 0,81$), entre le poids des disques et la quantité de cholestérol ($r = -0,028$; $p = 0,84$), ni entre le score visuel et la quantité de cholestérol ($r = -0,016$; $p = 0,91$).

Dosages pharmacologiques

Dosages plasmatiques

Une première analyse des profils individuels a révélé que le porc II n'avait absorbé qu'une partie de la gélule contenant la MOX et avait très vraisemblablement recraché le comprimé comprenant l'IVM. En effet, le pic de MOX à H6 chez le porc II était environ 6 fois inférieur à celui mesuré chez les 3 autres animaux et l'IVM était dosée dans le plasma chez ce même seulement après la deuxième prise. Les valeurs de dosage pour le porc II n'ont pas été retenues dans le calcul des concentrations plasmatiques moyennes.

Les pics de concentration plasmatique (C_{max}) de la MOX et de l'IVM étaient observés pour tous les animaux 6 h (T_{max}) après l'administration de chacune des molécules (figures 13 à 15). La C_{max} moyenne de MOX était de 77,55 ng/mL ($\pm 14,94$) et la C_{max} moyenne d'IVM était 1,7 fois moindre, mesurée à 45,04 ng/mL ($\pm 27,85$). La deuxième prise d'IVM a été effectuée 8 jours après la première. Les dosages plasmatiques réalisés immédiatement après cette prise ne montraient pas d'augmentation des concentrations, un nouveau pic était mesuré 24 h (J9) après la seconde prise. Ce pic était inférieur au pic obtenu après la première prise à J1 (11,99

vs 18,87 ng/mL) mais sans significativité ($p = 0,257$) et cette deuxième administration a permis de remonter la concentration d'IVM au-dessus de celle de la MOX à la même date. Les deux molécules étaient toutes les deux encore dosables à la fin de l'étude (11 jours après la première prise).

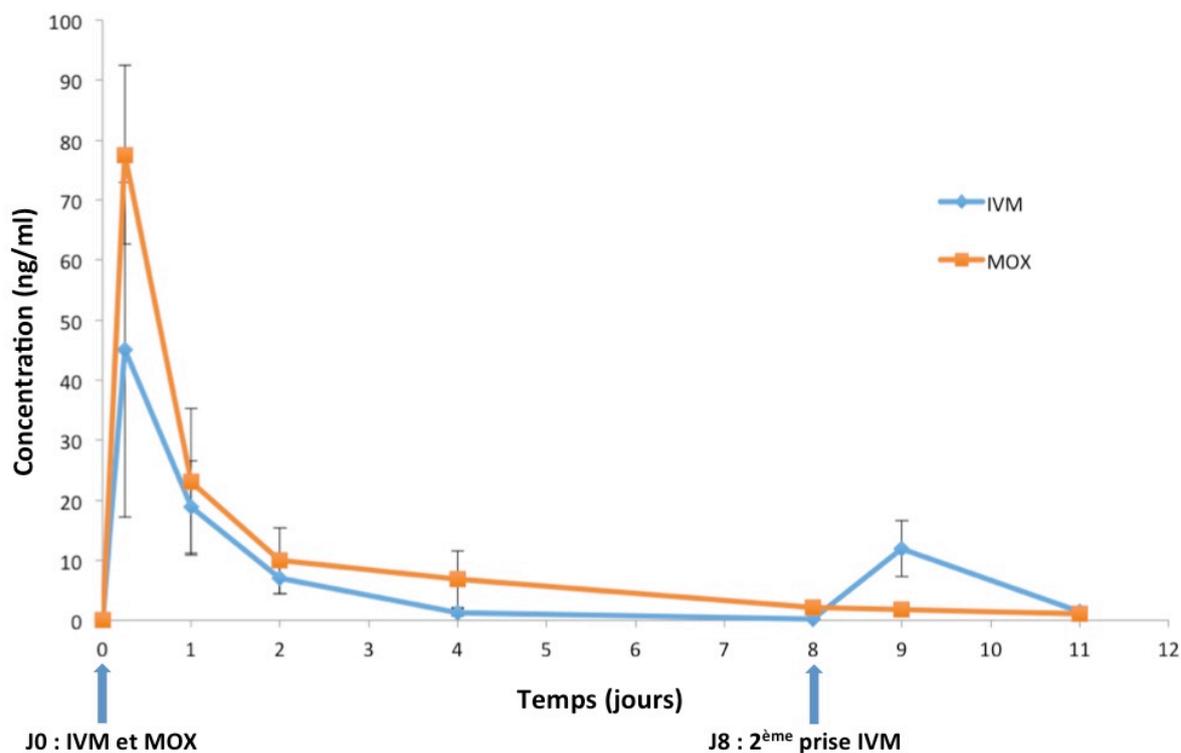


Figure 13. Concentrations plasmatiques de la MOX et de l'IVM (moyennes \pm écart-types) après administration orale. Les concentrations étaient mesurées à H6, J1, J2, J4, J8, J9 et J11 après la première prise orale de MOX et d'IVM

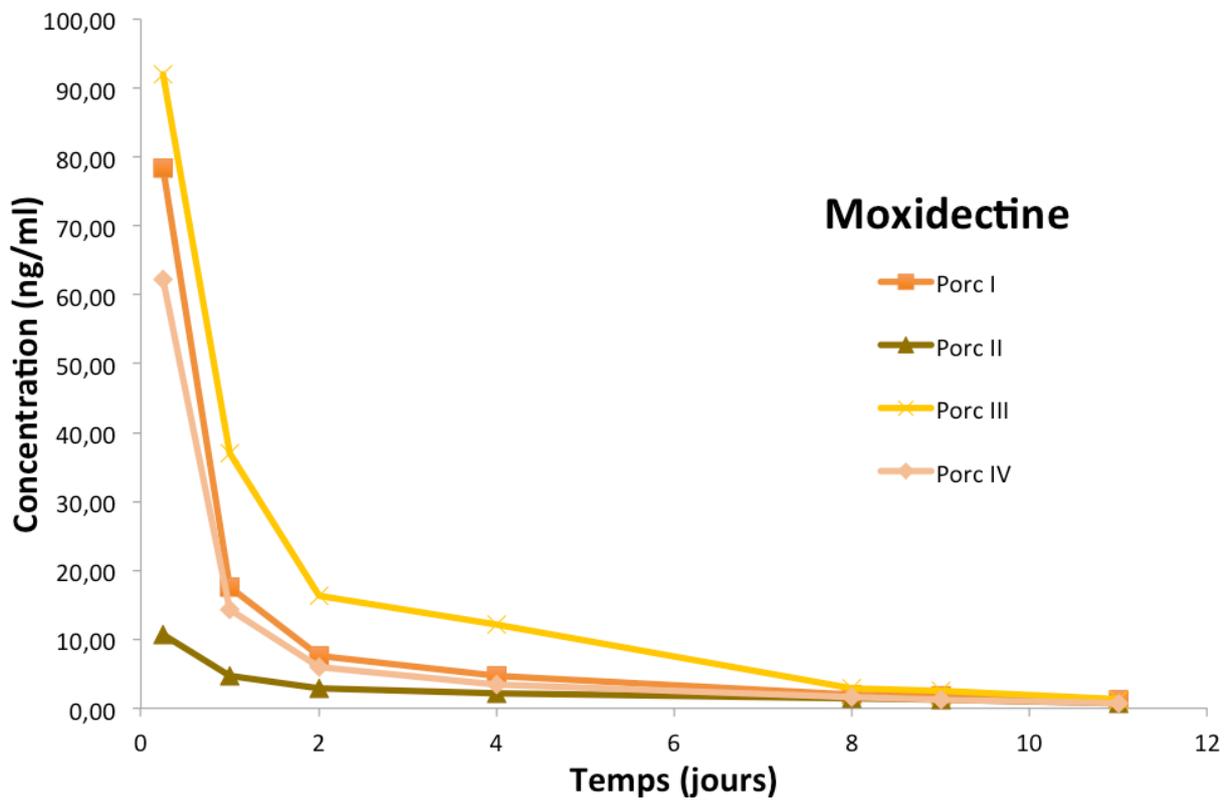


Figure 14. Concentrations plasmatiques de la MOX après administration orale chez les 4 porcs. Les concentrations étaient mesurées à H6, J1, J2, J4, J8, J9 et J11 après la prise orale de MOX

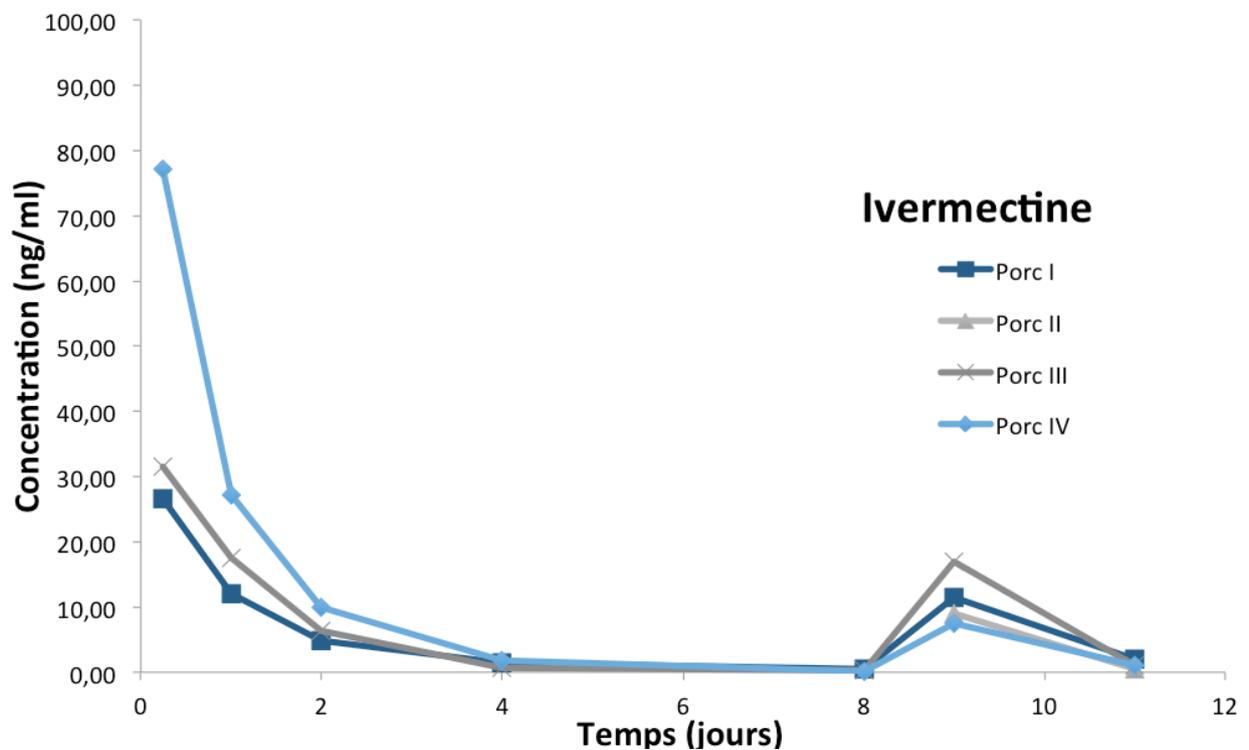


Figure 15. Concentrations plasmatiques de l'IVM après administration orale chez les 4 porcs. Les concentrations étaient mesurées à H6, J1, J2, J4, J8, J9 et J11 après la première prise orale d'IVM

Dosages dans le *stratum corneum* (à partir des disques adhésifs)

La MOX et l'IVM étaient dosées dans tous les échantillons cutanés (disques adhésifs) dès 6 h après la première prise médicamenteuse. Deux dosages (I-A J2 pour la MOX et I-A H6 pour l'IVM) avaient des valeurs 10 fois plus élevées que les dosages effectués aux mêmes temps, que ce soit le prélèvement réalisé sur la zone adjacente chez le même animal ou les prélèvements réalisés chez les autres porcs. Ces dosages ont été considérés comme aberrants et ils n'ont pas été pris en compte par la suite.

Tous les dosages d'IVM effectués à J8, immédiatement après la deuxième prise étaient exceptionnellement élevés, quels que soient l'animal ou l'échantillon A ou B analysés, sans élévation au niveau plasmatique. Ainsi, le temps J8 n'a pas été pris en compte dans le calcul des moyennes de dosages d'IVM.

Après la prise unique de MOX, la quantité maximale (Q_{\max}) dosée dans le *stratum corneum* était obtenue à 24 h pour 3 porcs. Seul le porc III avait une Q_{\max} plus précoce, dès 6 h. Après le pic, on observait une décroissance progressive des quantités dans le *stratum corneum*, la MOX étant toujours dosée au 11^{ème} jour chez tous les animaux sauf pour le porc II, qui avait une concentration plasmatique dosable à cette même date (figure 16).

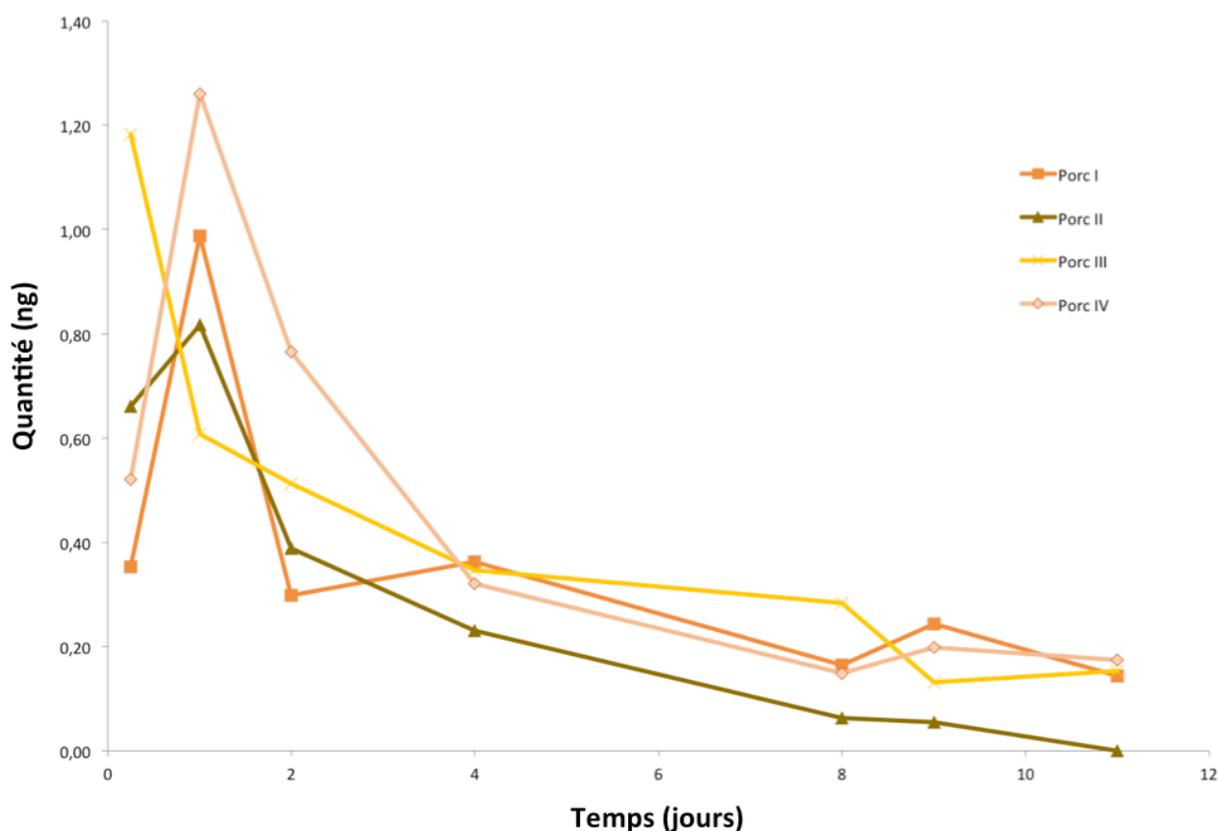


Figure 16. Quantités de MOX dans le *stratum corneum* (disques adhésifs) après administration orale chez les 4 porcs. Les dosages étaient effectués à H6, J1, J2, J4, J8, J9 et J11 après la prise orale de MOX dans 2 prélèvements A et B adjacents.

Après la première prise d'IVM, la quantité maximale dosée était observée à 24 h pour le porc III, à 2 jours pour les porcs I et II et à 4 jours pour le porc IV. Le porc II présentait une quantité d'IVM dosable dans le *stratum corneum* à partir de J2, en quantité comparable aux valeurs retrouvées pour le porc IV, alors même qu'il n'était pas retrouvé d'IVM dans le plasma avant la 2^{ème} prise à J8 (figure 17).

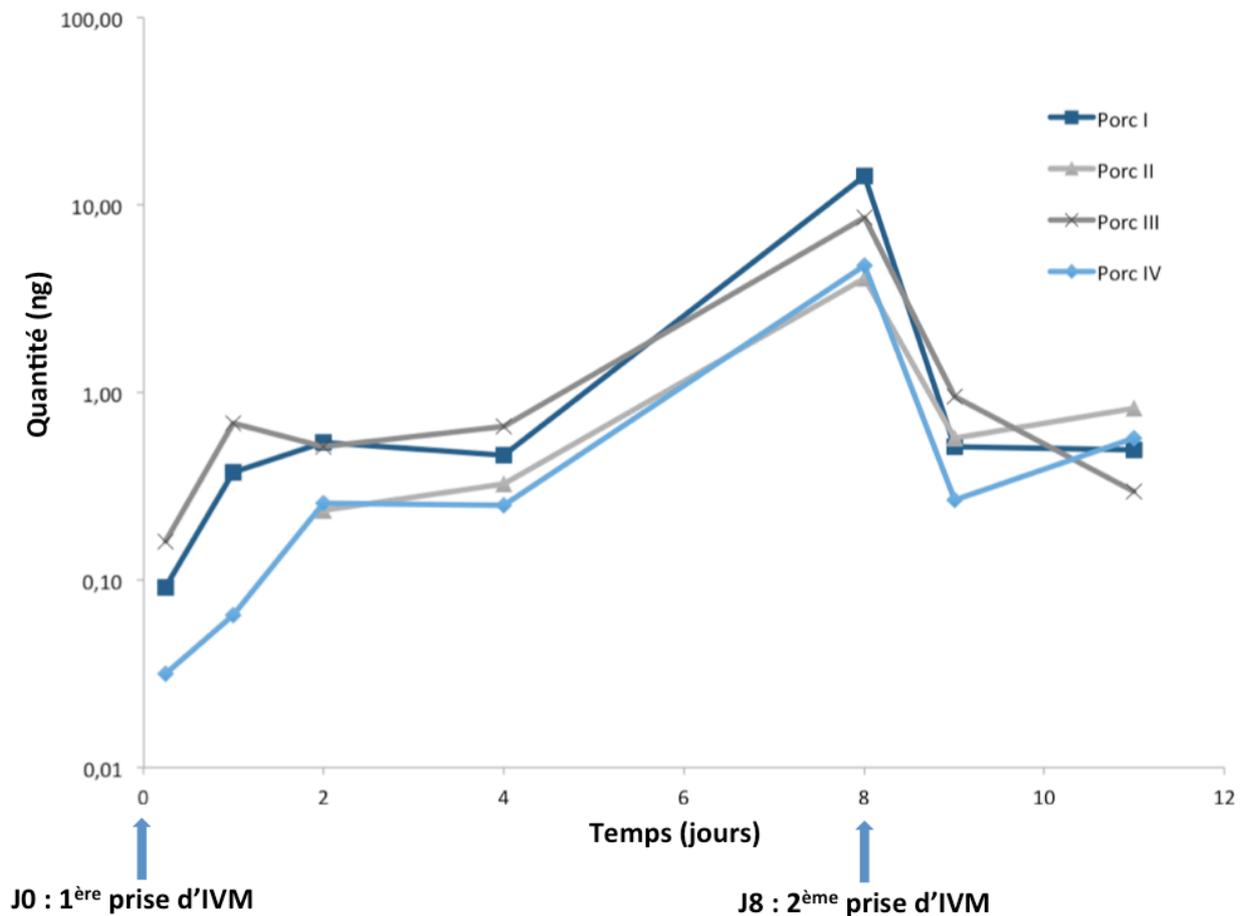


Figure 17. Quantités d'IVM dans le *stratum corneum* (disques adhésifs) après administration orale chez les 4 porcs. Les dosages étaient effectués à H6, J1, J2, J4, J8, J9 et J11 après la prise orale d'IVM (2^{ème} prise à J8) dans 2 prélèvements A et B adjacents.

Pour les valeurs moyennes des dosages (figure 18), la C_{\max} moyenne pour la MOX était obtenue à J1 ($0,92 \text{ ng} \pm 0,28$), mais la différence par rapport à la moyenne obtenue à 6 h n'était pas statistiquement significative ($0,68 \text{ ng} \pm 0,36$; $p = 0,33$). La C_{\max} moyenne pour l'IVM était obtenue à J4 ($0,42 \text{ ng} \pm 0,19$) après la première prise et à J9 ($0,58 \text{ ng} \pm 0,28$) après la seconde prise. Après la première prise, la Q_{\max} de MOX (J1) était significativement plus élevée que la Q_{\max} d'IVM obtenue à J4 ($p = 0,024$). En revanche la deuxième administration d'IVM a permis d'obtenir une quantité d'IVM supérieure à la quantité de MOX à partir de J9 (après la 2^{ème} prise). Contrairement aux dosages plasmatiques, la quantité d'IVM dosée à J9, 24 h après la deuxième prise était plus élevée que 24 h après la première prise (figure 18),

cependant cette différence n'était pas statistiquement significative (0,58 ng vs 0,27 ; $p = 0,21$).

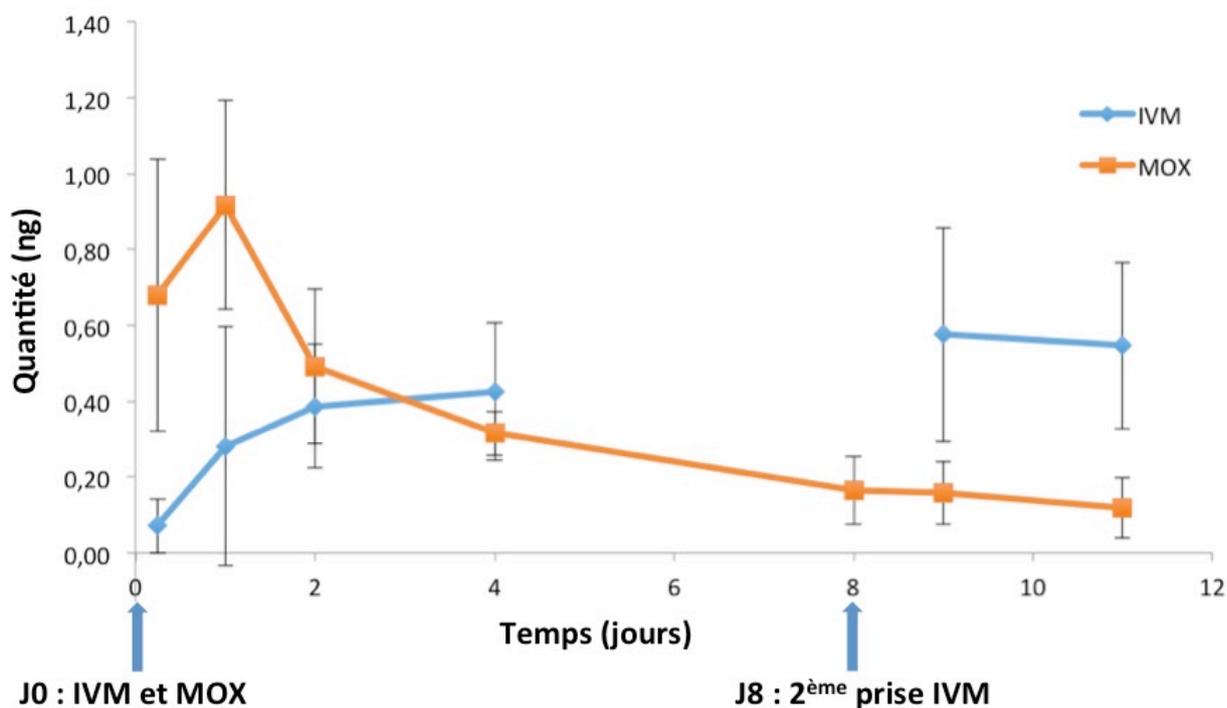


Figure 18. Quantités moyennes de MOX et d'IVM (moyenne ± écart-types) dans le *stratum corneum* (disques adhésifs) après administration orale. Les dosages étaient effectués à H6, J1, J2, J4, J8, J9 et J11 après la première prise orale de MOX et d'IVM. Les dosages de MOX effectués à J8 ont été écartés.

Dosages dans la peau (à partir des biopsies cutanées)

Après la prise unique de MOX, la C_{max} était obtenue à 24 h pour les porcs I et III, à J2 pour le porc IV et à J4 pour le porc II (porc suspecté d'avoir absorbé une quantité inférieure de MOX). Le pic observé pour le porc III était > 2 fois plus élevé que chez les porcs I et IV. Après ce pic, on observait une décroissance progressive de la concentration cutanée jusqu'à J8. Pour tous les porcs, on constatait un rebond de la concentration de la MOX à J9, soit 24 h après la seconde prise d'IVM. Ce deuxième pic était plus faible que le premier pour tous les porcs à l'exception du porc IV (figure 19). La MOX restait dosable dans la peau jusqu'à la fin de l'étude (J11).

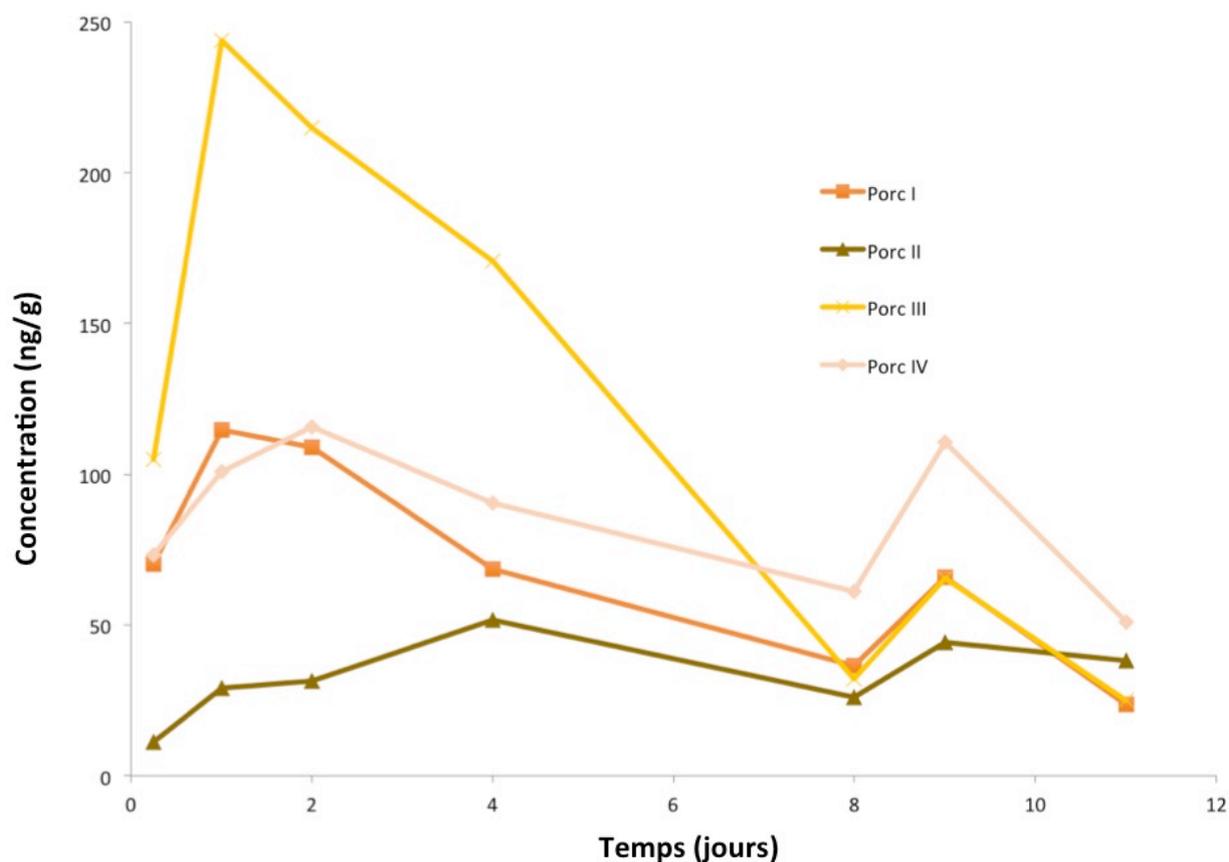


Figure 19. Concentrations de MOX dans la peau (biopsie) chez les 4 porcs après administration orale. Les concentrations étaient mesurées à H6, J1, J2, J4, J8, J9 et J11 après la prise de MOX.

Après la première prise d'IVM, la C_{max} était mesurée 24 h après l'administration pour tous les porcs avant une décroissance progressive jusqu'à J8. L'IVM n'était pas détectée dans la peau chez le porc II avant J9, après la seconde prise d'IVM. Après la seconde administration, un second pic était observé à 24 h. Ce second pic était inférieur au premier pour 2 porcs (porcs III et IV) sur 3 (figure 20). A noter que l'augmentation importante d'IVM dans le *stratum corneum* à J8 n'était pas retrouvée au niveau des concentrations cutanées.

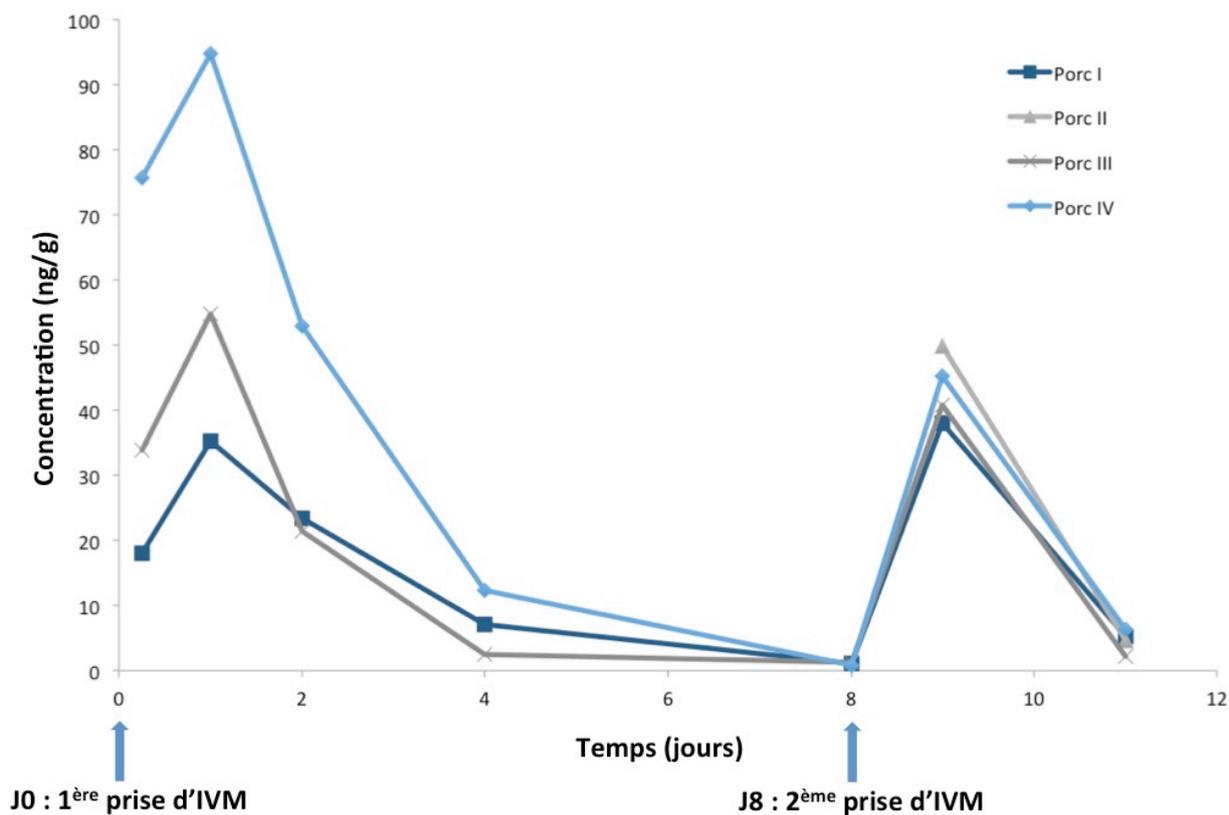


Figure 20. Concentrations d’IVM dans la peau (biopsie) chez les 4 porcs après administration orale. Les concentrations étaient mesurées à H6, J1, J2, J4, J8, J9 et J11 après la première prise d’IVM.

Les C_{max} cutanées moyennes de MOX et d’IVM étaient observées 24 h après la première prise (figure 21). La C_{max} de MOX était 2 fois plus élevée que celle d’IVM mais de façon non statistiquement significative (122,2 ng/g vs 61,6 ; $p = 0,32$). Pour l’IVM, le second pic à J9 était plus faible que le premier à J1, mais de façon non significative (43,5 vs 61,6 ng/g ; $p = 0,28$).

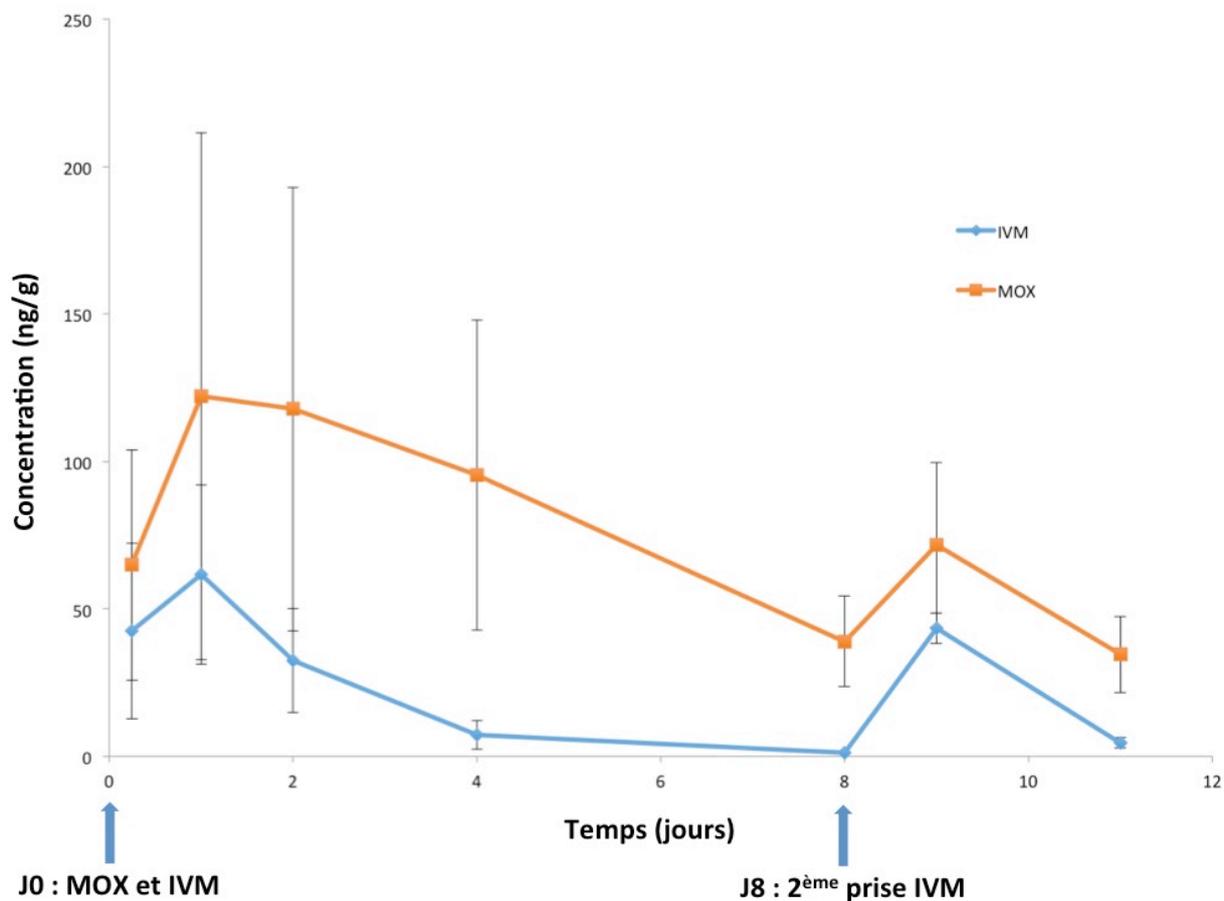


Figure 21. Concentrations moyennes de MOX et d'IVM (moyenne \pm écart-types) dans la peau (biopsie) après administration orale. Les concentrations étaient mesurées à H6, J1, J2, J4, J8, J9 et J11 après la première prise orale de MOX et d'IVM.

Corrélation entre concentrations dans le stratum corneum et dans la peau

Il existait une forte corrélation entre les C_{\max} plasmatiques et les C_{\max} dans la peau pour les deux molécules ($r = 0,84$ pour la MOX et $r = 0,97$ pour l'IVM).

Moxidectine

Sur l'ensemble des prélèvements, on ne retrouvait pas de corrélation statistiquement significative entre la quantité de MOX retrouvée dans le *stratum corneum* et la concentration dans les biopsies cutanées ($r = 0,35$; $p = 0,07$). En revanche, en ramenant les données de quantité de médicaments à la quantité de cholestérol dans les disques (C-chol) ou à la quantité de squames évaluée visuellement comme référence (C-EV), on observait une corrélation

statistiquement significative entre la concentration dans le *stratum corneum* et la concentration dans les biopsies ($r = 0,49$; $p = 0,008$ pour C-chol et $r = 0,48$; $p = 0,01$ pour C-EV) pour la MOX (figure 22).

En analysant les corrélations pour chaque porc, on observait des corrélations positives entre concentration cutanée, C-chol et C-EV pour les porcs I, III et IV qui n'étaient statistiquement significatives que pour le porc I (tableau 4). La concentration dans le *stratum corneum* en utilisant la masse de squames prélevée comme référence (C-poids) était corrélée à la concentration dans les biopsies uniquement pour le porc I ($r = 0,93$; $p = 0,03$).

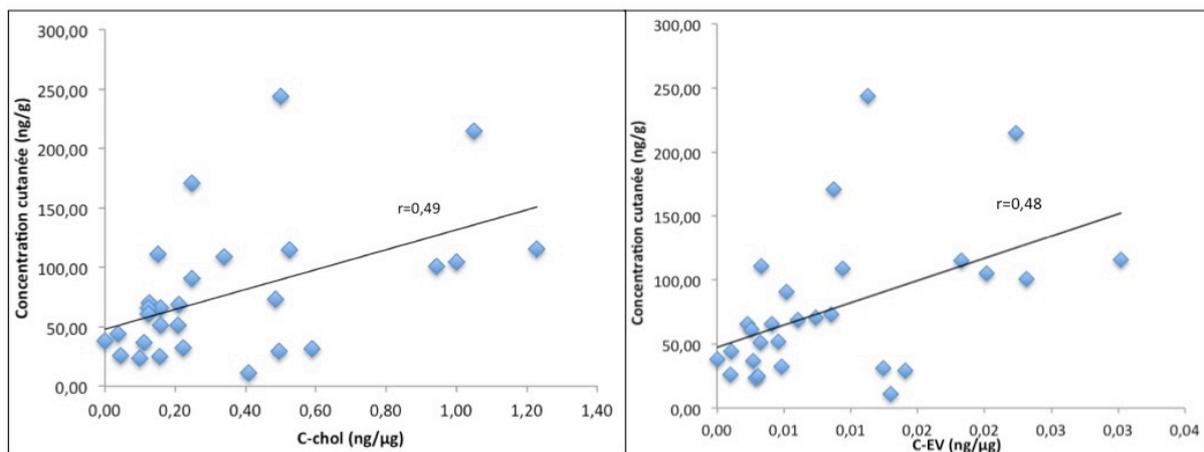


Figure 22. Courbe de corrélation linéaire entre la concentration cutanée en MOX et le rapport entre quantité de MOX et quantité de cholestérol dans le *stratum corneum* (C-chol) et score visuel (C-EV) pour l'ensemble des 28 prélèvements.

Concernant les valeurs maximales, aucune corrélation n'était significative, les coefficients de corrélation les plus élevés étaient entre C_{\max} cutanés et Q_{\max} ou $C\text{-chol}_{\max}$ ($r = 0,65$ et $r = 0,51$ respectivement) (tableau 4).

		Ensemble des prélèvements				Valeurs maximales			
		Quantité SC	C-poids	C-Chol	C-EV	Quantité SC	C-poids	C-Chol	C-EV
r		0,35064	0,31416	0,49145	0,47875	0,64688	0,19535	0,51265	0,36579
p		0,06734	0,1035	0,00791	0,00996	0,35312	0,80465	0,48735	0,63421
		Valeurs moyennes							
		Quantité SC	C-poids	C-Chol	C-EV				
r		0,68933	0,89223	0,76783	0,81297				
p		0,08666	0,00691	0,04382	0,0262				
		Porc I				Porc II			
		Quantité SC	C-poids	C-Chol	C-EV	Quantité SC	C-poids	C-Chol	C-EV
r		0,73572	0,93103	0,88016	0,86149	-0,55346	-0,313	-0,46358	-0,54468
p		0,05946	0,00231	0,00894	0,01271	0,19744	0,49427	0,29476	0,20614
		Porc III				Porc IV			
		Quantité SC	C-poids	C-Chol	C-EV	Quantité SC	C-poids	C-Chol	C-EV
r		0,359	0,30263	0,52035	0,61474	0,50466	0,52632	0,58706	0,62617
p		0,42905	0,50944	0,23119	0,14183	0,24805	0,22493	0,16583	0,13247

Tableau 4. Valeurs des coefficients de corrélation (r) et significativité statistique (p) pour la MOX entre la concentration dans les biopsies cutanées et les différentes valeurs de quantité et de concentration dans le *stratum corneum*.

Ivermectine

Les profils cinétiques étaient différents et aucune corrélation n'était retrouvée entre la quantité d'IVM dans le *stratum corneum* et la concentration dans les biopsies et ce sur l'ensemble des prélèvements ou par porc. On n'observait pas non plus de corrélation avec les concentrations dans le *stratum corneum* (C-poids, C-EV ou C-chol).

Discussion et perspectives

L'amélioration de la prise en charge thérapeutique de la gale est un enjeu actuel et majeur de santé publique⁵. Le développement de nouveaux traitements administrés par voie orale unique est nécessaire pour les populations les plus touchées pour lesquelles l'application de traitements topiques est souvent contraignante et la compliance au traitement difficile : enfants, personnes âgées, dépendantes ou en situation de grande précarité (sans domicile fixe, problème très actuel des camps de migrants)^{8,10}. Ces patients vivent souvent sous des climats chauds et humides, dans des situations de promiscuité rendant problématique le fait d'appliquer une crème sur l'ensemble du corps, surtout de façon répétée. Par ailleurs, la survenue d'épidémies au sein de structures de santé ou de vie en collectivité impose des traitements de larges communautés, parfois avant l'apparition de tout signe clinique afin de limiter la contagion et les ré-infestations⁵⁰.

La gale étant une affection essentiellement cutanée et plus particulièrement de la couche la plus superficielle de la peau (*stratum corneum*)¹. Les propriétés pharmacocinétiques cutanées des molécules utilisées actuellement ou dans un futur proche dans cette indication sont essentielles à explorer et à connaître. La réalisation de biopsies cutanées est une technique invasive et soulève plusieurs difficultés, de coût, de faisabilité et d'éthique. Ces limites compliquent leurs recours répétés en recherche animale et humaine.

L'utilisation d'une technique non invasive de dosage cutané via des prélèvements de *stratum corneum* (grattage, bandes adhésives) a été décrite pour des antifongiques chez l'homme, le chien et le cochon d'Inde⁷⁹⁻⁸¹ et pour l'IVM chez le rat et l'homme⁸²⁻⁸⁴. Le développement et la validation d'une technique similaire appliquée au modèle porcin de gale avaient pour objectif de faciliter l'obtention de données pharmacocinétiques cutanées de molécules d'intérêt et notamment de la MOX.

Choix des molécules étudiées

A l'heure actuelle, l'IVM est le seul traitement par voie générale disponible chez l'homme dans l'indication de la gale. La MOX, quant à elle, est en voie d'obtenir l'autorisation de mise sur le marché chez l'homme pour le traitement de l'onchocercose et l'extension de ses indications à la gale est une perspective à court terme^{52,71}. Ces deux molécules étaient donc importantes à étudier dans le modèle porcin. Le but de notre étude était d'évaluer leur activité *in vivo* à différentes posologies. En effet, seules des études *in vitro* ont été menées jusqu'à présent pour évaluer leur efficacité à différentes concentrations sur *Sarcoptes scabiei*^{75,85} et que la dose d'IVM optimale spécifique pour la gale n'a jamais été recherchée (posologie basée sur les données d'autres parasitoses).

Les posologies utilisées dans notre étude étaient celles décrites dans la littérature. Pour la MOX, la posologie utilisée était celle administrée dans l'étude de Bernigaud *et al.* : 0,3 mg/kg⁷³ en une prise qui correspond à la dose pour le traitement des parasitoses digestives chez le porc⁸⁶. Pour l'IVM, la posologie utilisée était celle indiquée dans la gale chez l'homme soit 2 prises à 0,2 mg/kg à 8 j d'intervalle^{1,62}. Le poids moléculaire de la MOX (639,819 g/mol) étant plus faible que celui de l'IVM (875,1 g/mol), ce choix permet l'administration d'une quantité de molécules de MOX en une prise équivalente à celle d'IVM en deux prises. Cela doit être considéré comme ayant un impact possible sur le métabolisme, l'efficacité et les éventuelles interactions médicamenteuses de ces molécules.

Enfin une limite du modèle porcin est qu'il nécessite une immunosuppression par corticothérapie au long cours (dexaméthasone) pour propager et maintenir l'infestation²⁹. Nous avons pris en compte ce facteur en l'appliquant également à notre cohorte de porcs non infestés, sachant son influence probable sur les paramètres pharmacologiques de la MOX et de l'IVM, de façon générale par influence sur l'hémodynamique et le métabolisme des mammifères⁸⁷ ou plus spécifiquement par action sur les P-glycoprotéines dont la

déxaméthasone est un substrat connu⁸⁸. Cette influence de la déxaméthasone sur les paramètres pharmacocinétiques de l'IVM a été montrée chez les bovins⁸⁹.

Dosages plasmatiques de la moxidectine et de l'ivermectine

Pour des considérations économiques et éthiques, les 4 porcs utilisés dans notre étude ont reçu simultanément les deux traitements : MOX et IVM. Ces deux molécules peuvent être dosées en même temps sur un même échantillon sans interaction chromatographique et n'étaient pas connues pour avoir d'interaction médicamenteuse³⁶. Ce choix ne semble pas avoir interféré sur les dosages plasmatiques : les C_{\max} (77,55 ng/mL pour la MOX et 45,04 ng/mL pour l'IVM) et temps du C_{\max} (T_{\max} , 6 h après la prise) sont comparables aux données disponibles de la littérature après prise orale, sachant que nous n'avons pas effectué de dosages plasmatiques avant H6. Chez le porc, à posologies identiques, Bernigaud *et al.* rapportent des C_{\max} et T_{\max} de 70,1 ng/mL à 0,5 jour et 12,6 ng/mL à 0,6 j pour la MOX et l'IVM, respectivement⁷³. Chez le chien, aux posologies de 0,25 mg/kg, Al Azzam *et al.* rapportent une C_{\max} de 234 ng/mL et une T_{\max} à 2 h pour la MOX à 0,25 mg/kg⁹⁰. Chez l'homme adulte, Cotreau *et al.* rapportent un C_{\max} à 141 ng/mL et un T_{\max} à 0,083 jour pour la MOX à une posologie de 18 mg⁵⁴ et Guzzo *et al.* rapportent un C_{\max} à 260,5 ng/ml et un T_{\max} à 4,5 h pour la MOX à la dose de 30 mg⁵³. Ces dosages confirment une variabilité importante dans les concentrations plasmatiques de la MOX et de l'IVM entre espèces mais aussi entre individus d'une même espèce. Les porcs de l'étude de Bernigaud et ceux de cette étude étaient différents en âge, en poids et probablement en masse grasseuse. La prise alimentaire était aussi différente lors de la prise médicamenteuse. De futurs travaux devraient rechercher les facteurs de ces variations interindividuelles : poids, masse grasseuse, type de grasse (mesures d'impédancemétrie), âge, alimentation (période de jeûne par rapport à la prise médicamenteuse), métabolisme biliaire et leur implication possible en cas d'échec des traitements. Cependant, l'importante variabilité des C_{\max} retrouvées pour l'IVM est à nuancer.

En effet, si le porc IV a des taux plasmatiques d'IVM bien supérieurs aux autres porcs après la première prise d'IVM, il est notable qu'ils sont sensiblement inférieurs après la deuxième prise à J8. Le porc II ayant vraisemblablement recraché le comprimé d'IVM au moment de la première prise, l'hypothèse de l'ingestion d'une dose double par le porc IV à J0 est probable.

Evaluation de la quantité de stratum corneum prélevé

Au cours d'une étape préliminaire (non développée dans ce manuscrit) où 2 porcs adultes ont reçu de la MOX et au cours de laquelle plusieurs prélèvements simultanés de *stratum corneum* ont été réalisés, nous avons obtenu d'importantes variations intra-individuelles dans les dosages de MOX réalisés au même moment. Cette variabilité s'expliquait en partie dans l'importante disparité de quantité de cornéocytes prélevés selon les prélèvements. Le technique de prélèvement et notamment la gestuelle de l'utilisation des disques a été considérablement améliorée lors de cette étude permettant une meilleure standardisation. La quantification des prélèvements est donc essentielle pour la validation de cette technique. Au cours de l'étude présentée ici, trois techniques de quantification ont été évaluées : la pesée, le dosage du cholestérol et l'évaluation visuelle.

Dans des travaux publiés précédemment utilisant cette technique, la quantification du *stratum corneum* prélevé est principalement faite par la pesée des échantillons^{79,80,82}, hormis une étude qui considère la surface de la zone prélevée⁸³. Cependant, nous avons observé après la phase de recueil des données qu'il pouvait exister de grandes variations dans le poids des disques natifs, normalement standardisé. L'obtention d'un poids de *stratum corneum* fiable passerait donc par une pesée de chaque lot de 10 disques individuellement avant chaque prélèvement, augmentant considérablement le temps de prélèvement et imposant la présence d'une balance de haute précision sur le lieu d'hébergement du modèle animal. Par ailleurs, la taille des disques étant fixe, la surface prélevée est la même pour tous les échantillons et cette alternative n'a pas été retenue.

Le cholestérol est un lipide essentiel de la composition des membranes cellulaires. Il a été montré que le cholestérol et les esters de cholestérol étaient les lipides retrouvés en plus grande quantité dans l'épiderme porcine et peu retrouvés dans le sébum⁹¹. Le taux de cholestérol dans nos prélèvements apparaissait donc comme un bon reflet de la quantité de *stratum corneum* prélevé. Cependant l'extraction du cholestérol depuis les disques D-Squames[®] n'avait jamais été réalisée avant notre étude. Cela devrait faire l'objet de futurs travaux pour optimiser cette technique.

Les disques D-Squame[®] ont été conçus initialement en cosmétologie pour apprécier l'état d'hydratation cutanée via la densité de cornéocytes recueillis par les disques dans des conditions d'application fixes⁹². C'est en utilisant une échelle de cotation visuelle basée sur cet usage que nous avons évalué la quantité de *stratum corneum* prélevée. Dans l'industrie cosmétique, cette cotation se fait par des logiciels de traitement de l'image. Dans notre cas nous avons choisi une évaluation visuelle, plus subjective et opérateur-dépendante.

Nous n'avons pas retrouvé de corrélation entre les 3 mesures de quantification des prélèvements et cela peut s'expliquer par les limitations techniques et inconvénients de chacune des méthodes. Néanmoins les prélèvements de *stratum corneum* dans notre étude étaient assez homogènes en quantité et les dosages de MOX et IVM comparables, cela étant rendu possible par une meilleure standardisation des prélèvements par rapport à l'étape préliminaire. L'utilisation d'un dynamomètre pour uniformiser les prélèvements serait une amélioration facilement envisageable.

Dosages de la moxidectine et de l'ivermectine dans la peau

Les profils cinétiques de la MOX et de l'IVM dans les biopsies cutanées sont comparables dans notre étude, avec un pic à J2 puis une décroissance plus lente pour la MOX que pour l'IVM et une forte corrélation entre les C_{\max} plasmatiques et les C_{\max} dans la peau. Ce profil est semblable à ce qui est rapporté dans la littérature chez l'homme, le porc, le rat ou

les bovins pour les deux molécules^{73,78,82,93-95}. Les concentrations cutanées retrouvées dans notre étude sont plus faibles pour la MOX par rapport aux données de Bernigaud *et al.* mais sont similaires aux données de la littérature pour l'IVM. Cependant les concentrations cutanées en MOX restent supérieures à l'IVM et aux concentrations dans le plasma, confirmant une seconde fois que la peau reste le compartiment de stockage des lactones macrocycliques (MOX > IVM). La composition et l'importance du tissu adipeux sous cutané jouent probablement un rôle sur ces valeurs. En effet, la MOX est très lipophile³⁶ et les porcs utilisés dans notre étude étaient plus jeunes et exposés à une corticothérapie générale depuis moins longtemps que dans l'étude de Bernigaud *et al.*, et donc potentiellement moins gras.

Dosages de la moxidectine dans le stratum corneum

Le profil cinétique de la MOX dans le *stratum corneum* est comparable au profil cinétique des biopsies cutanées et les valeurs dosées par les deux techniques étaient positivement corrélées. En étudiant les valeurs de la MOX dans le *stratum corneum* en fonction des trois méthodes de quantification décrites, la mesure du cholestérol et le score visuel semblent être les plus encourageants et doivent être optimisés. La concentration en fonction du poids des prélèvements est dans notre étude la moins fiable, ce qui peut être expliqué par des erreurs de pesée déjà discutées. En revanche, les concentrations de MOX en ng/g de *stratum corneum* calculées avec ces valeurs sont bien dans l'ordre de grandeur des concentrations cutanées des biopsies. Au final, les dosages de MOX dans les prélèvements non invasifs sont un bon reflet de la concentration cutanée.

Dosages de l'ivermectine dans le stratum corneum

Sur les 56 prélèvements de *stratum corneum* réalisés, seuls 10 dosages sont considérés comme aberrants : le pic d'IVM sur tous les prélèvements à J8 immédiatement après la

deuxième prise (8 dosages) en figure la majeure partie. Ce pic n'est retrouvé ni dans les dosages plasmatiques, ni dans les dosages cutanés et une contamination extrinsèque des prélèvements est la principale hypothèse. Outre un problème de manipulation des disques, une source possible de contamination pourrait être la salive des animaux, dans laquelle une partie du comprimé d'IVM aurait pu se dissoudre et se déposer au niveau de la zone de prélèvement (région cervicale/rétro-auriculaire). La réalisation des prélèvements juste avant la prise médicamenteuse serait une solution pour éviter ce type de contamination.

La présence d'IVM est observée dans le *stratum corneum* du porc II à partir de J2 alors que celui-ci n'a vraisemblablement pas reçu la première prise à J1 (concentrations plasmatiques en IVM nulles avant J9). Cela va dans le sens d'une imprégnation cutanée en IVM par voie externe, via l'environnement ou les autres animaux. Ces phénomènes ont déjà été décrits⁹⁶ et pourraient être liés au contact avec les autres animaux, au phénomène de léchage ou de coprophagie (l'IVM étant d'élimination essentiellement fécale). Idéalement pour ce genre d'étude, les animaux devraient être séparés, ce qui n'a pas pu être réalisé pour notre étude.

Contrairement à ce qui est observé avec la MOX, le profil cinétique dans le *stratum corneum* de l'IVM est différent de celui retrouvé dans la peau. Aucun pic n'est véritablement observé dans le *stratum corneum* et l'on observe un plateau à partir de J2. L'absence de données valables entre J4 et J9 ne permet pas d'évaluer le profil à long terme de façon optimale. Rares sont les données de la littérature concernant les concentrations en IVM dans le *stratum corneum*. Myajima *et al.* rapportent une concentration supérieure d'IVM dans le *stratum corneum* en comparaison avec l'épiderme et le derme sous-jacent 12 h après une prise d'IVM chez le rat⁸² mais n'effectuent qu'un seul prélèvement, ne permettant pas d'établir une courbe de cinétique. Les mêmes auteurs étudient la concentration en IVM dans le *stratum corneum* chez 13 sujets humains infestés par la gale dans les 72 premières heures suivant la prise orale. Ils observent un pic après 8 h et une légère décroissance non significative de la

concentration à 24 h mais des quantités sous le seuil de détectabilité à 48 et 72 h⁸³. Haas *et al.* décrivent un profil similaire pour la concentration d'IVM dans un raclage superficiel de la peau (contenant sébum, squames et sueur selon les auteurs) effectué 4, 8 et 24 h après la prise chez 5 patients⁸⁴. Dans ces deux études, aucune biopsie cutanée n'était effectuée à visée de comparaison.

Il existe des données plus complètes pour des traitements antifongiques. Faergemann *et al.* décrivent pour le fluconazole chez l'homme des profils cinétiques similaires aux données de l'IVM dans notre étude⁷⁹. Dans les 4 jours suivant une prise orale unique, les concentrations dans le *stratum corneum* marquaient un plateau atteint précocement alors que les concentrations dans la peau, inférieures à celles dans le *stratum corneum* pour tous les dosages, marquaient une décroissance rapide et étaient indétectables après 4 jours. Sobue *et al.* font la même observation chez le cochon d'Inde avec un suivi de 72 h après la prise orale et des concentrations cutanées indétectables dès 24 h cette fois-ci⁸⁰. Des profils comparables mais moins marqués sont rapportés dans la même étude pour l'itraconazole et la griséofulvine. D'autres articles concernent des schémas posologiques avec prises quotidiennes et ne sont donc pas discutés ici.

La MOX et l'IVM semblent donc avoir une distribution différente dans le *stratum corneum* dans notre modèle. Plusieurs auteurs discutent une diffusion de l'IVM à la surface cutanée dépendante principalement du sébum, avec une influence limitée de la vascularisation dermique ou des tissus adipeux sous-cutanés. La différence de cinétique dans le *stratum corneum* entre MOX et IVM pourrait s'expliquer par une différence de concentrations de ces molécules dans le sébum, dans la sueur ou de leur liaison à la kératine⁸⁰. Une nouvelle fois, la différence de lipophilie entre MOX et IVM, évaluée par le coefficient de partage octanol/eau $\log P \text{ MOX} = 6$, $\log P \text{ IVM} = 4,8$ ³⁶, serait une piste à étudier mais pas uniquement, si l'on prend les exemples du fluconazole, molécule hydrophile ($\log P = 0,25$) et de l'itraconazole,

lipophile ($\log P = 5,66$)⁹⁷, ayant toutes deux des profils de distribution dans le *stratum corneum* proches de l'IVM. Une piste d'explication serait alors une plus grande affinité de l'IVM pour la kératine que pour la MOX, ce qui pourrait être confirmé en s'inspirant des travaux réalisés par Sobue *et al.* pour le fluconazole, l'itraconazole et la griséofulvine. Si cela était confirmé, un profil d'efficacité variable entre les deux molécules selon la pathologie (pédiculoses, gales hyperkératosiques vs gale commune) pourrait être envisagé, permettant d'affiner les stratégies de traitement et schémas posologiques adaptés aux différentes situations cliniques.

Enfin, on observe un rebond de la concentration cutanée de MOX à J9, sans traduction au niveau plasmatique ou du *stratum corneum*, 24 h après la deuxième prise d'IVM. Cela fait envisager une interaction spécifique entre les deux molécules dans le compartiment cutané. Ce phénomène n'était pas anticipé, nos futurs travaux devront s'en affranchir pour une étude plus précise de la pharmacocinétique cutanée de ces deux molécules.

En conclusion

La technique de prélèvement non invasive utilisée dans notre étude rend possible le dosage de la MOX et de l'IVM dans le *stratum corneum* chez le porc, et permet d'approfondir les données de pharmacologie cutanée pour ces molécules. La standardisation et la quantification des prélèvements sont les points qui restent à améliorer.

L'utilisation de la méthode de prélèvement par disques adhésifs ouvre plusieurs pistes pour de futurs travaux. Un essai clinique chez des porcs expérimentalement infestés et traités à différentes posologies de MOX ou d'IVM est envisagé très prochainement. Cet essai permettra de déterminer le profil PK/PD et la relation effet-dose *in vivo* de ces molécules. L'objectif est de déterminer le schéma posologique idéal dans le modèle animal et d'enrichir les données précliniques nécessaires au développement de la phase II pour la MOX chez l'homme dans l'indication de la gale⁷⁴.

La technique de prélèvement par disques adhésifs pourra être développée chez l'homme. Les profils de distribution de la MOX et de l'IVM dans le *stratum corneum*, compartiment essentiel dans la gale, apparaissent différents dans le modèle animal. L'amélioration des données de pharmacologie cutanée devra confirmer ces différences chez l'homme, notamment en cas de gale hyperkératosique ou d'échec de traitement.

Références

- 1 Currie BJ, McCarthy JS. Permethrin and ivermectin for scabies. *N Engl J Med* 2010; **362**: 717–725.
- 2 Chosidow O. Scabies. *N Engl J Med* 2006; **354**: 1718–1727.
- 3 Chosidow O. Scabies and pediculosis. *Lancet Lond Engl* 2000; **355**: 819–826.
- 4 Chosidow O, Fuller LC. Scratching the itch: is scabies a truly neglected disease? *Lancet Infect Dis* 2017. doi:10.1016/S1473-3099(17)30469-3.
- 5 Engelman D, Kiang K, Chosidow O, McCarthy J, Fuller C, Lammie P *et al.* Toward the Global Control of Human Scabies: Introducing the International Alliance for the Control of Scabies. *PLoS Negl Trop Dis* 2013; **7**. doi:10.1371/journal.pntd.0002167.
- 6 Hay RJ, Johns NE, Williams HC, Bolliger IW, Dellavalle RP, Margolis DJ *et al.* The global burden of skin disease in 2010: an analysis of the prevalence and impact of skin conditions. *J Invest Dermatol* 2014; **134**: 1527–1534.
- 7 Karimkhani C, Colombara DV, Drucker AM, Norton SA, Hay R, Engelman D *et al.* The global burden of scabies: a cross-sectional analysis from the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Infect Dis* 2017. doi:10.1016/S1473-3099(17)30483-8.
- 8 Karimkhani C, Dellavalle RP, Coffeng LE, Flohr C, Hay RJ, Langan SM *et al.* Global Skin Disease Morbidity and Mortality: An Update From the Global Burden of Disease Study 2013. *JAMA Dermatol* 2017; **153**: 406–412.
- 9 Romani L, Steer AC, Whitfeld MJ, Kaldor JM. Prevalence of scabies and impetigo worldwide: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2015; **15**: 960–967.
- 10 Arnaud A, Chosidow O, Détrez M-A, Bitar D, Huber F, Foulet F *et al.* Prevalences of scabies and pediculosis corporis among homeless people in the Paris region: results from two randomized cross-sectional surveys (HYTPEAC study). *Br J Dermatol* 2016; **174**: 104–112.
- 11 Clucas DB, Carville KS, Connors C, Currie BJ, Carapetis JR, Andrews RM. Disease burden and health-care clinic attendances for young children in remote aboriginal communities of northern Australia. *Bull World Health Organ* 2008; **86**: 275–281.
- 12 McMeniman E, Holden L, Kearns T, Clucas DB, Carapetis JR, Currie BJ *et al.* Skin disease in the first two years of life in Aboriginal children in East Arnhem Land. *Australas J Dermatol* 2011; **52**: 270–273.
- 13 Bitar D, Thiolet J-M, Haeghebaert S, Castor C, Poujol I, Coignard B *et al.* Increasing incidence of scabies in France, 1999-2010, and public health implications. *Ann Dermatol Venereol* 2012; **139**: 428–434.
- 14 Bernigaud C, Chosidow O. Mise au point sur la gale. *Rev Prat* 2018; **In Press**.
- 15 Chosidow A, Gendrel D. Safety of oral ivermectin in children. *Arch Pediatr Organe Off Soc Francaise Pediatr* 2016; **23**: 204–209.

- 16 Lê M-S, Richard M-A, Baumstarck K, Hesse S, Gaudy-Marqueste C, Grob J-J *et al.* Evaluation of practices in the management of scabies in children. *Ann Dermatol Venereol* 2017; **144**: 341–348.
- 17 Centre de Référence des Agents Tératogènes. Scabicides et grossesse. https://lecrat.fr/spip.php?page=article&id_article=585.
- 18 Pasay C, Arlian L, Morgan M, Vyszynski-Moher D, Rose A, Holt D *et al.* High-resolution melt analysis for the detection of a mutation associated with permethrin resistance in a population of scabies mites. *Med Vet Entomol* 2008; **22**: 82–88.
- 19 Andriantsoanirina V, Izri A, Botterel F, Foulet F, Chosidow O, Durand R. Molecular survey of knockdown resistance to pyrethroids in human scabies mites. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis* 2014; **20**: O139-141.
- 20 Currier RW, Walton SF, Currie BJ. Scabies in animals and humans: history, evolutionary perspectives, and modern clinical management. *Ann N Y Acad Sci* 2011; **1230**: E50-60.
- 21 Fain A. Etude de la variabilité de *Sarcoptes scabiei* avec une Révision des Sarcoptidae. *Acta Zool Pathol Antverp* 1968; **47**: 1–196.
- 22 Andriantsoanirina V, Arieu F, Izri A, Bernigaud C, Fang F, Charrel R *et al.* *Sarcoptes scabiei* mites in humans are distributed into three genetically distinct clades. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis* 2015; **21**: 1107–1114.
- 23 Arlian LG, Runyan RA, Estes SA. Cross infestivity of *Sarcoptes scabiei*. *J Am Acad Dermatol* 1984; **10**: 979–986.
- 24 Walton SF, Choy JL, Bonson A, Valle A, McBroom J, Taplin D *et al.* Genetically distinct dog-derived and human-derived *Sarcoptes scabiei* in scabies-endemic communities in northern Australia. *Am J Trop Med Hyg* 1999; **61**: 542–547.
- 25 Chen Y-Z, Liu G-H, Song H-Q, Lin R-Q, Weng Y-B, Zhu X-Q. Prevalence of *Sarcoptes scabiei* infection in pet dogs in southern China. *ScientificWorldJournal* 2014; **2014**: 718590.
- 26 Cargill CF, Pointon AM, Davies PR, Garcia R. Using slaughter inspections to evaluate sarcoptic mange infestation of finishing swine. *Vet Parasitol* 1997; **70**: 191–200.
- 27 Weber T, Selzer PM. Isoxazolines: A Novel Chemotype Highly Effective on Ectoparasites. *ChemMedChem* 2016; **11**: 270–276.
- 28 Casais R, Dalton KP, Millán J, Balseiro A, Oleaga Á, Solano P *et al.* Primary and secondary experimental infestation of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) with *Sarcoptes scabiei* from a wild rabbit: Factors determining resistance to reinfestation. *Vet Parasitol* 2014; **203**: 173–183.
- 29 Mounsey K, Ho M-F, Kelly A, Willis C, Pasay C, Kemp DJ *et al.* A Tractable Experimental Model for Study of Human and Animal Scabies. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; **4**. doi:10.1371/journal.pntd.0000756.

- 30 Van Neste DJ, Staquet MJ. Similar epidermal changes in hyperkeratotic scabies of humans and pigs. *Am J Dermatopathol* 1986; **8**: 267–273.
- 31 Meyer W, Schwarz R, Neurand K. The skin of domestic mammals as a model for the human skin, with special reference to the domestic pig. *Curr Probl Dermatol* 1978; **7**: 39–52.
- 32 Sullivan TP, Eaglstein WH, Davis SC, Mertz P. The pig as a model for human wound healing. *Wound Repair Regen Off Publ Wound Heal Soc Eur Tissue Repair Soc* 2001; **9**: 66–76.
- 33 McIntyre MK, Peacock TJ, Akers KS, Burmeister DM. Initial Characterization of the Pig Skin Bacteriome and Its Effect on *In Vitro* Models of Wound Healing. *PloS One* 2016; **11**: e0166176.
- 34 Summerfield A, Meurens F, Ricklin ME. The immunology of the porcine skin and its value as a model for human skin. *Mol Immunol* 2015; **66**: 14–21.
- 35 Meurens F, Summerfield A, Nauwynck H, Saif L, Gerds V. The pig: a model for human infectious diseases. *Trends Microbiol* 2012; **20**: 50–57.
- 36 Prichard R, Ménez C, Lespine A. Moxidectin and the avermectins: Consanguinity but not identity. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist* 2012; **2**: 134–153.
- 37 Wolstenholme AJ, Maclean MJ, Coates R, McCoy CJ, Reaves BJ. How do the macrocyclic lactones kill filarial nematode larvae? *Invertebr Neurosci* 2016; **16**: 7.
- 38 Cully DF, Vassilatis DK, Liu KK, Paress PS, Van der Ploeg LH, Schaeffer JM *et al.* Cloning of an avermectin-sensitive glutamate-gated chloride channel from *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1994; **371**: 707–711.
- 39 Hibbs RE, Gouaux E. Principles of activation and permeation in an anion-selective Cys-loop receptor. *Nature* 2011; **474**: 54–60.
- 40 Bennett DG. Clinical pharmacology of ivermectin. *J Am Vet Med Assoc* 1986; **189**: 100–104.
- 41 Campbell WC. Ivermectin: an update. *Parasitol Today Pers Ed* 1985; **1**: 10–16.
- 42 Omura S. Ivermectin: 25 years and still going strong. *Int J Antimicrob Agents* 2008; **31**: 91–98.
- 43 Khalil S, Abbas O, Kibbi AG, Kurban M. Scabies in the age of increasing drug resistance. *PLoS Negl Trop Dis* 2017; **11**: e0005920.
- 44 Mounsey KE, Holt DC, McCarthy J, Walton SF. Identification of ABC transporters in *Sarcoptes scabiei*. *Parasitology* 2006; **132**: 883–892.
- 45 Kiki-Mvouaka S, Menez C, Borin C, Lyazrhi F, Foucaud-Vignault M, Dupuy J *et al.* Role of P-Glycoprotein in the Disposition of Macrocyclic Lactones: A Comparison between Ivermectin, Eprinomectin, and Moxidectin in Mice. *Drug Metab Dispos* 2010; **38**: 573–580.

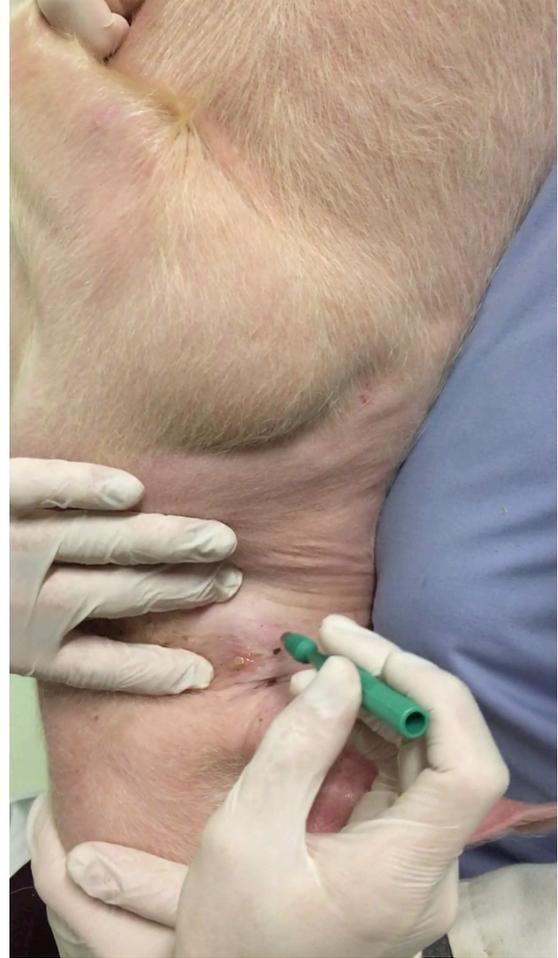
- 46 Paul AJ, Tranquilli WJ, Hutchens DE. Safety of moxidectin in avermectin-sensitive collies. *Am J Vet Res* 2000; **61**: 482–483.
- 47 Chosidow O, Giraudeau B, Cottrell J, Izri A, Hofmann R, Mann SG *et al.* Oral ivermectin versus malathion lotion for difficult-to-treat head lice. *N Engl J Med* 2010; **362**: 896–905.
- 48 Richards FO. Upon entering an age of global ivermectin-based integrated mass drug administration for neglected tropical diseases and malaria. *Malar J* 2017; **16**: 168.
- 49 Biritwum N-K, de Souza DK, Marfo B, Odoom S, Alomatu B, Asiedu O *et al.* Fifteen years of programme implementation for the elimination of Lymphatic Filariasis in Ghana: Impact of MDA on immunoparasitological indicators. *PLoS Negl Trop Dis* 2017; **11**: e0005280.
- 50 Romani L, Whitfeld MJ, Koroivueta J, Kama M, Wand H, Tikoduadua L *et al.* Mass Drug Administration for Scabies Control in a Population with Endemic Disease. *N Engl J Med* 2015; **373**: 2305–2313.
- 51 Kuesel AC. Research for new drugs for elimination of onchocerciasis in Africa. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist* 2016; **6**: 272–286.
- 52 Medicines Development for Global Health Announces Submission of the Moxidectin NDA to the FDA and Priority Review Designation. Med. Dev. Glob. Health. <http://www.medicinesdevelopment.com/news-posts/medicines-development-for-global-health-announces-fda-priority-review-designation-for-moxidectin-for-river-blindness/> (accessed 4 Jan2018).
- 53 Guzzo CA, Furtek CI, Porras AG, Chen C, Tipping R, Clineschmidt CM *et al.* Safety, tolerability, and pharmacokinetics of escalating high doses of ivermectin in healthy adult subjects. *J Clin Pharmacol* 2002; **42**: 1122–1133.
- 54 Cotreau MM, Warren S, Ryan JL, Fleckenstein L, Vanapalli SR, Brown KR *et al.* The Antiparasitic Moxidectin: Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics in Humans. *J Clin Pharmacol* 2003; **43**: 1108–1115.
- 55 Craven J, Bjørn H, Hennessy D, Friis C, Nansen P. Pharmacokinetics of moxidectin and ivermectin following intravenous injection in pigs with different body compositions. *J Vet Pharmacol Ther* 2001; **24**: 99–104.
- 56 Kamgno J, Pion SD, Chesnais CB, Bakalar MH, D'Ambrosio MV, Mackenzie CD *et al.* A Test-and-Not-Treat Strategy for Onchocerciasis in *Loa loa*-Endemic Areas. *N Engl J Med* 2017; **377**: 2044–2052.
- 57 Ménez C, Sutra J-F, Prichard R, Lespine A. Relative neurotoxicity of ivermectin and moxidectin in Mdr1ab (-/-) mice and effects on mammalian GABA(A) channel activity. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; **6**: e1883.
- 58 Currie BJ, Harumal P, McKinnon M, Walton SF. First documentation of *in vivo* and *in vitro* ivermectin resistance in *Sarcoptes scabiei*. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* 2004; **39**: e8-12.

- 59 Shoop WL, Haines HW, Michael BF, Eary CH. Mutual resistance to avermectins and milbemycins: oral activity of ivermectin and moxidectin against ivermectin-resistant and susceptible nematodes. *Vet Rec* 1993; **133**: 445–447.
- 60 Hodgson B, Mulvaney CJ. Resistance to a triple-combination anthelmintic in *Trichostrongylus* spp. on a commercial sheep farm in New Zealand. *N Z Vet J* 2017; **65**: 277–281.
- 61 Ménez C, Alberich M, Kansoh D, Blanchard A, Lespine A. Acquired Tolerance to Ivermectin and Moxidectin after Drug Selection Pressure in the Nematode *Caenorhabditis elegans*. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; **60**: 4809–4819.
- 62 del Giudice P, Chosidow O, Caumes E. Ivermectin in dermatology. *J Drugs Dermatol JDD* 2003; **2**: 13–21.
- 63 Meinking TL, Taplin D, Hermida JL, Pardo R, Kerdel FA. The treatment of scabies with ivermectin. *N Engl J Med* 1995; **333**: 26–30.
- 64 Aubin F, Humbert P. Ivermectin for crusted (Norwegian) scabies. *N Engl J Med* 1995; **332**: 612.
- 65 Currie B, Huffam S, O'Brien D, Walton S. Ivermectin for scabies. *Lancet Lond Engl* 1997; **350**: 1551.
- 66 Chouela EN, Abeldaño AM, Pellerano G, Forgia ML, Papale RM, Garsd A *et al*. Equivalent Therapeutic Efficacy and Safety of Ivermectin and Lindane in the Treatment of Human Scabies. *Arch Dermatol* 1999; **135**: 651–655.
- 67 Glaziou P, Cartel JL, Alzieu P, Briot C, Moulia-Pelat JP, Martin PM. Comparison of ivermectin and benzyl benzoate for treatment of scabies. *Trop Med Parasitol Off Organ Dtsch Tropenmedizinische Ges Dtsch Ges Tech Zusammenarbeit GTZ* 1993; **44**: 331–332.
- 68 Ly F, Caumes E, Ndaw CAT, Ndiaye B, Mahé A. Ivermectin versus benzyl benzoate applied once or twice to treat human scabies in Dakar, Senegal: a randomized controlled trial. *Bull World Health Organ* 2009; **87**: 424–430.
- 69 Chosidow O, Giraudeau B. Topical ivermectin--a step toward making head lice dead lice? *N Engl J Med* 2012; **367**: 1750–1752.
- 70 Pariser DM, Meinking TL, Bell M, Ryan WG. Topical 0.5% ivermectin lotion for treatment of head lice. *N Engl J Med* 2012; **367**: 1687–1693.
- 71 Mounsey KE, Bernigaud C, Chosidow O, McCarthy JS. Prospects for Moxidectin as a New Oral Treatment for Human Scabies. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; **10**: e0004389.
- 72 OMS 2017. NTD_STAG_report_2017.pdf. http://www.who.int/neglected_diseases/events/tenth_stag/en/.
- 73 Bernigaud C, Fang F, Fischer K, Lespine A, Aho LS, Dreau D *et al*. Preclinical Study of Single-Dose Moxidectin, a New Oral Treatment for Scabies: Efficacy, Safety, and Pharmacokinetics Compared to Two-Dose Ivermectin in a Porcine Model. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; **10**: e0005030.

- 74 Addressing scabies, the neglected of neglected disease. *Med. Dev. Glob. Health.* <http://www.medicinesdevelopment.com/news-posts/addressing-scabies-the-neglected-of-neglected-disease/> (accessed 4 Jan2018).
- 75 Mounsey KE, Walton SF, Innes A, Cash-Deans S, McCarthy JS. *In-vitro* efficacy of moxidectin versus ivermectin against *Sarcoptes scabiei*. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; : AAC.00381-17.
- 76 Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research. *PLOS Biol* 2010; **8**: e1000412.
- 77 Alvinerie M, Escudero E, Sutra JF, Eeckhoutte C, Galtier P. The pharmacokinetics of moxidectin after oral and subcutaneous administration to sheep. *Vet Res* 1998; **29**: 113–118.
- 78 Lifschitz A, Virkel G, Sallovitz J, Sutra JF, Galtier P, Alvinerie M *et al.* Comparative distribution of ivermectin and doramectin to parasite location tissues in cattle. *Vet Parasitol* 2000; **87**: 327–338.
- 79 Faergemann J, Laufen H. Levels of fluconazole in serum, *stratum corneum*, epidermis-dermis (without *stratum corneum*) and eccrine sweat. *Clin Exp Dermatol* 1993; **18**: 102–106.
- 80 Sobue S, Sekiguchi K, Nabeshima T. Intracutaneous Distributions of Fluconazole, Itraconazole, and Griseofulvin in Guinea Pigs and Binding to Human *Stratum Corneum*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48**: 216–223.
- 81 Gimmler JR, White AG, Kennis RA, Cruz-Espindola C, Boothe DM. Determining canine skin concentrations of terbinafine to guide the treatment of *Malassezia dermatitis*. *Vet Dermatol* 2015; **26**: 411–416, e95-96.
- 82 Miyajima A, Kigure A, Anata T, Hirota T. Mechanism for transport of ivermectin to the *stratum corneum* in rats. *Drug Metab Pharmacokinet* 2015; **30**: 385–390.
- 83 Miyajima A, Hirota T, Sugioka A, Fukuzawa M, Sekine M, Yamamoto Y *et al.* Effect of high-fat meal intake on the pharmacokinetic profile of ivermectin in Japanese patients with scabies. *J Dermatol* 2016; **43**: 1030–1036.
- 84 Haas N, Lindemann U, Frank K, Sterry W, Lademann J, Katzung W. Rapid and preferential sebum secretion of ivermectin: a new factor that may determine drug responsiveness in patients with scabies. *Arch Dermatol* 2002; **138**: 1618–1619.
- 85 Walton SF, Myerscough MR, Currie BJ. Studies *in vitro* on the relative efficacy of current acaricides for *Sarcoptes scabiei* var. *hominis*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000; **94**: 92–96.
- 86 Vercruyse J, Rew RS (eds.). *Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy*. CABI: Wallingford, 2002 doi:10.1079/9780851996172.0000.
- 87 Newton R. Molecular mechanisms of glucocorticoid action: what is important? *Thorax* 2000; **55**: 603–613.

- 88 Ueda K, Okamura N, Hirai M, Tanigawara Y, Saeki T, Kioka N *et al.* Human P-glycoprotein transports cortisol, aldosterone, and dexamethasone, but not progesterone. *J Biol Chem* 1992; **267**: 24248–24252.
- 89 Areskog M, von Samson-Himmelstjerna G, Alvinerie M, Sutra J-F, Höglund J. Dexamethasone treatment interferes with the pharmacokinetics of ivermectin in young cattle. *Vet Parasitol* 2012; **190**: 482–488.
- 90 Al-Azzam SI, Fleckenstein L, Cheng K-J, Dzimianski MT, McCall JW. Comparison of the pharmacokinetics of moxidectin and ivermectin after oral administration to beagle dogs. *Biopharm Drug Dispos* 2007; **28**: 431–438.
- 91 Stahl J, Niedorf F, Kietzmann M. Characterisation of epidermal lipid composition and skin morphology of animal skin *ex vivo*. *Eur J Pharm Biopharm* 2009; **72**: 310–316.
- 92 Serup J, Winther A, Blichmann C. A simple method for the study of scale pattern and effects of a moisturizer—qualitative and quantitative evaluation by D-Squame tape compared with parameters of epidermal hydration. *Clin Exp Dermatol* 1989; **14**: 277–282.
- 93 Scott EW, McKellar QA. The distribution and some pharmacokinetic parameters of ivermectin in pigs. *Vet Res Commun* 1992; **16**: 139–146.
- 94 Baraka OZ, Mahmoud BM, Marschke CK, Geary TG, Homeida MMA, Williams JF. Ivermectin distribution in the plasma and tissues of patients infected with *Onchocerca volvulus*. *Eur J Clin Pharmacol* 1996; **50**: 407–410.
- 95 Lifschitz A, Virkel G, Imperiale F, Sutra JF, Galtier P, Lanusse C *et al.* Moxidectin in cattle: correlation between plasma and target tissues disposition. *J Vet Pharmacol Ther* 1999; **22**: 266–273.
- 96 Bousquet-Mélou A, Jacquiet P, Hoste H, Clément J, Bergeaud J-P, Alvinerie M *et al.* Licking behaviour induces partial anthelmintic efficacy of ivermectin pour-on formulation in untreated cattle. *Int J Parasitol* 2011; **41**: 563–569.
- 97 Toxnet Databases. <https://toxnet.nlm.nih.gov>.

Annexes



Annexes 1 et 2. Recueil du *stratum corneum* par l'application des disques adhésifs D-Squame® (à gauche) et réalisation d'une biopsie cutanée (à droite)



Annexe 3. Ponction de la veine jugulaire pour prélèvement sanguin

DEVELOPPEMENT D'UNE TECHNIQUE DE DOSAGE CUTANE NON INVASIVE DES LACTONES MACROCYCLIQUES DANS LE MODELE PORCIN DE LA GALE

RESUME : La gale demeure un enjeu majeur de santé publique et les possibilités thérapeutiques sont insuffisantes. La mise en place d'un modèle porcin de la gale a permis l'évaluation de nouveaux traitements, notamment des molécules de la famille des lactones macrocycliques. L'objectif de cette étude était d'optimiser le modèle porcin par le développement d'une technique non invasive de dosage cutané de la moxidectine (MOX) et de l'ivermectine (IVM) afin de faciliter et d'approfondir les données de pharmacologie cutanée. Quatre porcs ont reçu simultanément de la MOX orale (0,3 mg/kg à J0) et de l'IVM orale (0,2 mg/kg à J0 et J8). Des prélèvements plasmatiques, cutanés par biopsies et de *stratum corneum* recueillis par des disques adhésifs ont été effectués pendant 11 jours après traitement. La quantification des prélèvements de *stratum corneum* a été réalisée par trois méthodes différentes. La MOX et l'IVM ont été dosées dans chaque prélèvement par HPLC. Les profils cinétiques de la MOX dans le *stratum corneum* et dans la peau étaient comparables avec un pic à J1 puis une décroissance progressive et les valeurs dosées par les deux techniques étaient positivement corrélées. L'IVM présentait une cinétique similaire à la MOX avec des concentrations inférieures dans la peau mais sa distribution dans le *stratum corneum* était différente avec un plateau obtenu à partir de J2. La standardisation et la quantification des prélèvements par disque adhésif restent à améliorer. Les différences de distribution des deux molécules dans le *stratum corneum* devront maintenant être étudiées chez l'homme.

Mots clés (français) : GALE, MODELE ANIMAL, STRATUM CORNEUM, LACTONES MACROCYCLIQUES, IVERMECTINE, MOXIDECTINE

DEVELOPMENT OF A NON-INVASIVE PROCEDURE FOR THE DOSAGE OF MACROCYCLIC LACTONES DRUGS IN THE SKIN IN THE SCABIES PORCINE MODEL

ABSTRACT: Human scabies remains a major health problem worldwide but suitable therapeutics are still lacking. The development of an experimental pig model of scabies allowed the evaluation of new treatments, notably molecules from the macrocyclic lactone family. The aim of the study was to develop a non-invasive procedure for the detection and the dosage of moxidectin (MOX) and ivermectin (IVM) in the skin to extend the drugs cutaneous pharmacokinetics data. Four pigs received simultaneously MOX (0.3 mg/kg at day 0) and IVM (0.2 mg/kg at days 0 and 8) both orally. Blood samples, skin biopsies and *stratum corneum* samples collected with adhesive discs were realized for 11 days post-treatment. *Stratum corneum* quantification was performed by three different methods. MOX and IVM were dosed in each sample. The MOX pharmacokinetic profile was similar in the skin and in the *stratum corneum* with a peak at day 1 and then a progressive decline. Values obtained with both methods were positively correlated. The IVM pharmacokinetic profile was similar to MOX profile in the skin with lower concentrations. Although, its distribution in the *stratum corneum* was different with a plateau reached at day 2. Adhesive discs samples standardisation and quantification should be improved. Differences between the to drugs distribution in the skin and in the *stratum corneum* have now to be studied in humans.

Keywords (english): SCABIES, ANIMAL MODEL, STRATUM CORNEUM, MACROCYCLIC LACTONES, IVERMECTINE, MOXIDECTINE

Université Paris Descartes
Faculté de Médecine Paris Descartes
15, rue de l'École de Médecine
75270 Paris cedex 06